Annual Report 2013

เล่ม ๓
พลงานวิจัย
ประจำปี ๒๕๕๖

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Plant Protection Research and Development Office

เอกสารวิชาการเลขที่ ๑/๒๕๕๗

กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

รายงาน
ผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๕๖
เล่ม ๓

เอกสารวิชาการเลขที่ ๑/๒๕๕๗

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

คำนำ

“รายงานผลงานวิจัย ประจำปี ๒๕๕๖” เป็นเอกสารวิชาการที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชจัดทำต่อเนื่องติดต่อกัน ๑๑ ปี จากผลงานวิจัยของนักวิจัย จากกลุ่มกีฏและสัตววิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช กลุ่มวิจัยวัชพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืช และกลุ่มบริหารศัตรูพืช ที่ดำเนินงานด้วยงบประมาณ ภายใต้ **แผนงานวิจัยและพัฒนา กรมวิชาการเกษตร ปี ๒๕๕๔ - ๒๕๕๘** ประกอบด้วยผลงานวิจัยชุดโครงการวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชที่ครอบคลุม ๖ โครงการวิจัย ได้แก่ วิจัยและพัฒนาการควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตรโดยชีววิธี การศึกษาและพัฒนาประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช วิจัยการกักกันพืช และอนุกรมวิธาน ชีววิทยาและเทคนิคการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ วิจัยมาตรการสุขอนามัยพืชในการนำเข้าสินค้าเกษตร และวิจัยมาตรการสุขอนามัยพืชในการส่งออก และชุดโครงการวิจัยด้านอื่น ๆ ได้แก่ อ้อย มันสำปะหลัง ปาล์มน้ำมัน ข้าวโพด ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ทุเรียน มะม่วง กล้วยไม้ ไม้ดอกไม้ประดับ มะนาว มันฝรั่ง ขิง เห็ด พืชผัก พืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่ เกษตรอินทรีย์ การคุ้มครองพันธุ์พืช และโครงการวิจัยเร่งด่วน เป็นการรวมการดำเนินงานจาก ๓๐ ชุดโครงการวิจัย ๔๐ โครงการวิจัย ๓๘ กิจกรรม ที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชต้องรับผิดชอบในฐานะหัวหน้าการทดลอง รวมจำนวนการทดลองทั้งสิ้น ๒๘๐ การทดลอง เป็นการทดลองร่วม ๒ การทดลอง

การจัดทำรายงานผลงานวิจัยเล่มนี้ เสร็จสมบูรณ์ เพราะนักวิจัยทุกท่าน จากกลุ่มวิชาการของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช มุ่งหวังจะเผยแพร่ผลงานด้านอารักขาพืชที่ตนได้วิจัยด้วยความพากเพียร และมุ่งมั่น ให้ผู้สนใจได้นำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ ทั้งการอ้างอิง การประยุกต์เพื่อขยายผล ตลอดจนการต่อยอดผลงานวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จึงขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้องทุกท่านไว้ในโอกาสนี้ด้วย

(นางสาวมานิตา คงชื่นสิน)
ผู้เชี่ยวชาญด้านศัตรูพืช
รักษาราชการแทนผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
กรกฎาคม ๒๕๕๗

สารบัญ

หน้า

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2556 เล่มที่ 1.....1 - 613
รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2556 เล่มที่ 2.....614 - 1367
รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2556 เล่มที่ 3.....1368 - 2244
รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2556 เล่มที่ 4.....2245 - 2894

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการเพิ่มผลผลิตอ้อย
โครงการวิจัย การบริหารจัดการศัตรูอ้อย 01-05-54-02
กิจกรรม การเพิ่มประสิทธิภาพการจัดการวัชพืชในอ้อยเพื่อลดต้นทุนการผลิต
กิจกรรมย่อย -
การทดลอง
➢ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช.....1
ของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก
(pre-emergence) ในอ้อยปลูกใหม่
01-05-54-02-01-00-01-54
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ
➢ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช.....9
ของสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก
(post-emergence) ในอ้อยปลูกใหม่ และอ้อยตอ
01-05-54-02-01-00-02-54
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ
➢ศึกษาการจัดการวัชพืชประเภทเถาเลื้อยในอ้อย.....20
01-05-54-02-01-00-03-54
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ
➢ศึกษาสถานการณ์การระบาดและการจัดการ✪.....26
ปัญหาของวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชในอ้อย
01-05-54-02-01-00-06-55
❖ จรรยา มณีโชติ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนามันสำปะหลัง
โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืชในมันสำปะหลัง 01-07-54-03
กิจกรรม วิจัยและพัฒนาวิธีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูมันสำปะหลัง
กิจกรรมย่อย การศึกษาอนุกรมวิธาน นิเวศวิทยาของแมลงและไรศัตรูมันสำปะหลัง
การทดลอง
➢อนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง.....34
01-07-54-03-01-01-01-54
❖ ชมัยพร บัวมาศ และคณะ

➢อนุกรมวิธานแมลงหวี่ขาวในมันสำปะหลัง✪.....70
01-07-54-03-01-01-02-54
❖ สุนัดดา เชาวลิต และคณะ
➢อนุกรมวิธาน และเขตแพร่กระจายของ✪.....81
ไรศัตรูมันสำปะหลังในประเทศไทย
01-07-54-03-01-01-04-56
❖ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการแมลงและไรศัตรูมันสำปะหลัง

การทดลอง ➢ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงประเภท.....2595
พ่นทางใบป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวในมันสำปะหลัง
01-07-54-03-01-02-04-56
❖ สุเทพ สหายา และคณะ

กิจกรรมย่อย การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูมันสำปะหลังโดยชีววิธี

การทดลอง ➢การใช้แมลงช้างปีกใส *Plesiochrysa ramburi*.....86
ในการควบคุมเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังในสภาพไร่
01-07-54-03-01-05-01-55
❖ ประภัสสร เชยคำแหง และคณะ
➢การควบคุมไรศัตรูมันสำปะหลังโดยชีววิธี.....2438
01-07-54-03-01-05-02-55
❖ มานิตา คงชื่นสิน

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาการป้องกันกำจัดวัชพืชมันสำปะหลัง

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในมันสำปะหลัง✪.....90
01-07-54-03-03-00-03-56
❖ จรรยา มณีโชติ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาปาล์มน้ำมัน

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตปาล์มน้ำมัน 01-09-54-02

กิจกรรม วิจัยด้านอารักขาปาล์มน้ำมัน

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การควบคุมโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันโดยชีววิธี.....97
01-09-54-02-02-00-01-54
❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

➢ศึกษาวิธีการจัดการวัชพืชในสวนปาล์มน้ำมัน.....115
: การทดลองที่ 1 ทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัด
วัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก
01-09-54-02-02-00-05-54
❖ จรัญญา ปิ่นสุภา และคณะ

ชุดโครงการวิจัย การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแห้งแล้ง

โครงการวิจัย วิจัยเทคโนโลยีการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่เหมาะสมในสภาพแห้งแล้ง
01-10-54-02

กิจกรรม การลดความสูญเสียผลผลิตจากศัตรูข้าวโพด

กิจกรรมย่อย การลดความสูญเสียผลผลิตจากแมลงศัตรูพืช

การทดลอง ➢ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลง.....129
ประเภทคลุกเมล็ดในการป้องกันกำจัด
เพลี้ยอ่อนและเพลี้ยไฟในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์
01-10-54-02-04-02-03-54
❖ สุเทพ สหายา และคณะ
➢ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลง.....139
ประเภทพ่นทางใบในการป้องกันกำจัด
เพลี้ยอ่อนและเพลี้ยไฟในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์
01-10-54-02-04-02-04-54
❖ สุเทพ สหายา และคณะ

กิจกรรมย่อย การลดความสูญเสียผลผลิตจากวัชพืช

การทดลอง ➢ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช.....151
ของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก
(pre-emergence) ในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์
01-10-54-02-04-03-01-54
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ
➢ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช.....167
ของสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก
(post-emergence) ในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์
01-10-54-02-04-03-02-54
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาถั่วเหลือง

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการผลิตถั่วเหลืองฝักสดเพื่อการส่งออก 01-12-54-02

กิจกรรม เทคโนโลยีการผลิตถั่วเหลืองฝักสด

กิจกรรมย่อย เทคโนโลยีการผลิตถั่วเหลืองฝักสด

การทดลอง ➢การจัดการวัชพืชและผลของสารกำจัดวัชพืช.....182
ตกค้างในถั่วเหลืองฝักสด
01-12-54-02-02-01-13-55
❖ คมสัน นครศรี และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาถั่วเขียว

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์ถั่วเขียว 01-13-54-01

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวผิวมัน

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันเพื่อต้านทานโรค /สภาพแวดล้อม/สรีรวิทยา

การทดลอง ➢การคัดเลือกพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อต้านทาน✪.....188
โรคไวรัสใบด่างเหลืองโดยใช้เทคนิคอณูชีววิทยา
01-13-54-01-01-01-04-54
❖ กาญจนา วาระวิชะนี และคณะ

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการผลิตถั่วเขียวให้มีคุณภาพ 01-13-54-02

กิจกรรม การวิจัยเทคโนโลยีการผลิตถั่วเขียวผิวมัน

กิจกรรมย่อย เทคโนโลยีการผลิตถั่วเขียวผิวมัน

การทดลอง ➢การจัดการวัชพืชเพื่อการผลิตถั่วเขียวคุณภาพ✪.....209
01-13-54-02-01-01-04-54
❖ คมสัน นครศรี และคณะ

กิจกรรมย่อย อารักขาพืช

การทดลอง ➢การทดสอบประสิทธิภาพสารประเภท✪.....223
คลุกเมล็ดป้องกันกำจัดแมลงศัตรูที่สำคัญของถั่วเขียว
01-13-54-02-01-03-02-54
❖ สุเทพ สหายา และคณะ
➢ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลง.....234
ประเภทพ่นทางใบในการป้องกันกำจัด
แมลงศัตรูสำคัญของถั่วเขียว
01-13-54-02-01-03-03-54
❖ สุเทพ สหายา และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาทุเรียน

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์ทุเรียน 01-21-54-01

กิจกรรม วิจัยการปรับปรุงพันธุ์ทุเรียนลูกผสม

กิจกรรมย่อย ศึกษาความสามารถในการทนทานต่อโรครากเน่าโคนเน่า ของทุเรียนลูกผสมที่คัดเลือกแล้ว

การทดลอง ➢ศึกษาปฏิกิริยาของทุเรียนพันธุ์ลูกผสม✪.....245
ต่อเชื้อรา *Phytopthora palmivora*
01-21-54-01-02-05-01-54
❖ นลินี ศิวากรณ์ และคณะ

โครงการวิจัย การเพิ่มประสิทธิภาพด้านการผลิตทุเรียนคุณภาพและการกระจายการผลิต 01-21-54-02

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการด้านเขตกรรมและการอารักขาพืช เพื่อเสริมประสิทธิภาพการผลิตทุเรียนคุณภาพ

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢คัดเลือกต้นตอทุเรียนพันธุ์พื้นเมืองที่ทนทาน✪.....250
หรือต้านทานต่อเชื้อรา *Phytophthora*
สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน
01-21-54-02-03-00-01-54
❖ ธิติยา สารพัฒน์ และคณะ
➢การควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่า✪.....259
ของทุเรียนโดยใช้ชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้
จากเชื้อ *Bacillus subtilis*
01-21-54-02-03-00-03-54
❖ นลินี ศิวากรณ์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการผลิตมะม่วง 01-25-54-02

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการป้องกันกำจัดโรคแมลงศัตรูมะม่วงอย่างเหมาะสม

กิจกรรม -

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การจัดการด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง.....264
และการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัด
จากพืชต่อเพลี้ยแป้งในแปลงมะม่วงอินทรีย์
01-25-54-02-00-00-01-54
❖ สราญจิต ไกรฤกษ์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนากล้วยไม้

โครงการวิจัย การจัดการคุณภาพกล้วยไม้สกุลหวายเพื่อการส่งออก 01-29-54-01

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืชในกล้วยไม้สกุลหวาย

กิจกรรมย่อย –

การทดลอง

➢การใช้สารกำจัดวัชพืชในการป้องกัน✪.....272
กำจัดวัชพืชในกล้วยไม้สกุลหวาย
01-29-54-01-01-00-01-54
❖ เสริมศิริ คงแสงดาว

➢ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์และ✪.....299
สารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอม
(*Spodoptera exigua Hubner*) ในกล้วยไม้
01-29-54-01-01-00-02-54
❖ สมรวย รวมชัยอภิกุล

➢การป้องกันกำจัดสัตว์ศัตรูพืช✪.....307
01-29-54-01-01-00-04-54
- การการควบคุมหอยซัคซิเนีย *Succinea* sp.
ในสวนกล้วยไม้โดยวิธีผสมผสาน
❖ ปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ

➢การป้องกันกำจัดโรคดอกจุดสนิมของ
กล้วยไม้ที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia* sp.
โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และสารเคมี
01-29-54-01-01-00-05-54
❖ พีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ

➢การศึกษาวิธีการที่มีประสิทธิภาพใน✪.....2821
การป้องกันกำจัดเชื้อรา *Fusarium* spp. สาเหตุ
โรคในกล้วยไม้ที่ปลูกเป็นการค้า โดยใช้สารสกัด
จากพืช *Bacillus subtilis* และสารเคมี
01-29-54-01-01-00-06-54
❖ อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

➢ศึกษาการป้องกันกำจัดทาก.....315
Parmarion siamensis ในสวนกล้วยไม้
01-29-54-01-01-00-07-55
❖ ปิยาณี หนูกาฬ และคณะ

➢การทดสอบประสิทธิภาพของ✪.....320
สารป้องกันกำจัดโรคพืชการควบคุม
โรคใบปื้นเหลืองของกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อรา
Pseudocercospora dendrobii Deighton
01-29-54-01-01-00-08-55
❖ วรางคณา แซ่อ้วง และคณะ
➢ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกัน.....325
กำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย (cotton thrips);
Thrips palmi (Karmy) ในกล้วยไม้สกุลหวาย
01-29-54-01-01-00-09-56
❖ ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลแวนด้าเพื่อการค้า 01-29-54-02

กิจกรรม การอารักขาพืชในกล้วยไม้

กิจกรรมย่อย การป้องกันกำจัดโรคที่เกิดจากแบคทีเรียของกล้วยไม้

การทดลอง ➢การใช้สารเสริมประสิทธิภาพความแข็งแรง.....2889
ในการป้องกันกำจัดโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย
ของกล้วยไม้แวนดาแอสโคเซนดา
01-29-54-02-03-01-01-54
❖ รุ่งนภา ทองเครั็ง และคณะ
➢การใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัด.....349
โรคกล้วยไม้สกุลแวนดาที่เกิดจากแบคทีเรีย
01-29-54-02-03-01-02-54
- การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพ
สารเคมีควบคุมโรคกล้วยไม้สกุลแวนดา
ที่เกิดจากแบคทีเรีย
❖ วรางคณา แซ่อ้วง และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยแก้ไขปัญหาการผลิตในกล้วยไม้การค้าสกุลอื่นๆ 01-29-54-05

กิจกรรม การเพิ่มประสิทธิภาพผลผลิต

กิจกรรมย่อย การจัดการศัตรูพืช

การทดลอง ➢การป้องกันกำจัดโรคกลีบดอกไหม้.....2502
ในกล้วยไม้สกุลม็อคคาร่า โดยใช้
เชื้อจุลินทรีย์ ปฏิปักษ์ และสารเคมี
01-29-54-05-01-02-02-54
❖ ทัศนาพร ทัศคร และคณะ

➢การศึกษาการป้องกันกำจัดโรคสำคัญ.....353
ของกล้วยไม้ดินโดยวิธีที่เหมาะสม
01-29-54-05-01-02-03-54
❖ ทัศนาพร ทัศคร และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพริก

โครงการวิจัย ปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิตพริก 01-30-54-01

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์พริกให้ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสและโรคอื่นๆ

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์พริกให้ต้านทานต่อโรคอื่นๆ

การทดลอง ➢การคัดเลือกและประเมินพันธุ์พริก.....2446
ต้านทานไส้เดือนฝอยรากปม
01-30-54-01-02-02-02-54
❖ นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาไม้ดอกไม้ประดับ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาปทุมมาและกระเจียว 01-32-54-01

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืชกลุ่มปทุมมาและกระเจียว

กิจกรรมย่อย การบริหารจัดการโรคเหี่ยวของปทุมมาและกระเจียวโดยวิธีผสมผสาน

การทดลอง ➢การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์ชนิดผง✪.....363
Bacillus subtilis สายพันธุ์ 4415 และสายพันธุ์
ดินอ้อย no. 6 เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา
01-32-54-01-01-01-01-54
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ
➢การปรับปรุงวิธีการตรวจหาแบคทีเรีย✪.....373
Ralstonia solanacearum ในหัวพันธุ์ปทุมมา
โดยใช้ชุดตรวจสอบ (GLIFT kit) โรคเหี่ยวของปทุมมา
01-32-54-01-01-01-02-54
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคใบไหม้และใบจุดของปทุมมาและกระเจียว

การทดลอง ➢ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัด.....379
โรคพืชในการควบคุมโรคใบไหม้และใบจุด
01-32-54-01-01-02-02-54
(การทดลองร่วม)
❖ ธารทิพย ภาสบุตร

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคราก้ปมของปทุมมาและกระเจียว

การทดลอง ➢การพัฒนารูปแบบการจัดการโรคราก้ปม 389
ของปทุมมาและกระเจียวแบบผสมผสาน
01-32-54-01-01-03-01-56
❖ ธิติยา สารพัฒน์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการแมลงศัตรูปทุมมา

การทดลอง ➢ ประสิทธิภาพสารในการป้องกันกำจัด.....397
เพลี้ยหอยและเพลี้ยแป้งในปทุมมา
01-32-54-01-01-04-01-55
❖ อุราพร หนูนารถ และคณะ
➢ประสิทธิภาพสารในการป้องกันกำจัด.....406
ด้วงกาแฟในปทุมมา
01-32-54-01-01-04-02-55
❖ อุราพร หนูนารถ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเบญจมาศ 01-32-54-03

กิจกรรม ศึกษาการอารักขาที่เหมาะสมในเบญจมาศ

กิจกรรมย่อย ศึกษาการป้องกันและกำจัดโรคที่สำคัญในเบญจมาศ

การทดลอง ➢การจัดการโรคราสนิมขาวเบญจมาศ
01-32-54-03-02-01-01-54
❖ อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ
➢การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัด.....411
โรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคใบจุดเบญจมาศ
01-32-54-03-02-01-02-55
❖ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ

กิจกรรมย่อย ศึกษาการป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูที่สำคัญในเบญจมาศ

การทดลอง ➢การจัดการแมลงศัตรูเบญจมาศ.....417
01-32-54-03-02-02-01-55
❖ อุราพร หนูนารถ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาหน้าวัว 01-32-54-04

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์หน้าวัว

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การปรับปรุงพันธุ์หน้าวัวต้านทาน.....2519
ต่อโรคเน่าดำ/โรคใบไหม้
01-32-54-04-01-00-04-54
(การทดลองร่วม)
❖ อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์

ชุดโครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตมะนาว

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตมะนาว 01-35-54-01

กิจกรรม การศึกษาการใช้สารชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาว

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➢ศึกษาอัตราและระยะเวลาที่เหมาะสม.....429
ในการใช้ชีวภัณฑ์ที่ผลิตได้จากเชื้อ *Bacillus subtilis*
เพื่อป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของมะนาว
01-35-54-01-03-00-01-54
❖ นลินี ศิวากรณ์ และคณะ

➢การพัฒนาน้ำหมักกระเทียมร่วมกับสมุนไพรอื่น.....437
เพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาว
01-35-54-01-03-00-02-54
❖ นลินี ศิวากรณ์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนามันฝรั่ง

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการจัดการศัตรูที่สำคัญของมันฝรั่ง 01-36-54-03

กิจกรรม การจัดการไส้เดือนฝอยรากปมในมันฝรั่ง

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➢ การจัดการโรคใบไหม้ของมันฝรั่งที่มีสาเหตุ.....2829
จากรา *Phytophthora infestant* (Mont.) de Bary
01-36-54-03-01-00-02-55
❖ อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ

➢ การพัฒนาเทคนิคการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์✪.....446
ควบคุมโรคเหี่ยวเขียวของมันฝรั่งในระดับเกษตรกร
01-36-54-03-01-00-04-55
❖ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขิงคุณภาพ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขิงคุณภาพ 01-37-54-01

กิจกรรม ศึกษาเทคโนโลยีการจัดการผลิตขิงคุณภาพ

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➢การจัดการโรคเหี่ยวของขิงที่เกิดจากแบคทีเรีย.....454
Ralstonia solanacearum แบบผสมผสาน
01-37-54-01-00-00-01-54
❖ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการผลิตพืชหัว

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการผลิตมันเทศ 01-38-54-01

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิต วิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว และการแปรรูปผลผลิตพืชหัวเพื่อเพิ่มมูลค่าผลผลิต

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➢ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกัน.....2598
กำจัดด้วงงวงมันเทศ (sweet potato weevil ;
Cylas formicarius Fabricius) ในมันเทศ
เพื่อทดแทนการใช้ฟูราดาน
01-38-54-01-02-00-04-55

❖ อุราพร หนูนารถ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเห็ด

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการอารักขาเห็ด 01-39-54-02

กิจกรรม วิจัยเทคโนโลยีการจัดการแมลงและไรศัตรูเห็ด

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➢การบริหารจัดการศัตรูเห็ดโดยวิธีผสมผสาน.....460
01-39-54-02-02-00-07-56

❖ พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และคณะ

➢ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการเจริญเติบโต.....464
และการมีชีวิตอยู่รอดของไรไข่ปลา
01-39-54-02-02-00-08-56

❖ พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และคณะ

➢การศึกษาความผันแปรจำนวน✪.....467
ประชากรไรขาวใหญ่ในเห็ดหูหนูหรือเห็ดนางรม
01-39-54-02-02-00-09-56

❖ พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และคณะ

➢การแก้ปัญหาแมลงศัตรูเห็ดใน.....2602
โรงเพาะเห็ดของเกษตรกรในเขตภาคกลาง
01-39-54-02-02-00-06-55

❖ อุราพร หนูนารถ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชผัก

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืชผัก 01-40-54-02

กิจกรรม การอารักขาพืชตระกูลกะหล่ำ

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➢การทดสอบประสิทธิภาพ *Bacillus subtilis* ✪.....470
ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าสาเหตุจากเชื้อรา
Alternaria brassicicola
01-40-54-02-01-00-01-54
❖ บุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ

➢เปรียบเทียบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์.....479
ในการควบคุมด้วงหมัดผักในคะน้า
01-40-54-02-01-00-03-55
❖ วิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ

➢ศึกษาหาระยะเวลาหรือความถี่ในการพ่นจุลินทรีย์.....486
01-40-54-02-01-00-04-55
❖ วิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการผลิตมะเม่าในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน 02-03-54-01

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยี

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➢วิจัยและพัฒนาการจัดการโรคและแมลงศัตรูมะเม่า.....491
02-03-54-01-02-00-02-54
- วิจัยและพัฒนา การจัดการโรคมะเม่า
❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

➢วิจัยและพัฒนาการจัดการโรคและแมลงศัตรูมะเม่า.....502
02-03-54-01-02-00-03-54
- การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญในมะเม่า
❖ วิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตน้อยหน่าคุณภาพในพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา 02-04-54-03

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตน้อยหน่าคุณภาพ

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

- สำรวจและจำแนกชนิดของเพลี้ยแป้งและแมลงศัตรูน้อยหน่าในเขตพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา 514
  02-04-54-03-01-00-03-54
  - ชมัยพร บัวมาศ และคณะ
- ศึกษาการใช้สารสกัดจากธรรมชาติในการควบคุมเพลี้ยแป้งน้อยหน่าในเขตพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา 2605
  02-04-54-03-01-00-04-54
  - พวงผกา อ่างมณี และคณะ
- การใช้แมลงช้างปีกใสควบคุมเพลี้ยแป้งในน้อยหน่า 539
  02-04-54-03-01-00-05-55
  - ประภัสสร เชยคำแหง และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการผลิตพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่อย่างมีคุณภาพในเขตภาคกลาง

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตฝรั่ง 02-05-54-01

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตฝรั่ง

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

- การจัดการโรคต้นเหี่ยวของฝรั่ง 2617
  02-05-54-01-01-00-01-54
  - ธิติยา สารพัฒน์ และคณะ
- การจัดการโรคราก ปมของฝรั่ง 2622
  02-05-54-01-01-00-02-54
  - ธิติยา สารพัฒน์ และคณะ

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ฝรั่ง

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

- การคัดเลือกต้นตอฝรั่ง ที่ทนทานหรือ✪ต้านทานต่อโรคเหี่ยวของฝรั่ง 545
  02-05-54-01-02-00-03-54
  - มนตรี เอี่ยมวิมังสา และคณะ

➢การคัดเลือกต้นตอฝรั่งที่ต้านทานต่อโรครากปม✪.....551
02-05-54-01-02-00-03-54
❖ ธิติยา สารพัฒน์ และคณะ

โครงการวิจัย การพัฒนาและทดสอบเทคโนโลยีการผลิตชมพู่ 02-05-54-02

กิจกรรม การป้องกันกำจัดโรคแมลงกำจัดศัตรูชมพู่

กิจกรรมย่อย –

การทดลอง ➢ผลของสารสกัดจากพืชและสารป้องกันกำจัด.....2628
โรคพืชต่อเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของชมพู่
02-05-54-02-02-00-01-56
❖ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่ภาคตะวันออก

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตสละ 02-06-54-03

กิจกรรม ศึกษาสาเหตุและการป้องกันและกำจัดโรคในสละ

กิจกรรมย่อย ศึกษาสาเหตุและการป้องกันกำจัดโรคผลเน่าในสละ

การทดลอง ➢ศึกษาการจัดการโรคผลเน่าของสละ.....556
02-06-54-03-01-01-02-55
❖ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ

กิจกรรม ศึกษาสาเหตุและการป้องกันและกำจัดแมลงในสละ

กิจกรรมย่อย ศึกษาสาเหตุและการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูในสละ

การทดลอง ➢การศึกษาชนิดชีววิทยาและนิเวศวิทยา.....561
ของแมลงศัตรูในสละ
02-06-54-03-02-01-01-54
❖ วนาพร วงษ์นิคง และคณะ
➢การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสละ.....569
02-06-54-03-02-01-02-55
- ศึกษาประสิทธิภาพสารเคมีและสารชีวินทรีย์เพื่อป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสละในสภาพสวน
- การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการห่อผลสละเพื่อป้องกันแมลงศัตรูสละเข้าทำลายในระยะผล

❖ วนาพร วงษ์นิคง และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตแก้วมังกร 02-06-55-02

กิจกรรม การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญในแก้วมังกร

กิจกรรมย่อย –

การทดลอง ➢ศึกษาปริมาณความหนาแน่นและ✪.....577
ช่วงฤดูการระบาดของแมลงวันผลไม้ในแก้วมังกร
02-06-55-02-01-00-01-55
❖ ศรุต สุทธิอารมณ์ และคณะ

➢เทคโนโลยีการห่อผลเพื่อป้องกัน.....582
การทำลายของแมลงศัตรูพืชในแก้วมังกร
02-06-55-02-01-00-02-55
❖ ศรุต สุทธิอารมณ์ และคณะ

กิจกรรม การป้องกันกำจัดโรคสำคัญในแก้วมังกร

กิจกรรมย่อย –

การทดลอง ➢ การศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกัน.....589
กำจัดโรคลำต้นแผลจุดสีน้ำตาลและผลเน่า
ของแก้วมังกร
02-06-55-02-02-00-01-55
❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่ภาคใต้ตอนล่าง

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตมันขี้หนู 02-08-54-05

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตมันขี้หนู

กิจกรรมย่อย การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตมันขี้หนู

การทดลอง ➢วิธีการที่เหมาะสมในการป้องกันกำจัด..... 2880
ไส้เดือนฝอยศัตรูมันขี้หนู
02-08-54-05-01-01-03-54
❖ มนตรี เอี่ยมวิมังสา และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาระบบการผลิตเกษตรอินทรีย์

โครงการวิจัย การศึกษาระบบการปลูกพืชร่วมเพื่อจัดการระบบสมดุลในห่วงโซ่อาหาร ในระบบเกษตรอินทรีย์ 03-02-54-02

กิจกรรม การศึกษารูปแบบของการนำพืชกับดักไปใช้ในระบบการปลูกพืชอินทรีย์

กิจกรรมย่อย การศึกษารูปแบบของการนำพืชกับดักไปใช้ในระบบการปลูกพืชอินทรีย์

การทดลอง ➢ทดสอบรูปแบบการปลูกพืชร่วมใน.....599
ระบบการปลูกพืชผักอินทรีย์ภาคกลาง
03-02-54-02-03-01-01-56
❖ พัชรีวรรณ มณีสาคร และคณะ

กิจกรรม ศึกษารูปแบบการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสานในระบบการปลูกพืชอินทรีย์

กิจกรรมย่อย ศึกษารูปแบบการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสานในระบบการปลูกพืชอินทรีย์

การทดลอง

➢ศึกษารูปแบบการป้องกันกำจัดศัตรูพืช.....605
แบบผสมผสานในระบบการผลิตพืชผักอินทรีย์
พื้นที่ภาคกลาง
03-02-54-02-02-01-01-54
❖ พัชรีวรรณ มณีสาคร และคณะ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตรโดยชีววิธี 03-04-54-01

กิจกรรม การผลิตและการใช้แมลงและไรควบคุมศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การควบคุมแมลงหวี่ขาวโดยชีววิธี

การทดลอง

➢เทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้แตนเบียน✪.....614
สกุล *Encarsia* เพื่อควบคุมแมลงหวี่ขาว
03-04-54-01-01-01-02-54
❖ รจนา ไวยเจริญ และคณะ
➢การทดสอบประสิทธิภาพของแมลงช้างปีกใส.....627
ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวใยเกลียว
03-04-54-01-01-01-03-54
❖ ประภัสสร เชยคำแหง และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้แมลงและไรควบคุมศัตรูพืช

การทดลอง

➢พัฒนาการผลิตมวนเพชฌฆาต.....634
Sycanus versicolor Dohrn
03-04-54-01-01-02-01-54
❖ รัตนา นชะพงษ์ และคณะ
➢พัฒนาการเพาะเลี้ยงและศักยภาพ.....642
การเป็นตัวห้ำของผีเสื้อตัวห้ำ *Spalgis* sp.
(*Lepidoptera: Lycaenidae*)
03-04-54-01-01-02-03-55
❖ ประภัสสร เชยคำแหง และคณะ
➢พัฒนาการเพาะเลี้ยงด้วงเต่า ✪.....649
Cryptolaemus montrouzieri Mulsant
เป็นปริมาณมากเพื่อควบคุมเพลี้ยแป้ง
03-04-54-01-01-02-04-55
❖ รจนา ไวยเจริญ และคณะ

กิจกรรม การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์และไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้ไวรัส NPV ควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง ➢การเพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อไวรัส เอ็นพีวี ✪ 662
ชนิดต่าง ๆ ด้วยเทคนิค Microencapsulation
03-04-54-01-02-01-04-54
❖ สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี และคณะ

➢การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์ไวรัส เอ็นพีวี ✪ 667
สำเร็จรูปเพื่อกำจัดหนอนกระทู้หอม
03-04-54-01-02-01-05-54
❖ สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง ➢การศึกษาผลของสารกำจัดศัตรูพืช.....671
ต่อประสิทธิภาพของแบคทีเรีย
Bacillus thuringiensis และไวรัส NPV
03-04-54-01-02-02-02-54
❖ อิสเรศ เทียนทัด และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้เชื้อราควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง ➢การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพ.....683
เชื้อราบิวเวอเรีย; *Beauveria bassiana* (Balsamo)
เพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช
03-04-54-01-02-03-01-54
❖ เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และคณะ

➢การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียว.....693
เมตาไรเซียม; *Metarhizium anisopliae* (Metsch)
Sorokin เพื่อป้องกันกำจัดด้วงหมัดผัก;
Phyllotreta sinuate (Stephens)
03-04-54-01-02-03-02-55
❖ เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง ➢เทคนิคการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง.....704
Steinernema riobrave
03-04-54-01-02-04-01-54
❖ วิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ

➢ศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย✪.....712
Steinernema riobrave ในการควบคุมด้วง
หมัดผักแถบลาย *Phyllotreta sinuate* (Stephens)
03-04-54-01-02-04-02-54
❖ วิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ
➢วิจัยและพัฒนาการผลิตขยายไส้เดือนฝอย.....721
Steinernema glaseri เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช
03-04-54-01-02-04-03-54
❖ สาทิพย์ มาลี และคณะ
➢การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์.....732
ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae*
สูตรผงในการควบคุมแมลงศัตรูพืช
03-04-54-01-02-04-04-54
❖ สาทิพย์ มาลี และคณะ
➢ปัจจัยที่มีผลต่อการมีชีวิตรอดและ.....740
ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอย
Steinernema carpocapsae ชนิดผง
03-04-54-01-02-04-05-55
❖ วิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ
➢เทคนิคการเก็บรักษาต้นเชื้อไส้เดือนฝอย.....745
ศัตรูแมลงและแบคทีเรียร่วมอาศัย ด้วย
การประยุกต์ใช้วิธีการ Cryopreservation
03-04-54-01-02-04-06-56
❖ พัชรีวรรณ มณีสาคร และคณะ

กิจกรรม การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมโรคพืช

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้แบคทีเรียควบคุมโรคพืช

การทดลอง
➢การพัฒนาผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis*.....750
สายพันธุ์DOA-WB4 แบบผงเพื่อควบคุม
โรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียของมันฝรั่ง
03-04-54-01-03-01-01-54
❖ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และคณะ
➢การพัฒนาผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis*.....759
สายพันธุ์ดินรากยาสูบ No. 4 แบบเม็ด เพื่อ
ควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียของขิง
03-04-54-01-03-01-02-54
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

➢คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มี.....764
ศักยภาพในการควบคุมเชื้อแบคทีเรีย
Erwinia carotovora subsp. *carotovora*
และ *E. chrysanthemi* สาเหตุโรคเน่าเละกล้วยไม้
03-04-54-01-03-01-03-54
❖ บุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ
➢การคัดเลือกและทดสอบสายพันธุ์ Bacillus✪.....793
ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อรา
Phytophthora parasitica
03-04-54-01-03-01-04-54
❖ บุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ
➢การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุม✪.....808
เชื้อรา *Rhizoctonia solani*
03-04-54-01-03-01-06-54
❖ พีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ
➢การคัดเลือกแบคทีเรีย *Pasteuria penetrans*✪.....822
ที่มีศักยภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม
Meloidogyne spp.
03-04-54-01-03-01-07-54
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ
➢การคัดเลือกและทดสอบเชื้อจุลินทรีย์.....828
ปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อรา
Didymella bryoniae สาเหตุโรคยางไหล
ในสภาพแปลงทดลอง
03-04-54-01-03-01-08-56
❖ ทัศนาพร ทัศคร และคณะ
➢การทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย.....2840
Bacillus subtilis ในการควบคุมโรคเหี่ยว
พืชตระกูลแตงที่มีสาเหตุจากเชื้อรา
Fusarium solani
03-04-54-01-03-01-09-56
❖ อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ
➢การทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์
เพื่อควบคุมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าเละ
ของมันฝรั่ง
03-04-54-01-03-01-10-56
❖ รุ่งนภา คงสุวรรณ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้เชื้อราควบคุมโรคพืช

การทดลอง

➢การคัดเลือกเชื้อรา *Oudemansiella* spp.
ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อรา
Colletotrichum gloeosporioides
และ *C. capsici* ในพริก
03-04-54-01-03-02-01-54
❖ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ

➢การคัดเลือกและทดสอบศักยภาพของ✪.....833
เชื้อราปฏิปักษ์ของไส้เดือนฝอยรากปม
03-04-54-01-03-02-03-54
❖ ธิติยา สารพัฒน์ และคณะ

➢การคัดเลือกและทดสอบศักยภาพของ✪.....2845
เชื้อรา *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ที่
ไม่ก่อให้เกิดโรคพืช (non-pathogenic Fusarium)
ในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum*
สาเหตุโรคพืช
03-04-54-01-03-02-04-55
❖ อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

➢การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma harzianum*.....837
ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคใบจุดคะน้า
สาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola*
03-04-54-01-03-02-05-56
❖ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ

➢การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา.....2852
Trichoderma harzianum ในการควบคุม
โรคตายพรายของกล้วยน้ำว้าที่มีสาเหตุจาก
เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. Cubense
ในสภาพแปลงปลูก
03-04-54-01-03-02-06-56
❖ อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

กิจกรรม การควบคุมสัตว์ศัตรูพืช และวัชพืชโดยชีววิธี

กิจกรรมย่อย การควบคุมสัตว์ศัตรูพืชโดยชีววิธี

การทดลอง

➢ศึกษาวิธีการเก็บรักษาสปอร์โรซีสต์ของ✪.....840
ค็อคซิเดียนโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis*
เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิตสารชีวินทรีย์กำจัดหนู
03-04-54-01-04-01-01-54
❖ วิชาญ วรรธนะไกวัล และคณะ

➢คัดเลือกชนิด และศึกษาพฤติกรรม.....848
การกินหอยทากของหอยตัวห้ำ
วงศ์ Streptaxidae ในประเทศไทย
03-04-54-01-04-01-03-54
❖ ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การควบคุมวัชพืชโดยชีววิธี

การทดลอง ➢การศึกษาประสิทธิภาพของถั่วคาโลโปโกเนียม✪.....863
ซีรูเลียมต่อการควบคุมหญ้าคา
03-04-54-01-04-02-01-54
❖ คมสัน นครศรี และคณะ

กิจกรรม ศูนย์ต้นแบบการผลิตขยายศัตรูธรรมชาติเป็นปริมาณมาก

กิจกรรมย่อย –

การทดลอง ➢ศูนย์ต้นแบบการผลิตขยายศัตรูธรรมชาติ.....2457
เป็นปริมาณมาก
03-04-54-01-05-00-01-56
❖ พัชรีวรรณ มณีสาคร และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยการศึกษาและพัฒนาประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
03-04-54-02

กิจกรรม การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อหาสารทดแทนสารเฝ้าระวังและสารที่มีพิษตกค้าง

กิจกรรมย่อย การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงไรและสัตว์ศัตรูพืช

การทดลอง ➢การคัดเลือกสารฆ่าแมลงกลุ่มต่างๆ ในการป้องกัน.....871
กำจัดหนอนใยผัก (Diamond back moth);
Plutella xylostella Linnaeus
03-04-54-02-01-01-01-54
❖ สุภางคนา ถิรวุธ และคณะ
➢ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกัน✪.....2640
กำจัดเพลี้ยไฟหอม (Onion thrips);
Thrips tabaci Lindeman และแมลงหวี่ขาวยาสูบ
(Tobacco whitefly); *Bemisia tabaci* Gennadius
03-04-54-02-01-01-02-54
❖ อุราพร หนูนารถ และคณะ
➢ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการ✪.....879
ป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi* Karny)
03-04-54-02-01-01-03-54
❖ อุราพร หนูนารถ และคณะ

➢การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัด.....889
เพลี้ยหอย; *Aulacaspis* sp. ในทุเรียน
03-04-54-02-01-01-17-56
❖ ศรุต สุทธิอารมณ์ และคณะ
➢การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงและ✪.....893
น้ำมันปิโตรเลียมในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ
และเพลี้ยจักจั่นในมะม่วง
03-04-54-02-01-01-05-54
❖ สราญจิต ไกรฤกษ์ และคณะ
➢การคัดเลือกสารป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง✪.....2644
(Striped Mealybug); *Ferrissia virgata* (Cockerell)
03-04-54-02-01-01-06-54
❖ พวงผกา อ่างมณี และคณะ
➢ประสิทธิภาพสารสกัดสะเดา เชื้อแบคทีเรีย✪ 2561
และสารฆ่าแมลง ในการป้องกันกำจัด หนอนกระทู้หอม
และหนอนแมลงวันชอนใบและผลกระทบ
ต่อแมลงศัตรูธรรมชาติ ในหอมแดง
03-04-54-02-01-01-07-54
❖ สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และคณะ
➢ประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย และสารฆ่าแมลง.....2574
ในการป้องกัน ควบคุมหนอนใยผัก หนอนกระทู้ผัก
และหนอนเจาะยอดกะหล่ำและผลกระทบต่อ
แมลงศัตรูธรรมชาติ ในแปลงทดสอบ
03-04-54-02-01-01-08-54
❖ สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และคณะ
➢ประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย เชื้อไวรัสและ.....904
สารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะสมอฝ้าย
Helicoverpa armigera (Hubner) ในมะเขือเทศ
03-04-54-02-01-01-18-56
❖ ธีราทัย บุญญะประภา และคณะ
➢การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัด.....913
เพลี้ยแป้ง *Exallomochlus hispidus* (Morrison)
03-04-54-02-01-01-19-56
❖ วนาพร วงษ์นิคง และคณะ

➢ศึกษาความเป็นพิษและประสิทธิภาพ✪.....919
ของสบู่ดำ *Jatropha curcus* และมะคำดีควาย
Sapidus emajinatus เพื่อใช้เป็นสารกำจัด
หอยสาลิกา *Sarika sp* และหอยดักดาน
Cryptozona siamensis
03-04-54-02-01-01-12-54
❖ ปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ
➢ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงใน.....929
การป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในมะเขือเทศ
03-04-54-02-01-01-13-55
❖ นลินา พรมเกษ และคณะ
➢ประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัด✪.....939
เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอยศัตรูเงาะ
03-04-54-02-01-01-14-55
❖ ยุทธนา แสงโชติ และคณะ
➢ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด.....2647
หนอนแมลงวันชอนใบเพลี้ยไฟหนอนผีเสื้อในดาวเรือง
03-04-54-02-01-01-15-55
❖ อุราพร หนูนารถ และคณะ
➢ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด.....943
เพลี้ยไฟกุหลาบ และหนอนผีเสื้อศัตรูกุหลาบ
03-04-54-02-01-01-16-55
❖ ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ
➢ทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัด.....966
หนอนเจาะขั้วผล (Fruit borer,
Conopomorpha sinensis Bradley)
03-04-54-02-01-01-20-56
❖ บุษบง มนัสมั่นคง และคณะ
➢การคัดเลือกสารป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง✪.....2652
Paracoccus sp. และเพลี้ยหอย;
Aonidiella orientalis Newstead
03-04-54-02-01-01-21-56
❖ พวงผกา อ่างมณี และคณะ

➢ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลง✪.....969
ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยหอยสีแดงแคลิฟอร์เนีย,
Aonidiella aurantii (Maskell) ในพืชตระกูลส้ม
03-04-54-02-01-01-22-56
❖ ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ

กิจกรรมย่อย การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืช

การทดลอง ➢การศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัด.....976
โรคพืชในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *Rhizoctonia solani*
สาเหตุโรคพืช
03-04-54-02-01-02-01-54
❖ พีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ

➢ประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการ✪.....988
ป้องกันกำจัดเชื้อราสกุล *Alternaria* สาเหตุโรคพืช
03-04-54-02-01-02-02-54
❖ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ

➢การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัด.....2656
โรคพืชในการป้องกันกำจัดเชื้อรา
Curvularia eragrostidis สาเหตุโรคพืช
03-04-54-02-01-02-04-54
❖ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ

➢การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัด✪.....999
โรคพืชในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา
Didymella bryoniae (Auersw.) Rehm.
สาเหตุโรคยางไหล
03-04-54-02-01-02-05-56
❖ ทัศนาพร ทัศคร และคณะ

➢การศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัด.....1006
โรคพืชในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *Exserohilum turcicum*
สาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ข้าวโพด
03-04-54-02-01-02-06-56
❖ พีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ

➢ศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัด✪.....1014
โรคพืชในการป้องกันกำจัดราสกุล *Choanephora*
03-04-54-02-01-02-07-56
❖ ธารทิพย ภาสบุตร และคณะ

กิจกรรมย่อย การศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดวัชพืช

การทดลอง

➢การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อควบคุมธูปฤาษี 1021
03-04-54-02-01-03-01-54
❖ คมสัน นครศรี และคณะ

➢ประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อควบคุมแห้วหมู 1032
03-04-54-02-01-03-02-54
❖ คมสัน นครศรี และคณะ

➢ การศึกษาช่วงเวลาการใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat ในการกำจัดวัชพืชประเภทใบแคบและใบกว้าง 1043
03-04-54-02-01-03-03-54
❖ คมสัน นครศรี และคณะ

➢ทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนและหลังการงอกของวัชพืชเพื่อกำจัดวัชพืชประเภทใบแคบและใบกว้างในแปลงทดสอบ (ทานตะวัน) 1051
03-04-54-02-01-03-05-54
❖ จรัญญา ปิ่นสุภา และคณะ

➢ การศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อควบคุมหญ้าสาบ *Prexelis; Prexelis Clematidea* R.M.King & H.Rob. 1067
03-04-54-02-01-03-06-54
❖ เพ็ญศรี นันทสมสราญ และคณะ

➢การศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อควบคุมวัชพืชเถาเลื้อยในโรงเรือน 1084
03-04-54-02-01-03-07-54
❖ จรัญญา ปิ่นสุภา และคณะ

➢การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในปทุมมา 1102
03-04-54-02-01-03-08-56
❖ ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย และคณะ

กิจกรรม การศึกษาความต้านทานของศัตรูพืชต่อสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การศึกษาความต้านทานของแมลงและไรศัตรูพืชต่อสารป้องกันกำจัด

การทดลอง

➢ความผันแปรของความต้านทานต่อ.....1111
สารฆ่าแมลงในหนอนใยผัก (diamondback moth,
Plutella xylostella (L.)) จากพื้นที่ปลูกต่างๆ
03-04-54-02-02-01-01-54
❖ สุภราดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง และคณะ
➢กลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง.....1121
ในหนอนใยผัก (Diamondback moth,
Plutella xylostella (L.))
03-04-54-02-02-01-02-54
❖ สุภราดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง และคณะ
➢ความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในเพลี้ยไฟฝ้าย.....1131
(Cotton thrips, *Thrips palmi* Karny)
03-04-54-02-02-01-03-54
❖ สุภราดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง และคณะ
➢กลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงใน.....1141
เพลี้ยไฟฝ้าย (Cotton thrips, *Thrips palmi* Karny)
03-04-54-02-02-01-04-54
❖ สุภราดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง และคณะ
➢ความต้านทานต่อสารฆ่าไรบางชนิด.....1149
ของไรแดงแอฟริกัน (African red mite);
Eutetranychus africanus (Tucker) ในสวนส้ม
03-04-54-02-02-01-05-55
❖ อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล
➢ความต้านทานเชื้อแบคทีเรีย✪.....1157
Bacillus thuringiensis ของหนอนกระทู้หอม
03-04-54-02-02-01-06-55
❖ อิสเรศ เทียนทัด

กิจกรรมย่อย การศึกษาความต้านทานของวัชพืชต่อสารป้องกันกำจัด

การทดลอง

➢สถานการณ์การระบาดและการจัดการวัชพืช✪.....1164
ต้านทานสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสท
03-04-54-02-02-02-03-54
❖ จรรยา มณีโชติ และคณะ

กิจกรรม การศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อศัตรูธรรมชาติและสัตว์น้ำ

กิจกรรมย่อย การศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อศัตรูธรรมชาติ

การทดลอง

➢ผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช✪.....1174
ที่มีต่อมวนเพชฌฆาตในสภาพห้องปฏิบัติการ
และสภาพกึ่งแปลงทดสอบ
03-04-54-02-03-01-01-54
❖ สาทิพย์ มาลี และคณะ

➢การศึกษาผลกระทบของสารฆ่าแมลงปากดูด.....1184
ต่อแมลงช้างปีกใส *Plesiochrysa ramburi*
03-04-54-02-03-01-02-54
❖ ประภัสสร เชยคำแหง และคณะ

➢ทดสอบผลของสารป้องกันกำจัด.....1188
ศัตรูมันสำปะหลังต่อแมลงศัตรูธรรมชาติ
03-04-54-02-03-01-06-56
❖ รจนา ไวยเจริญ และคณะ

➢สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชบางชนิดที่ก่อให้✪.....1198
เกิดการระบาดมากขึ้นของไรแดงแอฟริกัน
African red mite, *Eutetranychus ofricanus* (Tucker)
03-04-54-02-03-01-05-54
❖ อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล และคณะ

กิจกรรมย่อย การศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อสัตว์น้ำ

การทดลอง

➢การศึกษาผลกระทบของสารเคมี.....1206
ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในไม้น้ำต่อสัตว์น้ำ
03-04-54-02-03-02-03-56
❖ วนาพร วงษ์นิคง และคณะ

➢ประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืช.....2391
ในการกำจัดสาหร่ายหางกระรอก (Hydrill);
Mydrilla verticillata (Linn.f) Royle
และสาหร่ายพุงชะโด (Common Coontail);
Ceratophyllum demersum Linn
และผลกระทบต่อสัตว์น้ำในเรือนทดลอง
03-04-54-02-03-02-02-55
❖ คมสัน นครศรี และคณะ

กิจกรรมย่อย การศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดวัชพืช

การทดลอง ➢ผลของสารไกลโฟเสท ต่อการเปลี่ยนแปลง✪.....1212
ประชากรวัชพืช
03-04-54-02-03-03-01-54
❖ จรัญญา ปิ่นสุภา และคณะ

➢ผลของสารพาราควอทต่อการเปลี่ยนแปลง✪.....1227
ประชากรของวัชพืช
03-04-54-02-03-03-02-54
❖ จรัญญา ปิ่นสุภา และคณะ

กิจกรรม เทคนิคการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย เทคนิคการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

การทดลอง ➢ผลิตและพัฒนาเหยื่อโปรตีน.....2463
ในการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้
03-04-54-02-04-01-06-56
❖ สัญญาณี ศรีคชา และคณะ

➢ศึกษาประสิทธิภาพของหัวฉีดชนิดต่างๆ.....2808
ประกอบเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลัง
แบบใช้แรงลมในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟศัตรูพริก
03-04-54-02-04-01-02-54
❖ วรวิช สุดจริตธรรมจริยางกูร และคณะ

➢ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงกลุ่มต่างๆ✪.....1236
ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก (Diamond back moth);
Plutella xylostella Linnaeus ด้วยวิธีการพ่นสารแบบน้ำน้อย
03-04-54-02-04-01-03-54
❖ สุภางคนา ถิรวุธ และคณะ

➢ ศึกษาอัตราสารออกฤทธิ์ของสารฆ่าแมลง✪.....1253
กลุ่มต่างๆ ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก
(Diamond back moth); *Plutella xylostella* Linnaeus
ด้วยวิธีการพ่นสารแบบน้ำน้อย
03-04-54-02-04-01-04-54
❖ สุชาดา สุพรศิลป์ และคณะ

➢เทคนิคการพ่นสารป้องกันกำจัด.....2400
เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (Brown plant hopper);
Nilaparvata lugens Stal ในนาข้าว
03-04-54-02-04-01-07-54
❖ พฤทธิชาติ ปุญวัฒโท และคณะ

➢ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงบางชนิด✪.....1274
ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้ายและเพลี้ยไฟ
พริกโดยวิธีการราดบริเวณโคน
03-04-54-02-04-01-05-54
❖ สมรวย รวมชัยอภิกุล และคณะ

กิจกรรมย่อย เทคนิคการใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืช

การทดลอง ➢ผลของอัตราความเข้มข้นของสารกำจัด✪.....1285
วัชพืชและปริมาณน้ำต่อประสิทธิภาพ
การควบคุมวัชพืชโดยใช้เทคนิคการลูบ
03-04-54-02-04-02-03-54
❖ คมสัน นครศรี และคณะ

กิจกรรม การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดใหม่เพื่อคำแนะนำ ในพืชส่งออก

กิจกรรมย่อย การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อคำแนะนำ ในพืชผักสวนครัว

การทดลอง ➢การคัดเลือกสารเคมีและสารสกัดจากพืช.....1296
ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูที่สำคัญในมะเขือเปราะ
03-04-54-02-05-01-02-54
❖ สัญญาณี ศรีคชา และคณะ
➢การคัดเลือกสารป้องกันกำจัด.....1305
แมลงศัตรูสำคัญในผักแพว
03-04-54-02-05-01-03-54
❖ วิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ
➢การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัด.....1322
แมลงศัตรูพืชในคื่นฉ่าย
03-04-54-02-05-01-07-56
❖ อัจฉรา หวังอาษา และคณะ
➢การคัดเลือกสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญ✪.....2672
ในสะระแหน่
03-04-54-02-05-01-05-54
❖ พวงผกา อ่างมณี และคณะ
➢การศึกษาชนิดและทดสอบประสิทธิภาพ.....1326
สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญในชะพลู
03-04-54-02-05-01-06-54
❖ ศรุต สุทธิอารมณ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อคำแนะนำในไม้ดอกไม้ประดับ

การทดลอง

➢ศึกษาชนิดและการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญ.....1333
ในไผ่กวนอิมเพื่อการส่งออก
03-04-54-02-05-02-06-56
❖ บุษบง มนัสมั่นคง และคณะ

➢ศึกษาชนิดและการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญ.....1340
ในไม้ประดับสกุล Euphorbia เพื่อการส่งออก
03-04-54-02-05-02-03-54
❖ บุษบง มนัสมั่นคง และคณะ

➢ประสิทธิภาพสารเคมีในการป้องกันกำจัด✪.....1361
แมลงศัตรูที่สำคัญในชบาสำหรับการปลูกต่อ
เพื่อการส่งออก
03-04-54-02-05-02-04-54
❖ สราญจิต ไกรฤกษ์ และคณะ

➢การคัดเลือกสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญ.....2676
ในไม้ประดับสกุล Plumeria เพื่อการส่งออก
03-04-54-02-05-02-05-54
❖ วิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยการกักกันพืช 03-04-54-03

กิจกรรม การศึกษาศัตรูพืชในประเทศเพื่อการค้าระหว่างประเทศ

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➢การศึกษาชนิดของแมลง/ไร/สัตว์ศัตรู✪.....1368
พืชส่งออก ได้แก่ ข้าวโพดฝักอ่อน และ มะม่วง
พืชนำเข้า ได้แก่ อ้อย และ ข้าวฟ่าง
03-04-54-03-01-00-04-55
❖ เกศสุดา สนศิริ และคณะ

➢การศึกษาชนิดของโรคพืชของพืชเพื่อ✪.....1413
การส่งออก (ข้าวโพดฝักอ่อนและมะม่วง)
และพืชนำเข้า (อ้อยและข้าวฟ่าง)
03-04-54-03-01-00-05-55
❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

➢การศึกษาชนิดของวัชพืชของพืชส่งออก.....2692
ได้แก่ ข้าวโพดฝักอ่อนและมะม่วง
พืชนำเข้า ได้แก่ อ้อยและข้าวฟ่าง
03-04-54-03-01-00-06-54
❖ ศิริพร ซึงสนธิพร และคณะ

กิจกรรม การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของพืชตามบทเฉพาะกาล

การทดลอง

➢การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง.....1446
ศัตรูพืชของข้าวฟ่างนำเข้าจากอินเดีย
03-04-54-03-02-02-01-56
❖ สุรพล ยินอัศวพรรณ และคณะ

➢การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง✪.....1456
ศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ
จากสาธารณรัฐประชาชนจีน
03-04-54-03-02-02-02-56
❖ สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ และคณะ

➢การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง.....1466
ศัตรูพืชของผลแอปเปิ้ลสดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา
03-04-54-03-02-02-03-56
❖ อลงกต โพธิ์ดี และคณะ

➢การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของ✪.....1472
เมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา
03-04-54-03-02-02-04-56
❖ วาสนา ฤทธิ์ไธสง และคณะ

กิจกรรมย่อย การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของพืชตาม พระราชบัญญัติกักพืช(ฉบับที่ 3) พ.ศ.2551

การทดลอง

➢ การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง✪.....1488
ศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ส้ม
จากสาธารณรัฐแอฟริกาใต้
03-04-54-03-02-01-08-55
❖ ณัฏฐพร อุทัยมงคล และคณะ

➢การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง.....1562
ศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์ยาสูบนำเข้าจากบราซิล
03-04-54-03-02-01-09-55
❖ ปรียพรรณ พงศาพิชญ์ และคณะ

➢การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง.....1574
ศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์แคนตาลูปนำเข้าจาก
สหรัฐอเมริกา
03-04-54-03-02-01-10-56
❖ คมศร แสงจินดา และคณะ

กิจกรรม การศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชนำเข้า

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➢การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับ.....1580
เมล็ดพันธุ์ฟักทอง สควัอช และแว๊กกราวด์
ที่นำเข้าจากต่างประเทศ
03-04-54-03-03-00-12-55
❖ วันเพ็ญ ศรีชาติ และคณะ

➢การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับ✪.....1606
เมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่นำเข้าจากต่างประเทศ
03-04-54-03-03-00-12-55
❖ ศรีวิเศษ เกษสังข์ และคณะ

➢การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับ✪.....1616
เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำเข้าจากต่างประเทศ
03-04-54-03-03-00-13-56
❖ ศรีวิเศษ เกษสังข์ และคณะ

➢การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับ✪.....1624
เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าจากต่างประเทศ
03-04-54-03-03-00-14-56
❖ ชลธิชา รักใคร่ และคณะ

➢การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับ✪.....1631
เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่นำเข้าจากต่างประเทศ
03-04-54-03-03-00-15-56
❖ ชลธิชา รักใคร่ และคณะ

➢การศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับ.....1639
หัวพันธุ์แกลดิโอลัสนำเข้าจากต่างประเทศ
03-04-54-03-03-00-16-56
❖ วานิช คำพานิชสังกัด และคณะ

➢การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับ✪.....1650
เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่นำเข้าจากต่างประเทศ
03-04-54-03-03-00-17-56
❖ นงพร มาอยู่ดี และคณะ

➢การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับ✪.....1659
เมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลีที่นำเข้าจากต่างประเทศ
03-04-54-03-03-00-18-56
❖ นงพร มาอยู่ดี และคณะ

➢การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับ✪.....1667
เมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตาที่นำเข้าจากต่างประเทศ
03-04-54-03-03-00-19-56
❖ โสภา พิศวงปราการ และคณะ
➢การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับ✪.....1678
เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวที่นำเข้าจากต่างประเทศ
03-04-54-03-03-00-20-56
❖ โสภา พิศวงปราการ และคณะ

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืชกักกัน

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢การผลิตแอนติซีรัมของเชื้อไวรัส *Potato virus* A.....1689
03-04-54-03-04-00-01-56
❖ สิทธิศักดิ์ แสไพศาล และคณะ
➢การพัฒนาเทคนิคการตรวจวินิจฉัย.....1696
เชื้อ *Acidovorax avenae* sub sp. *citrulli*
ด้วยวิธี PCR-ELISA
03-04-54-03-04-00-02-56
❖ วันเพ็ญ ศรีชาติ และคณะ

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกันเพื่อการส่งออก

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วย.....1707
ความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันทอง
ในผลแก้วมังกรเพื่อการส่งออก
03-04-54-03-05-00-01-54
❖ ชุติมา อ้อมกิ่ง และคณะ
➢วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน
สำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลลองกอง
เพื่อการส่งออก
03-04-54-03-05-00-02-54
❖ รัชฎา อินทรคำแหง และคณะ
➢วิจัยและพัฒนาสถานภาพการเป็นพืชอาศัย.....1719
และวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัด
แมลงวันทองในผลมะนาวเพื่อการส่งออก
03-04-54-03-05-00-03-54
❖ สลักจิต พานคำ และคณะ

➢วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน.....1740
สำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลมะละกอเพื่อการส่งออก
03-04-54-03-05-00-04-54
❖ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ และคณะ
➢วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน✪.....1756
สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลลำไยเพื่อการส่งออก
03-04-54-03-05-00-05-54
❖ ชัยณรัตน์ สนศิริ และคณะ

กิจกรรม การเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➢การเฝ้าระวังการแพร่กระจายไรแดง.....1776
Amphitetranychus viemmensis (Zacher)
ศัตรูพืชกักกันของแอปเปิ้ล
03-04-54-03-06-00-01-54
❖ พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และคณะ
➢การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเพลี้ยแป้ง.....1781
Cataenococcus hispidus Green และ
Planococcus lichi Cox ในลิ้นจี่
03-04-54-03-06-00-02-54
❖ ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ
➢การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของหนอนเจาะผล,✪.....1791
Cryptophlebia ombrodelta (Lower) ในลิ้นจี่
03-04-54-03-06-00-03-54
❖ บุษบง มนัสมั่นคง และคณะ
➢การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเพลี้ยไก่แจ้,.....1798
Trioza erytreae (Del Guercio) ในแหล่ง
ปลูกส้มจังหวัดเชียงใหม่
03-04-54-03-06-00-04-54
❖ ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ
➢การเฝ้าระวังราเขม่าดำ✪.....1805
Urocystis cepulae Frost ในพื้นที่ปลูกหอมแดง
03-04-54-03-06-00-05-54
❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

➢การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของราสนิม.....2721
(tropical maize rust) Physopella zeae (mains)
Cummins & Ramachar ในข้าวโพด
03-04-54-03-06-00-06-54
❖ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ
➢การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของราน้ำค้างข้าวโพด.....2729
Peronosclerospora philippinensis
03-04-54-03-06-00-07-54
❖ ชนินทร ดวงสะอาด และคณะ
➢การเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของแบคทีเรีย✪.....1823
Pseudomonas syringae pv. *syringae*
ในพื้นที่ปลูกหอม และกระเทียม เพื่อการส่งออก
03-04-54-03-06-00-08-54
❖ ทิพวรรณ กันหาญาติ และคณะ
➢การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของ.....2858
Pantoea agglomerans ในพื้นที่ผลิต
เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเพื่อการส่งออก
03-04-54-03-06-00-09-54
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ
➢การเฝ้าระวังการแพร่กระจายโรคไวรัส✪.....1833
ของมันฝรั่งที่เกิดจากไวรัส Potato virus A (PVA),
Potato virus M (PVM), Potato virus T (PVT),
Potato virus X (PVX), Potato virus S (PVS)
และ Potato leaf roll virus (PLRV)
03-04-54-03-06-00-10-54
❖ สิทธิศักดิ์ แสไพศาล และคณะ
➢การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรีย.....2418
Clavibacter michiganensis subsp.
michiganensis (Smith) Davis. ในพื้นที่
ผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศเพื่อการส่งออก
03-04-54-03-06-00-11-56
❖ ณัฏฐพร อุทัยมงคล และคณะ

โครงการวิจัย อนุกรมวิธาน ชีววิทยาและเทคนิคการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ 03-04-54-04

กิจกรรม อนุกรมวิธาน ชีววิทยา และเทคนิคการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

กิจกรรมย่อย อนุกรมวิธาน ชีววิทยา นิเวศวิทยาของแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ

การทดลอง

➢อนุกรมวิธานผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย✪.....1840
Pyraustinae ในประเทศไทย
03-04-54-04-01-01-07-54
❖ สุนัดดา เชาวลิต และคณะ

➢อนุกรมวิธานแมงมุมสกุล *Argiope*.....1876
03-04-54-04-01-01-12-54
❖ วิมลวรรณ โชติวงศ์ และคณะ

➢อนุกรมวิธานแมงมุมวงศ์ Tetragnathidae✪.....1892
ในประเทศไทย
03-04-54-04-01-01-21-55
❖ วิมลวรรณ โชติวงศ์ และคณะ

➢ชีววิทยา การเข้าทำลาย ฤดูกาลระบาดของ.....1895
แมลงวันทองชนิด *Bactrocera cucurbitae* (Coquillet)
03-04-54-04-01-01-14-54
❖ สัญญาณี ศรีคชา และคณะ

➢ความชุกชุมและแหล่งอาศัยของนกแสก✪.....1903
(*Tyto alba javanica* (Gmelin, 1788)
ในพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
03-04-54-04-01-01-16-54
❖ เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ และคณะ

➢อนุกรมวิธานและไส้เดือนฝอย สกุล *Steinernema*.....2468
และ *Heterorhabditis*
03-04-54-04-01-01-17-54
❖ นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ

➢ศึกษาชีววิทยาหอยดักดาน.....1910
(*Cryptozona siamensis*, Pfeiffer)
03-04-54-04-01-01-22-55
❖ สมเกียรติ กล้าแข็ง และคณะ

➢การแพร่กระจายและความหลากหลาย✪.....1918
ทางชีวภาพของหนูนาใหญ่, *Rattus argentiventer*
(Robinson and Kloss,1916) ในประเทศไทย
03-04-54-04-01-01-23-55
❖ สมเกียรติ กล้าแข็ง และคณะ
➢อนุกรมวิธานเพลี้ยหอย สกุล *Coccus*.....1927
03-04-54-04-01-01-24-56
❖ ชมัยพร บัวมาศ และคณะ
➢อนุกรมวิธานแมลงหวี่ขาวในวงศ์ย่อย Aleyrodinae.....1932
03-04-54-04-01-01-25-56
❖ สุนัดดา เชาวลิต และคณะ
➢อนุกรมวิธานเพลี้ยไฟ สกุล *Haplothrips*.....1939
03-04-54-04-01-01-26-56
❖ เกศสุดา สนศิริ และคณะ
➢อนุกรมวิธานมวนปีกแก้วในสกุล *Stephanitis*.....1944
03-04-54-04-01-01-27-56
❖ เกศสุดา สนศิริ และคณะ
➢อนุกรมวิธานผีเสื้อกลางคืนสกุล *Parapoynx*.....1950
03-04-54-04-01-01-28-56
❖ สุนัดดา เชาวลิต และคณะ
➢อนุกรมวิธานของแตนเบียนไข่วงศ์ใหญ่.....1956
Platygastroidea ที่เข้าทำลายหนอนกอข้าว
มวนเขียวข้าว และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
03-04-54-04-01-01-29-56
❖ จารุวัตถ์ แต้กุล และคณะ
➢สัณฐานวิทยาและลำดับพันธุกรรมของ✪.....1967
เพลี้ยไฟดอกไม้ *Frankliniella schultzei* (Trybom)
03-04-54-04-01-01-30-56
❖ อิทธิพล บรรณาการ และคณะ
➢อนุกรมวิธานไรสี่ขาวงศ์ Eriophyidae✪.....1973
ของประเทศไทย
03-04-54-04-01-01-31-56
❖ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง และคณะ
➢ชีววิทยา การเข้าทำลายฤดูกาลระบาด.....2480
ของแมลงวันทองชนิด *Bactrocera tau* (Walker)
03-04-54-04-01-01-32-56
❖ สัญญาณี สรีคชา และคณะ

➢ศึกษาโครโมโซมและเขตการกระจาย.....1977
ของหอยเชอรี่ *Pomacea* spp. ในประเทศไทย
03-04-54-04-01-01-33-56
❖ ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ

➢ความหลากหลายทางพันธุกรรมของ✪.....1989
หนูนาใหญ่ (*Rattus argentiventor,*
Robinson and Kloss 1916) ที่พบในประเทศไทย
03-04-54-04-01-01-34-56
❖ วิชาญ วรรธนะไกวัล และคณะ

➢ศึกษาการจำแนกสายพันธุ์และลักษณะ✪.....1995
ทางพันธุกรรมของปรสิตโปรโตซัว,
Sarcocystis singaswporensis
โดยวิธีทางอณูชีววิทยา
03-04-54-04-01-01-35-56
❖ วิชาญ วรรธนะไกวัล และคณะ

กิจกรรมย่อย อนุกรมวิธาน ชีววิทยา นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช

การทดลอง

➢อนุกรมวิธานและชีววิทยาของรา✪.....2001
Cladosporium สาเหตุโรค
03-04-54-04-01-02-01-54
❖ ชนินทร ดวงสะอาด และคณะ

➢อนุกรมวิธานและชีววิทยาของรา *Alternaria*.....2737
และ *Stemphylium* สาเหตุโรคพืช
03-04-54-04-01-02-02-54
❖ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ

➢อนุกรมวิธานและชีววิทยาของราสกุล.....2010
Choanephora สาเหตุโรคเน่าเปียก (Wet rot)
03-04-54-04-01-02-03-54
❖ ธารทิพย ภาสบุตร และคณะ

➢การจำแนกชนิดของราสกุล *Botryosphaeria*✪.....2020
สาเหตุโรคพืชโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและ
ลักษณะทางพันธุกรรม
03-04-54-04-01-02-04-54
❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

➢การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของรา.....2544
Phytophthora capsici
03-04-54-04-01-02-05-54
❖ อมรรัตน์ ภูไพบูลย์ และคณะ

➢การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของรา.....2031
Didymella bryoniae (Auersw.) Rehm.
03-04-54-04-01-02-06-54
❖ ทัศนาพร ทัศคร และคณะ

➢การจำแนกชนิดและเอกลักษณ์ทางพันธุกรรม.....2042
ของ Race แบคทีเรีย *Rasonia solanacearum*
ที่พบในประเทศไทย
03-04-54-04-01-02-07-54
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

➢การจำแนกชนิดแบคทีเรีย Erwinia สาเหตุ
โรคเน่าเละโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา
และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม
03-04-54-04-01-02-08-54

- อนุกรมวิธานและชีววิทยาของเชื้อแบคทีเรีย
  Erwinia สาเหตุโรคเน่าเละ ในประเทศไทย
  ❖ รุ่งนภา คงสุวรรณ์ และคณะ

➢ อนุกรมวิธานและความสามารถ✪.....2049
ในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย
migratory endoparasitic nematodes
03-04-54-04-01-02-09-54
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ

➢อนุกรมวิธานและชีววิทยาของไส้เดือนฝอย.....2485
สกุล *Radopholus*
03-04-54-04-01-02-10-54
❖ นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ

➢อนุกรมวิธานไวรัสกลุ่ม Tospovirus
สาเหตุโรคพืชที่สำคัญในประเทศไทย
03-04-54-04-01-02-11-54
❖ เยาวภา ตันติวานิช และคณะ

➢การจำแนกชนิดของราสกุล *Colletotrichum*✪.....2055
สาเหตุโรคพืช โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา
และลักษณะทางพันธุกรรม
03-04-54-04-01-02-12-54
❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

➢ลักษณะของเชื้อ *Pectobacterium* spp.
และ Dickeya spp.สาเหตุโรคเน่าดำ และเน่าเละ
ของมันฝรั่งในประเทศไทย
03-04-54-04-01-02-13-56
❖ รุ่งนภา คงสุวรรณ์ และคณะ

➢การจำแนกชนิดแบคทีเรียสาเหตุโรคใบไหม้.....2064
และใบจุดของกล้วยไม้สกุลมอคคาร่าและแวนด้า
03-04-54-04-01-02-14-56
❖ ทิพวรรรณ กันหาญาติ และคณะ

➢การศึกษาการถ่ายทอดเชื้อ.....2070
Exserohilum tuecicum บนเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด
03-04-54-04-01-02-15-56
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

➢การจำแนกชนิดของราสกุล *Phyllosticta*✪.....2075
สาเหตุโรคพืช โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา
และลักษณะทางพันธุกรรม
03-04-54-04-01-02-16-56
❖ พรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

กิจกรรมย่อย อนุกรมวิธาน ชีววิทยา นิเวศวิทยาของวัชพืช

การทดลอง

➢ชีววิทยา และการแพร่กระจายของวัชพืช.....2746
สกุลผักแว่น (Marsilea) และศักยภาพการเป็นวัชพืช
ของผักแว่นต่างถิ่น
03-04-54-04-01-03-01-54
❖ ศิริพร ซึงสนธิพร และคณะ

➢ชีววิทยาและการแพร่ระบาดของหญ้าอีหนาว✪.....2779
Digera muricata (L.) Mart.
03-04-54-04-01-03-02-54
❖ ศิริพร ซึงสนธิพร และคณะ

➢สัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชวงศ์ผักโขม.....2083
Amaranthaceae
03-04-54-04-01-03-03-54
❖ ภัทร์พิชชา รุจิรพงศ์ชัย และคณะ

➢สัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืช.....2106
สกุลน้ำนมราชสีห์ Euphorbia
03-04-54-04-01-03-04-54
❖ ธัญชนก จงรักไทย และคณะ

➢ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของสาบม่วง✪.....2121
(*Praxelis clematidea* R.M. King & H.Rob.)
03-04-54-04-01-03-08-54
❖ ยุรวรรณ อนันตนมณี และคณะ

➢สัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืช.....2793
วงศ์หญ้างวงช้าง Boraginaceae
03-04-54-04-01-03-09-56
❖ ศิริพร ซึงสนธิพร และคณะ

➢สัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลใต้ใบ✪.....2130
Phyllanthus L.
03-04-54-04-01-03-10-56
❖ ธัญชนก จงรักไทย และคณะ

กิจกรรม วิจัยความหลากชนิดของแมลงเพื่อเก็บ - รักษาในพิพิธภัณฑ์

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

➢ชนิดของแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์.....2135
ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย
03-04-54-04-02-00-02-54
❖ สุนัดดา เชาวลิต และคณะ

➢ความหลากชนิดของแมลงปออันดับโอโดนาทา.....2143
(Odonata) ในภาคเหนือของประเทศไทย
03-04-54-04-02-00-03-54
❖ อิทธิพล บรรณาการ และคณะ

➢ความหลากชนิดของตั๊กแตนหนวดสั้น.....2147
วงศ์ Acrididae ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย
03-04-54-04-02-00-04-54
❖ สุนัดดา เชาวลิต และคณะ

➢ความหลากชนิดของมดในพื้นที่ศูนย์วิจัยและ.....2155
พัฒนาการเกษตรตาก และป่าธรรมชาติของจังหวัดตาก
03-04-54-04-02-00-05-54
❖ ชมัยพร บัวมาศ และคณะ

➢ความหลากชนิดของด้วงงวงในเขตสงวน.....2165
ชีวมณฑลสะแกราช
03-04-54-04-02-00-06-54
❖ อิทธิพล บรรณาการ และคณะ

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการวินิจฉัยและตรวจสอบศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

กิจกรรมย่อย การพัฒนาเทคโนโลยีการตรวจสอบศัตรูพืชโดยเซรุ่มวิทยา

การทดลอง

➢การวิจัยและพัฒนา การผลิตชุดตรวจสอบ.....2184
เชื้อไวรัส *Sugarcane mosaic virus* subgroup
Maize dwarf mosic virus
03-04-54-04-03-01-04-54
❖ เยาวภา ตันติวานิช และศิวิไล ลาภบรรจบ

➢การพัฒนาชุดตรวจสอบแบบ.....2194
Lateral flow test strip เพื่อตรวจสอบ
แบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. gladioli
03-04-54-04-03-01-05-54
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

➢การวิจัยและพัฒนาการผลิตชุดตรวจสอบ
GLIFT Kit (Gold Labeling IgG Flow Test)
สำหรับตรวจไวรัส ในกลุ่ม Tospovirus
03-04-54-04-03-01-06-56
❖ เยาวภา ตันติวานิช และคณะ

➢การผลิตชุดตรวจสอบ *Bean yellow mosaic virus*.....2204
สำเร็จรูปโดยเทคนิค Gold Labeling IgG flow test
03-04-54-04-03-01-07-56
❖ สิทธิศักดิ์ แสไพศาล และคณะ

➢การพัฒนาชุดตรวจสอบไวรัส.....2211
PVY PVX PVS ในมันฝรั่ง
03-04-54-04-03-01-08-56
❖ สิทธิศักดิ์ แสไพศาล และคณะ

กิจกรรมย่อย การพัฒนาเทคโนโลยีการตรวจสอบศัตรูพืชโดยอณูชีววิธี

การทดลอง

➢การตรวจสอบเชื้อ *Candidatus Liberibacter* species
สาเหตุโรคฮวงลองบิง (กรีนนิ่ง) ด้วยเทคนิค Real-time PCR
03-04-54-04-03-02-01-54
❖ ดารุณี ปุญญพิทักษ์ และคณะ

➢การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย.....2863
Xanthomomnas axonopodis pv. *Citri*
ด้วยเทคนิค Real-time PCR
03-04-54-04-03-02-02-54
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

➢พัฒนาเทคนิคการตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมา.....2218
สาเหตุโรคใบขาวอ้อย ด้วยกรดนิวคลีอิกตัวตรวจ
03-04-54-04-03-02-07-54
❖ กาญจนา วาระวิชะนี และคณะ

➢การตรวจสอบเชื้อไวรัส.....2491
Watermelon silver mottle virus (WSMoV)
ที่เป็นสาเหตุโรคของพืชตระกูลแตง
ด้วยเทคนิคอณูชีววิทยา
03-04-54-04-03-02-08-56
❖ กาญจนา วาระวิชะนี และคณะ

กิจกรรมย่อย การพัฒนาเทคโนโลยีการตรวจสอบศัตรูธรรมชาติโดยอณูชีววิธี

การทดลอง ➢การจำแนกสายพันธุ์ *Bacillus thuringiensis*.....2233
ที่พบในประเทศไทยโดยเทคนิค PCR
03-04-54-04-03-03-01-54
❖ ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ และคณะ

➢การจำแนกสายพันธุ์ Nucleopolyhedrovirus.....2239
ที่พบในประเทศไทยโดยเทคนิค PCR
03-04-54-04-03-03-02-56
❖ ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การพัฒนาเทคนิคอย่างง่ายและรวดเร็วในการแยกศัตรูพืชเพื่อการวินิจฉัย

การทดลอง ➢การพัฒนาชุดตรวจสอบและเทคนิค.....2495
การแยกไส้เดือนฝอยในรากพืช
03-04-54-04-03-04-01-54
❖ นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยมาตรการสุขอนามัยพืชในการนำเข้าสินค้าเกษตร 03-04-55-01

กิจกรรม การศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าสินค้าเกษตร

กิจกรรมย่อย ศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าสินค้าเกษตร จากประเทศในเขตโอเชียเนีย

การทดลอง ➢ศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช.....2245
สำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริกจากเครือรัฐออสเตรเลีย
03-04-55-01-01-01-01-55
❖ วาสนา ฤทธิ์ไธสง

➢ศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช.....2259
สำหรับการนำเข้าผลพลับสดจากนิวซีแลนด์
03-04-55-01-01-01-02-55
❖ วรัญญา มาลี

➢ ศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช.....2266
สำหรับการนำเข้าผลแอปเปิลสดจากนิวซีแลนด์
03-04-55-01-01-01-03-55
❖ อลงกต โพธิ์ดี

➢ศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช.....2280
สำหรับการนำเข้าผลสดมะเขือเทศจากนิวซีแลนด์
03-04-55-01-01-01-04-55
❖ สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ

กิจกรรมย่อย ศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าสินค้าเกษตร จากประเทศในทวีปอเมริกาเหนือ

การทดลอง ➢ศึกษาการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช.....2289
สำหรับการนำเข้าผลพืชสดจากสหรัฐอเมริกา
03-04-55-01-01-02-01-55
❖ วลัยกร รัตนเดชากุล

กิจกรรม การศึกษาประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืชกับสินค้าเกษตรที่นำเข้า

กิจกรรมย่อย ศึกษาประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืชกับสินค้าเกษตรนำเข้าจากประเทศในเขตโอเชียเนีย

การทดลอง ➢ศึกษาประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืช.....2298
กับผลองุ่นสดนำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลีย
03-04-55-01-02-01-01-55
❖ วรัญญา มาลี

➢ ศึกษาประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืช.....2308
กับผลส้มสดนำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลีย
03-04-55-01-02-01-02-55
❖ วลัยกร รัตนเดชากุล

กิจกรรมย่อย ศึกษาประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืชกับสินค้าเกษตรนำเข้าจากประเทศในทวีปอเมริกาใต้

การทดลอง ➢ศึกษาประสิทธิภาพมาตรการทางสุขอนามัยพืช✪.....2319
กับผลองุ่นสดนำเข้าจากสาธารณรัฐเปรู
03-04-55-01-02-02-01-55
❖ อลงกต โพธิ์ดี

โครงการวิจัย วิจัยมาตรการสุขอนามัยพืชในการส่งออกสินค้าเกษตร 03-04-56-01

กิจกรรม การศึกษามาตรการสุขอนามัยพืชในการส่งออกสินค้าเกษตรที่มีศักยภาพ

กิจกรรมย่อย ศึกษามาตรการสุขอนามัยพืชในการส่งออกผักและเมล็ดพันธุ์

การทดลอง ➢ศึกษามาตรการสุขอนามัยพืช.....2328
ในการส่งออกหน่อไม้ฝรั่ง
03-04-56-01-01-01-01-56
❖ ณัฏฐพร อุทัยมงคล

กิจกรรมย่อย ศึกษามาตรการสุขอนามัยพืชในการส่งออกผลไม้

การทดลอง ➢ศึกษามาตรการสุขอนามัยพืช.....2344
ในการส่งออกผลส้มโอ
03-04-56-01-01-02-02-56
❖ วรัญญา มาลี

➢ศึกษามาตรการสุขอนามัยพืช.....2352
ในการส่งออกผลมะพร้าวอ่อน
03-04-56-01-01-02-03-56
❖ สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการคุ้มครองพันธุ์พืช

โครงการวิจัย การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์เพื่อบันทึกลักษณะเพื่อประโยชน์ในการคุ้มครองพันธุ์พืชตามกฎหมายคุ้มครองพันธุ์พืช พ.ศ. 2542 03-11-54-02

กิจกรรม -

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง ➢ศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์✪.....2803
และการจำแนกพรรณไม้น้ำ
03-11-54-02-00-03-03-54
❖ ศิริพร ซึงสนธิพร และธัญชนก จงรักไทย

โครงการวิจัยเร่งด่วน

โครงการวิจัย การจัดการแมลงศัตรูที่สำคัญของมะพร้าวแบบบูรณาการ

กิจกรรม -

กิจกรรมย่อย -

การทดลอง

- การใช้สารสกัดสะเดาป้องกันกำจัด✪.....2359 หนอนหัวดำมะพร้าว Coconut black-head caterpillar; *Opisina arenosella* (Walker) ด้วยวิธี Trunk injection
  - ❖ สุเทพ สหายา
- การป้องกันกำจัดหนอนหัวดำมะพร้าว.....2367 Coconut black-head caterpillar; *Opisina arenosella* (Walker) โดยวิธีพ่นทางใบ
  - ❖ สุเทพ สหายา
- การป้องกันกำจัดแมลงดำหนามมะพร้าว; ✪.....2376 *Brontispa logissima* (Gestro) โดยวิธี Trunk injection ราดสารบริเวณรอบคอมะพร้าว และการใส่สารฆ่าแมลงในถุงชา (ผ้า)
  - ❖ สุเทพ สหายา

หมายเหตุ : ✪ ชื่อการทดลองที่นักวิจัยแจ้งไม่ตรงกับชื่อการทดลองจากกองแผนงาน

การศึกษาชนิดของแมลง/ไร/สัตว์ศัตรูพืชส่งออก ได้แก่ ข้าวโพดฝักอ่อน และ มะม่วง พืชนำเข้า ได้แก่ อ้อย และ ข้าวฟ่าง

Insect Pest species of Imported and Exported Crops

เกศสุดา สนศิริ ลักขณา บำรุงศรี สุนัดดา เชาวลิต ชมัยพร บัวมาศ อิทธิพล บรรณาการ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูพืชทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยจาก พืชส่งออก 2 พืช ได้แก่ ข้าวโพดฝักอ่อน และมะม่วง และพืชนำเข้า 2 พืช ได้แก่ อ้อย และข้าวฟ่าง จากแหล่งปลูกพืชดังกล่าวทั่วประเทศ ระหว่างเดือน ตุลาคม 2554 ถึง เดือนกันยายน 2556 นำตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน รวมทั้งตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบันของแมลงศัตรูพืชทั้งหมดที่พบ ในการศึกษาครั้งนี้ พบแมลงศัตรูพืชทั้งหมด 6 อันดับ 22 วงศ์ 61 ชนิด โดยพบแมลงศัตรูในพืชส่งออก **ข้าวโพดฝักอ่อน** 5 อันดับ 9 วงศ์ 18 ชนิด ได้แก่ อันดับ Hemiptera 4 วงศ์ 6 ชนิด อันดับ Thysanoptera 1 วงศ์ 3 ชนิด อันดับ Lepidoptera 2 วงศ์ 7 ชนิด อันดับ Coleoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด และอันดับ Orthoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด **มะม่วง** 5 อันดับ 12 วงศ์ 26 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera 2 วงศ์ 5 ชนิด อันดับ Hemiptera 6 วงศ์ 16 ชนิด อันดับ Thysanoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด อันดับ Diptera 2 วงศ์ 3 ชนิด และอันดับ Lepidoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด **อ้อย** 4 อันดับ 14 วงศ์ 19 ชนิด ได้แก่ อันดับ Lepidoptera 2 วงศ์ 4 ชนิด อันดับ Coleoptera 3 วงศ์ 3 ชนิด อันดับ Hemiptera 8 วงศ์ 10 ชนิด และอันดับ Orthoptera 1 วงศ์ 2 ชนิด **ข้าวฟ่าง** 3 อันดับ 8 วงศ์ 11 ชนิด ได้แก่ อันดับ Hemiptera 3 วงศ์ 5 ชนิด อันดับ Lepidoptera 3 วงศ์ 5 ชนิด และอันดับ Diptera 1 วงศ์ 1 ชนิด

Abstract

A survey and collecting of insect pest species from the export and import agricultural commodities were implemented from October 2011 – September 2013. The experiment was conducted from the primary economic crops across the country: baby corn and mango for the imports, as well as sugarcane and sorghum for the exports. The samples were examined based on classical taxonomy. Reinvestigation of taxonomic information is carried out as well as the validated scientific names are here addressed. In total of 61 species from 6 orders and 22 families were found. For the

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-01-00-04-55

imported commodities, 18 species from 5 orders and 9 families were found in baby corn including, Hemiptera (4 families, 6 species), Thysanoptera (1 family, 3 species), Lepidoptera (2 families, 7 species), Coleoptera (2 families, 2 species), and Orthoptera (1 family 1 species). The result from a survey from imported mango reveals that 26 species from 5 orders and 13 families were found encompassing with Coleoptera (2 families, 5 species), Hemiptera (4 families, 6 species), Thysanoptera (1 family, 1 species), Diptera (2 families, 3 species), and Lepidoptera (1 family, 1 species). For the exported sugarcane, 19 species from 4 orders 14 families were found including Lepidoptera (2 families, 4 species), Coleoptera (3 families, 3 species), Hemiptera (8 families, 10 species), and Orthoptera (1 family, 2 species). In total of 11 species from 3 orders and 7 families were found in sorghum, including Hemiptera (3 families, 5 species), Lepidoptera (4 families, 5 species), and Diptera (1 family, 1 species).

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม รายได้จากการส่งออกของประเทศส่วนใหญ่มาจากสินค้าเกษตร เช่น ไม้ดอก พืชผัก และไม้ผล จากการเปิดเสรีทางการค้าทำให้ประเทศไทยในฐานะประเทศสมาชิกองค์การค้าโลก (World Trade Organization) ต้องปฏิบัติตามกฎเกณฑ์เกี่ยวกับการค้าสินค้าเกษตร ภายใต้ความตกลงว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการด้านสุขอนามัย และสุขอนามัยพืช (Agreement on Application of Sanitary and Phytosanitary Measure หรือ SPS) ซึ่งระบุไว้ชัดเจนว่า ประเทศสมาชิกมีสิทธิ์และพันธกรณีพื้นฐาน (right and obligation) ในการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชจากต่างประเทศ มิให้เข้าไปเป็นอันตรายหรือเกิดความเสียหายต่อสุขภาพมนุษย์ สัตว์ พืชและสิ่งแวดล้อม (อรุณี, 2543) วิธีการปฏิบัติคือประเทศผู้นำเข้าสินค้าเกษตรต้องมีการตรวจสอบศัตรูพืช โดยวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis : PRA) อาจจะเป็นโรคพืช แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช หรือวัชพืชที่ติดมากับสินค้าเกษตรที่นำเข้า โดยประเทศผู้นำเข้าจะขอบัญชีรายชื่อและข้อมูลศัตรูพืชแต่ละชนิดของสินค้าเกษตรที่จะนำเข้านั้น ๆ ซึ่งประเทศผู้ส่งออกจะต้องเป็นผู้จัดทำ หากประเทศผู้ส่งออกไม่มีบัญชีรายชื่อศัตรูพืชพร้อมข้อมูลที่สมบูรณ์ครบถ้วนตามความต้องการของผู้นำเข้า ทำให้ประเทศผู้นำเข้าไม่มีข้อมูลเพียงพอเพื่อนำไปประกอบในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช อาจมีผลทำให้เกิดปัญหาต่อการอนุญาตให้นำเข้าสินค้าเกษตรนั้น ซึ่งปัจจุบันนับว่าเป็นปัญหาที่สำคัญอย่างมากสำหรับประเทศที่ต้องการส่งออกหรือนำเข้าสินค้าเกษตร ซึ่งหลายประเทศมีความตื่นตัวและเร่งดำเนินการจัดทำบัญชีข้อมูลรายละเอียดศัตรูพืชเพื่อพร้อมในการเจรจาการค้าระหว่างประเทศ

การศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชนำเข้า ได้แก่ ข้าวฟ่าง(Sorghum; *Sorghum* sp.) และอ้อย (Sugar cane; *Saccharum officinarum* Linn.) เพื่อการนำเข้าพืชดังกล่าวของประเทศไทย และสำหรับพืชส่งออก ได้แก่ ข้าวโพดฝักอ่อน (Baby corn); *Zea mays* Linn. และมะม่วง (Mango); *Mangifera indica* Linn. (เริ่มตุลาคม 2554 ถึงกันยายน 2556) ซึ่งประเทศไทยกำลังเตรียมข้อมูลเพื่อส่งออกไปยังประเทศเครือรัฐออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา อิหร่าน นิวซีแลนด์ ก็มีความจำเป็นต้องเร่งดำเนินการเช่นกัน เพื่อได้ข้อมูลบัญชีรายชื่อที่พร้อมให้ประเทศคู่ค้าได้นำไปวิเคราะห์ความเสี่ยงเพื่อประกอบการพิจารณาการนำเข้าพืชเหล่านี้จากประเทศไทย ซึ่งงานลักษณะนี้เป็นงานที่มี

วัตถุประสงค์หลัก เพื่อยืนยันว่ามีหรือไม่มีแมลงศัตรูพืชในแต่ละพืชที่ต้องการนำเข้าหรือส่งออกจากประเทศต้นทาง หากพบแมลงศัตรูพืชต้องมีข้อมูลว่าพบการทำลายที่ส่วนใดของพืช และนอกจากต้องการข้อมูลดังกล่าวแล้วยังต้องตรวจสอบรายชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบัน พร้อมกับเก็บรวบรวมตัวอย่างของจริงไว้ในพิพิธภัณฑ์ เพื่อยืนยัน ตรวจสอบ และอ้างอิง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างแมลงศัตรูพืช

2. อุปกรณ์เก็บจัดรูปร่างแมลง ได้แก่ สวิงจับแมลง ขวดฆ่าแมลงที่บรรจุสารเอททิลอะซีเตท กระดาษแข็งขนาด A4 ขวดดองแมลงพร้อมแอลกอฮอล์ 70-80% ขวดพร้อมน้ำยาเก็บรักษาตัวอย่างเพลี้ยไฟเอจีเอ (AGA) ซึ่งเป็นส่วนผสมของแอลกอฮอล์ 60% 10 ส่วน กลีเซอรีน 1 ส่วน และกรดน้ำส้ม 1 ส่วน ปากคีบ ซองกระดาษสามเหลี่ยม พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก กล่องรักษาความเย็น ถังแช่ตัวอย่างแมลง ไม้จัดรูปร่างตัวอย่างแมลง เข็มไร้สนิม ตู้อบตัวอย่างแมลง หีบไม้/ตู้เก็บตัวอย่างแมลง การบูร โหลชื้น

3. อุปกรณ์และสารเคมีทำสไลด์ถาวร

3.1 อุปกรณ์ แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ (Cover glass) เข็มเขี่ย หลอดดูด กระจกนาฬิกา บีคเกอร์ หลอดแก้วทดลอง เตาไฟฟ้า ตู้อบแผ่นสไลด์

3.2 สารเคมี น้ำกลั่น แอลกอฮอล์ 60-100% โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 5% โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 10% คาร์บอลไซลีน (Carbol xylene) ซึ่งเป็นสารละลายของไซลีน 3 ส่วนและผลึกกรดคาร์โบลิค (Carbolic acid crystal) 1 ส่วน กรดเกลือ (Hydrochlorlic acid) 10% สารละลายเอ็น-บิวทิลแอลกอฮอล์ (N-butyl alcohol) น้ำยาย้อมสีซึ่งเป็นสารละลายของแอซิดฟุชชิน (Acid fuchsin) 0.5 กรัม และกรดเกลือ 10% 25 มิลลิลิตร สารละลายคาร์บอนไซลอล (Carbon-xylol) ซึ่งมีส่วนผสมของไซลีน 90 ส่วน กับฟีนอล 10 ส่วน แลคติกแอซิด (Lactic acid) โคลฟออย (Clove oil) แคนาดาบัลซัม (Canada balsum)

4. อุปกรณ์ในการวาดภาพ กล้องถ่ายรูป กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereomicroscope และชนิด Compound microscope

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของแมลงศัตรูพืชนำเข้า ได้แก่ ข้าวฟ่าง และอ้อย ในพืชส่งออก 2 พืช ได้แก่ ข้าวโพดฝักอ่อน และมะม่วง จากเอกสารที่มีรายงานเกี่ยวกับแมลงศัตรูพืชทั้งในและต่างประเทศ

2. สำรวจ รวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูพืชจากแหล่งปลูกพืชทั้ง 2 พืช โดยใช้สวิงโฉบ / เคาะหรือเขย่ากิ่ง ต้น หรือดอกของพืชเพื่อให้แมลงศัตรูพืชตกลงบนอุปกรณ์ที่รองรับ หรือตัดใบ / กิ่ง / ยอดของพืชที่มีแมลงศัตรูพืชเกาะอาศัยด้วยกรรไกรตัดกิ่ง ใช้พู่กันเขี่ยแมลงศัตรูพืชที่พบใส่ขวดที่บรรจุน้ำยาดอง หรือนำตัวอย่างแมลงศัตรูพืชพร้อมพืชใส่ถุงพลาสติก กล่องพลาสติก หรือถุงกระดาษ เก็บตัวอย่างดังกล่าวในกล่องรักษาความเย็น ภายในบรรจุน้ำแข็งแห้งเพื่อรักษาตัวอย่างให้สดอยู่เสมอ หากตัวอย่างที่รวบรวมได้อยู่ในระยะตัวอ่อน เช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยหอย เพลี้ยอ่อน หนอนผีเสื้อ หนอนแมลงวันผลไม้ ฯลฯ ต้องนำตัวอย่างไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย

วิธีการที่กล่าวถึงทั้งหมดเป็นวิธีการสากลที่ใช้ในการศึกษางานด้านอนุกรมวิธาน โดยจะไม่มีวิธีการสุ่มหรือกำหนดขนาดตัวอย่างที่เหมาะสมเหมือนงานวิจัยอื่นๆ เนื่องจากงานอนุกรมวิธานเป็นงานวิจัยเชิงสำรวจไม่ใช่เป็นงานวิจัยเพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมี หรือรูปแบบการแพร่กระจายของศัตรูพืช การสำรวจรวบรวมสามารถดำเนินการได้ทุกสถานที่ที่มีการปลูกพืชนั้นๆ ซึ่งหากสามารถรวบรวมตัวอย่างได้มากก็จะสามารถยืนยันลักษณะทางอนุกรมวิธานของแมลงแต่ละชนิดที่ได้ศึกษา หรืออาจพบลักษณะที่แปรปรวนของแมลงชนิดเดียวกัน แต่หากรวบรวมตัวอย่างแมลงได้เพียง 1 ตัวอย่างในพืชหรือสถานที่ใดก็ตามก็สามารถนำมาศึกษาด้านอนุกรมวิธานได้เช่นกัน ซึ่งตัวอย่างที่เก็บได้เพียงตัวอย่างเดียวนี้ในบางครั้งอาจพบว่าเป็นแมลงที่พบใหม่ (New record) หรือแมลงชนิดใหม่ (New species) ซึ่งการศึกษาถึงชนิดของแมลงก็อยู่ในขอบข่ายของงานวิจัยด้านอนุกรมวิธาน จึงใช้หลักการและวิธีการเช่นเดียวกัน

3. บันทึกรายละเอียดของแมลงศัตรูพืช และข้อมูลอื่นที่สำคัญ ได้แก่ ชนิดของพืช ส่วนของพืชที่พบตัวอย่าง ลักษณะการทำลาย วัน / เดือน / ปี สถานที่ และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งบันทึกโดยการถ่ายภาพ

4. นำตัวอย่างที่บันทึกรายละเอียดไปจัดเตรียมตัวอย่างแมลง เพื่อวิเคราะห์ชนิดโดยการจัดรูปร่างหรือทำสไลด์ถาวรแมลงแต่ละชนิดตามวิธีการของ (ศิริณี, 2548)

5. นำตัวอย่างจากข้อ 4 ไปตรวจวิเคราะห์ชนิด โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดแมลงศัตรูพืชและเอกสารรายงานถึงชนิดศัตรูพืชที่พบในประเทศไทยจาก CABI (2003), CABI (2007), Flint (1991), Pholboon (1965) และWongsiri (1991) ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

6. จัดทำป้ายและบันทึกข้อมูลรายละเอียดบนป้ายบันทึกกำกับตัวอย่างแมลง ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ พืชอาหาร วัน / เดือน / ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งวัน / เดือน / ปี และชื่อผู้วิเคราะห์ชนิด

7. นำตัวอย่างแมลงศัตรูพืชที่ได้ศึกษาวิจัยทั้งหมด เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของพิพิธภัณฑ์สิ่งสำคัญของการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest List) จำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีตัวอย่างจริงของแมลงศัตรูพืชทุกชนิดที่ได้รายงาน เก็บรักษาไว้เพื่อการตรวจสอบ / สืบค้น / อ้างอิง

การบันทึกข้อมูล

บันทึกรายละเอียดของแมลง/ ไร/ หอยศัตรูพืช ส่วนของพืชที่พบตัวอย่าง ลักษณะการทำลาย วัน /เดือน /ปี สถานที่ แหล่งที่พบ พิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งบันทึกโดยการถ่ายภาพ

เวลาและสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2554 ถึง เดือนกันยายน 2556

สถานที่ 1. แปลงปลูก ข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง ข้าวฟ่าง และอ้อย ในจังหวัดต่างๆ ทุกภาคของประเทศไทย

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชเพื่อการนำเข้าและส่งออก ระหว่างเดือนตุลาคม 2554 ถึงเดือนกันยายน 2556 ในพืชส่งออก 2 พืช คือ ข้าวโพดฝักอ่อน และมะม่วง ในพืชนำเข้า 2 พืช คือ อ้อย และข้าวฟ่าง โดยสำรวจเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลง จากแหล่งปลูกจังหวัด สระบุรี ลพบุรี อุทัยธานี นครสวรรค์ นครราชสีมา ขอนแก่น นครปฐม กาญจนบุรี สุพรรณบุรี พิษณุโลก แพร่ เชียงใหม่ อ่างทอง สิงห์บุรี ชัยนาท ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร และ สุราษฎร์ธานี พบแมลงศัตรู ดังนี้

ข้าวโพดฝักอ่อน พบแมลงศัตรูพืช 18 ชนิด เพลี้ยอ่อนข้าวโพด *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) (Hemiptera: Aphididae) เพลี้ยอ่อนฝ้าย *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) เพลี้ยอ่อนอ้อย *Melanaphis sacchari* (Zehntner) (Hemiptera: Aphididae) เพลี้ยไฟ *Thrips hawiiensis* (Morgan) (Thysanoptera: Thripidae) เพลี้ยไฟ *Franklinella williamsi* Hood (Thysanoptera: Thripidae) เพลี้ยไฟ *Franklinella schultzei* Trybon (Thysanoptera: Thripidae) หนอนกระทู้คอรวง *Mythimna separat*a Walker (Lepidoptera: Noctuidae) หนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigue* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด *Ostrinia furnacolis* Guenee (Lepidoptera: Pyralidae) หนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) หนอนเจาะสมอฝ้าย *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) หนอนกอสีชมพู *Sesamia inferens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) แมลงค่อมทอง *Hypomeces squamosus* Fabricius (Coleoptera: Curculionidae) หนอนกอแถบลาย *Chilo suppressalis* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae) เพลี้ยกระโดดดำ *Callitettrix versicolor* Fabricius (Hemiptera: Cercopidae) ตั๊กแตน *Cyrtacanthacris tatarica* (Linnaeus) (Orthoptera: Acrididae) เพลี้ยกระโดดข้าวโพด *Peregrinus maidis* (Ashmead) และ เพลี้ยกระโดดปีกยาว *Proutista moesta* (Westwood) (Hemiptera: Derbidae)

มะม่วง พบแมลงศัตรูพืช 26 ชนิด ได้แก่ แมลงค่อมทอง *Hypomeces squamosus* Fabricius (Coleoptera: Cerculionidae) เพลี้ยแป้ง *Dysmicocus neobrevipes* Beardsley (Hemiptera: Pseudococcidae) เพลี้ยจักจั่นมะม่วง *Idioscopus clypealis* (Lethierry) (Hemiptera: Cicadellidae) เพลี้ยจักจั่นมะม่วง *Idioscopus niveosparsus* (Lethierry) (Hemiptera: Cicadellidae) เพลี้ยจักจั่นฝอยมะม่วง *Amrasca splendens Ghauri* (Hemiptera: Cicadellidae) เพลี้ยไฟพริก *Scirtothrips dorsalis* Hood (Thysanoptera: Thripidae) ด้วงกัดใบมะม่วง *Deporaus marginatus* (Pascoe) (Coleoptera: Curculionidae) แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* Hendel (Diptera: Tephritidae) แมลงวันผลไม้ *Bactrocera correcta* Bezzi (Diptera: Tephritidae) เพลี้ยแป้ง *Ferrisia virgata (Cockerell)* (Hemiptera: Pseudococcidae) เพลี้ยแป้งลาย *Pseudococcus cryptus* Hempel (Hemiptera: Pseudococcidae) เพลี้ยแป้ง *Rastrococcus spinosus* (Robinson) (Hemiptera: Pseudococcidae) เพลี้ยแป้ง *Rastrococcus iceryoides* Green (Hemiptera: Pseudococcidae) เพลี้ยแป้ง *Icerya seychellarum* (Westwood) (Hemiptera: Monophlebidae) เพลี้ยหอยเกราะอ่อนสีน้ำตาล *Coccus hesperidium* L. (Hemiptera: Coccoidae) เพลี้ยหอย *Aulacaspis tubernlaris* Newstead (Hemiptera: Diaspidae) เพลี้ยหอย *Pseudoonidia trilobitiformis* (Green) (Hemiptera: Diaspididae) เพลี้ยหอย *Lindingaspis floridana* Ferris (Hemiptera:

Diaspidae) เพลี้ยหอย *Vinsonia stellifera* (Westwood) (Hemiptera: Coccidae)) เพลี้ยอ่อนมะม่วง *Toxoptera odinae* (Van der Goot) (Hemiptera: Aphididae) เพลี้ยอ่อนฝ้าย *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) บั่วปมใบมะม่วง *Erosomyia mangiferae* Felt (Diptera: Cecidomyiidae) หนอนผีเสื้อบารอนหนอนมะม่วง *Euthalia aconthea* (Cramer) (Lepidotera: Nymphalidae) ด้วงงวงเจาะเมล็ด *Sternochetus olivieri* (Faust) (Coleoptera: Curculionidae) ด้วงงวงเจาะเมล็ด *Sternochetus frigidus* Fabricius (Coleoptera: Curculionidae) ด้วงบ่าหนามหลังจุดขาว *Batocera rubus* Linnaeus (Coleoptera: Cerambycidae)

อ้อย พบแมลงศัตรู 19 ชนิด ได้แก่ หนอนกอลายจุดเล็ก *Chilo infuscatellus* Snell (Lepidoptera: Pyralidae) หนอนกอลายจุดใหญ่ *Chilo sacchariphagus* (Bojer) (Lepidoptera: Pyralidae) หนอนกอสีขาว *Scirpophaga excerptalis* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae) หนอนกอสีชมพู *Sesamia inferens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) แมลงหวี่ขาวอ้อย *Aleurolobus barodensis* (Maskell) (Hemiptera: Aleyrodidae) เพลี้ยกระโดดดำ *Callitettrix versicolor* Fabricius (Hemiptera: Cercopidae) แมลงดำหนามอ้อย *Rhadinosa reticulate* Baly (Coleoptera: Hispidae) เพลี้ยจักจั่นแดง *Bathrogonia indistincta* Walker (Hemiptera: Cicadellidae) เพลี้ยอ่อนอ้อย *Melanaphis sacchari* (Zehntner) (Hemiptera: Aphididae) เพลี้ยอ่อนข้าวโพด *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) (Hemiptera: Aphididae) เพลี้ยอ่อนสำลี *Ceratovacuna lanigera* Zehntner (Hemiptera: Aphididae) เพลี้ยหอยเกร็ด *Aulacaspis tegalensis* (Zehntner) (Hemiptera: Diaspididae) เพลี้ยแป้งอ้อยสีชมพู *Saccharicoccus sacchar* (Cockerell) (Hemiptera: Pseudococcidae) เพลี้ยกระโดดอ้อย *Eoeurysa flavocapitata* Muir (Hemiptera: Delphacidae) ด้วงหนวดยาวอ้อย *Dorysthenes* (*Lophosternus*) *buqueti* Guerin (Coleoptera: Cerambycidae) แมลงนูนหลวง *Lepidiota stigma* Fabricius (Coleoptera: Scarabaeidae) ตั๊กแตนโลกัสตา *Locusta migratoria manilensis* (Meyen) ตั๊กแตนสีน้ำตาล *Cyrthacanthacris tatarica* (Linnaeus) (Orthoptera: Acrididae) เพลี้ยกระโดดปีกยาว *Proutista moesta* (Westwood) (Hemiptera: Derbidae)

ข้าวฟ่าง พบแมลงศัตรู 11 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยอ่อนข้าวฟ่าง *Melanaphis sorghi* (Theobald) (Hemiptera: Aphididae) หนอนกระทู้คอรวง *Mythimna separata* Walker (Lepidoptera: Noctuidae) หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด *Ostrinia furnacolis* Guenee (Lepidoptera: Pyralidae)หนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigue* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) Noctuidae หนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) เพลี้ยกระโดดดำ *Callitettrix versicolor* Fabricius (Hemiptera: Cercopidae) แมลงวันหนอนเจาะยอดข้าวโพด *Atherigona soccata* Rondani (Diptera: Muscidae) เพลี้ยอ่อนฝ้าย *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) เพลี้ยอ่อนอ้อย *Melanaphis sacchari* (Zehntner) มวนเขียวข้าว *Nezara viridula* (Linnaeus) (Hemiptera: Pentatomidae) หนอนกอลายจุดใหญ่ *Chilo sacchariphagus* (Bojer)

นำตัวอย่างแมลงศัตรูพืชที่ได้รวบรวมได้ทั้งหมด เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง เพื่อรอการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest List)

ตารางที่ 1 รายชื่อแมลงศัตรูพืชส่งออก (ตุลาคม 2554 - กันยายน 2556)

ชื่อ	ชื่อแมลง		วงศ์	อันดับ	แหล่งที่สำรวจพบ	ส่วนที่ถูกทำลาย
	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์				
ข้าวโพดฝักอ่อน	เพลี้ยอ่อนข้าวโพด	*Rhopalosiphum maidis* (Fitch)	Aphididae	Hemiptera	ลพบุรี สระบุรี นครสวรรค์ เชียงใหม่ พิษณุโลก นครปฐม	ยอดอ่อน ก้านดอก ฝัก ข้าวโพด ใบ
	เพลี้ยอ่อนฝ้าย	*Aphis gossypii* Glover	Aphididae	Hemiptera	ลพบุรี นครสวรรค์ เชียงใหม่ นครปฐม	ใบอ่อน ยอดอ่อน
	เพลี้ยอ่อนอ้อย	*Melanaphis sacchari* (Zehntner)	Aphididae	Hemiptera	กาญจนบุรี กำแพงเพชร นครปฐม	ใบอ่อน ยอดอ่อน
	เพลี้ยไฟ	*Thrips hawiiensis* (Morgan)	Thripidae	Thysanoptera	นครปฐม กาญจนบุรี ขอนแก่น	เกสร ใบ
	เพลี้ยไฟ	*Franklinella williamsi* Hood	Thripidae	Thysanoptera	ราชบุรี สระบุรี นครราชสีมา ขอนแก่น อุดรธานี	เกสร ใบ
	เพลี้ยไฟ	*Frankliniella schultzei* Trybon	Thripidae	Thysanoptera	นครปฐม ลพบุรี กาญจนบุรี ขอนแก่น	เกสร ใบ
	หนอนกระทู้คอรวง	*Mythimna separata* Walker	Noctuidae	Lepidoptera	สระบุรี ลพบุรี นครสวรรค์ ขอนแก่น เชียงใหม่	ช่อดอกเพศผู้ ใบยอดอ่อน
	หนอนกระทู้หอม	*Spodoptera exigue* Hubner	Noctuidae	Lepidoptera	นครปฐม กาญจนบุรี นครราชสีมา เชียงใหม่	ฝัก
	หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด	*Ostrinia furnacalis* Guenee	Pyralidae	Lepidoptera	นครปฐม กาญจนบุรี นครราชสีมา สุพรรณบุรี	ช่อดอก ลำต้น ฝักอ่อน

ตารางที่ 1 รายชื่อแมลงศัตรูพืชส่งออก (ตุลาคม 2554 - กันยายน 2556)

ชื่อ	ชื่อแมลง		วงศ์	อันดับ	แหล่งที่สำรวจพบ	ส่วนที่ถูกทำลาย
	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์				
ข้าวโพดฝักอ่อน (ต่อ)	หนอนกระทู้ผัก	*Spodoptera litura* (Fabricius)	Noctuidae	Lepidoptera	นครปฐม กาญจนบุรี นครราชสีมา แพร่	ใบ
	หนอนเจาะสมอฝ้าย	*Helicoverpa armigera* (Hubner)	Noctuidae	Lepidoptera	นครปฐม กาญจนบุรี นครราชสีมา	ฝัก ยอด
	หนอนกอสีชมพู	*Sesamia inferens (Walker)*	Noctuidae	Lepidoptera	นครสวรรค์ ลพบุรี กำแพงเพชร	ลำต้น
	แมลงค่อมทอง	*Hypomeces squamosus* Fabricius	Curculionidae	Coleoptera	นครปฐม นครสวรรค์ นครราชสีมา	ต้นอ่อน
	หนอนกอแถบลาย	*Chilo suppressalis* (Walker)	Pyralidae	Lepidoptera	นครสวรรค์ ลพบุรี กำแพงเพชร	ลำต้น
	เพลี้ยกระโดดดำ	*Callitettrix versicolor* Fabricius	Cercopidae	Hemiptera	นครสวรรค์ ลพบุรี หนองบัวลำภู	ใบ
	ตั๊กแตน	*Cyrtacanthacris tatarica* (Linnaeus)	Acrididae	Orthoptera	เชียงใหม่ แพร่ เชียงราย นครราชสีมา	ใบ
	เพลี้ยกระโดดข้าวโพด	*Peregrinus maidis* (Ashmead)	Delphacidae	Hemiptera	ลพบุรี นครสวรรค์ นครปฐม	ใบ กาบใบ ฝัก
	เพลี้ยกระโดดปีกยาว	*Proutista moesta* (Westwood)	Derbidae	Hemiptera	นครราชสีมา อ่างทอง นครสวรรค์ นครปฐม	ใบ

ตารางที่ 1 รายชื่อแมลงศัตรูพืชส่งออก (ตุลาคม 2554 - กันยายน 2556)

ชื่อ	ชื่อแมลง		วงศ์	อันดับ	แหล่งที่สำรวจพบ	ส่วนที่ถูกทำลาย
	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์				
มะม่วง	แมลงค่อมทอง	*Hypomeces squamosus* Fabricius	Curculionidae	Coleoptera	นครราชสีมา แพร่ เชียงราย พิษณุโลก	ดอก
	เพลี้ยแป้ง	*Dysmicocus neobrevipes* Beardsley	Pseudococcidae	Hemiptera	นครราชสีมา ลพบุรี ขอนแก่น กำแพงเพชร	ใบ
	เพลี้ยจักจั่นมะม่วง	*Idioscopus clypealis* (Lethierry)	Cicadellidae	Hemiptera	นครปฐม นครราชสีมา กำแพงเพชร	ช่อดอก ใบอ่อน
	เพลี้ยจักจั่นมะม่วง	*Idioscopus niveosparsus* (Lethierry)	Cicadellidae	Hemiptera	นครปฐม นครราชสีมา กำแพงเพชร	ช่อดอก ใบอ่อน
	เพลี้ยจักจั่นฝอยมะม่วง	*Amrasca splendens* Ghauri	Cicadellidae	Hemiptera	นครปฐม นครราชสีมา กำแพงเพชร	ช่อดอก ใบอ่อน
	เพลี้ยไฟพริก	*Scirtothrips dorsalis* Hood	Thripidae	Thysanoptera	นครราชสีมา พิษณุโลก ลพบุรี กาญจนบุรี เชียงใหม่ นครปฐม	ช่อดอก ใบอ่อน ผล
	ด้วงกัดใบมะม่วง	*Deporaus marginatus* (Pascoe)	Curculionidae	Coleoptera	กรุงเทพฯ เชียงใหม่ แพร่	ใบอ่อน
	แมลงวันผลไม้	*Bactrocera dorsalis* Hendel	Tephritidae	Diptera	นครราชสีมา ราชบุรี พิษณุโลก	ผล
	แมลงวันผลไม้	*Bactrocera correcta* Beezi	Tephritidae	Diptera	นครราชสีมา ราชบุรี พิษณุโลก	ผล

ตารางที่ 1 รายชื่อแมลงศัตรูพืชส่งออก (ตุลาคม 2554 - กันยายน 2556)

ชื่อ	ชื่อแมลง		วงศ์	อันดับ	แหล่งที่สำรวจพบ	ส่วนที่ถูกทำลาย
	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์				
มะม่วง (ต่อ)	เพลี้ยแป้งลาย	*Ferrisia virgata* (Cockerell)	Pseudococcidae	Hemiptera	ลพบุรี ขอนแก่น นครราชสีมา	กิ่ง ใบ ผล
	เพลี้ยแป้งมังคุด	*Pseudococcus cryptus* Hempel	Pseudococcidae	Hemiptera	ลพบุรี ขอนแก่น กำแพงเพชร	กิ่ง ใบ ผล
	เพลี้ยแป้ง	*Rastrococcus spinosus* (Robinson)	Pseudococcidae	Hemiptera	ลพบุรี ขอนแก่น กำแพงเพชร นครราชสีมา	กิ่ง ใบ ผล
	เพลี้ยแป้ง	*Rastrococcus iceryoides* Green	Pseudococcidae	Hemiptera	นครราชสีมา กำแพงเพชร ขอนแก่น ลพบุรี	กิ่ง ใบ ผล
	เพลี้ยแป้ง	*Icerya seychellarum* (Westwood)	Monophlebidae	Hemiptera	นครราชสีมา กำแพงเพชร นครปฐม	กิ่ง ใบ ผล
	เพลี้ยหอยเกราะอ่อนสีน้ำตาล	*Coccus hesperidium* L.	Coccidae	Hemiptera	นครราชสีมา ฉะเชิงเทรา กำแพงเพชร	กิ่ง ใบ ผล
	เพลี้ยหอย	*Aulacaspis tubernlaris* Newstead	Diaspididae	Hemiptera	นครราชสีมา ลพบุรี ขอนแก่น กำแพงเพชร	กิ่ง ใบ ผล
	เพลี้ยหอย	*Pseudoonidia trilobitiformis* (Green)	Diaspididae	Hemiptera	ขอนแก่น ลพบุรี นครราชสีมา กำแพงเพชร	กิ่ง ใบ ผล
	เพลี้ยหอย	*Lindingaspis floridana* Ferris	Diaspididae	Hemiptera	นครปฐม ลพบุรี กำแพงเพชร ขอนแก่น นครราชสีมา	กิ่ง ใบ ผล

ตารางที่ 1 รายชื่อแมลงศัตรูพืชส่งออก (ตุลาคม 2554 - กันยายน 2556)

ชื่อ	ชื่อแมลง		วงศ์	อันดับ	แหล่งที่สำรวจพบ	ส่วนที่ถูกทำลาย
	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์				
มะม่วง (ต่อ)	เพลี้ยหอย	*Vinsonia stellifera* (Westwood)	Coccidae	Hemiptera	ลพบุรี ขอนแก่น นครราชสีมา	กิ่ง ใบ ผล
	เพลี้ยอ่อนมะม่วง	*Toxoptera odinae (Van der Goot)*	Aphididae	Hemiptera	นครราชสีมา พิษณุโลก	ช่อดอก ใบ
	เพลี้ยอ่อนฝ้าย	*Aphis gossypii* Glover	Aphididae	Hemiptera	นครราชสีมา เชียงใหม่	ช่อดอก ใบ
	บั่วปมใบมะม่วง	*Erosomyia mangiferae* Felt	Cecidomyiidae	Diptera	พิษณุโลก นครราชสีมา	ใบ
	หนอนผีเสื้อบารอนหนอนมะม่วง	*Euthalia aconthea* (Cramer)	Nymphalidae	Lepidoptera	นครปฐม นครราชสีมา เชียงใหม่	ใบ
	ด้วงงวงเจาะเมล็ด	*Sternochetus olivieri* (Faust)	Curculionidae	Coleoptera	กรุงเทพ ฯ กำแพงเพชร เชียงใหม่ ลำพูน ราชบุรี นครราชสีมา	ผล เมล็ด
	ด้วงงวงเจาะเมล็ด	*Sternochetus frigidus* Fabricius	Curculionidae	Coleoptera	เชียงใหม่ นครปฐม นครราชสีมา	ผล เมล็ด
	ด้วงบ่าหนามหลังจุดขาว	*Batocera rubus* Linnaeus	Cerambycidae	Coleoptera	กาญจนบุรี นครราชสีมา	ลำต้น

ตารางที่ 2 รายชื่อแมลงศัตรูพืชนำเข้า (ตุลาคม 2554 - กันยายน 2556)

ชื่อ	ชื่อแมลง		วงศ์	อันดับ	แหล่งที่สำรวจพบ	ส่วนที่ถูกทำลาย
	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์				
อ้อย	หนอนกอลายจุดเล็ก	*Chilo infuscatellus* Snellen	Pyralidae	Lepidoptera	กำแพงเพชร กาญจนบุรี นครปฐม นครสวรรค์	หน่อ ลำต้น
	หนอนกอลายใหญ่	*Chilo sacchariphagus* (Bojer)	Pyralidae	Lepidoptera	นครราชสีมา กาญจนบุรี กำแพงเพชร นครสวรรค์	หน่อ ลำต้น
	หนอนกอสีขาว	*Scirpophaga excerptalis* (Walker)	Pyralidae	Lepidoptera	นครราชสีมา กาญจนบุรี กำแพงเพชร นครสวรรค์	ยอด ลำต้น
	หนอนกอสีชมพู	*Sesamia inferens* (Walker)	Noctuidae	Lepidoptera	นครราชสีมา กาญจนบุรี กำแพงเพชร นครสวรรค์	หน่อ ลำต้น
	แมลงหวี่ขาวอ้อย	*Aleurolobus barodensis* (Maskell)	Aleyrodidae	Hemiptera	กาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี	ใบ
	เพลี้ยกระโดดดำ	*Callitetix versicolor* (F.)	Cercopidae	Hemiptera	นครสวรรค์ ลพบุรี แพร่	ใบ
	แมลงดำหนามอ้อย	*Rhadinosa reticulate* Baly	Hispidae	Coleoptera	นครสวรรค์ ลพบุรี กำแพงเพชร	ใบ
	เพลี้ยจักจั่นแดง	*Bathrogonia indistincta* Walker	Cicadellidae	Hemiptera	นครสวรรค์ ลพบุรี เชียงราย	ใบ
	เพลี้ยอ่อนอ้อย	*Melanaphis sacchari* (Zehntner)	Aphididae	Hemiptera	นครสวรรค์ ลพบุรี	ใบ
	เพลี้ยอ่อนข้าวโพด	*Rhopalosiphum maidis* (Fitch)	Aphididae	Hemiptera	นครสวรรค์ ลพบุรี สระบุรี	ใบ

ตารางที่ 2 รายชื่อแมลงศัตรูพืชนำเข้า (ตุลาคม 2554 - กันยายน 2556)

ชื่อ	ชื่อแมลง		วงศ์	อันดับ	แหล่งที่สำรวจพบ	ส่วนที่ถูกทำลาย
	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์				
อ้อย (ต่อ)	เพลี้ยอ่อนสำลี	*Ceratovacuna lanigera* Zehntner	Aphididae	Hemiptera	ระยอง เลย	ใบ
	เพลี้ยหอยเกร็ด	*Aulacaspis tegalensis* (Zehntner)	Diaspididae	Hemiptera	ขอนแก่น กำแพงเพชร นครราชสีมา ลพบุรี	ลำต้น
	เพลี้ยแป้งอ้อยสีชมพู	*Saccharicoccus sacchari* (Cockerell)	Pseudococcidae	Hemiptera	ลพบุรี ขอนแก่น นครราชสีมา กำแพงเพชร	หน่อ ลำต้นใบ
	เพลี้ยกระโดดอ้อย	*Perkinsiella saccharicida* Muir	Delphacidae	Hemiptera	กาญจนบุรี กำแพงเพชร นครสวรรค์	ใบ
	ด้วงหนวดยาวอ้อย	*Dorysthenes (Lophosternus) buqueti* Guerin	Cerambycidae	Coleoptera	กรุงเทพ ฯ กาญจนบุรี เชียงใหม่ ชัยภูมิ จันทบุรี ราชบุรี กาญจนบุรี	ราก ลำต้น
	แมลงนูนหลวง	*Lepidiota stigma* Fabricius	Scarabaeidae	Coleoptera	กาญจนบุรี สุพรรณบุรี ราชบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์	ราก
	ตั๊กแตนโลกัสต้า	*Locusta migratoria manilensis* (Meyen)	Acrididae	Orthoptera	กาญจนบุรี สุพรรณบุรี นครปฐม	ใบ
	ตั๊กแตนสีน้ำตาล	*Cyrthacanthacris tatarica* (Linnaeus)	Acrididae	Orthoptera	กาญจนบุรี สุพรรณบุรี	ใบ
	เพลี้ยกระโดดปีกยาว	*Proutista moesta* (Westwoood)	Derbidae	Hemiptera	กาญจนบุรี สุพรรณบุรี นครสวรรค์	ใบ

ตารางที่ 2 รายชื่อแมลงศัตรูพืชนำเข้า (ตุลาคม 2554 - กันยายน 2556)

ชื่อ	ชื่อแมลง		วงศ์	อันดับ	แหล่งที่สำรวจพบ	ส่วนที่ถูกทำลาย
	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์				
ข้าวฟ่าง	เพลี้ยอ่อนข้าวฟ่าง	*Melanaphis sorghi* (Theobald)	Aphididae	Hemiptera	นครสวรรค์ ลพบุรี	ใบ
	หนอนกระทู้คอรวง	*Mythimna separata* Walker	Noctuidae	Lepidoptera	นครสวรรค์ ลพบุรี สระบุรี	ใบ ลำต้น
	หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด	*Ostrinia furnacalis* Guenee	Crambidae	Lepidoptera	นครสวรรค์ ลพบุรี	ยอด ดอก เมล็ด
	หนอนกระทู้หอม	*Spodoptera exigua* (Hubner)	Noctuidae	Lepidoptera	นครสวรรค์ ลพบุรี	ใบ ยอด
	หนอนกระทู้ผัก	*Spodoptera litura* (Fabricius)	Noctuidae	Lepidoptera	นครสวรรค์ ลพบุรี	ใบ ยอด
	เพลี้ยกระโดดดำ	*Callitetix versicolor* (F.)	Cercopidae	Hemiptera	นครสวรรค์	ใบ
	แมลงวันหนอนเจาะยอดข้าวฟ่าง	*Atherigona soccata* Rondani	Muscidae	Diptera	นครสวรรค์ ลพบุรี	ระยะต้นอ่อน
	เพลี้ยอ่อนฝ้าย	*Aphis gossypii* Glover	Aphididae	Hemiptera	นครสวรรค์ ลพบุรี	ใบอ่อน ยอดอ่อน
	เพลี้ยอ่อนอ้อย	*Melanaphis sacchari* (Zehntner)	Aphididae	Hemiptera	นครสวรรค์ ลพบุรี	ใบอ่อน ยอดอ่อน
	มวนเขียวข้าว	*Nezara viridula* (Linnaeus)	Pentatomidae	Hemiptera	นครสวรรค์ ลพบุรี	เมล็ด
	หนอนกอลายจุดใหญ่	*Chilo sacchariphagus* (Bojer)	Pyralidae	Lepidoptera	นครสวรรค์ ลพบุรี	หน่อ ลำต้น

รายละเอียดแมลงศัตรูพืชนำเข้า-ส่งออกแต่ละชนิด

Rhopalosiphum maidis **(Fitch)** (ภาพที่ 1 ก)

อันดับ Hemiptera
วงศ์ Aphididae
ชื่อสามัญ เพลี้ยอ่อนข้าวโพด: Mize Aphid
ลักษณะสำคัญ

เป็นเพลี้ยอ่อนขนาดกลาง ลำตัวยาว 1.74 - 2.21 มิลลิเมตร สีเขียวปนเทาจนถึงสีเขียวเข้ม หัว หนวด และขาสีน้ำตาลดำ หนวดปล้องที่ 3 และโคนปล้องที่ 4 สีเหลืองอ่อน หนวดสั้นกว่าลำต้วมี 6 ปล้อง ส่วนปลายของหนวดปล้องสุดท้ายยาวกว่าส่วนฐาน 1.5 เท่า ปากยาวถึงโคนขาคู่กลาง ไซฟังคูไลและ ส่วนหางสีน้ำตาลดำหรือสีดำ ส่วนหางรูปร่างคล้ายลิ้น

พืชอาหาร: ข้าวโพด ข้าวฟ่าง อ้อย และข้าว
แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัด ลพบุรี สระบุรี นครสวรรค์ เชียงใหม่ พิษณุโลก นครปฐม

Aphis gossypii **Glover** (ภาพที่ 1 ข)

อันดับ Hemiptera
วงศ์ Aphididae
ชื่อสามัญ เพลี้ยอ่อนฝ้าย: Cotton Aphid
ลักษณะสำคัญ

เป็นเพลี้ยอ่อนขนาดเล็ก ลำตัวยาว 1.30 – 1.58 มิลลิเมตร ตัวอ่อนสีเหลืองจางหรือสีขาว ตัวเต็มวัยสีเขียวอมเหลือง จนถึงสีเขียวเข้ม ขาสีเหลือง หนวดมี 6 ปล้อง หนวดปล้องที่ 1, 2 และปล้องสุดท้ายสีน้ำตาลอ่อน ปากยาวถึงโคนขาคู่หลัง ไซฟังคูไลสีดำเข้มยาวกว่าส่วนหาง ส่วนหางรูปร่างคล้ายลิ้น สีอ่อนกว่าไซฟังคูไล มีขน 4-7 เส้น

พืชอาหาร: พืชตระกูลกะหล่ำ พืชตระกูลแตง มะเขือเปราะ มะเขือพวง ผักบุ้งจีน ฟักทอง ตำลึง น้ำเต้า พริกขี้หนู พริกหยวก ฝ้าย ไม้ดอกไม้ประดับ
แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดลพบุรี นครสวรรค์ เชียงใหม่ นครปฐม

Melanaphis sacchari **(Zehntner)** (ภาพที่ 1 ค)

อันดับ Hemiptera
วงศ์ Aphididae
ชื่อสามัญ เพลี้ยอ่อนอ้อย: Sugarcane Aphid
ลักษณะสำคัญ

เป็นเพลี้ยอ่อนขนาดเล็ก ลำตัวยาว 1.51 – 1.74 มิลลิเมตร มีสีแตกต่างกันขึ้นกับอาหารและสภาพแวดล้อม โดยมีสีเหลืองอ่อน เหลืองอมน้ำตาล น้ำตาลดำ สีม่วง หรือสีชมพู เมื่อโตเต็มที่จะมีแถบสีน้ำตาลกระจายอยู่ด้านบนของส่วนท้อง หนวดยาวครึ่งหนึ่งของลำตัว ส่วนปลายของหนวดปล้อง

สุดท้ายยาวกว่าส่วนฐาน 4-5 เท่า ปากสั้นส่วนของปลายปากอยู่ที่โคนขาคู่หน้า ไซฟังคูไลเป็นท่อสั้นมีสีเข้ม ส่วนหางสีจาง

พืชอาหาร: อ้อย ข้าวโพด ข้าวฟ่าง

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดกาญจนบุรี กำแพงเพชร นครปฐม

Thrips hawaiiensis **(Morgan)** (ภาพที่ 1ง)

อันดับ Thysanoptera

วงศ์ Thripidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยไฟดอกไม้ฮาวาย: Hawaiian Flower Thrips

ลักษณะสำคัญ

เป็นเพลี้ยไฟที่มีขนาดลำตัวยาว 0.07-0.09 เซนติเมตร สีน้ำตาลเข้มปนส้ม หนวดมี 7-8 ปล้อง สีน้ำตาลเข้ม ปล้องที่ 3 สีน้ำตาลอ่อน อกทุกปล้องมีสีส้มสด ขาทุกคู่สีส้ม ปีกคู่หน้าสีน้ำตาลปนเหลือง บริเวณโคนปีกมีสีจางกว่าปลายปีก ขนบริเวณปีกคู่หน้าเรียงกันเป็นเส้นปีกแบบไม่สมบรูณ์ ปล้องท้องสีน้ำตาลเข้มทุกปล้อง

พืชอาหาร: ข้าวโพด มะเขือ หน่อไม้ฝรั่ง พริก กวางตุ้ง สะเดา กระถิน กระเจี๊ยบเขียว กุหลาบ ดาวเรือง เข็มขาว บานชื่น ดาวกระจาย พุทธรักษา ลำโพง กุหลาบ บัวพุด มะม่วง ส้มโอ เน คทาลีน กล้วย ทานตะวัน แก้วมังกร

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดนครปฐม กาญจนบุรี ขอนแก่น

Frankliniella williamsi **Hood** (ภาพที่ 1 จ)

อันดับ Thysanoptera

วงศ์ Thripidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยไฟข้าวโพด: Corn thrips

ลักษณะสำคัญ

เป็นเพลี้ยไฟที่มีขนาดลำตัวยาวประมาณ 1.0 มิลลิเมตร สีเหลืองใสหรือสีน้ำตาลอ่อน ส่วนหัวค่อนข้างกว้าง ตาเดี่ยวมีขนาดใหญ่ 3 ตา สีเทา หนวดมีจำนวน 8 ปล้อง ปรากฏอวัยวะรับความรู้สึกมีลักษณะเป็นรูปส้อมที่บริเวณปล้องที่ 3 และ 4 สีของปล้องหนวดปล้องที่ 1-2 เหลืองใส ปล้องที่ 7-8 และตอนปลายของปล้องที่ 6 สีน้ำตาล หนวดปล้องที่ 8 ยาวเป็นสองเท่าของปล้องที่ 7 ส่วนอกปล้องแรกมีริ้วรอย พบขนขนาดใหญ่บนสันหลังอกปล้องนี้จำนวน 5 คู่ ขาทุกคู่สีเดียวกับลำตัว ปรากฏรูรับความรู้สึกที่บนสันหลังอกปล้องสุดท้าย ปีกประกอบด้วยขนซึ่งเรียงตัวกันเป็นเส้นปีกชัดเจน ส่วนท้องบริเวณด้านข้างปล้องท้องปล้องที่ 5-8 พบกลุ่มขนละเอียดเรียงตัวกันเป็นรูปโค้ง

พืชอาหาร: ข้าวโพด

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดราชบุรี สระบุรี นครราชสีมา ขอนแก่น อุดรธานี

Frankliniella schultzei Trybom (ภาพที่ 1 ฉ)

อันดับ Thysanoptera

วงศ์ Thripidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยไฟดอกไม้: Common Blossom Thrips

ลักษณะสำคัญ

เป็นเพลี้ยไฟที่มีขนาดลำตัวยาวประมาณ 1.0 มิลลิเมตร สีเหลืองใสหรือสีน้ำตาลอ่อน ส่วนหัวค่อนข้างกว้าง ตาเดี่ยวมีขนาดใหญ่ 3 ตา สีเทา หนวดมีจำนวน 8 ปล้อง ปรากฏอวัยวะรับความรู้สึกมีลักษณะเป็นรูปส้อมที่บริเวณปล้องที่ 3 และ 4 สีของปล้องหนวดปล้องที่ 1-2 เหลืองใส ปล้องที่ 3-5 สีน้ำตาล ปล้องที่ 6-8 มีสีน้ำตาลเข้ม ส่วนอกปล้องแรกมีริ้วรอย พบขนขนาดใหญ่บนสันหลังอกปล้องนี้จำนวน 5 คู่ ขาทุกคู่สีเดียวกับลำตัว ปีกประกอบด้วยขนซึ่งเรียงตัวกันเป็นเส้นปีกชัดเจน ส่วนท้องบริเวณด้านข้างปล้องท้องปล้องที่ 4-7 พบกลุ่มขนละเอียดเรียงตัวกันเป็นรูปโค้ง และลักษณะดังกล่าวนี้ปรากฏที่ปล้องท้องปล้องที่ 8 บริเวณเหนือรูหายใจ

พืชอาหาร: ข้าวโพด ทานตะวัน ดาวเรือง กล้วยไม้ กุหลาบ ถั่วลิสง หน่อไม้ฝรั่ง พริก

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดนครปฐม ลพบุรี ขอนแก่น กาญจนบุรี

Mythimna separata Walker (ภาพที่ 2 ก)

อันดับ Lepidoptera

วงศ์ Noctuidae

ชื่อสามัญ ผีเสื้อหนอนกระทู้ควายพระอินทร์: Corn armyworm

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง ขนาดลำตัวเมื่อกางปีกกว้าง 3.5-4.0 เซนติเมตร ปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาลเข้ม สลับสีน้ำตาลอ่อน ทำให้มองดูคล้ายมีจุดขนาดเล็กกระจายทั่วปีก มีแถบสีน้ำตาลเข้มที่มุมปลายปีก ปีกคู่หลังโคนปีกสีน้ำตาลอ่อน ปลายปีกสีน้ำตาลเข้ม การทำลายเกิดขึ้นระยะหนอน หนอนวัยสุดท้าย มีขนาดยาว 3.5-4.0 เซนติเมตร ลำตัวสีเขียวอ่อน มีเส้นสีเหลืองสลับสีเทาพาดตามความยาวลำตัว บริเวณรอยต่อระหว่างปล้องคาดด้วยเส้นสีเหลือง ขนสีขาวขนาดเล็กกระจายทั่วตัว

พืชอาหาร: ข้าวโพด หอมแดง กุหลาบ ถั่วฝักยาว ถั่วเหลือง ถั่วลันเตา องุ่น ผักตระกูลกะหล่ำ กล้วยไม้ พริก กระเจี๊ยบเขียว หน่อไม้ฝรั่ง มันเทศ ทานตะวัน หอมใหญ่

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดสระบุรี ลพบุรี นครสวรรค์ ขอนแก่น เชียงใหม่

Spodoptera exigue Hübner (ภาพที่ 2 ข)

อันดับ Lepidoptera

วงศ์ Noctuidae

ชื่อสามัญ ผีเสื้อหนอนกระทู้หอม: Beet Armyworm

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง ขนาดลำตัวเมื่อกางปีกกว้าง 2.0–2.5 เซนติเมตร ปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาล ปีกคู่หน้ามีสีน้ำตาลแก่ปนเทา มีจุดสีน้ำตาลอ่อน 2 จุดตรงกลางปีก ปีกคู่หลังมีสีขาวขุ่น การทำลายเกิดขึ้นในระยะหนอน ตัวหนอนมีลำตัวตรงราบเรียบเท่ากันตลอดตั้งแต่หัวถึงท้ายลำตัว และมีแถบสีขาวข้างลำตัว แถบสีมีได้หลายสีด้วยกัน หนอนโตเต็มที่ยาว 2.5 เซนติเมตร ระยะหนอน 14-17 วัน จึงเข้าดักแด้ในดิน

พืชอาหาร: พืชตระกูลกะหล่ำ ลำโพง ละหุ่ง ยาสูบ กุหลาบ บัว ถั่วเขียว พลูด่าง ส้มโอ บานชื่น โป๊ยเซียน องุ่น ทานตะวัน

แหล่งที่สำรวจพบ

นครปฐม กาญจนบุรี นครราชสีมา เชียงใหม่

Ostrinia furnacalis Guence (ภาพที่ 2 ค)

อันดับ Lepidoptera

วงศ์ Pyralidae

ชื่อสามัญ ผีเสื้อหนอนเจาะลำต้นข้าวโพด: Asiatic corn borer

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืน เพศเมียปีกคู่แรกมีสีเหลืองอ่อน มีลายเส้นหยัก ๆ สีน้ำตาลพาดขวางที่ปลายปีก เมื่อกลางปีกจะมีน้ำตาล 2 จุด อยู่ใกล้ ๆ กัน ปีกคู่หลังพื้นสีเหลืองเข้มกว่าคู่แรกเล็กน้อย ลำตัวด้านบนสีน้ำตาลอ่อนทางด้านท้องมีสีนวล ตัวผู้มีสีเข้มกว่าตัวเมียเล็กน้อย การทำลายเกิดขึ้นในระยะหนอน หนอนขนาดโตเต็มที่ยาวประมาณ 20 มิลลิเมตร ตัวมีสีขาวนวลอมชมพูและมีจุดตามตัว ระยะหนอน 15-21 วัน จึงเข้าดักแด้

พืชอาหาร: ข้าวโพด ข้าวฟ่าง

แหล่งที่สำรวจพบ

นครปฐม กาญจนบุรี นครราชสีมา สุพรรณบุรี

Spodoptera litura (Fabricius) (ภาพที่ 2 ง)

อันดับ Lepidoptera

วงศ์ Noctuidae

ชื่อสามัญ ผีเสื้อหนอนกระทู้ผัก: Common cutworm)

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลาง ขนาดลำตัวเมื่อกางปีกกว้าง 3.0-3.5 เซนติเมตร ปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาล ปีกคู่หน้าสีน้ำตาลเข้ม-เทา มีเส้นสีเหลืองพาดเป็นลวดลายทั่วทั้งปีก เส้นพาดเฉียงกลางปีกมีขนาดใหญ่ที่สุด ปีกคู่หลังสีขาวใส (ภาพที่ 2 จ) การทำลายเกิดขึ้นระยะหนอน หนอนวัยสุดท้าย มีขนาดยาว 3.0-4.0 เซนติเมตร สีน้ำตาล-เทา มีแถบรูปสามเหลี่ยมด้านบนและด้านข้างทุกปล้องของลำตัว บริเวณท้องปล้องแรกและปล้องสุดท้ายแถบสามเหลี่ยมมีขนาดใหญ่กว่าปล้องอื่นๆ เส้นสีเหลืองพาดด้านหลังตามยาวลำตัว 3 เส้น และเส้นสีเหลืองด้านข้าง 2 เส้น

พืชอาหาร: พืชตระกูลกะหล่ำ ลำโพง ละหุ่ง ยาสูบ กุหลาบ บัว ถั่วเขียว พลูด่าง ส้มโอ บานชื่น โป๊ยเซียน องุ่น ทานตะวัน และพลูด่าง

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดนครปฐม กาญจนบุรี นครราชสีมา แพร่

Helicoverpa armigera (Hübner) (ภาพที่ 2 จ)

อันดับ Lepidoptera
วงศ์ Noctuidae
ชื่อสามัญ ผีเสื้อหนอนเจาะสมอฝ้าย: Cotton Bollworm
ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืน ขนาดลำตัววัดจากขอบปีกด้านหนึ่งถึงขอบปีกอีกด้านหนึ่งกว้าง 3.0-4.0 เซนติเมตร ลำตัวและปีกสีน้ำตาลอ่อน กลางปีกของปีกคู่หน้ามีจุดสีดำข้างละ 1 จุด ปีกคู่หลังขอบปลายปีกมีแถบสีดำขนาดใหญ่ การทำลายเกิดขึ้นในระยะหนอน หนอนวัยสุดท้ายมีขนาดลำตัวยาวประมาณ 3.5 เซนติเมตร ระยะหนอน 15-21 วัน และเข้าดักแด้ในดิน

พืชอาหาร: ฝ้าย กระเจี๊ยบแดง กระเจี๊ยบเขียว กุหลาบ ทุเรียน มังคุด ข้าวโพด ยาสูบ ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ถั่วลิสง ถั่วฝักยาว ถั่วลันเตา มะเขือเทศ พริก ทานตะวัน หน่อไม้ฝรั่ง ส้มเขียวหวาน ส้มโอ องุ่น ทุเรียน

แหล่งที่สำรวจพบ

นครปฐม กาญจนบุรี นครราชสีมา

Sesamia inferens (Walker) (ภาพที่ 2 ฉ)

อันดับ Lepidoptera
วงศ์ Noctuidae
ชื่อสามัญ หนอนกอสีชมพู : Pink borer
ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืน เพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้ เมื่อกางปีกจะกว้างประมาณ 30-35 มิลลิเมตร ลำตัวยาว 15-18 มิลลิเมตร ส่วนหัว อก และท้องมีขนสีน้ำตาล ปกคลุมอย่างหนาแน่น พื้นปีกคู่แรกสีน้ำตาลและมีจุดดำเล็กๆ กระจายอยู่ทั่วไป ส่วนปีกคู่หลังสีน้ำตาลอ่อนจนเกือบขาว การทำลายเกิดขึ้นในระยะหนอน หนอนโตเต็มที่ยาวประมาณ 30-35 มิลลิเมตร ระยะหนอนใช้เวลา 30-50 วัน จึงเข้าดักแด้

พืชอาหาร: ข้าวโพด ข้าว

แหล่งที่สำรวจพบ

นครสวรรค์ ลพบุรี กำแพงเพชร

Chilo suppressalis (Walker) (ภาพที่ 3 ก)

อันดับ Lepidoptera
วงศ์ Pyralidae
ชื่อสามัญ หนอนกอแถบลาย : Striped stem borer
ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืน เมื่อกางปีกจะกว้างประมาณ 16-25 มิลลิเมตร ปีกคู่หน้ามีสี

น้ำตาลคล้ายรำข้าว ตามปีกมีลักษณะคล้ายฝุ่นดำเกาะอยู่ประปราย ปีกคู่หลังสีน้ำตาลอ่อน ส่วนหัวมองจากด้านบนเห็นยื่นแหลมออกไปคล้ายหนาม การทำลายเกิดขึ้นในระยะหนอน หนอนมีหัวสีน้ำตาล ลำตัวมีลายพาดตามความยาว ระยะหนอนนาน 30-40 วัน จึงเข้าดักแด้

พืชอาหาร: ข้าว ข้าวโพด

แหล่งที่สำรวจพบ

นครสวรรค์ ลพบุรี กำแพงเพชร

Hypomeces squamosus (Fabricius) (ภาพที่ 3 ข)

อันดับ Coleoptera

วงศ์ Curculionidae

ชื่อสามัญ แมลงค่อมทอง: Green Weevil, Gold-dust Weevil

ลักษณะสำคัญ

เป็นด้วงงวงที่มีขนาดลำตัววัดจากปลายสุดส่วนหัวถึงปลายสุดส่วนท้องยาว 1.5-1.8 เซนติเมตร รูปร่างทรงกระบอก ส่วนหัวสั้นทู่ ลำตัวมีเกล็ดละเอียดสีเขียวปนเหลืองปกคลุม เมื่อเกล็ดหลุดจะเห็นเป็นสีดำ ส่วนท้ายของลำตัวค่อนข้างเรียวแหลม

พืชอาหาร: มะม่วง ส้มเขียวหวาน ส้มโอ ลำไย ฝ้าย ทุเรียน หม่อน ปอแก้ว ทานตะวัน กระเจี๊ยบ พุทรา

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดนครปฐม นครสวรรค์ นครราชสีมา

Callitettrix versicolor (Fabricius) (ภาพที่ 3 ค)

อันดับ Lepidoptera

วงศ์ Cercopidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยกระโดดดำ : Froghopper, Splittle bug

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเมื่อหุบปีกยาวประมาณ 12 มิลลิเมตร กว้างประมาณ 4 มิลลิเมตร สีพื้นของหัว อกลำตัว ขา และปีกเป็นสีดำ ตรงโคนปีกคู่หน้ามีจุดสีขาว ข้างละ 2 จุด ปลายปีกมีจุดสีแดงข้างละ 2 จุด ตากลมสีเทาปนดำเห็นได้ชัดเจน การเข้าทำลายโดยตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบพืช

พืชอาหาร: อ้อย ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ไผ่ หญ้าขจรจบ กล้วย หญ้าไฝ่ และกระทือ

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดนครสวรรค์ ลพบุรี หนองบัวลำภู

Cytacanthacris tatarica (Linnaeus) (ภาพที่ 3 ง)

อันดับ Orthoptera

วงศ์ Acrididae

ชื่อสามัญ ตั๊กแตนสีน้ำตาล : Migratory bird locust

ลักษณะสำคัญ

มีขนาดรูปร่างปานกลาง ความยาวของลำตัวตั้งแต่ส่วนหัวถึงปลายปีกอยู่ระหว่าง 3-5 เซนติเมตร

หนวดเป็นแบบเส้นด้าย ตารูปไข่ สีน้ำตาลอ่อนหรือสีน้ำตาลแดง ลำตัวมีสีน้ำตาล ส่วนอกกว้าง เห็นเส้นกลางหลังเป็นสีขาวพาดตามยาวเริ่มจากส่วนหน้าสุดของส่วนหัวไปจนถึงปลายส่วนท้อง ปีกสองคู่ยาวคลุมปล้องท้องจนมิด ปีกมีจุดสีน้ำตาลเข้มสลับอ่อน ปลายขามีหนามจำนวนมาก

พืชอาหาร: ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ถั่ว และพืชไร่ต่างๆ

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดเชียงใหม่ แพร่ เชียงราย นครราชสีมา

Rhadinosa reticulate **Baly** (ภาพที่ 3 จ)

อันดับ Coleoptera

วงศ์ Hispidae

ชื่อสามัญ แมลงดำหนามอ้อย : Sugarcane hispid beetle

ลักษณะสำคัญ

แมลงดำหนามอ้อยเป็นด้วงปีกแข็งขนาดเล็ก ลำตัวยาวประมาณ 3-4 มิลลิเมตร มีสีดำ บนหลังและปีกมีหนามแข็งยาวแหลมอยู่ทั่วไป ระยะหนอน 12-15 วัน ทั้งระยะหนอนและระยะตัวเต็มวัยเข้าทำลายพืช ในระยะหนอนจะเข้ากัดกินเนื้อในภายใต้เยื่อผิวใบ มีลักษณะเป็นทางยาว โดยเริ่มตั้งแต่ขนาดเล็กมาก แล้วค่อยๆ กว้างๆขึ้น เห็นเป็นทางสีขาว เมื่อเป็นตัวเต็มวัยแล้วยังคงกัดกินผิวใบต่อไป

พืชอาหาร: ข้าวโพด อ้อย

แหล่งที่สำรวจพบ

นครสวรรค์ ลพบุรี กำแพงเพชร

Proutista moesta **(Westwood)** (ภาพที่ 3 ฉ)

อันดับ Hemiptera

วงศ์ Derbidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยกระโดดปีกยาว : Long-winged planthopper)

ลักษณะสำคัญ

เป็นเพลี้ยกระโดดขนาดเล็ก แต่มีปีกคู่หน้ายาวและตั้งฉากกับลำตัว บางครั้งมักพบอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ้อย

พืชอาหาร: ข้าวโพด อ้อย

แหล่งที่สำรวจพบ

นครราชสีมา อ่างทอง นครสวรรค์ นครปฐม

Idioscopus clypealis **(Lethierry)** (ภาพที่ 4 ก)

อันดับ Hemiptera

วงศ์ Cicadellidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยจักจั่นมะม่วง : Mango leafhopper

ลักษณะสำคัญ ขนาดลำตัวยาว 3.7-4.2 มม. พื้นสีของหัว ลำตัว และปีก เป็นสีน้ำตาลอ่อนอมเขียว รูปร่างเป็นรูปลิ่ม ลำตัวเรียวแหลมไปทางปลายปีก ใบหน้ามีจุดกลมสีดำ 4 จุด และขอบด้านหน้าของ scutellum อีก 2 จุด แผ่น clypeus เป็นสีดำเต็มแผ่น

พืชอาหาร: มะม่วง

แหล่งที่สำรวจพบ

นครปฐม นครราชสีมา กำแพงเพชร

Idioscopus niveosparsus **(Lethierry)** (ภาพที่ 4 ข)

อันดับ Hemiptera

วงศ์ Cicadellidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยจักจั่นมะม่วง : Mango leafhopper

ลักษณะสำคัญ ขนาดลำตัว 4.8-5.2 มม. Pronotum และ scutellum เป็นสีน้ำตาลอมเทา มีจุดดำประปรายทั่วไป เวลาที่ปีกทั้งสองประกบกันจะเห็นเป็นจุดสีขาวใสเรียงกันเป็นรูปตัว V ตรงกลางหลังใบหน้า (front) มีแถบสีน้ำตาลเข้มทอดขวางตรงกลางใบหน้า และจุดสีขาวบนใบหน้าจะอยู่ในระดับเสมอกับตาเดี่ยว

พืชอาหาร: มะม่วง

แหล่งที่สำรวจพบ

นครปฐม นครราชสีมา กำแพงเพชร

Amrasca splendens **Ghavri** (ภาพที่ 4 ค)

อันดับ Hemiptera

วงศ์ Cicadellidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยจักจั่นฝอยมะม่วง : Mango leafhopper

ลักษณะสำคัญ ขนาดลำตัวยาว 2.5-3 มม. เป็นเพลี้ยจักจั่นที่มีรูปร่างเล็กและบอบบางมาก อยู่ในกลุ่มเพลี้ยจักจั่นฝอย (Typhlocybinae) หัว ลำตัว และปีกเขียวอ่อนสดใส หัวค่อนข้างแหลมมน ที่ขอบหน้าผากระหว่างตามีจุดสีดำเล็กๆ 2 จุด และมีเส้นสีขาววนเป็นรูปครึ่งวงกลมล้อมจุดดำนี้ไว้ ตรงกลางหัว กลาง pronotum และ scutellum และใกล้ปลายปีกมีจุดสีแดงเข้มเกือบดำ

พืชอาหาร: มะม่วง

แหล่งที่สำรวจพบ

นครปฐม นครราชสีมา กำแพงเพชร

Scirtothrips dorsalis **Hood** (ภาพที่ 4 ง)

อันดับ Thysanoptera

วงศ์ Thripidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยไฟพริก: Chilli thrips

ลักษณะสำคัญ

เป็นเพลี้ยไฟที่มีขนาดเล็กมาก ประมาณ 0.8 มิลลิเมตร สีเหลืองใส ส่วนหัวมีขนาดกว้างกว่าความยาว ปรากฏริ้วรอยคล้ายแกะสลักเป็นเส้นๆ ตารวมสีเทา ตาเดี่ยวสีแดงมีจำนวน 3 ตา หนวด 8 ปล้อง ที่ 3 และ 4 ปรากฏอวัยวะรับความรู้สึกเป็นรูปส้อม ปล้องที่ 1-2 สีเหลืองใส ปล้องที่ 3-8 มีสีน้ำตาลปนเทาและบริเวณฐานของปล้องที่ 3-5 มีสีเทาจางกว่าบริเวณส่วนปลายของปล้อง อกปล้องแรกมีริ้วรอยคล้ายส่วนหัว ขนที่ปรากฏบนส่วนนี้มีขนาดไล่เลี่ยกัน ขาทุกคู่สีเหลืองใส ปีกสีเทามีการ

เรียงตัวของขนเป็นระเบียบ สีเหลืองใสบริเวณส่วนกลางของปล้องท้องปล้องที่ 2-7 ทั้งด้านหลังและด้านท้อง พบรอยขีดสีดำชัดเจนใต้รอยขีดมีสีจางๆ บริเวณปล้องท้องปล้องที่ 6 พบกลุ่มขนขึ้นหนาแน่น บริเวณด้านข้างของปล้องและภายในบริเวณกลุ่มขนนี้พบขนขนาดใหญ่ 3 เส้น ปล้องที่ 8 และ 9 พบกลุ่มขนเช่นเดียวกับปล้องที่ 4 แต่ปล้องที่ 8 ยังพบว่ามีการเรียงตัวของขนที่มีลักษณะคล้ายหวี พาดผ่านตลอดปล้อง

พืชอาหาร: มะม่วง มะม่วงหิมพานต์ ส้มเขียวหวาน ส้มโอ ทุเรียน แตงโม เงาะ มังคุด สำไย ลิ้นจี่

แหล่งที่สำรวจพบ

นครสวรรค์ พิษณุโลก กาญจนบุรี นครปฐม นครราชสีมา เชียงใหม่ ลพบุรี

Deporaus marginatus **(Pascoe)** (ภาพที่ 4 จ)

อันดับ Coleoptera

วงศ์ Curculionidae

ชื่อสามัญ ด้วงกัดใบมะม่วง : Mango leaf weevil

ลักษณะสำคัญ

เป็นด้วงงวงขนาดเล็ก มีขนาดลำตัวประมาณ 3-4 มิลลิเมตร ส่วนหัวและปากชี้ยื่นไปข้างหน้า ตารวม สีดำมีขนาดใหญ่ ส่วนหัวและอกมีสีส้ม อกปล้องแรกมีรูปร่างเหมือนลูกแพร์หัวกลับ ขาสามคู่มีสีดำส่วนโคนขามีสีเหลือง ส่วนท้องมีสีดำ ปีกมีขนาดเล็กกว่าส่วนท้องและคลุมส่วนท้องไม่มิด ตัวเต็มวัยเพศเมียเริ่มทำลาย ใบอ่อนที่กำลังเป็นใบสีชมพู โดยจะวางไข่ที่เส้นกลางใบและจัดกัดบริเวณโคนใบให้ร่วงหล่นบนพื้น เพื่อให้ ตัวหนอนอาศัยกัดกินและเจริญเติบโตอยู่ภายในใบนั้น ตัวหนอนจะเข้าดักแด้ในดินหรือเศษซากพืชใต้โคนต้นต่อไป หากมีการระบาดมากจะทำให้พืชชะงักการเจริญเติบโตและต้นตายในที่สุด

พืชอาหาร: มะม่วง พริกไทย

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดกรุงเทพฯ เชียงใหม่ แพร่

Bactrocera dorsalis **Hendel** (ภาพที่ 4 ฉ)

อันดับ Diptera

วงศ์ Thysanoptera

ชื่อสามัญ แมลงวันผลไม้ : Oriental fruit fly

ลักษณะสำคัญ

แมลงวันผลไม้ชนิดนี้มีขนาดลำตัวยาว 4.5-6.5 มิลลิเมตร หัวมีสีเหลือง front สีเหลืองอมน้ำตาล จุดดำใต้หนวด 2 จุดค่อนข้างใหญ่ อกมีสีดำ มีขนสั้นๆสีเหลือง อกปล้องแรกไม่มีแถบ mesonotum มีแถบข้างอกทั้งสอง สีเหลือง scutellum สีเหลือง มีขน 2 เส้น ขาสีเหลืองน้ำตาล ปลายขาสีน้ำตาล ปีกใส ขอบปีกด้านบนมีสีน้ำตาลเข้มไม่เกินลึกลงมาถึง R_{2+3} ปลายปีกมีสีเข้มขอบบางไม่ขยายออก ท้องปล้องแรกสีน้ำตาล ปล้องที่ 2 ทางด้านข้างมีสีน้ำตาลเข้ม ปล้องที่ 3 มีสีดำคาดตามขวาง และตรงกลางมีแถบคาดสีดำแต่ไม่ถึงปล้องที่ 5

พืชอาหาร: มะม่วง ฝรั่ง ชมพู่ ละมุด พุทรา น้อยหน่า ขนุน เงาะ ลำไย ลิ้นจี่ มะละกอ กล้วยน้ำว้า มะเฟือง มะปราง และ ฯลฯ

แหล่งที่สำรวจพบ

นครราชสีมา ราชบุรี พิษณุโลก

Bactrocera correcta **(Bezzi)** (ภาพที่ 5 ก)

อันดับ Diptera

วงศ์ Thysanoptera

ชื่อสามัญ แมลงวันผลไม้ : Guava fruit fly

ลักษณะสำคัญ

แมลงวันผลไม้ชนิดนี้มีขนาดลำตัวยาว 5-6 มิลลิเมตร ปีกยาว 4.5-5.0 มิลลิเมตร มีความว่องไวมาก มีสีน้ำตาลแดงทั้งลำตัวและขา ปลายปีกมีจุดเล็ก ๆ สีดำ หัวมีสีเหลือง front สีน้าตาล ใต้หนวดไม่มีจุดดำ แต่มีรอยคาดสีดำขวางที่ front อก scutum สีดำ มีขนาดเล็กๆ สีเทา อกปล้องแรกไม่มีแถบ mesonotum มีแถบสีเหลืองข้างอกทั้งสอง Scutellum สีเหลือง มีขน 2 เส้น ขามีสีเหลือง ปีกใสบริเวณขอบปีก ขอบปีกจะขาดตอนสีไม่ทึบ บริเวณปลายปีกมีจุดเล็ก ๆ สีน้ำตาล ท้องปล้องที่ 1 และ 2 สีดำ ปล้องที่ 3 มีแถบสีดำตรงกลางยาวลงมาถึงปล้องที่ 5

พืชอาหาร: มะม่วง ฝรั่ง ชมพู่ ละมุด พุทรา น้อยหน่า ขนุน เงาะ ลำไย ลิ้นจี่ กะท้อน สะตอ กล้วยน้ำว้า มะเฟือง มะปราง มะละกอ มะยม ฯลฯ

แหล่งที่สำรวจพบ

นครราชสีมา ราชบุรี พิษณุโลก

Ferrisia virgata **(Cockerell)** (ภาพที่ 5 ข)

อันดับ Hemiptera

วงศ์ Pseudococcidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยแป้งลาย : (stripe mealybug)

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเพศเมีย ลำตัวรูปไข่ค่อนข้างยาว ผนังลำตัวสีเทาดำปกคลุมด้วยไขแป้งบางๆ สีขาว และมีแถบสีดำ 1 คู่ บริเวณเกือบกึ่งกลางลำตัว ด้านท้ายของลำตัวมีเส้นแป้งสีขาวความยาวประมาณครึ่งหนึ่งของความยาวลำตัว ลำตัวยาวประมาณ 3.7-4.5 มม. หนวดมี 8 ปล้อง ขาค่อนข้างยาวเรียว กลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแป้งด้านข้างลำตัว มีเฉพาะบริเวณลอนปลายส่วนท้องเท่านั้น จำนวน 1 คู่ ประกอบด้วยขนคล้ายรูปกรวยแหลม

พืชอาหาร: น้อยหน่า มันสำปะหลัง เงาะ มะม่วง มะขามเทศ มะยมขนุน ฝรั่ง ชำมะเลียง พริกไทย มะเขือยาว ส้มเขียวหวาน ส้มโอ ผกากรอง สบู่ดำ แค มะม่วงหิมพานต์ โกสน เทียนทอง พุดซ้อน กระถิน คูณ ปัตตาเวีย ลีลาวดี

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดลพบุรี ขอนแก่น นครราชสีมา กำแพงเพชร

Pseudococcus cryptus Hempel (ภาพที่ 5 ค)

อันดับ Hemiptera

วงศ์ Pseudococcidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยแป้งมังคุด : (cryptic mealybug)

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเพศเมีย ลำตัวรูปร่างรูปไข่กว้าง ลำตัวยาวประมาณ 2.8 -3.0 มม. หนวดมี 8 ปล้อง ขาค่อนข้างยาวเรียว ผิวหน้าเล็บค่อนข้างเรียบ มีรูโปร่งใส บนต้นขาและน่องขาของขาคู่หลัง กลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแป้งด้านข้างลำตัว มีจำนวน 17 คู่ คู่สุดท้ายจะมีขนปลายแหลมคล้ายรูปกรวยขนาดใหญ่กว่าคู่อื่นๆ จำนวน 3 เส้น

พืชอาหาร: มะม่วง มังคุด และมะขาม

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดลพบุรี ขอนแก่น นครราชสีมา กำแพงเพชร

Rastrococcus spinosus (Robinson) (ภาพที่ 5 ง)

อันดับ Hemiptera

วงศ์ Pseudococcidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยแป้ง : (mango mealybug)

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเพศเมีย ลำตัวรูปร่างรูปไข่กว้าง ลำตัวยาวประมาณ 2.4 -3.2 มม. ผนังลำตัวปกคลุมด้วยไขแป้งสีขาว มีเส้นแป้งด้านข้างลำตัวค่อนข้างยาว เส้นแป้งด้านท้ายยาวกว่าเส้นแป้งด้านข้างลำตัวอย่างชัดเจน หนวดมี 9 ปล้อง ขาค่อนข้างยาวเรียว ผิวหน้าเล็บค่อนข้างเรียบ มีรูโปร่งใส บนต้นขาและน่องขาของขาคู่หลัง กลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแป้งด้านข้างลำตัว มีจำนวน 17 คู่ คู่สุดท้ายจะมีขนคล้ายรูปกรวยขนาดใหญ่ปลายตัด จำนวน 4 เส้น

พืชอาหาร: มะม่วง มะม่วงหิมพานต์ กระท้อน

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดลพบุรี ขอนแก่น นครราชสีมา กำแพงเพชร

*Rastrococcus iceryoi*des (Green) (ภาพที่ 5 จ)

อันดับ Hemiptera

วงศ์ Pseudococcidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยแป้ง : (mealybug)

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเพศเมีย ลำตัวรูปร่างรูปไข่กว้าง ลำตัวยาวประมาณ 2.6 -3.1 มม. ผนังลำตัวปกคลุมด้วยไขแป้งสีขาว มีเส้นแป้งด้านข้างลำตัวค่อนข้างยาวแต่มีลักษณะบอบบาง เส้นแป้งด้านท้ายยาวกว่าเส้นแป้งด้านข้างลำตัวอย่างชัดเจน หนวดมี 9 ปล้อง ขาค่อนข้างยาวเรียว ผิวหน้าเล็บค่อนข้างเรียบ มีรูโปร่งใส บนต้นขาและน่องขาของขาคู่หลัง กลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแป้งด้านข้างลำตัว มีจำนวน 17 คู่ คู่สุดท้ายจะมีขนคล้ายรูปกรวยขนาดปลายตัด จำนวน 5 เส้น

พืชอาหาร: มะม่วง นุ่น

แหล่งที่สำรวจพบ จังหวัดลพบุรี ขอนแก่น นครราชสีมา กำแพงเพชร

Icerya seychellarum **(Westwood)** (ภาพที่ 5 ฉ)

อันดับ Hemiptera
วงศ์ Monophlebidae
ชื่อสามัญ เพลี้ยแป้ง : (common white mealybug)
ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเพศเมีย ลำตัวรูปร่างรูปไข่กว้าง ลำตัวยาวประมาณ 2.6 -3.2 มม. ผนังลำตัวปกคลุมด้วยไขแป้งสีขาวค่อนข้างหนา หรือบางครั้งพบไขแป้งสีเหลือง มีเส้นแป้งด้านข้างลำตัวค่อนข้างสั้น หนวดมี 11 ปล้อง ขาค่อนข้างยาวเรียว ผิวหน้าค่อนข้างโค้ง มีรูหายใจบริเวณท้อง 3 คู่

พืชอาหาร: มะม่วง ฝรั่ง มะนาว
แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดลพบุรี ขอนแก่น นครราชสีมา กำแพงเพชร

Coccus hesperidium **Linnaeus** (ภาพที่ 6 ก)

อันดับ Hemiptera
วงศ์ Coccidae
ชื่อสามัญ เพลี้ยหอยเกราะอ่อนสีน้ำตาล : Brown soft scale
ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเพศเมีย รูปร่างรูปไข่ค่อนข้างกว้าง ลำตัวด้านบนมีลักษณะนูน มีไขลักษณะโปร่งใสปกคลุม ลำตัวสีน้ำตาลอ่อนหรือเข้ม ลำตัวยาวประมาณ 2.9-3.5 มิลลิเมตร หนวดมี 7 ปล้อง มี anal plate คล้ายรูปสามเหลี่ยมบริเวณปลายส่วนท้อง

พืชอาหาร: มะม่วง
แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดลพบุรี ขอนแก่น นครราชสีมา กำแพงเพชร

Aulacaspis tubernlaris **Newstead** (ภาพที่ 6 ข)

อันดับ Hemiptera
วงศ์ Diaspididae
ชื่อสามัญ เพลี้ยหอยเกร็ด : Cinnamon scale
ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเพศเมียมีแผ่นปกคลุมลำตัว ลักษณะค่อนข้างกลม สีขาวขุ่น ตัวเต้มวัยเพศเมีย สีแดงอมเหลือง ลำตัวยาวประมาณ 1.3-2.0 มิลลิเมตร ส่วนหัวและอกจะคล้ายรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ไม่ปรากฏขา pygidium ค่อนข้างกว้าง

พืชอาหาร: มะม่วง
แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดลพบุรี ขอนแก่น นครราชสีมา กำแพงเพชร

Pseudoonidia trilobitiformis **(Green)** (ภาพที่ 6 ค)

อันดับ Hemiptera

วงศ์ Diaspididae

ชื่อสามัญ เพลี้ยหอยเกร็ด : Cashew scale

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเพศเมียมีแผ่นปกคลุมลำตัว ลักษณะค่อนข้างรีหรือกลม สีขาวน้ำตาล ตัวเต็มวัยเพศเมีย สีน้ำตาลอมเหลือง ลำตัวยาวประมาณ 1.2-1.8 มิลลิเมตร ส่วนหัวคอดแยกออกจากส่วนอกอย่างชัดเจน ไม่ปรากฏขา pygidium ค่อนข้างแคบ

พืชอาหาร: มะม่วง

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดลพบุรี ขอนแก่น นครราชสีมา กำแพงเพชร

Vinsonia stellifera **(Westwood)** (ภาพที่ 6 ง)

อันดับ Hemiptera

วงศ์ Coccidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยหอยดาว : Stellate scale

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเพศเมีย รูปร่างรูปไข่ค่อนข้างกว้าง ขอบของลำตัวแยกเป็น 7 แฉก ลำตัวด้านบนมีลักษณะนูน มีไขลักษณะโปร่งใสปกคลุม ลำตัวสีชมพู ลำตัวยาวประมาณ 1.0-1.3 มิลลิเมตร หนวดมี 6 ปล้อง มี anal plate สั้นๆ บริเวณปลายส่วนท้อง

พืชอาหาร: มะม่วง

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดลพบุรี ขอนแก่น นครราชสีมา กำแพงเพชร

Toxoptera odinae **(Van der Goot)** (ภาพที่ 6 จ)

อันดับ Hemiptera

วงศ์ Aphididae

ชื่อสามัญ เพลี้ยอ่อนมะม่วง : Mango aphid

ลักษณะสำคัญ

เป็นเพลี้ยอ่อนขนาดเล็กลำตัวยาว 1.85-1.89 มิลลิเมตร สีน้ำตาลแดงหรือสีน้ำตาลเข้มเกือบดำ หนวดมีจำนวน 6 ปล้อง ปากยาวถึงโคนขาคู่กลาง ไซฟังคูไลสั้นกว่าส่วนหาง มีลักษณะเป็นท่อสั้น ๆ สีน้ำตาลเข้มเกือบดำ ส่วนหางรูปร่างคล้ายลิ้น น่องขาคู่หลังมีหนามสั้น ๆ เรียงเป็นแถว

พืชอาหาร: มะม่วง มะม่วงหิมพานต์ และพืชตระกูลส้ม

แหล่งที่สำรวจพบ

นครราชสีมา เชียงใหม่ เชียงราย

Euthalia aconthea (Cramer) (ภาพที่ 6 ฉ)

อันดับ Lepidoptera

วงศ์ Nymphalidae

ชื่อสามัญ ผีเสื้อบารอนหนอนมะม่วง : Mango baron butterfly

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางวันขนาดกลาง สีน้ำตาล ปีกคู่แรกพื้นปีกมีสีน้ำตาล ขอบปีกทั้งคู่หน้าและคู่หลังมีสีออกเทา ปีกคู่หน้ามีแต้มแถบสีขาวเรียงกัน ปีกล่าง พื้นปีกสีน้ำตาล บริเวณโคนปีกมีลายเส้นสีดำเล็ก ๆ เรียงกัน ขอบปีกคู่หลังมีจุดสีดำเล็ก ๆ เรียงกันตามแนวขอบปีก การทำลายเกิดขึ้นในระยะหนอน โดยหนอนกินใบอ่อนในช่วงที่กำลังแตกใบอ่อน หนอนมีรูปร่างแปลกเลียนแบบใบมะม่วง โดยมีแผงขนคล้ายหนามแผ่ออกมาทางด้านข้าง แต่เป็นขนแข็งที่ไม่มีพิษ

พืชอาหาร: มะม่วง

แหล่งที่สำรวจพบ

นครปฐม นครราชสีมา เชียงใหม่

Erosomyia mangiferae Felt (ภาพที่ 7 ก)

อันดับ Diptera

วงศ์ Cecidomyiidae

ชื่อสามัญ บั่วปมใบมะม่วง : Mango gall midge

ลักษณะสำคัญ

เป็นแมลงวันขนาดเล็ก ลำตัวยาวประมาณ 1-2 มิลลิเมตร มีขาและหนวดยาว ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ไว้ที่ใบอ่อนมะม่วง เมื่อไข่ฟักเป็นหนอนไม่มีขา เจาะเข้าไปกินอยู่ใต้ผิวใบ การกินจะไปกระตุ้นให้เนื้อเยื่อใบสร้างเป็นปุ่มปมบนใบ เมื่อหนอนโตเต็มที่จะเจาะรูออกมาแล้วทิ้งตัวลงดินเพื่อเข้าดักแด้ต่อไป

พืชอาหาร: มะม่วง

แหล่งที่สำรวจพบ

พิษณุโลก นครราชสีมา

Melanaphis sorghi (Theobald) (ภาพที่ 7 ข)

อันดับ Hemiptera

วงศ์ Aphididae

ชื่อสามัญ เพลี้ยอ่อนข้าวฟ่าง : Sorghum aphid

ลักษณะสำคัญ

เป็นเพลี้ยอ่อนขนาดเล็ก ลำตัวยาว 1.1 – 2.0 มิลลิเมตร มีสีขาวหรือสีเหลือง อยู่รวมกันเป็นกลุ่มใต้ใบพืช ตัวเต็มวัยที่ไม่มีปีกสันหลังด้านบนจะมีแผ่นสีดำปรากฏ ขณะที่ตัวอ่อนไม่ปรากฏให้เห็น

พืชอาหาร: ข้าวฟ่าง ข้าวโพด

แหล่งที่สำรวจพบ

นครสวรรค์ ลพบุรี

Sternochetus olivieri (Faust) (ภาพที่ 7 ค)

อันดับ Coleoptera

วงศ์ Curculionidae

ชื่อสามัญ ด้วงงวงเจาะเมล็ด : Mango seed weevil

ลักษณะสำคัญ

เป็นด้วงงวงที่มีขนาดยาว 7.0 – 8.0 มิลลิเมตร กว้าง 4.0 – 5.0 มิลลิเมตร สีน้ำตาลเข้ม ส่วนหัว ไม่มีตาเดี่ยว ตารวมใหญ่ ส่วนหัวยื่นยาวออกคล้ายงวง และมีปากแบบกัดกิน อยู่ที่ส่วนปลายสุด หนวดมีลักษณะแบบข้อศอกผสมแบบลูกตุ้ม ส่วนของ pulps แข็ง สั้น อกปล้องแรก เห็นร่องลึกขนาบข้างด้วยเกล็ดสีขาวยาว 2 ใน 3 ของความยาวของอกปล้องแรก ด้านซ้ายและขวาของอกปล้องแรกจะมีกลุ่มเกล็ดสีดำ ตั้งเป็นกระจุกเห็นได้ชัดเจน ปีกมี 2 คู่ ปีกคู่หน้ามีลักษณะหนาแข็ง ปีกคู่หลังมีลักษณะเป็นแผ่นบาง โดยปีกคู่หน้าตั้งแต่บริเวณหัวไหล่มีแถบสีขาวแผ่ขยายลาดเอียงลงมา มีกลุ่มเกล็ดสีดำเป็นรูปสามเหลี่ยมหัวกลับอยู่ ยาวไม่ถึงกึ่งกลางของปีก ส่วนที่เหลือตรงปลายปีกสีน้ำตาลอ่อน

พืชอาหาร: มะม่วงพันธุ์ กะร่อน แก้ว แก้วลืมรัง ขุนศรี เขียวเสวย เค้นท์ งาช้าง เจ้าคุณทิพย์ โชคอนันต์ ตลับนาค
ทองดำ น้ำดอกไม้ พิมเสน เพชรบ้านลาด ฟ้าลั่น มะม่วง 3 ปี แรด ลุงตุ้ย อกร่อง อกร่องป่า

แหล่งที่สำรวจพบ

กรุงเทพฯ กำแพงเพชร เชียงใหม่ นครราชสีมา ราชบุรี ลำพูน

Sternochetus frigidus Fabricius (ภาพที่ 7 ง)

อันดับ Coleoptera

วงศ์ Curculionidae

ชื่อสามัญ ด้วงงวงเจาะเมล็ด : Mango pulp weevil

ลักษณะสำคัญ

เป็นด้วงงวงที่มีขนาดยาว 6.0 – 7.0 มิลลิเมตร กว้าง 3.0 – 4.0 มิลลิเมตร รูปร่างกลมรี สีน้ำตาล ส่วนหัวไม่มีตาเดี่ยว ตารวมใหญ่ ส่วนหัวยื่นยาวออกคล้ายงวง และมีปากแบบกัดกินอยู่ที่ส่วนปลายสุด หนวดมีลักษณะแบบข้อศอกผสมแบบลูกตุ้ม ส่วนของ pulps แข็ง สั้น อกปล้องแรกมีเกล็ดสีดำกระจายรอบสันหลังของส่วนอก แต่ไม่มีกลุ่มเกล็ดที่ตั้งเป็นกระจุก ปีกมี 2 คู่ ปีกคู่หน้ามีลักษณะหนาแข็ง บริเวณโคนปีกถึงปลายปีกมีลักษณะแคบลง ปีกคู่หลังมีลักษณะเป็นแผ่นบาง ร่องหลุม บนปีกกลม แถบสีขาวถูกแบ่งเป็นส่วนๆ ต่อกัน แต่ยาวไม่ถึงกลางปีก กลุ่มเกล็ดสีดำรูปสามเหลี่ยมหัวกลับบริเวณกึ่งกลางปีกมีขนาดเล็ก

พืชอาหาร: มะม่วงพันธุ์อกร่อง

แหล่งที่สำรวจพบ

เชียงใหม่ เชียงราย

Ceratovacuna lanigera Zehntner (ภาพที่ 7 จ)

อันดับ Hemiptera
วงศ์ Aphididae
ชื่อสามัญ เพลี้ยอ่อนสำลี : Sugarcane Woolly Aphid
ลักษณะสำคัญ

เพลี้ยอ่อนสำลี เป็นเพลี้ยอ่อนขนาดเล็กถึงขนาดกลาง ลำตัวยาว 1.81-1.90 มม. รูปร่างรูปไข่ สีน้ำตาลอ่อนถึงสีน้ำตาลเข้ม มีผงแป้งสีขาวปกคลุมลำตัว ส่วนหน้าของหัวที่ยื่นออกมามีลักษณะคล้ายเขาโคนห่างกันปลายแหลม หนวด ขา ไซฟังคูไล ส่วนหางและแผ่นแข็งบริเวณปลายท้องสีน้ำตาลอ่อน หนวดสั้นมี 5 ปล้อง ปากสั้นแค่โคนขาคู่หน้า ไซฟังคูไลมีลักษณะเป็นรู

พืชอาหาร: อ้อย
แหล่งที่สำรวจพบ

Perkinsiella saccharicida Kirkaldy (ภาพที่ 7 ฉ)

อันดับ Hemiptera
วงศ์ Delphacidae
ชื่อสามัญ เพลี้ยกระโดดอ้อย : Sugarcane leafhopper
ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยยาว 45-60 มิลลิเมตร หน้าผากยื่นเลยตาออกไปเล็กน้อย มีสีน้ำตาล ด้านบนมีสีขาวระหว่างกลางอกปล้องแรกไปจรดฐานปีก ดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบ ทำให้ใบเหลือง มีจุดดำเกิดขึ้นซึ่งเกิดจากเชื้อราตามรอยที่ถูกกิน

พืชอาหาร: อ้อย
แหล่งที่สำรวจพบ

กาญจนบุรี กำแพงเพชร นครสวรรค์

Batocera rubus Linnaeus (ภาพที่ 8 ก)

อันดับ Coleoptera
วงศ์ Cerambycidae
ชื่อสามัญ ด้วงบ่าหนามหลังจุดขาว : Longhorn beetle
ลักษณะสำคัญ

เป็นด้วงที่มีขนาดยาว 3-4 เซนติเมตร ลำตัวสีน้ำตาล ตารวมมีขนาดใหญ่ หนวดมีขนาดยาวกว่าลำตัว บริเวณอกปล้องแรกมีหนามขนาดใหญ่ยื่นออกมาด้านข้าง และมีจุดบริเวณกลางอกปล้องแรกสองจุด บริเวณด้านนอกโคนปีกคู่หน้ามีปุ่มหนามละเอียดกระจายอยู่หนาแน่น ปีกคู่หน้าแต่ละข้างมีจุดสีขาวอมเหลืองกระจายทั่วปีก ประมาณ 4-7 จุด โดยจุดที่ 2 จะมีขนาดใหญ่หรือซ้อนทับกันกับอีกจุดหนึ่ง เป็นศัตรูที่สำคัญของไม้ยืนต้นหรือไม้ผล เช่น มะม่วง ขนุน ฝรั่ง ทำลายพืชโดยวางไข่ที่บริเวณกิ่งหรือลำต้น เมื่อตัวหนอนฟักออกจากไข่จะเข้าไปกัดกินภายในลำต้น ทำให้ท่อน้ำท่ออาหารของพืชเสียหาย ส่งผลให้พืชยืนต้นตาย

พืชอาหาร: มะม่วง ทุเรียน
แหล่งที่สำรวจพบ จันทบุรี

Nezara viridula (Linnaeus) (ภาพที่ 8 ข)

อันดับ Hemiptera

วงศ์ Pentatomidae

ชื่อสามัญ มวนเขียวข้าว : Green stink bug

ลักษณะสำคัญ

เป็นมวนที่มีรูปร่างคล้ายโล่ มีสีเขียวตลอดลำตัว ขนาดลำตัวของตัวเต็มวัยยาวประมาณ 1.4-1.6 เซนติเมตร หนวดปล้องที่ 3 ถึง 5 สีน้ำตาลตรงโคนสีเขียว ระยะตัวเต็มวัย 1-3 เดือน

พืชอาหาร: ข้าวโพด ข้าว โกโก้ ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ถั่วลิสง ละหุ่ง ฝ้าย กระเจี๊ยบ มันฝรั่ง งา อ้อย ยาสูบ แตง

แหล่งที่สำรวจพบ

นครสวรรค์ ลพบุรี

Chilo sacchariphagus (Bojer) (ภาพที่ 8 ค)

อันดับ Lepidoptera

วงศ์ Pyralidae

ชื่อสามัญ หนอนกอลายใหญ่ : Stem borer

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืน มีสีน้ำตาลเข้มกว่าหนอนกอลายจุดเล็ก มีขีดสีน้ำตาลไหม้เล็กๆ ในแนวนอน บนปีกคู่หน้าเห็นได้ชัดเจน การทำลายเกิดขึ้นในระยะหนอน ลักษณะลำตัวลาย มีรอยขีดสีแดงตามลำตัว เมื่อหนอนโตเต็มที่มองเห็นลายจุดตามลำตัวดำเข้ม เมื่อหนอนโตเต็มที่ยาว 17-19 มิลลิเมตร ระยะหนอน 30-40 วัน

พืชอาหาร: อ้อย

แหล่งที่สำรวจพบ

นครราชสีมา กาญจนบุรี กำแพงเพชร นครสวรรค์

Chilo infuscatellus Snellen (ภาพที่ 8 ง)

อันดับ Lepidoptera

วงศ์ Pyralidae

ชื่อสามัญ หนอนกอลายจุดเล็ก : Early shoot borer

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืน มีสีน้ำตาล ตัวเมียมักมีขนาดใหญ่กว่าตัวผู้ เมื่อกางปีกกว้างประมาณ 20-23 มิลลิเมตร ลำตัวยาว 13-15 มิลลิเมตร ส่วนตัวผู้กางปีกกว้างประมาณ 20-23 มิลลิเมตร ลำตัวยาว 10-12 มิลลิเมตร ปีกคู่หน้ามีสีน้ำตาลเข้มและมีจุดสีน้ำตาลดำเลือนๆอยู่ข้างละจุด ส่วนปีกคู่หลังมีสีน้ำตาลอ่อน โดยปกติตัวผู้มีสีน้ำตาลอ่อน การเข้าทำลายเกิดขึ้นในระยะหนอน ลักษณะของหนอนพื้นลำตัวสีขาวนวล มีขนสั้นๆสีน้ำตาลดำ และที่โคนของเส้นมีรอยสีน้ำตาลดำจึงมองเห็นเป็นๆรอยแต้มสีน้ำตาลดำหรือเป็นลายสีน้ำตาลสลับขาวทั่วลำตัว หนอนโตเต็มที่มีขนาดประมาณ 24-26 มิลลิเมตร กว้าง 2-3 มิลลิเมตร

พืชอาหาร: อ้อย ลำเจียก แห้วหมู เดือย หญ้าข้าวนก หญ้าพง หญ้าคา

แหล่งที่สำรวจพบ

กำแพงเพชร กาญจนบุรี นครปฐม นครสวรรค์

Scirpophaga excerptalis **(Walker)** (ภาพที่ 8 จ)

อันดับ Lepidoptera

วงศ์ Pyralidae

ชื่อสามัญ หนอนกอสีขาว : White top borer

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดกลางมีสีขาวนวลตลอดลำตัว ปีกคู่หน้าและคู่หลังของทั้งเพศผู้และเพศเมียมีสีขาวตลอด เพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้คือ เมื่อกางปีกจะกว้างประมาณ 28-30 มิลลิเมตร ลำตัวจากหัวถึงปลายท้องยาว 12-15 มิลลิเมตร ส่วนเพศผู้เมื่อกางปีกจะกว้างประมาณ 23-25 มิลลิเมตร ยาว 10-12 มิลลิเมตร ลักษณะที่แตกต่างระหว่างเพศเมียกับเพศผู้คือ ที่ปลายสุดของส่วนท้องของเพศเมียมีพู่ขนสีส้ม ส่วนเพศผู้ไม่มี เพศผู้บางตัวมีจุดสีดำบนปีกคู่หน้าข้างละจุด การเข้าทำลายเกิดขึ้นในระยะหนอน หนอนลำตัวสีขาวขุ่นปนเหลืองเล็กน้อย ลักษณะยาวเรียวไปทางส่วนหัว ปกติไม่ว่องไว ขนาดโตเต็มที่ยาวประมาณ 35-38 มิลลิเมตร กว้าง 3-3.5 มิลลิเมตร หัวกะโหลกมีสีน้ำตาลอ่อนกว้างประมาณ 1 มม.

พืชอาหาร:

แหล่งที่สำรวจพบ

นครราชสีมา กาญจนบุรี กำแพงเพชร นครสวรรค์

Dymicocus neobrevipes **Beardsley** (ภาพที่ 8 ฉ)

อันดับ Hemiptera

วงศ์ Pseudococcidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยแป้งสับปะรดสีเทา : Gray pine apple mealybug

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเพศเมีย ลำตัวรูปไข่ค่อนข้างกลม ผนังลำตัวสีเทา มีไขแป้งสีขาวปกคลุม มีเส้นแป้งด้านข้างลำตัว เส้นแป้งด้านท้ายยาวกว่าเส้นแป้งด้านข้างลำตัว ลำตัวยาวประมาณ 3.3-3.5 มม. กว้างหนวดมี 8 ปล้อง ขาเรียวยาว กลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแป้งด้านข้างลำตัว มีจำนวน 17 คู่ แต่ละคู่มีขนปลายแหลมรูปกรวย คู่สุดท้ายบริเวณปลายส่วนท้องมีขนปลายแหลมรูปกรวยจำนวน 2 เส้นเท่านั้น

พืชอาหาร: น้อยหน่า มะม่วง ชำมะเลียง กล้วยน้ำว้า ฝรั่ง มะขาม ขนุน ทับทิม ปีบ สัก ทานตะวัน ศรนารายณ์ ลั่นทม หมากเขียว สับปะรด

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดลพบุรี ขอนแก่น นครราชสีมา กำแพงเพชร

Saccharicoccus sacchari (Cockerell) (ภาพที่ 9 ก)

อันดับ Hemiptera

วงศ์ Pseudococcidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยแป้งอ้อยสีชมพู : Pink sugarcane mealybug

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเพศเมีย รูปร่างยาวรี ลำตัวยาวประมาณ 5.0-5.5 มิลลิเมตร กว้างประมาณ 2.5-2.7 มิลลิเมตร ผนังลำตัวสีชมพู ปกคลุมด้วยไขแป้งสีขาว หนวดมีจำนวน 7 ปล้อง ขายาวเรียว ผิวหน้าเล็บเรียบ กลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแป้งด้านข้างลำตัว มีจำนวน 1 คู่ บริเวณปลายส่วนท้องประกอบด้วยขนปลายแหลมคล้ายรูปกรวย จำนวน 2 เส้น

พืชอาหาร: อ้อย

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดลพบุรี ขอนแก่น นครราชสีมา กำแพงเพชร (ทุกจังหวัดที่ปลูกอ้อย)

Bathrogonia indistincta Walker (ภาพที่ 9 ข)

อันดับ Hemiptera

วงศ์ Cicadellidae

ชื่อสามัญ เพลี้ยจักจั่นแดง : Red leafhopper

ลักษณะสำคัญ

เป็นเพลี้ยจักจั่นสีส้มแดง ขนาดลำตัวยาวประมาณ 12 มิลลิเมตร กว้างประมาณ 4 มิลลิเมตร หนวดขนาดเล็กเป็นเส้นขนเห็นไม่ชัด เป็นพวกเพลี้ยจั๊กจั่นที่มีขนาดตัวโตกว่าสกุลอื่น ๆ ในวงศ์เดียวกัน มีสีแดง หรือปนส้ม มีจุดดำปรากฏอยู่บนหัวและบนสันหลัง บางตัวมีสีคล้ำๆ ไปทางน้ำตาลแดง

พืชอาหาร: อ้อย ข้าวโพด ข้าว ธัญพืชอื่นๆ

แหล่งที่สำรวจพบ

นครสวรรค์ ลพบุรี เชียงราย

Aleurolobus barodensis (Maskell) (ภาพที่ 9 ค)

อันดับ Hemiptera

วงศ์ Aleyrodidae

ชื่อสามัญ แมลงหวี่ขาวอ้อย : Sugarcane Whitefly

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยขนาดเล็ก ปีกบางใส 2 คู่ และคลุมเลยส่วนท้องออกไปประมาณ 0.5 มิลลิเมตร ตาสีแดง ด้านใต้ส่วนท้องสีเหลือง ด้านบนจากส่วนหัว อก และท้อง เป็นพื้นสีเหลือง แต่มีรอยแต้มสีดำจางตลอดลำตัว เพศเมียใหญ่กว่าเพศผู้คือ ยาวจากหัวถึงของปีกประมาณ 2 มิลลิเมตร ตัวเต็มวัยมีชีวิตอยู่ได้ 2 วัน เคลื่อนไหวช้า บินไม่ไกลและค่อนข้างอ่อนแอ เมื่อตัวเต็มออกจากดักแด้มักเกาะอยู่ตามใต้ใบพืชที่เข้าดักแด้

พืชอาหาร:

แหล่งที่สำรวจพบ

กาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี

Locusta migratoria manilensis (Meyen) (ภาพที่ 9 ง)

อันดับ Coleoptera

วงศ์ Acrididae

ชื่อสามัญ ตั๊กแตนโลกัสต้า : Oriental migratory locust

ลักษณะสำคัญ

เป็นตั๊กแตนที่มีขนาดลำตัวปานกลาง เพศผู้มีความยาวตั้งแต่ 40-50 มิลลิเมตร เพศเมีย 42-55 มิลลิเมตร ตัวเต็มวัยมีสีเขียวปนเหลืองเล็กน้อยหรือมีสีน้ำตาล มีหนวดแบบเส้นด้าย หนวดสั้น ตาสีน้ำตาลเข้ม ส่วนหัวที่ติดกับอกปล้องแรกมีสันคมอยู่ด้านบน มีแถบสีดำอยู่ข้างละ 1 แถบ ปีกคู่หน้ามีจุดสีน้ำตาลเล็ก ๆ กระจายอยู่ทั่วไป

พืชอาหาร: อ้อย ข้าวโพด ข้าว

แหล่งที่สำรวจพบ

กาญจนบุรี สุพรรณบุรี นครปฐม

Dorysthenes (Lophosternus) buqueti Guerin (ภาพที่ 9 จ)

อันดับ Coleoptera

วงศ์ Cerambycidae

ชื่อสามัญ ด้วงหนวดยาวอ้อย : Stem boring grub

ลักษณะสำคัญ

เป็นด้วงที่มีขนาดยาวประมาณ 2.5 – 4 เซนติเมตร ลำตัวมีสีดำหรือสีน้ำตาลเข้ม ตารวมมีขนาดใหญ่ หนวดมีขนาดยาวกว่าลำตัว ปากเป็นแบบกัดกิน กรามมีขนาดใหญ่มาก อกปล้องแรกมีขนาดใหญ่ มีหนามขนาดใหญ่ยื่นออกมาด้านข้าง 2-3 คู่ ปีกคู่หน้ามีสันนูนขนานกันยาวตั้งแต่โคนปีกถึงปลายปีก ด้วงหนวดยาวอ้อยเป็นศัตรูสำคัญของอ้อย หนอนกัดกินท่อนพันธุ์ ราก และลำต้น หน่ออ้อยจะถูกทำลายที่ส่วนโคนทำให้หน่อแห้งตาย ถ้าทำลายลำต้นจะทำให้ต้นอ้อยเป็นโพรงเหลือแต่เปลือกอ้อยจะหักล้มและแห้งตาย

พืชอาหาร: อ้อย

แหล่งที่สำรวจพบ

เชียงใหม่ ชัยภูมิ จันทบุรี ราชบุรี กาญจนบุรี กรุงเทพ

Lepidiota stigma (Fabricius) (ภาพที่ 9 ฉ)

อันดับ Coleoptera

วงศ์ Scarabaeidae

ชื่อสามัญ แมลงนูนหลวง : White grub

ลักษณะสำคัญ

เป็นด้วงที่มีขนาดยาวประมาณ 3 – 4 เซนติเมตร ลำตัวสีน้ำตาล ตัวหนอนมีสีขาวนวลมีลักษณะโค้งเป็นรูปตัว C หัวกะโหลกเป็นสีน้ำตาลมีขนาดใหญ่และแข็ง ปากมีเขี้ยวใหญ่แข็งแรง ส่วนขาเจริญเติบโตดี ตัวเต็มวัยอ้วนป้อม มีลักษณะเด่นที่สำคัญคือ มีจุดสีขาวด้านละจุดอยู่ที่ปลายปีกและปลายปีกไม่คลุมส่วนท้อง ทำให้เห็นรูหายใจปล้องสุดท้ายได้ชัดเจน แมลงนูนหลวงเป็นศัตรูสำคัญของอ้อย กัดกินทำให้ใบเหลือและแห้งตายทั้งกอ

พืชอาหาร: อ้อย ตะไคร้ มันสำปะหลัง สับปะรด

แหล่งที่สำรวจพบ

กาญจนบุรี ราชบุรี สุพรรณบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์

Lindingaspis floridana Ferris

อันดับ Hemiptera

วงศ์ Diaspididae

ชื่อสามัญ เพลี้ยหอยเกร็ด : Floridana scale

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเพศเมียมีแผ่นปกคลุมลำตัว ลักษณะค่อนข้างรีหรือกลม สีขาวน้ำตาล ตัวเต็มวัยเพศเมีย สีน้ำตาลอมเหลือง ลำตัวยาวประมาณ 1.2-1.8 มิลลิเมตร ส่วนหัวคอดแยกออกจากส่วนอกอย่างชัดเจน ไม่ปรากฏขา pygidium ค่อนข้างแคบ

พืชอาหาร: มะม่วง

แหล่งที่สำรวจพบ

จังหวัดลพบุรี ขอนแก่น นครราชสีมา กำแพงเพชร

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชเพื่อการส่งออกและนำเข้า ระหว่างเดือนตุลาคม 2554 ถึงเดือนกันยายน 2556 พบแมลงศัตรูพืชทั้งหมด

พบแมลงศัตรูพืชทั้งหมด 6 อันดับ 22 วงศ์ 61 ชนิด โดยพบแมลงศัตรูพืชในพืชส่งออก **ข้าวโพดฝักอ่อน** 5 อันดับ 9 วงศ์ 18 ชนิด ได้แก่ อันดับ Hemiptera 4 วงศ์ 6 ชนิด อันดับ Thysanoptera 1 วงศ์ 3 ชนิด อันดับ Lepidoptera 2 วงศ์ 7 ชนิด อันดับ Coleoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด และอันดับ Orthoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด **มะม่วง** 5 อันดับ 12 วงศ์ 26 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera 2 วงศ์ 5 ชนิด อันดับ Hemiptera 6 วงศ์ 16 ชนิด อันดับ Thysanoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด อันดับ Diptera 2 วงศ์ 3 ชนิด และอันดับ Lepidoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด **อ้อย** 4 อันดับ 14 วงศ์ 19 ชนิด ได้แก่ อันดับ Lepidoptera 2 วงศ์ 4 ชนิด อันดับ Coleoptera 3 วงศ์ 3 ชนิด อันดับ Hemiptera 8 วงศ์ 10 ชนิด และอันดับ Orthoptera 1 วงศ์ 2 ชนิด **ข้าวฟ่าง** 3 อันดับ 8 วงศ์ 11 ชนิด ได้แก่ อันดับ Hemiptera 3 วงศ์ 5 ชนิด อันดับ Lepidoptera 3 วงศ์ 5 ชนิด และอันดับ Diptera 1 วงศ์ 1 ชนิด

การศึกษาในครั้งนี้นอกจากจะเป็นการสำรวจศัตรูพืชในพืชทั้ง 4 ชนิดแล้ว ยังนำตัวอย่างแมลงศัตรูพืชที่พบมาศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานโดยการตรวจวิเคราะห์ชนิดและสืบค้นข้อมูลที่เป็นปัจจุบัน รวมทั้งได้จัดเก็บตัวอย่างแมลงทั้งหมดไว้ในพิพิธภัณฑ์เพื่อการยืนยัน ตรวจสอบ และอ้างอิง ซึ่งจะเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่เป็นประโยชน์อย่างมากในการจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืชนำเข้าและส่งออก และสามารถนำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ได้ไปใช้ในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชนำเข้าทั้ง 2 พืช ตลอดจนสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ประกอบในการพิจารณาเพื่อกำหนดแมลงศัตรูพืชกักกัน อีกทั้งยังใช้เป็นหลักฐานในการเจรจาต่อรองทางการค้า และกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าพืชตามพระราชบัญญัติกักพืช ซึ่งการศึกษาเกี่ยวกับชนิดของศัตรูพืชเพื่อประโยชน์ทางการค้า จำเป็นอย่างยิ่งจะต้องศึกษาอย่างต่อเนื่องและเตรียมพร้อมข้อมูลให้เป็นปัจจุบันตลอดเวลา โดยเฉพาะอย่างยิ่งต้อง

ประสานกับหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เพื่อกำหนดลำดับความสำคัญของพืชหรือสินค้าเกษตรที่ต้องการนำเข้าหรือส่งออก นอกจากนี้ควรมีการรวบรวมรายชื่อแมลงศัตรูพืชทั้งหมดที่ได้ศึกษา จัดพิมพ์เป็นเอกสารให้สมบูรณ์ ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นหลักฐานทางเอกสารวิชาการที่เป็นปัจจุบันต่อไป ทั้งนี้เพื่อประโยชน์สูงสุดของประเทศไทยในการเจรจาต่อรองการค้ากับประเทศคู่ค้า

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนักกีฏวิทยากลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลงทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์จำแนกชนิดแมลงศัตรูพืช จึงทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ศิริณี พูนไชยศรี, ชลิดา อุณหวุฒิ, พรรณเพ็ญ ชโยภาส, รัตนา นชะพงษ์, ลักขณา บำรุงศรี, สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี, ยุวรินทร์ บุญทบ และ ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม. 2548. แมลงการจำแนกและการเก็บตัวอย่าง. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

สุนัดดา เชาวลิต. 2554. การเก็บตัวอย่างและจำแนกแมลงหวี่ขาว. *ใน* เอกสารประกอบการอบรมหลักสูตร การเก็บและจำแนกตัวอย่างแมลงปากดูด ศัตรูสำคัญของพืชนำเข้าและส่งออก ครั้งที่ 4. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

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

CABI. 2003. Crop Protection Compendium. CAB International. Wallingford, UK.

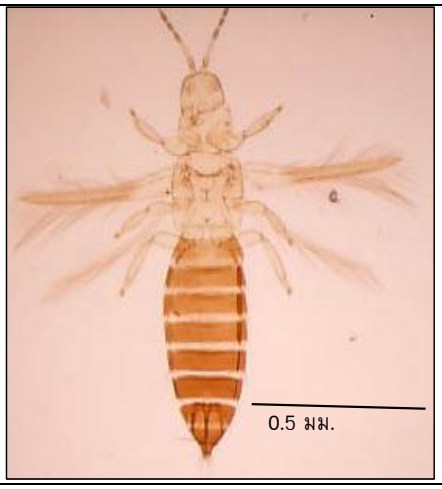
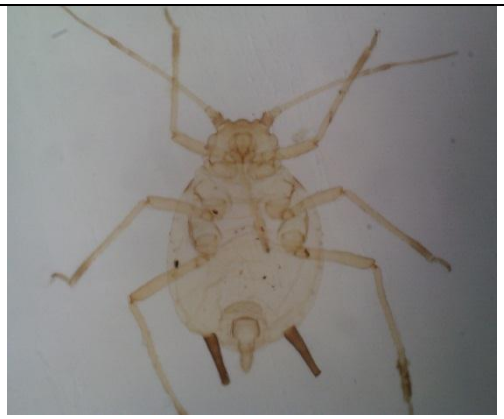
CABI. 2007. The 2007 Edition of The Crop Protection Compendium. CD-ROM. CAB International, Wallingford, UK. CD-ROM.

Flint, M.L. 1991. Integrated Pest Management for Citrus (Second edition). University of California Statewide Integrated Pest Management Project, Division of Agriculture and Natural Resources. Publication 3303.

Pholboon, P. 1965. A Host List of The Insects of Thailand. Department of Agriculture. Thailand.

Wongsiri, N. 1991. List of Insect, Mite and Other Zoological Pests of Economic Plants in Thailand. Entomology and Zoology Division. Department of Agriculture. Bangkok. Thailand.

ภาคผนวก

	
ก. *Rhopalosiphum maidis* (Fitch)	ข. *Thrips hawiiensis* (Morgan)
เพลี้ยอ่อนข้าวโพด (Corn leaf aphid)	เพลี้ยไฟ (Hawaiina flower thrips)
	
ค. *Melanaphis sacchari* (Zehntner)	ง. *Aphis gossypii* Glover
เพลี้ยอ่อนอ้อย (Sugarcane aphid)	เพลี้ยอ่อนฝ้าย (Cotton aphid)
จ. *Frankliniella williamsi* Hood	ฉ. *Frankliniella schultze* Trybon
เพลี้ยไฟ (Corn thrips)	เพลี้ยไฟ (Common blossom thrips)

ภาพที่ 1 แมลงศัตรูพืชในพืชนำเข้า-ส่งออก

ก. *Mythimna separata* Walker	ข. *Spodoptera exigue* Hübner
หนอนกระทู้ฝักข้าวโพด (Corn armyworm)	หนอนกระทู้หอม (Beet armyworm)
ค. *Ostrinia furnacalis* Guenee	ง. *Spodoptera litura* (Fabricius)
หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด (Asiatic corn borer)	หนอนกระทู้ผัก (Armyworm)
จ. *Helicoverpa armigera* (Hübner)	ฉ. *Sesamia inferens*
หนอนเจาะสมอฝ้าย (Cotton bollworm)	หนอนกอสีชมพู (Pink borer)

ภาพที่ 2 แมลงศัตรูพืชในพืชนำเข้า-ส่งออก

ก. *Chilo suppressalis* (Walker)	ข. *Hypomeces squamosus* Fabricius
หนอนกอแถบลาย (Striped borer)	แมลงค่อมทอง (Green weevil)
ค. *Callitettrix versicolor* Fabricius	ง. *Cyrtacanthacris tatarica* (Linnaeus)
เพลี้ยกระโดดดำ (Froghopper)	ตั๊กแตน (Grasshopper)
จ. *Rhadinosa reticulate* Baly	ฉ. *Proutista moesta* (Westwood)
แมลงดำหนามอ้อย (Corn hispid leafminor)	เพลี้ยกระโดดปีกยาว (Long-winged planthopper)

ภาพที่ 3 แมลงศัตรูพืชในพืชนำเข้า-ส่งออก

<table>
<tr><td>
</td><td>
</td></tr>
<tr><td>ก. Idioscopus clypealis (Lethierry)
เพลี้ยจักจั่นมะม่วง (Mango leafhopper)</td><td>ข. Idioscopus niveosparsus (Lethierry)
เพลี้ยจักจั่นมะม่วง (Mango leafhopper)</td></tr>
<tr><td>
</td><td> </td></tr>
<tr><td>ค. Amrasca splendens Ghauri
เพลี้ยจักจั่นฝอยมะม่วง (Mango leafhopper)</td><td>ง. Scirtothrips dorsalis Hood
เพลี้ยไฟพริก (Chili trips)</td></tr>
<tr><td> </td><td> </td></tr>
<tr><td>จ. Deporaus marginatus (Pascoe)
ด้วงกัดใบมะม่วง (Mango leaf weevil)</td><td>ฉ. Bactrocera dorsalis Hendel
แมลงวันผลไม้ (Orental fruit fly)</td></tr>
</table>

ภาพที่ 4 แมลงศัตรูพืชในพืชนำเข้า-ส่งออก

ก. *Bactrocera correcta* Bezzi แมลงวันผลไม้ (Guava fruit fly)	ข. *Ferrisia virgata* (Cockerell) เพลี้ยแป้งลาย (Stripe mealybug)
ค. *Pseudococcuss cryptus* Hempel เพลี้ยแป้งมังคุด (Cryptic mealybug)	ง. *Rastrococcus spinosus* (Robinson) เพลี้ยแป้ง (Mango mealybug)
จ. *Rastrococcus iceryoides* (Green) เพลี้ยแป้ง (Mealybug)	ฉ. *Icerya seychellarum* (Westwood) เพลี้ยแป้ง (Common white mealybug)

ภาพที่ 5 แมลงศัตรูพืชในพืชนำเข้า-ส่งออก

ก. *Coccus hesperidum* Linnaeus	ข. *Aulacaspis tubercularis* Newstead
เพลี้ยหอยเกราะอ่อนสีน้ำตาล (Brown soft scale)	เพลี้ยหอยเกร็ด (Cinnamon scale)
ค. *Pseudaonidia trilobitiformis* (Green)	ง. *Vinsonia stellifera* (Westwood)
เพลี้ยหอยเกร็ด (Cashew scale)	เพลี้ยหอยดาว (Stellate scale)
จ. *Toxoptera odinae* (Van der Goot)	ฉ. *Euthalia aconthea* (Cramer)
เพลี้ยอ่อนมะม่วง (Mango aphid)	ผีเสื้อบารอนหนอนมะม่วง (Mango baron butterfly)

ภาพที่ 6 แมลงศัตรูพืชในพืชนำเข้า-ส่งออก

ก. *Erosomyia mangiferae* Felt
บั่วปมใบมะม่วง
(Mango gall midge)

ข. *Melanaphis sorghi* (Theobald)
เพลี้ยอ่อนข้าวฟ่าง
(Sorghum aphid)

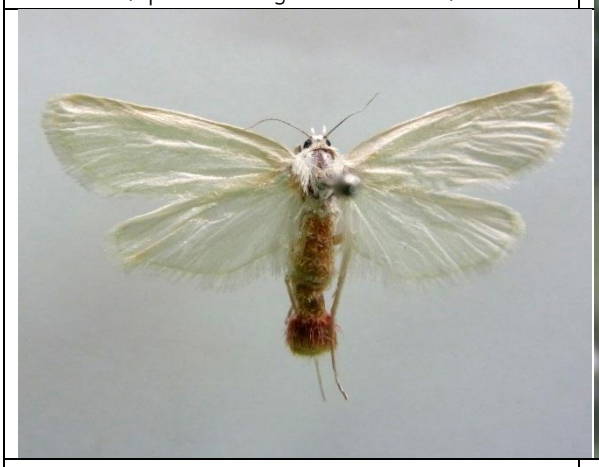
ค. *Sternochetus olivieri* (Faust)
ด้วงงวงเจาะเมล็ด
(Broad-banded mango seed weevil)

ง. *Sternochetus frigidus* Fabricius
ด้วงงวงเจาะเมล็ด
(Mango pulp weevil)

จ. *Ceratovacuna lanigera* Zehntner
เพลี้ยอ่อนสำลี (Sugarcane wolly aphid)

ฉ. *Perkinsiella saccharicida* Earle
เพลี้ยกระโดดอ้อย(Delphacid planthopper)

ภาพที่ 7 แมลงศัตรูพืชในพืชนำเข้า-ส่งออก

ก. *Batocera rubus* Linnaeus ด้วงบ่าหนามหลังจุดขาว	ข. *Nezara viridula* (Linnaeus) มวนเขียวข้าว (Green stink bug)
ค. *Chilo sacchariphagus* (Bojer) หนอนกอลายใหญ่ (Spotted sugarcane borer)	ง. *Chilo infuscatellus* Snellen หนอนกอลายจุดเล็ก (Early stem borer)
	
จ. *Scirpophaga excerptalis* (Walker) หนอนกอสีขาว (White top borer)	ฉ. *Dymicocus neobrevipes* Beardsley เพลี้ยแป้งสับปะรด (Gray pine apple mealybug)

ภาพที่ 8 แมลงศัตรูพืชในพืชนำเข้า-ส่งออก

ก. *Saccharicoccus sacchari* (Cockerell)	ข. *Bathrogonia indistincta* Walker
เพลี้ยแป้งอ้อยสีชมพู (Pink sugarcane mealybug)	เพลี้ยจักจั่นแดง (Red leafhopper)
ค. *Aleurolobus barodensis* (Maskell)	ง.*Locusta migratoria manilensis* (Meyen)
แมลงหวี่ขาวอ้อย (Sugarcane whitefly)	ตั๊กแตนโลกัสต้า (Oriental migratory locust)
จ. *Dorysthenes (Lophosternus) buqueti* Guerin	ฉ. *Lepidiota stigma* Fabricius
ด้วงหนวดยาวอ้อย (Stem boring grub)	แมลงนูนหลวง (Sugarcane white grub)

ภาพที่ 9 แมลงศัตรูพืชในพืชนำเข้า-ส่งออก

การศึกษาชนิดของโรคพืชของพืชเพื่อการส่งออก (ข้าวโพดฝักอ่อนและมะม่วง) และพืชนำเข้า (อ้อยและข้าวฟ่าง)

Diseases Survey and Diagnosis for Exported Plant: Baby Corn and Mango, Imported plant: Sugarcane and Sorghum

พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ชนินทร ดวงสอาด
ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ธิติยา สารพัฒน์ เยาวภา ตันติวานิช
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ตรวจค้นเอกสารและรวบรวมรายชื่อโรคพืชของพืชส่งออก ได้แก่ ข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง และพืชนำเข้า ได้แก่ อ้อย และข้าวฟ่าง ที่เกิดในประเทศไทยพบโรคพืชที่เกิดจากรา แบคทีเรีย ไวรัสและไส้เดือนฝอย เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อโรคพืชที่พบในประเทศไทย สำรวจ รวบรวม และศึกษาชนิดของโรคพืช ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ 2555 ถึง เดือนกันยายน 2556 โดยทำการศึกษาลักษณะสาเหตุของโรคและแยกเชื้อสาเหตุโดยวิธี Tissue transplanting และจำแนกเชื้อสาเหตุโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา จากการสำรวจโรคของข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง อ้อย และข้าวฟ่าง พบโรคดังนี้ **ข้าวโพดฝักอ่อน** พบโรคราน้ำค้างและโรคใบไหม้แผลใหญ่ **มะม่วง** พบโรคแอนแทรคโนส โรคราแป้ง โรคจุดสาหร่าย โรคราสีชมพู โรคช่อดอกเน่า โรคราดำ โรคใบจุด โรคเปลือกแตกยางไหล โรคผลเน่า และโรคขั้วผลเน่า **อ้อย** พบโรคแส้ดำ โรคราสนิม โรคใบจุดวงแหวน โรคใบจุดรูปตา โรคเส้นใบแดง โรคเหี่ยวเน่าแดง โรคปล้องเน่า โรคใบขาว และโรคกอตะไคร้ **ข้าวฟ่าง** พบโรคแอนแทรคโนส โรคใบจุด โรคราสนิม โรคลำต้นเน่า โรคเมล็ดเน่า โรคราเขม่าดำ และโรคเน่าแห้ง เก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-01-00-05-55

คำนำ

ในปัจจุบันการนำสินค้าเกษตรเพื่อการส่งออกและนำเข้านั้นจะต้องมีข้อมูลการระบาดของศัตรูพืชของประเทศที่จะส่งสินค้าออกและประเทศคู่ค้า และประเทศไทยเป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก โดยสมาชิกมีพันธกรณีต้องปฏิบัติภายใต้ข้อตกลงด้วยการใช้บังคับมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement of Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, SPS Agreement) สำหรับพืชส่งออก ได้แก่ ข้าวโพดฝักอ่อนและมะม่วง ประเทศไทยมีการส่งออกพืชทั้งสองชนิดไปยังหลายประเทศ ประเทศผู้นำเข้าต้องมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูของ สินค้าเกษตร ในขณะเดียวกันการนำเข้าสินค้าเกษตร ได้แก่ อ้อยและข้าวฟ่าง ซึ่งประเทศไทยก็ต้องทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ดังนั้นการสำรวจ การประเมินความรุนแรง และการจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุของโรคข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง อ้อย และข้าวฟ่าง จึงมีความสำคัญเนื่องจากได้บัญชีรายชื่อโรคของพืชทั้งสองชนิดซึ่งเป็นข้อมูลการระบาด และความรุนแรงของโรคในปัจจุบัน ตลอดจนทราบชนิดสาเหตุของโรค เพื่อนำข้อมูลเหล่านี้ไปวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชต่อไป โดยการนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาอนุกรมวิธานทั้งหมดไปจัดทำข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest List) ซึ่งเป็นข้อมูลสำคัญอย่างยิ่งที่ต้องส่งให้ประเทศคู่ค้าได้นำไปพิจารณาก่อนนำเข้าสินค้าเกษตรจากประเทศไทย ในขณะเดียวกันข้อมูลด้านอนุกรมวิธานก็ใช้เป็นข้อมูลสำคัญของประเทศ สำหรับเปรียบเทียบกับข้อมูลบัญชีรายชื่อของประเทศคู่ค้าที่ส่งมา เพื่อประกอบในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis) ก่อนนำเข้าสินค้าเกษตรจากประเทศคู่ค้านอกจากนี้ข้อมูลด้านอนุกรมวิธานยังเป็นประโยชน์ในการจัดทำรายชื่อศัตรูพืชกักกัน (Quarantine Pest) เพื่อการควบคุมศัตรูพืชจากต่างประเทศไม่ให้เข้ามาแพร่กระจายในประเทศ การจัดตั้งองค์การการค้าโลก (World Trade Organization, WTO) ซึ่งทุกประเทศเห็นพ้องต้องกันในการลดกำแพงภาษีสำหรับสินค้าเกษตร เพื่อสนับสนุนให้เกิดการค้าเสรี เพื่อป้องกันมิให้มีการใช้มาตรการกีดกันไม่ใช่ภาษี (non tariff barrier, NTB) อันจะก่อให้เกิดปัญหาอุปสรรคต่อการค้าระหว่างประเทศ จึงมีความตกลงว่าด้วยการใช้บังคับมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, SPS Agreement) ประเทศสมาชิก WTO รวมทั้งประเทศไทยจะใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชได้เท่าที่จำเป็นในการปกป้องสุขภาพของมนุษย์ สัตว์ และพืช (อนันต์, 2543) ดังนั้นประเทศผู้นำเข้าจะต้องมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis) ของพืชนำเข้าและสามารถกำหนดการห้ามนำเข้าโดยมีเหตุผลสนับสนุนเพียงพอและพิสูจน์ได้ตามหลักวิทยาศาสตร์ (อรุณี, 2543) การที่ประเทศไทยมีเขตการค้าเสรี (Free Trade Area, FTA) กับประเทศต่างๆเพิ่มขึ้น สินค้าที่เคยมีการนำเข้าแล้วจะมีปริมาณนำเข้าเพิ่มขึ้น และยังเปิดโอกาสให้มีการนำเข้าสินค้าชนิดใหม่จากต่างประเทศอีกด้วย หากประเทศไทยไม่มีมาตรการสุขอนามัยพืชที่เข้มงวด นอกจากจะเสียเปรียบต่อประเทศคู่ค้าแล้วอาจก่อให้เกิดปัญศัตรูพืชหลายชนิดที่ไม่เคยพบในประเทศติดเข้ามากับสินค้าได้ซึ่งจะแพร่กระจายและเพิ่มปริมาณจนเกิดเป็นการระบาดของศัตรูพืชชนิดใหม่ขึ้น ส่งผลเสียต่อเศรษฐกิจของประเทศอย่างโดยเฉพาะการเกษตรกรรม จึงจำเป็นจะต้องมีมาตรการสุขอนามัยพืชกับพืชที่มีการนำเข้าทั้งหมด โดยเฉพาะอย่างยิ่งสินค้าที่มีปริมาณนำเข้ามากมาจากแหล่งที่มีความเสี่ยงศัตรูพืชสูง จะมีศัตรูพืชเล็ดลอดติดเข้ามาโดยต้องเร่งทำการวิจัยเกี่ยวกับด้านชนิด จำนวนของศัตรูพืช เพื่อที่จะได้จัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่พบในพืชนำเข้า 2 ชนิด และพืชส่งออก 2 ชนิด เพื่อไว้ตรวจสอบกับบัญชี

รายชื่อแมลงศัตรูพืชที่ประเทศคู่ค้าส่งมา รวมทั้งนำไปเป็นข้อมูลสำคัญของฝ่ายกักกันพืชในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารเคมีได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ : สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ แอธิลแอลกอฮอล์ 75%

2. อาหารวุ้นสังเคราะห์ potato dextrose agar (PDA), half strength potato dextrose agar (1/2 PDA),
corn meal agar (CMA), V8 juice agar, RNV เป็นต้น

3. กล้องจุลทรรศน์ชนิด Light microscope (LM) และ Stereo microscope พร้อมกล้องถ่ายภาพ

4. วัสดุอุปกรณ์อื่นๆ ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย ได้แก่ เครื่องแก้ว กระบอกพลาสติก กรวยแก้ว จานเลี้ยงเชื้อพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม. และกระดาษกรอง (Whatman #2) เป็นต้น

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลโรคของข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง อ้อย และข้าวฟ่าง ในประเทศไทย

สืบค้นข้อมูลโรคของข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง อ้อย และข้าวฟ่าง ที่พบระบาดในประเทศไทยจากเอกสารต่าง ๆ หรือจากข้อมูลอิเลคโทรนิค

2. การสำรวจรวบรวม และศึกษาโรคของข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง อ้อย และข้าวฟ่าง

เก็บตัวอย่างข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง อ้อย และข้าวฟ่าง แสดงอาการโรคที่ใบ ดอก ผล กิ่ง ลำต้น และราก โดยเก็บตัวอย่างจากแหล่งปลูกต่าง ๆ ในประเทศไทย ห่อตัวอย่างพืชที่เก็บมาด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติค บันทึกข้อมูลสถานที่เก็บ วันที่เก็บ ผู้เก็บ และข้อมูลภูมิศาสตร์ พร้อมทั้งบันทึกภาพลักษณะอาการของโรค นำตัวอย่างมาศึกษาลักษณะอาการในห้องปฏิบัติการ จัดเก็บโรคพืชโดยการอัดทับเป็นตัวอย่างแห้งเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ ฯ

3. การศึกษาสาเหตุโรคพืช

3.1 การศึกษาสาเหตุจากตัวอย่างพืชเป็นโรคโดยตรง

ศึกษาสาเหตุจากตัวอย่างพืชที่เป็นโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เขี่ยเชื้อจากตัวอย่างดอก ใบ ผล กิ่ง ลำต้น ราก ที่เป็นโรคลงบนแผ่นสไลด์ (slide) แล้วตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.2 การแยกราสาเหตุโรคพืช

แยกเชื้อจากส่วนที่เป็นโรคของข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง อ้อย และข้าวฟ่าง ตัดตัวอย่างโรคพืชบริเวณ เป็นรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติขนาดประมาณ 2x2 มิลลิเมตร ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวพืชโดยแช่ชิ้นส่วนพืชลงในสารละลายโซเดียมไฮโปร์คลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจนแห้งสนิท นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนอาหาร half strength Potato Dextrose Agar (1/2 PDA) แล้วบ่มไว้ในห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-3 วัน ตรวจดูเส้นใยราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ตัด hyphal tip ของราที่เจริญออกมาจากชิ้นตัวอย่างพืช วางลงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เก็บไว้

ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปศึกษารายละเอียดของราเพื่อการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุต่อไป

3.3 การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

แยกจากส่วนของพืชที่มีอาการของโรค ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 4 ตร.มม. ระหว่างรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แต่ละชิ้นตัวอย่างนำมาล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70% 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งแล้ว 3 ครั้ง หลังจาก surface sterilize แล้วนำมาบดในน้ำกลั่น ใช้ loop จุ่มในพืชที่บด นำมา streak บนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PSA(Potato semisynthetic agar) หลังจากนั้นเก็บจานเลี้ยงเชื้อในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 280 ซ. นาน 72 ชั่วโมง แล้วเก็บโคโลนี ทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ โดยวิธี streak plate หลาย ๆ ครั้ง เก็บ single colony เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์

4. การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุโรคพืช

4.1 จำแนกลักษณะราสาเหตุโรคพืช

ศึกษารูปร่างลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจดูลักษณะเส้นใย conidiophores และสปอร์ และศึกษาลักษณะของสปอร์และโครงสร้างอื่น ๆ ของเชื้อรา โดยการ mount slide ด้วยน้ำหรือ shear's solution

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี ลักษณะของสปอร์ conidiophore สี ขนาด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound บันทึกขนาด รูปร่าง วาดภาพ และบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ

4.2 จำแนกลักษณะแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

- จำแนกแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชตามลักษณะทาง สรีรวิทยา และสัณฐานวิทยา ศึกษาลักษณะบนอาหารสังเคราะห์ ลักษณะและสีของโคโลนี ของแบคทีเรีย
- จำแนกลักษณะสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชตามคุณสมบัติทางชีวเคมีและฟิสิกส์

4.3 การตรวจสอบโรคพืชที่เกิดจากเชื้อไวรัส

- ตรวจดูจากลักษณะอาการภายนอก

ส่วนใหญ่พืชที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลายจะมีการเจริญที่ผิดปกติในส่วนต่างๆ ของพืชที่มีการเจริญเติบโต โดยเฉพาะบริเวณใบอ่อนหรือยอดอ่อน อาการผิดปกติรวมไปถึงรูปร่างและสีของใบ ดอก ผล เช่น อาการใบด่าง ดอกด่าง ผลบิดเบี้ยว ต้นพืชเตี้ยแคระแกร็นกว่าปกติ

- การถ่ายทอดโรคโดยวิธีกล

เป็นการทดสอบโดยการบดใบพืชที่สงสัยว่าจะมีเชื้อไวรัสในสารละลายบัฟเฟอร์ และนำน้ำคั้นไปทาลงบนพืชทดสอบที่ทำให้เกิดบาดแผลขนาดเล็กบนใบด้วยผงคาร์บอรันดัม เก็บพืชที่ปลูกเชื้อไว้ในโรงเรือนเพื่อตรวจสอบอาการของโรค

- การถ่ายทอดโรคโดยวิธีติดตาหรือทาบกิ่ง

เหมาะสำหรับการตรวจสอบวินิจฉัยไวรัสในพืชยืนต้น และเป็นไม้เนื้อแข็ง โดยตัดส่วนตา หรือกิ่งจากต้นพืชที่ต้องการตรวจหาเชื้อไวรัส นำมาติกตาหรือทาบกิ่งลงบนต้นกล้าของพืชชนิดเดียวกันหรือสายพันธุ์ที่ใกล้เคียงกันที่ปราศจากโรค ถ้าต้นที่นำมาทดสอบมีเชื้อไวรัส อาการก็จะปรากที่บริเวณยอดอ่อนหรือใบอ่อนของต้นตอ

- การถ่ายทอดโดยแมลงพาหะ

นิยมใช้ในพืชตระกูลหญ้า หรือพืชผัก ที่ไม่สามารถใช้วิธีกลหรือติดตาได้ โดยใช้แมลงพาหะเป็นตัวนำเชื้อไวรัสจากต้นเป็นโรคไปสู่พืชทดสอบ ซึ่งอาจเป็นพืชชนิดเดียวกันหรือต่างชนิดกันก็ได้ แมลงพาหะที่นิยมใช้ เช่น เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เพลี้ยกระโดด ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อไวรัส โดยการให้แมลงดูดกินต้นพืชหรือชิ้นส่วนพืชที่ต้องการตรวจสอบ ประมาณ 48 ชั่วโมง จากนั้นจึงย้ายแมลงไปให้ดูดกินพืชทดสอบนาน 48 ชั่วโมงหรือมากกว่า และจึงกำจัดแมลงบนต้นพืชทดสอบแล้วตรวจสอบอาการโรคภายในระยะเวลา 7-10 วัน

- การตรวจสอบด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา

โดยอาศัยปฏิกิริยาจำเพาะที่เกิดขึ้นระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี วิธีที่นิยมใช้ ได้แก่ Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) อาศัยหลักการพ่วงเอนไซม์บางชนิดเข้ากับแอนติบอดี เมื่อเกิดปฏิกิริยาจำเพาะระหว่างแอนจิเจน (ไวรัส) และแอนติบอดี สามารถเติมสับสเตรทลงไป เอนไซม์ที่พ่วงติดอยู่กับแอนติบอดีจะเปลี่ยนสับสเตรทให้เป็นสารประกอบที่มีสีมองเห็นได้ง่าย แสดงว่ามีเชื้อไวรัสในตัวอย่างนั้นๆ

- การตรวจหากรดนิวคลีอิกของเชื้อไวรัส

ซึ่งวิธีการที่นิยมใช้ในการตรวจมี 2 วิธีหลัก คือ

Molecular hybridization อาศัยหลักการจับคู่กันของเบสตรงกันข้ามบนเส้นดีเอ็นเอหรืออาร์เอ็นเอสายเดี่ยว จึงมีการใช้ดีเอ็นเอตัวตรวจ (DNA probe) ซึ่งเป็นชิ้นดีเอ็นเอสั้นๆ ที่สามารถจับคู่กับยีนหรือยีนบางส่วนของไวรัส ดีเอ็นเอจะถูกติดฉลากด้วยสารเคมี เมื่อยีนของไวรัสจับคู่กับดีเอ็นตัวตรวจ ก็สามารถติดตามดีเอ็นเอตัวตรวจด้วยวิธีการที่เหมาะสม ที่ทำให้เกิดสี ซึ่งก็แสดงว่าตัวอย่างที่ตรวจนั้นมีเชื้อไวรัส

Polymerase chain reaction (PCR) อาศัยหลักการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอสายคู่ด้วยเอนไซม์ DNA polymerase โดยอาศัยไพรเมอร์ ซึ่งจะมีความจำเพาะเจาะจงในการจับคู่กับดีเอ็นเอแต่ละสาย โดยการเกิดปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องในเครื่อง Thermocycler หรือที่เรียกกันทั่วไปว่าเครื่อง PCR เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาจะได้ดีเอ็นที่ถูกสร้างขึ้นมาจำนวนมาก สามารถตรวจดูได้โดยอาศัย gel electrophoresis และย้อมสีด้วย ethidium bromide ซึ่งถ้าพบว่ามีปริมาณดีเอ็นจำนวนมากก็แสดงว่าตัวอย่างที่นำมาตรวจนั้นเป็นโรคไวรัส

- วิธีการตรวจหาอนุภาคไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน เพื่อตรวจลักษณะ รูปร่างและขนาดของอนุภาคไวรัส

4.4 การแยกเชื้อไส้เดือนฝอยสาเหตุ โรคพืช

การเก็บตัวอย่างดิน

เก็บตัวอย่างดินจากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย โดยใช้ท่อเก็บตัวอย่างดินขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 นิ้ว เก็บดินลึกประมาณ 20 เซนติเมตร โดยสุ่มเก็บจำนวน 20 จุดต่อ 1 ตัวอย่าง บันทึกวันที่เก็บตัวอย่าง ชนิดพืช ชนิดดิน อุณหภูมิของดินในขณะเก็บตัวอย่าง บันทึกพิกัดทางภูมิศาสตร์โดยใช้เครื่อง GPS

แยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดินและจัดจำแนก

แยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่างดินโดยวิธีการรินผ่านตะแกรง ร่วมกับการใช้ถาดแยกตัวอย่าง (Decanting and Sieving with Baermann's Tray Technique) คงสภาพไส้เดือนฝอยใน Glycerol และทำสไลด์ถาวร (Cob's Slide) จัดจำแนกไส้เดือนฝอยโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา บันทึกภาพ

5. การทดสอบการเกิดโรค

สำหรับโรคที่พบใหม่นั้นให้ทำการพิสูจน์การเกิดโรค โดยทำการปลูกเชื้อส่วนของเผือก ฟักทอง มันสำปะหลัง และ ยาสูบ โดยทำแผลและไม่ทำแผล เปรียบเทียบกับการเกิดโรคบนส่วนที่ไม่ปลูกเชื้อด้วยวิธีเดียวกันแยกเชื้อสาเหตุจากต้นที่แสดงอาการโรค เปรียบเทียบชนิดของราสาเหตุโรคใช้ในการปลูกเชื้อ

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น – สิ้นสุด
ตุลาคม 2554 – กันยายน 2556 **รวม** 2 **ปี**

สถานที่
- แหล่งปลูกข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง อ้อย และข้าวฟ่าง
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช
- สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สืบค้นข้อมูลโรคข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง อ้อย และข้าวฟ่าง ในประเทศไทย

ตรวจค้นเอกสารและรวบรวมรายชื่อโรคพืชของโรคของข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง อ้อย และข้าวฟ่าง ที่เกิดในประเทศไทยและจัดทำบัญชีรายชื่อโรคพืชของข้าวโพดฝักอ่อน (ตารางที่ 1) มะม่วง (ตารางที่ 2) อ้อย (ตารางที่ 3) และข้าวฟ่าง (ตารางที่ 4) ที่มีรายงานในประเทศไทย พบโรคพืชเกิดจากรา แบคทีเรีย ไวรัสและไส้เดือนฝอย

ตารางที่ 1 โรคของข้าวโพดที่มีรายงานพบในประเทศไทย

โรคพืช	เชื้อสาเหตุ	เอกสารอ้างอิง
โรคต้นเน่าเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย (Bacterial stalk rot)	*Erwinia chrysanthemi* pv.*zeae*	ชุติมันต์ และคณะ(2547), พัฒนา และคณะ (2537)
โรคลำต้นเน่า (Stalk rot)	*Erwinia chrysanthemi*	พรภิมล และคณะ (2550)
โรคเน่าเละ	*Erwinia carotovora* f.sp.*zeae* (Sabet 1954) Victoria *et al.* 1975	พรภิมล และคณะ (2550), พัฒนา และคณะ (2537)
โรคใบขีดแบคทีเรีย	*Pseudomonas (Acitovorax) averae*	สุดฤดี และคณะ (2547), สุพจน์ และคณะ (2556)
โรคใบจุดแบคทีเรีย	*Xanthomonas rubrilleans*	ประชุม และคณะ (2544)
โรคใบไหม้ (Leaf blight)	*Pseodomonas avenae*	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคราเขม่าดำ (common smut)	*Ustilago maydis* (DC.) Cda	ประชุม และคณะ (2544), ชุติมันต์ และคณะ (2547), พัฒนา และคณะ (2537)
โรคราสนิม (southern Rust)	*Puccinia polysora* Underw	ประชุม และคณะ (2544), ชุติมันต์ และคณะ (2547), พัฒนา และคณะ (2537), สุณีรัตน์ และคณะ (25..), สุพจน์ และคณะ (2556)
โรคราสนิมในข้าวโพดหวาน	*Puccinia sorghi* Schw.	ชุติมันต์ และคณะ(2547), สุณีรัตน์ และคณะ (25..)
โรคจุดสีน้ำตาล (Brown spot)	*Physoderma maydis* Miyabe	พัฒนา (2537), ชุติมันต์ และคณะ (2547)
โรคใบไหม้แผลเล็ก (Southern leaf blight)	*Bipolaris maydis* (Nisik. & Miyake.) Shoemaker.	กองโรคพืชฯ (2545), พัฒนา และคณะ (2537), ชุติมันต์ และคณะ (2547), สุพจน์ และคณะ (2556)
โรคใบไหม้แผลใหญ่ (Northern corn leaf blight)	*Bipolaris turcica* (Pass.) =*Exserohilum turcicum* (Pass.)	กองโรคพืชฯ (2545), พัฒนา และคณะ (2537), ชุติมันต์ และคณะ (2547), พีระวรรณ และคณะ (2553), ศิริวิไล และคณะ (2554),สุพจน์ และคณะ (2556)
โรคใบจุด (northern leaf spot)	*Bipolaris carbonum* (Ullstrup) Shoemaker. = *Biopolaris zeicola* (stout) Shoemaker	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคใบจุด (Leaf spot)	*Curvularia lunata* (Wakker) Boed.var.aeria	พัฒนา และคณะ (2537), พีระวรรณ และคณะ (2553)
โรคใบจุด (Leaf spot)	*Curvularia lunata* var. *aeria*	พัฒนา และคณะ (2537)

โรคพืช	เชื้อสาเหตุ	เอกสารอ้างอิง
โรคใบจุด (Leaf spot)	*Curvularia pallescens* Boedijin	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคใบจุด (Leaf spot)	*Alternaria tenuis* Ness.Excola = *A. alternata*	ประชุม และคณะ (2544)
โรคราน้ำค้าง (downy mildew)	*Peronosclerospora sorghi* (W.Weston & Uppal) Shaw	กองโรคพืชฯ (2545), พัฒนา และคณะ (2537), ชุติมันต์ และคณะ (2547), สุพจน์ และคณะ (2556), พัชรวิภา และคณะ (2556), เชาวนาถ และคณะ (2556), ชุติมันต์ และคณะ (2554)
โรคเมล็ดเน่า	*Aspergillus flavus* Link .Fries.	ประชุม และคณะ (2544)
โรคเมล็ดเน่า (Seed rot)	*Fusarium moniliforme* Sheldon	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคฝักเน่า (Ear rot)	*Fusarium aurantiacum*	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคฝักเน่า (Ear rot)	*Diplodia zeae*	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคเน่าแห้ง (Charcoal rot)	*Botryodiplodia phaseoli*	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคแอนแทรคโนส, ลำต้นเน่า (Anthracnose, Stalk rot)	*Colletotrichum graminicola*	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคฝักและลำต้นเน่า (Pod and stem rot)	*Cephalosporium acremonium*	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคโคนเน่าขาด (seeding blight , crown rot)	*Aspergillus niger*	ประชุม และคณะ (2544)
โรคราเขียวในเมล็ด	*Penicilium funiculosum*	ประชุม และคณะ (2544)
โรคเน่า	*Fusarium graninearum*	ประชุม และคณะ (2544)
โรคถอดฝักดาบ	*Fusarium moniliforme*	ประชุม และคณะ (2544), ชุติมันต์ และคณะ (2547)
โรคเหี่ยวเหลือง (fusarium wilt)	*Fusarium* sp.	ประชุม และคณะ (2544)
โรคเหี่ยว	*Fusarium tricinctum*	ประชุม และคณะ (2544)
โรคกาบและใบไหม้ (Banded Leaf and Sheathblight)	*Rhizoctonia solani Kuhn*	พัฒนา และคณะ (2537), ชุติมันต์ และคณะ (2547), พีระวรรณ และคณะ (2546)
โรคโคนเน่า (Basal stem rot Disease)	*Marasmiellus paspali* (Petch) Singer	พัฒนา และคณะ (2537), ชุติมันต์ และคณะ (2547)
โรคกล้าเน่า	*Sclerotium rolfsii*	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคข้อต่อเน่า (Collar rot)	*Pythium arrhenomanes*	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคเน่า	*Rhizopus* sp.	ประชุม และคณะ (2544)

โรคพืช	เชื้อสาเหตุ	เอกสารอ้างอิง
โรคต้น ฝัก และ เมล็ดเน่า (Diplodia stalk Kernel and Ear Rot)	*Diplodia maydis* (Berk,) Sacc.	ชุติมันต์ และคณะ (2547)
โรคต้นเน่า (Charcola Rot)	*Macrophomina phaseolina* (Tassi) G.Goid	ชุติมันต์ และคณะ (2547), พัฒนา และคณะ (2537), พจนา และคณะ (2553)
ไส้เดือนฝอยทำลายราก (Cyst nematode)	*Heterodera zeae*	พัฒนา และคณะ (2537)
โรครากแผล (Root lesion)	*Pratylenchus sp.*	พัฒนา และคณะ (2537)
โรครากปม (Root knot)	*Meloidogyne incognita*	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคใบด่าง	Maize stripe tunuivirus	Sdoode et al , 1998
โรคใบด่างลาย, ใบด่างแคระ (Sugarcane Mosaic Virus Disease)	Sugarcane Mosaic Virus (SCMV)	พิสสวรรณ และคณะ (2552), พัฒนา และคณะ (2537)
โรคใบด่าง	Sugarcane streak mosaic virus (SCMV)	พิสสวรรณ และปวีณา (2554), สุพจน์ และคณะ (2556)
โรคใบด่างประจุดเหลือง	Maize Chlorotic Mottle Virus (MCMV)	พิสสวรรณ และคณะ (2552)
โรคใบด่างแคระ (Dwarf mosaic)	Maize Dwarf Mosaic Virus (MDMV)	พัฒนา และคณะ (2537), ศิริวิไล และคณะ (2556)
โรคใบด่างแถบขาว (Brome mosaic)	Brome Mosaic Virus (BMV)	พัฒนา และคณะ (2537)
โรค Maize rough dwarf	Maize Rough Dwarf Virus (MRDV)	พัฒนา และคณะ (2537)

ตารางที่ 2 โรคของมะม่วงที่มีรายงานพบในประเทศไทย

โรคพืช	เชื้อสาเหตุ	เอกสารอ้างอิง
โรคใบจุด (Bacterial leaf spot)	*Pseudomonas mangiferae* Petel	นิพนธ์ (2542)
แอนแทรคโนส (Anthracknose)	*Colletotrichum gloeosporiodes* Penz.	จินันทนา และวิชชา (2546), พรพิมล และคณะ (2554), สุชาติ (2541), วิชชา และคณะ (2548), ปริญญา และคณะ (2553)
ราแป้ง (Powdery mildew)	*Oidium mangiferae* Benthef	สุชาติ (2541)
ราแป้ง (Powdery mildew)	*Oidium* subgen *Pseudoidium mangiferae*	ยุทธศักดิ์ และคณะ (2553)
จุดสาหร่าย (Algal spot)	*Cephaleuros virescens* Kunze	สุชาติ (2541)
ราสีชมพู	*Corticium salmonicolor* Berk et Br. *Syn; Erythricium salmonicolor* (Berk. & Br.) Burds. *Pellicularia salmonicolor* (Berk. & Br.) Dustur.	CABI (2003), เตือนใจ และคณะ (2545), นิพนธ์ (2542), สุชาติ (2541)
ช่อดอกดำ (Blossom blight)	*Colletotrichum* sp.	สุชาติ (2541)
ช่อดอกดำ	*Fusarium* sp.	สุชาติ (2541)
ช่อดอกดำ	*Cladosporium* sp.	สุชาติ (2541)
ช่อดอกดำ	*Alternaria* sp.	สุชาติ (2541)
ช่อดอกดำ	*Pestalotiopsis* sp.	สุชาติ (2541)
ราดำ (Sooty mold)	*Capnodium mangiferae* Cke. & Brown	เตือนใจ และคณะ (2545), นิพนธ์ (2542)
ราดำ (Sooty mold)	*Capnodium mangiferae* Cke. & Brown	เตือนใจ และคณะ (2545), นิพนธ์ (2542), พิพัฒน์ (2532)
	Graphium sp.	CABI (2003), นิพนธ์ (2542)
โคนเน่า (Foot rot)	*Sclerotium delphinil* [*Athelia rolfsii* var. *delphinil (Curz.i)* Tu & Kimbrough	อุบล และคณะ (2529ก)
ผลเน่า (Fruit rot)	*Aspergillus niger* Van Tiegh	CABI (2003), นิพนธ์ (2542)
	Botrytis cinerea Pers.ex Fr. = *Botryotinia fuckeliana de Bary*	CABI (2003), นิพนธ์ (2542)
ใบจุด (Leaf spot)	*Cercospora mangiferae* Koord.	นิพนธ์ (2542)

โรคพืช	เชื้อสาเหตุ	เอกสารอ้างอิง
ราปื้นดำบนผล	*Cladosporium* sp.	กรรณิการ์ และคณะ (2527), นิพนธ์ (2542)
	Colletotrichum acutatum Simmonds ex Simmonds	CABI (2003)
	Gloeosporium mangifera P. Henn. =Colletotrichum coccodes (Wallr.) Hughes	กรรณิการ์ และคณะ (2527)
ราปื้นดำบนผล	*Nigrospora* sp.	นิพนธ์ (2542)
โรคใบจุด ผลเน่า (Leaf spot, Fruit rot)	*Pestalotia* sp.	กรรณิการ์และคณะ (2527), ปรีชา (2508)
ใบจุดสีเทา	*Pestalotiopsis mangiferae* (Henn.) Steyaert	นิพนธ์ (2542)
	Rhizoctonia solani Khun. (Telemorph) Syn. = *Corticium solani* (Pril. & Del.) Bou. & Gal.; *Pellicularia filamentosa* (Pat.) Rogers; *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk	CABI (2003)
สะแคป (Scab)	*Sphaceloma mangiferae* Cook Syn. = *Denticularia mangiferae*; *Elsinoe mangiferae*	กรรณิการ์ (2547), เตือนใจ และคณะ (2545), CABI (2003)
	Stemphylium vesicarium (Wallr.) E.G. Simmons	CABI (2003)
ใบจุด (Leaf spot)	*Toxosporium* sp.	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคเน่าดำ (Black rot)	*Phytophthora palmivora* (Butler) Butler	อุบล และคณะ (2529ก), อุบล และคณะ(2529ข)
โรครากเน่า (Root rot)	*Pytium sp.*	พัฒนา และคณะ (2537)
ราดำ (Sooty mold)	*Meliola mangiferae* Earle	พัฒนา และคณะ (2537), นิพนธ์ (2542)
โรคผลเน่า	*Botryosphaeria ribis* Grossenb & Duggar.	CABI (2003), วัลลภา และสุภา (2529)
โรคขั้วผลเน่า	*Dothiorella dominicana* Petr. & Cif.	ผุสดี (2529), นิพนธ์ (2542)
แห้งตายจากยอด	*Dothiorella mangifera* Syd.	สุชาติ (2541)

โรคพืช	เชื้อสาเหตุ	เอกสารอ้างอิง
โรคยางไหล กิ่งแห้ง	*Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff *& Maubl* = *Diplodia natalensis* Pole & Evans = *Botryodiplodia theobromae*	CABI (2003), นิพนธ์ (2542), นิพนธ์ และสุรชาติ (2533)
แห้งตายจากยอด (Die back)	*Nattrassia mangiferae* (Syd & P. Syd) Sutton & Dyko = *Dothiorella mangiferae* Syd & P. Syd.	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคขั้วผลเน่า	*Botryodiplodia theobromae* Pat.	สายพิณ (2532)
โรคขั้วผลเน่า	*Phomopsis mangiferae* Ahmad.	ฉวีวรรณ (2536)
ผลเน่า	*Phomopsis* sp.	พัฒนา และคณะ (2537), นิพนธ์ (2542)
ใบจุด	*Phyllosticta mortoni*	กรรณิการ์ และคณะ (2527), พัฒนา และคณะ (2537), นิพนธ์ (2542)
ผลเน่า	*Rhizopus stolonifer* (Ehrenb. Fr.) Vuill.	CABI (2003), นิพนธ์ (2542)
	Hemicriconemoides mangifera Siddiqi	Chunram (1972)
	Macroposthonia onoensis Luc & Raski	CABI (2003), Pholcharoen *et al.* (1972)
	Helicotylenchus dihystera (Cobb)Sher	Ratanaprapa and Boonduang (1975)
	Helicotylenchus multicinctus (Cobb) Sher	Ratanaprapa and Boonduang (1975)
	Hoplolaimus indicus Sher	CABI (2003), Ratanaprapa and Boonduang (1975)
	Rotylenchulus sp.	Chunram (1972)
	Rotylenchulus reniformis Linford & Oliveria	CABI (2003), Chunram (1972)
	Meloidogyne incognita Chitwood	CABI (2003), Boonduang and Pliansinchai (1986)
	Pratylenchus zeae Graham	CABI (2003), Pliansinchai and Boonduang (1986)
	Xiphinema insigne Loos	CABI (2003), Chunram (1972)

ตารางที่ 3 โรคของอ้อยที่มีรายงานพบในประเทศไทย

โรคพืช	เชื้อสาเหตุ	เอกสารอ้างอิง
BACTERIA		
โรคเน่าคออ้อย (แบคทีรีโอซีส)	*Erwinia* sp.	เฉลิมพล และคณะ (2547), ผุด และคณะ (2536)
โรคใบลวก (Leaf scald)	*Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dows	ธนาคร และคณะ (2526), พัฒนา (2537)
โรคใบขีดแดงและยอดเน่า (Red stripe and top rot)	*X. rubrilineans* (Xalb)	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคกัมโมซิส (Gummosis)	*X. vasculorum*	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคยอดเน่า/ใบขีดแดง	*Psueudomonas* sp.	เฉลิมพล และคณะ (2547), ธนาคร และคณะ (2526)
FUNGI		
โรคแส้ดำ (Smut disease)	*Ustilago scitaminea* Syd. & P.Syd.	วันทนีย์ (2545; 2547), พัฒนา และคณะ (2537), อัปสร ละคณะ (2536)
โรคราดำ (Sooty mold)	*Capnodium* sp. *Fumago* sp.	เฉลิมพล และคณะ (2547), ธนาคร และคณะ (2526)
โรคราดำ (Sooty mold)	*Fumago vagans* Pers.	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคราดำ (Sooty mold)	*Caldariomyces fasciculatus* Yamamoto	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคราดำ (Sooty mold)	*Chaetothyrium spingerum* (Hohn) Yamam.	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคราน้ำค้าง (Downy mildew)	*Sclerospora spontanea* Weston	เฉลิมพล และคณะ (2547), ธนาคร และคณะ (2526), สมเกียรติ และคณะ (2521)
โรคใบจุดเหลือง (Yellow spot)	*Mycovellosiella koepkei* (Krüger) Deighton	วันทนีย์ (2547), สุนี และคณะ (2538)
โรคราสนิม (Rust)	*Puccinia melanocephala* Syd.& P.Syd.	วันทนีย์ (2545; 2547), พัฒนา และคณะ (2537)
โรคราสนิม (Rust)	*P. kuehnii*	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคใบจุดวงแหวน (Ring spot disease)	*Leptosphaeria sacchari* Breda de Haan.	วันทนีย์ (2545; 2547)

โรคพืช	เชื้อสาเหตุ	เอกสารอ้างอิง
โรคใบแห้ง (Leaf scorech)	*Stagonospora sacchari* Lo & Ling	เฉลิมพล และคณะ (2547), พัฒนา และคณะ (2537)
โรคใบวงสีน้ำตาล (Brown stripe)	*Cochliobolus stenospilus* T.Mats. & Yamam. (perfect stage)	ธนาคร และคณะ (2526)
	Helminthosporium stenospilum Drechs. (imperfect stage)	
โรคใบจุดแผลใหญ่	*Helminthosporium sacchari* E.J.Butler (1913) (*Drechslera sacchari* Priode)	ธนาคร และคณะ (2526)
โรคใบจุดรูปตา (Eye spot)	*Bipolaris sacchari* (E.J.Butler) Shoemaker	เฉลิมพล และคณะ (2547), ธนาคร และคณะ (2526), พัฒนาและคณะ (2537)
โรคใบจุดสีน้ำตาล (Brown spot)	*Cercospora longipes* Butl	เฉลิมพล และคณะ (2547), ธนาคร และคณะ (2526), พัฒนา และคณะ (2537)
โรคใบจุด, โรคกาบใบจุดสีแดง (Leaf spot, Red rot)	*Cercospora vaginae* W.Krüger (1896)	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคใบจุดสีน้ำตาล (Brown spot)	*Cercospora* sp.	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคกาบใบเน่า (Sheath rot)	*Cytospora saachari*	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคใบจุดแผลซ้อน (Veneer blotch)	*Deightoniella papuana* D.E.Shaw (1959)	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคใบไหม้ (Leaf blast)	*Didymosphaeria taiwanensis* W.Y.Yen & C.C.Chi (1954)	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคใบจุดม่วง (Purple spot)	*Dimeriella sacchari* (Breda de Haan) Hansf. Ex E.V.Abbott (1964)	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคใบจุดแผลใหญ่ (Target blotch)	*Drechslera* sp.	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคโซเนท (Zonate leaf spot)	*Gloeocercospora sorghi* D.C.Bain & Edgerton (1943)	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคใบจุดดำ (Tar spot)	*Phyllachora sacchari* Henn.	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคโคนเน่า (Basal stem rot)	*Armillaria* sp.	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคลำต้นแห้ง (Rind disease)	*Melanconium sacchari* (Mass.) Petr.& Syd (imperfect stage) *Phaeocytostroma sacchari* (Ell. & Ev.) Sutton (perfect stage)	ธนาคร และคณะ (2526)

โรคพืช	เชื้อสาเหตุ	เอกสารอ้างอิง
โรคลำต้นเน่าแดงและเส้นใบแดง (Red rot)	*Glomerella tucumanensis* (Speg.) Arx & E.Müll. (1954)	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคไส้เน่าแดง, ลำต้นเน่าแดง (Red Rot disease)	*Colletotrichum falcatum* Went.	วันทนีย์ (2545; 2547), พัฒนาและคณะ (2537), สุนี (2550)
โรคเหี่ยวเน่าแดง (Red rot)	*Fusarium monilifome* J.Sheld + *Colletotrichum falcatum* Went.	วันทนีย์ (2545, 2547)
โรคเหี่ยว (Wilt)	*Cephalosporium* sp.	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคเหี่ยว (Wilt)	*Fusarium sp.*	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคลำต้นเน่า (Fusarium stem rot)	*Gibberella fujikuroi* (Sawada) Wollenw. (1931) (*Fusarium monilifome* J.Sheld)	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคเหี่ยว (Wilt disease)	*Fusarium subglutinans* (Wollenw. & Reinking) (1983) + *Cephalosporium* sp.	ธนาคร และคณะ (2526), พัฒนาและคณะ (2537)
โรครากเน่า (Pythium root rot)	*Pythium* spp.	เฉลิมพล และคณะ (2547), วันทนีย์ (2545; 2547)
โรครากเน่า (Root rot)	*Pythium arrhenomanes* Drechsler (1928)	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคปล้องเน่า (Cane rot)	*Schizophyllum commune* Fries	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคกาบใบเน่า (Sheath rot)	*Sclerotium* sp.	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคยอดเน่าแห้ง (Dry top rot)	*Sorosphaera vasculorum* (Matz) M.T.Cook 1937	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคราก กาบใบและโคนต้นเน่า (Root , sheath and basal stem rot)	*Marasmiellus* sp. *Marasmius stenophyllus* Mont.	วันทนีย์ (2545; 2547)
โรครากเน่า (Root rot)	*Marasmius sacchari* Wakker (1896)	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคยอดบิด (Pokkah Boeng)	*Fusarium moniliforme.* J.Sheldo	วันทนีย์ (2545; 2547), พัฒนา (2537)
โรคกลิ่นสับปะรด (Pineapple disease)	*Thielaviopsis paradoxa* (De Seynes) Höhn. (1904) (*Ceratocystis paradoxa* (Dade) C. Moreau)	วันทนีย์ (2545; 2547), พัฒนา (2537)

โรคพืช	เชื้อสาเหตุ	เอกสารอ้างอิง
โรคกาบใบเน่าแดง (Red rot of leaf shesth)	*Sclerotium rolfsii* Sacc. *(Hypochus centrifuges* (Lev.) Tul.(perfect stage)	ธนาคร และคณะ (2526)
โรคดอกดำ	*Sphacelia* sp. (imperfect stage)	ธนาคร และคณะ (2526)
โรคตอแคระแกร็น (Ratoon stunting disease)	*Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, (Lxx)	ธนาคร และคณะ (2526)
NEMATODE		
ไส้เดือนฝอยทำลายราก	*Helicotylenchus* sp.	พัฒนา และคณะ (2537)
โรครากปม (Root khot)	*Meloidogyne incognita*	พัฒนา และคณะ (2537)
โรครากปม (Root khot)	*M. javanica*	พัฒนา และคณะ (2537)
โรครากแผล (Root lesion)	*Pratylenchus* sp.	พัฒนา และคณะ (2537)
ไส้เดือนฝอยทำลายราก (Root parasite)	*Tychodorus* spp.	พัฒนา และคณะ (2537)
ไส้เดือนฝอยทำลายราก (Root parasite)	*Tylenchorhynchus* spp.	พัฒนา และคณะ (2537)
VIRUS		
โรคใบเหลือง	Phytoplasma	เฉลิมพล และคณะ (2547)
โรคใบด่าง (Mosaic)	Sugarcane Mosaic Virus (SCMV)	เฉลิมพล และคณะ (2547), ธนาคร และคณะ (2526) พัฒนา และคณะ (2537)
โรคใบด่างแถบขาว	virus ในกลุ่ม Brome mosaic virus (BMV)	เฉลิมพล และคณะ (2547), ธนาคร และคณะ (2526), พัฒนา และคณะ (2537)
โรคใบด่างขีดเหลือง (Sugarcane white stripe)	virus	เฉลิมพล และคณะ (2547), ธนาคร และคณะ (2526)
โรคฟิจิ (Fiji disease, SFDV)	Sugarcane Fiji disease virus	เฉลิมพล และคณะ (2547), ธนาคร และคณะ (2526), พัฒนา (2537)
โรคใบขาว (White leaf)	Mycoplasma like organism, MLO)	เฉลิมพล และคณะ (2547), นิลุบล และคณะ (2555), ศุจิรัตน์ และคณะ (2550), สุนี และคณะ (2537)
โรคกอตะไคร้	Phytoplasma	วัลลิภา และคณะ (2546)

ตารางที่ 4 โรคของข้าวฟ่างที่มีรายงานพบในประเทศไทย

โรคพืช	เชื้อสาเหตุ	เอกสารอ้างอิง
BACTERIA		
โรคยอดเน่า (Bacterial top rot)	*Erwinia chrysanthemi* (Echr)	พัฒนา (2537)
โรคใบขีดโปร่งแสง (Bacterial stripe)	*Pseudomonas andropogonis* Smith 1911	พัฒนา (2537)
โรคใบขีดโปร่งแสง (Bacterial streak)	*Xanthomonas holcicola* (Elliott 1930) Starr & Burkholder 1942	พัฒนา (2537)
FUNGI		
โรคเออร์กอท (Ergot)	*Claviceps* sp.	เตือนใจ และ โกมินทร์ 2530
โรคเออร์กอท (Ergot)	*Sphacelia sorghi* MaRae	เตือนใจ และคณะ (2527)
โรคเขม่าดำ (Smut)	*Ustilago* sp.	พัฒนา (2537)
โรคราสนิม (Rust)	*Puccinia purpurea* Cooke	พัฒนา (2537)
โรคราดำ (Head mold)	*Aspergillus* sp.	พัฒนา (2537)
โรคเมล็ดเน่าหรือโรคราที่เมล็ด (Head mold, Grain mold)	*Alternaria* sp.	กองโรคพืชฯ (2545)
โรคเมล็ดเน่าหรือโรคราที่เมล็ด (Head mold, Grain mold)	*Curvularia lunata* (Wakker) Boedijin	กองโรคพืชฯ (2545), ยงยุทธ และคณะ (2540), เฉลิมพล และคณะ (2541), พัฒนา (2537)
โรคเมล็ดเน่าหรือโรคราที่เมล็ด (Head mold, Grain mold)	*Helminthosporium* sp.	กองโรคพืชฯ (2545)
โรคช่อดอกไหม้และยอดบิด	*Fusarium moniliforme* Sheldon	พัฒนา และคณะ , 2527, กอบกุล (2531), อภิรัชต์ และคณะ (2553)
โรคราช่อ (Head mold)	*Fusarium semitectum* Berk. & Ravenel	พัฒนา และคณะ (2537)
โรคเมล็ดเน่า (kernel rot)	*Fusarium sp.*	กองโรคพืชฯ (2545), ยงยุทธ และคณะ (2540), เฉลิมพล และคณะ (2541), พัฒนา (2537)
โรคราช่อ (Head mold)	*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.	พัฒนา (2537)
โรคราช่อ (Head mold)	*Cladosporium* sp.	พัฒนา (2537)
โรคราช่อ (Head mold)	*Nigrospora* sp.	พัฒนา (2537)
โรคราช่อ (Head mold)	*Penicilium* sp.	พัฒนา (2537)
โรคราช่อ (Head mold)	*Phoma* sp.	พัฒนา (2537)
โรคเมล็ดเน่า (seed rot)	*Phoma insidiosa* Tassi	พัฒนา (2537)
โรคใบจุดสีเทา (Grey leaf spot)	*Cercospora sorghi* Ellis & Everh.	พัฒนา (2537)
โรคแอนแทรคโนส (Anthracnose)	*Colletotrichum sublineolum* Henn.	พจนา (2553), พัฒนา (2537)

โรคพืช	เชื้อสาเหตุ	เอกสารอ้างอิง
โรคใบจุด (Leaf spot)	*Curvularia sp.*	พัฒนา (2537)
โรคใบจุดโซนเนท (zonate leaf rot)	*Gloeocercospora* sp.	พัฒนา (2537)
โรคใบจุด (Leaf spot)	*Pestalotia sp.*	พัฒนา (2537)
โรคใบจุด (Leaf spot)	*Phyllosticta sorghina* Sacc.	พัฒนา (2537)
โรคใบจุดสีน้ำตาล (Brown spot)	*Physoderma maydis* (Miyabe) Miyabe	พัฒนา (2537)
โรคใบไหม้ (Leaf blight)	*Exserohilum turcicum* (Pass.) Leo & Suggs	พัฒนา (2537)
โรคจุดดำ (tar spot)	*Phyllachora sorghi* Höhn.	พัฒนา (2537)
โรคลำต้นเน่า (Stem rot, Anthracnose)	*Colletotrichum graminicola* (Ces.) Munt.-Cvetk.	พัฒนา (2537)
โรคลำต้นเน่า	*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.	พจนา (2553)
โรคราดำ, โรคลำต้นเน่า	*Cephalosporium acremonium* Corda	พัฒนา (2537)
โรคเน่าแห้ง (Charcoal rot)	*Botryodiplodia phaseoli* (Maubl.)	พัฒนา (2537)
โรคลำต้นเน่าแดงของข้าวฟ่าง	*Fusarium oxysporum* Schlecht.	อภิรัชต์ และคณะ (2553)
NEMATODE		
โรครากปม (root knot)	*Meloidogyne graminicola* Golden & Birchfield	พัฒนา (2537)
VIRUS		
โรคยอดฝอย (Phyllody)	Phytoplasma	กองโรคพืชฯ (2545)
โรคใบด่าง (Maize)	Maize Dwarf Mosaic Virus (MDMV)	พัฒนา (2537)
โรคใบด่าง (Sugarcane Mosaic Virus Disease)	*Sugarcane Mosaic Virus* (SCMV)	พัฒนา (2537)

2. การสำรวจรวบรวม และศึกษาโรคข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง อ้อย และข้าวฟ่าง

สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคชนิดต่าง ๆ ของข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง อ้อย และข้าวฟ่าง ระหว่างเดือนกันยายน 2554 – เดือนตุลาคม 2556 จากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย ได้แก่

ข้าวโพดฝักอ่อน พบ**โรคราน้ำค้าง** ระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี (3 พื้นที่) ชลบุรี (2 พื้นที่) นครราชสีมา (1 พื้นที่) นครสวรรค์ (1 พื้นที่) ราชบุรี (4 พื้นที่) และพบ**โรคใบไหม้แผลใหญ่** ระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี (1 พื้นที่) และชลบุรี (1 พื้นที่)

มะม่วง พบ**โรคแอนแทรคโนส** ระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี (3 พื้นที่) จันทบุรี (5 พื้นที่) ฉะเชิงเทรา (4 พื้นที่) เชียงใหม่ (2 พื้นที่) เชียงราย (1 พื้นที่) นครราชสีมา (8 พื้นที่) นครพนม (2 พื้นที่) พระนครศรีอยุธยา (3 พื้นที่) เพชรบูรณ์ (5 พื้นที่) เพชรบุรี (4 พื้นที่) ประจวบคีรีขันธ์ (2 พื้นที่) ราชบุรี (5 พื้นที่) สระแก้ว (3 พื้นที่) สระบุรี (7 พื้นที่) และอ่างทอง (3 พื้นที่) โรคราแป้ง ระบาดที่

จังหวัดฉะเชิงเทรา (2 พื้นที่) นครราชสีมา (4 พื้นที่) ราชบุรี (3 พื้นที่) สระแก้ว (1 พื้นที่) สระบุรี (2 พื้นที่) และอ่างทอง (2 พื้นที่) **โรคจุดสาหร่าย** ระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี (3 พื้นที่) จันทบุรี (5 พื้นที่) ฉะเชิงเทรา (4 พื้นที่) ชลบุรี (3 พื้นที่) เชียงใหม่ (2 พื้นที่) นครราชสีมา (8 พื้นที่) นครพนม (2 พื้นที่) พระนครศรีอยุธยา (3 พื้นที่) เพชรบูรณ์ (5 พื้นที่) เพชรบุรี (4 พื้นที่) ราชบุรี (2 พื้นที่) ลำพูน (8 พื้นที่) สระแก้ว (3 พื้นที่) และ สระบุรี (4 พื้นที่) **โรคราสีชมพู** พบที่จังหวัดจันทบุรี **โรคช่อดอกดำ** พบระบาดที่จังหวัดฉะเชิงเทรา (4 พื้นที่) จันทบุรี (1 พื้นที่) นครราชสีมา (5 พื้นที่) ราชบุรี (3 พื้นที่) **โรคราดำ** พบระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี (1 พื้นที่) จันทบุรี (1 พื้นที่) ฉะเชิงเทรา (10 พื้นที่) เชียงราย (1 พื้นที่) นครราชสีมา (10 พื้นที่) ราชบุรี (5 พื้นที่) สระแก้ว (6 พื้นที่) สระบุรี (8 พื้นที่) **โรคใบจุด** พบระบาดที่จังหวัดนครราชสีมา สระบุรี **โรคเปลือกแตกยางไหล** พบระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี (1 พื้นที่) จันทบุรี (1 พื้นที่) ฉะเชิงเทรา (2 พื้นที่) นครราชสีมา (2 พื้นที่) ชลบุรี (1 พื้นที่) **โรคผลเน่า** พบระบาดที่จังหวัดจันทบุรี (1 พื้นที่) ฉะเชิงเทรา (2 พื้นที่) สระแก้ว (3 พื้นที่) สระบุรี (4 พื้นที่) **โรคขั้วผลเน่า** พบระบาดที่จังหวัดนครราชสีมา จันทบุรี ฉะเชิงเทรา สระแก้ว ราชบุรี

อ้อย พบ**โรคแส้ดำ**ระบาดที่ขอนแก่น (2 พื้นที่) ชลบุรี (1 พื้นที่) ราชบุรี (4 พื้นที่) ระยอง (1 พื้นที่) สุพรรณบุรี (2 พื้นที่) **โรคราสนิม**ระบาดที่จังหวัดระยอง **โรคใบจุดวงแหวน** พบระบาดที่จังหวัดกาฬสินธ์ (3 พื้นที่) ขอนแก่น (6 พื้นที่) ชัยภูมิ (6 พื้นที่) ชลบุรี (4 พื้นที่) นครราชสีมา (3 พื้นที่) เพชรบูรณ์ (7 พื้นที่) ราชบุรี (4 พื้นที่) ระยอง (3 พื้นที่) ลพบุรี (5 พื้นที่) สุพรรณบุรี (1 พื้นที่) **โรคใบจุดรูปตา** พบระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี (1) ราชบุรี (3) **โรคเส้นใบแดง** พบระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี (7 พื้นที่) กาฬสินธ์ (3 พื้นที่) ชัยภูมิ (3 พื้นที่) ชลบุรี (3 พื้นที่) นครราชสีมา (1 พื้นที่) ราชบุรี (12 พื้นที่) ระยอง (3 พื้นที่) ประจวบคีรีขันธ์ (3 พื้นที่) เพชรบูรณ์ (8 พื้นที่) ลพบุรี (2 พื้นที่) สุพรรณบุรี (8 พื้นที่) **โรคเหี่ยวเน่าแดง** พบที่จังหวัดเพชรบูรณ์และลพบุรี **โรคปล้องเน่า** พบที่จังหวัดเพชรบูรณ์และลพบุรี **โรคใบขาว** พบระบาดที่จังหวัดกาฬสินธ์ (1 พื้นที่) ขอนแก่น (3 พื้นที่) ระยอง (1 พื้นที่) สุพรรณบุรี (1 พื้นที่) **โรคกอตะไคร้** พบระบาดที่จังหวัดระยอง (1 พื้นที่) ราชบุรี (1 พื้นที่)

ข้าวฟ่าง พบ**โรคแอนแทรคโนส** พบระบาดที่จังหวัดสุพรรณบุรี และนครราชสีมา **โรคใบจุด** พบระบาดที่จังหวัดนครราชสีมา เพชรบุรี เพชรบูรณ์ สระบุรี ลพบุรี **โรคราสนิม** พบระบาดที่จังหวัดนครราชสีมา **โรคลำต้นเน่า** พบระบาดที่จังหวัดนครราชสีมา **โรคเมล็ดเน่า** พบระบาดที่จังหวัดนครราชสีมา **โรคเน่าแห้ง** พบระบาดที่จังหวัดสุพรรณบุรี

เก็บตัวอย่างโรคของข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง อ้อย และข้าวฟ่าง ไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

3. การศึกษาสาเหตุโรคพืช

จากการศึกษาลักษณะของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยตรงและการแยกเชื้อโดยวิธี Tissue Transplanting พบโรคต่าง ๆ ดังนี้

ข้าวโพดฝักอ่อน พบ**โรคราน้ำค้าง** สาเหตุเกิดจากรา *Peronosclerospora sorghi* ระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี ชลบุรี นครราชสีมา นครสวรรค์ ราชบุรี และพบ**โรคใบไหม้แผลใหญ่** สาเหตุเกิดจากรา *Exserohilum turcicum* ระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี และชลบุรี

มะม่วง พบ**โรคแอนแทรคโนส** สาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum gloeosporioidea* ระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี จันทบุรี ฉะเชิงเทรา เชียงใหม่ เชียงราย นครราชสีมา นครพนม พระนครศรีอยุธยา เพชรบูรณ์ เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ราชบุรี สระแก้ว สระบุรี และอ่างทอง **โรคราแป้ง** สาเหตุเกิดจากรา *Oidium mangiferae* ระบาดที่จังหวัดฉะเชิงเทรา นครราชสีมา ราชบุรี

สระแก้ว สระบุรี และอ่างทอง **โรคจุดสาหร่าย** สาเหตุเกิดจาก*Cephaleuros virescens* ระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี จันทบุรี ฉะเชิงเทรา ชลบุรี เชียงใหม่ นครราชสีมา นครพนม พระนครศรีอยุธยา เพชรบูรณ์ เพชรบุรี ราชบุรี ลำพูน สระแก้ว และ สระบุรี **โรคราสีชมพู** สาเหตุเกิดจากรา *Corticium salmonicolor* พบที่จังหวัดจันทบุรี **โรคช่อดอกดำ** สาเหตุเกิดจากราหลายชนิด ได้แก่ *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alternaria* และ *Pestalotiopsis* พบระบาดที่จังหวัดฉะเชิงเทรา จันทบุรี นครราชสีมา ราชบุรี **โรคราดำ** สาเหตุเกิดจากรา *Capnodium mangiferae* พบระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี จันทบุรี ฉะเชิงเทรา เชียงราย นครราชสีมา ราชบุรี สระแก้ว สระบุรี และราดำสาเหตุเกิดจากรา *Meliola mangiferae* พบระบาดที่จังหวัดนครราชสีมา ฉะเชิงเทรา สระแก้ว สระบุรี **โรคใบจุด** สาเหตุเกิดจากรา *Phyllosticta mangiferae* พบระบาดที่จังหวัดนครราชสีมา สระบุรี **โรคเปลือกแตกยางไหล** สาเหตุเกิดจากรา *Lasiodiplodia theobromae* พบระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี จันทบุรี ฉะเชิงเทรา นครราชสีมา ชลบุรี **โรคผลเน่า** สาเหตุเกิดจากรา *Lasiodiplodia theobromae* พบระบาดที่จังหวัดจันทบุรี ฉะเชิงเทรา สระแก้ว สระบุรี **โรคขั้วผลเน่า** สาเหตุเกิดจากรา *Dothiorella dominicana* พบระบาดที่จังหวัดนครราชสีมา จันทบุรี ฉะเชิงเทรา สระแก้ว ราชบุรี

อ้อย พบ**โรคแส้ดำ** สาเหตุเกิดจากรา *Ustilago scitaminea* ระบาดที่ขอนแก่น ชลบุรี ราชบุรี ระยอง สุพรรณบุรี **โรคราสนิม** สาเหตุเกิดจากรา *Puccinia melanocephala* ระบาดที่จังหวัดระยอง **โรคใบจุดวงแหวน** สาเหตุเกิดจากรา *Leptosphaeria sacchari* พบระบาดที่จังหวัดกาฬสินธ์ ขอนแก่น ชัยภูมิ ชลบุรี นครราชสีมา เพชรบูรณ์ ราชบุรี ระยอง ลพบุรี สุพรรณบุรี **โรคใบจุดรูปตา** สาเหตุเกิดจากรา *Bipolaris sacchari* พบระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี **โรคเส้นใบแดง** สาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum falcatum* พบระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี กาฬสินธ์ ชัยภูมิ ชลบุรี นครราชสีมา ราชบุรี ระยอง ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบูรณ์ ลพบุรี สุพรรณบุรี **โรคเหี่ยวเน่าแดง** สาเหตุเกิดจากรา *Fusarium monilifome* พบที่จังหวัดเพชรบูรณ์และลพบุรี **โรคปล้องเน่า** สาเหตุเกิดจากรา *Schizophyllum commune* พบที่จังหวัดเพชรบูรณ์และลพบุรี **โรคใบขาว** สาเหตุเกิดจากไมโคพลาสมา พบระบาดที่จังหวัดกาฬสินธ์ ขอนแก่น ระยอง สุพรรณบุรี **โรคกอตะไคร้** สาเหตุเกิดจากไฟโตพลาสมา พบระบาดที่จังหวัดระยอง ราชบุรี

ข้าวฟ่าง พบ**โรคแอนแทรคโนส** สาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum graminicola* พบระบาดที่จังหวัดสุพรรณบุรี และนครราชสีมา **โรคใบจุด** สาเหตุเกิดจากรา *Phyllachora sorghi* บระบาดที่จังหวัดนครราชสีมา เพชรบุรี เพชรบูรณ์ สระบุรี ลพบุรี **โรคราสนิม** สาเหตุเกิดจากรา *Puccinia purpurea* พบระบาดที่จังหวัดนครราชสีมา **โรคลำต้นเน่า** สาเหตุเกิดจากรา *Fusarium moniliforme* พบระบาดที่จังหวัดนครราชสีมา **โรคเมล็ดเน่า** สาเหตุเกิดจากรา *Fusarium moniliforme* พบระบาดที่จังหวัดนครราชสีมา **โรคเน่าแห้ง** สาเหตุเกิดจากรา *Macrophomina phaseolina* พบระบาดที่จังหวัดสุพรรณบุรีและจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากการสำรวจของข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง อ้อย และข้าวฟ่าง (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 บัญชีรายชื่อโรคพืชของพืชส่งออก ได้แก่ ข้าวโพดฝักอ่อนและมะม่วง พืชนำเข้า ได้แก่ อ้อยและข้าวฟ่าง ที่พบการระบาดในจังหวัดต่าง ๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2554 – กันยายน 2556

ศัตรูพืช	ชื่อโรค	ส่วนที่พืชเข้าทำลาย	แหล่งแพร่กระจาย
ข้าวโพดฝักอ่อน: Baby corn (*Zea mays* Linn.)			
FUNGI			
Anamorphic Pleosporaceae			
Exserohilum turcicum (Pass.) Leo. & Suggs.	โรคใบไหม้แผลใหญ่(Northern Corn Leaf Blight)	*Exserohilum turcicum* (Pass.) Leo. & Suggs.	*Exserohilum turcicum* (Pass.) Leo. & Suggs.
Class: Oomycota			
Order: Sclerosporales			
Family: Sclerosporaceae			
Peronosclerospora sorghi (W. Weston & Uppai)	โรคราน้ำค้าง (Downy Mildew)	ใบ	กาญจนบุรี (3) ชลบุรี (2) นครราชสีมา (1) นครสวรรค์ (1) ราชบุรี (4)
มะม่วง: Mango (*Mangifera indica* L.)			
ALGAE			
Cephaleuros virescens Kunze	จุดสาหร่าย (Algal spot)	ใบ	กาญจนบุรี (3) จันทบุรี (5) ฉะเชิงเทรา (4) ชลบุรี (3) เชียงใหม่ (2) นครราชสีมา (8) นครพนม (2) พระนครศรีอยุธยา (3) เพชรบูรณ์ (5) เพชรบุรี (4) ราชบุรี (2) ลำพูน (8) สระแก้ว (3) สระบุรี (4)
FUNGI			
Anamorphic Fungi			
Colletotrichum gloeosporiodes (Penz.) Penz. & Sacc.	โรคแอนแทรคโนส (Anthracnose)	ช่อดอก ใบ ผล	กาญจนบุรี (3) จันทบุรี (5) ฉะเชิงเทรา (4) เชียงใหม่ (2) เชียงราย (1) นครราชสีมา (8) นครพนม (2) พระนครศรีอยุธยา (3) เพชรบูรณ์ (5) เพชรบุรี (4) ประจวบคีรีขันธ์ (2) ราชบุรี (5) สระแก้ว (3) สระบุรี (7) อ่างทอง (3)

ศัตรูพืช	ชื่อโรค	ส่วนที่พืชเข้าทำลาย	แหล่งแพร่กระจาย
Colletotrichum, *Fusarium Cladosporium*, *Alternaria Pestalotiopsis*	โรคช่อดอกดำ (Blossom Blight)	ช่อดอก	ฉะเชิงเทรา (4) จันทบุรี (1) นครราชสีมา (5) ราชบุรี (3)
Dothiorella dominicana Petr. & Cif.	โรคขั้วผลเน่า (Stem end rot)	ผล	นครราชสีมา จันทบุรี ฉะเชิงเทรา สระแก้ว ราชบุรี
Oidium mangiferae Berthet	ราแป้ง (Powdery mildew)	ช่อดอก ใบ ผล	ราชบุรี (3) นครราชสีมา (4)
Lasiodiplodia theobromae Pat.	โรคเปลือกแตกยางไหล (cork bark and gummosis)	ลำต้น	กาญจนบุรี (1) จันทบุรี (1) ฉะเชิงเทรา (2) นครราชสีมา (2) ชลบุรี (1)
Lasiodiplodia theobromae Pat.	ผลเน่า (Fruit rot)	ผล	จันทบุรี (4) ฉะเชิงเทรา (2) นครราชสีมา (2) ชลบุรี (1)
Phyllosticta mangiferae Bat.	ใบจุด (Leaf spot)	ใบ	นครราชสีมา สระบุรี
Class Ascomycetes			
Order: Dothiodeales			
Family: Capnodiaceae			
Capnodium mangiferae Cooke	ราดำ (Sooty mold)	ใบ ผล	กาญจนบุรี (1) จันทบุรี (1) ฉะเชิงเทรา (4) เชียงราย (1) นครราชสีมา (5) ราชบุรี (5) สระแก้ว (3) สระบุรี (4)
Order: Meliolales			
Family: Meliolaceae			
Meliola mangiferae Earle	ราดำ (Sooty mold)	ใบ ผล	นครราชสีมา (5) ฉะเชิงเทรา (6) สระแก้ว (3) สระบุรี (4)
Class Basidiomycetes			
Order: Stereales			
Family: Corticiaceae			
Corticium salmonicolor B. & Br. *Syn; Erythricium salmonicolor* (Berk. & Br.) Burds. *Pellicularia salmonicolor* (Berk. & Br.) Dustur.	ราสีชมพู (Pink disease)	กิ่ง	จันทบุรี (1)

ศัตรูพืช	ชื่อโรค	ส่วนที่พืชเข้าทำลาย	แหล่งแพร่กระจาย
อ้อย: Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.)			
FUNGI			
Anamorphic Fungi			
Bipolaris sacchari (E.J.Butler) Shoemaker	โรคใบจุดรูปตา (Eye spot)	ใบ	กาญจนบุรี (1) ราชบุรี (3)
Colletotrichum falcatum Went	โรคไส้เน่าแดง, เส้นใบแดง (Red Rot disease)	ก้านใบ	กาญจนบุรี (7) กาฬสินธ์ (3) ชัยภูมิ (3) ชลบุรี (3) นครราชสีมา (1) ราชบุรี (12) ระยอง (3) ประจวบคีรีขันธ์ (3) เพชรบูรณ์ (8) ลพบุรี (2) สุพรรณบุรี (8)
Fusarium monilifome J.Sheld + *Colletotrichum falcatum* Went.	โรคเหี่ยวเน่าแดง (Red rot)	ลำต้น	เพชรบูรณ์ (1) ลพบุรี (1)
Class Ascomycetes			
Order: Dothiodeales			
Family: Leptosphaeriaceae			
Leptosphaeria sacchari Breda de Haan.	โรคใบจุดวงแหวน (Ring spot disease)	ใบ	กาฬสินธ์ (3) ขอนแก่น (6) ชัยภูมิ (6) ชลบุรี (4) นครราชสีมา (3) เพชรบูรณ์ (7) ราชบุรี (4) ระยอง (3) ลพบุรี (5) สุพรรณบุรี (1)
Class Basidiomycetes			
Order: Schizophyllales			
Family: Schizophyllaceae			
Schizophyllum commune Fries	โรคปล้องเน่า (Cane rot)	ลำต้น	เพชรบูรณ์ (1) ลพบุรี (1)
Order: Uredinales			
Family: Puciniaceae			
Puccinia melanocephala Syd.& P.Syd.	โรคราสนิม (Rust)	ใบ	ระยอง (3)
Order: Ustilaginales			
Family: Ustilaginaceae			
Ustilago scitaminea Syd.	โรคแส้ดำ (Smut disease)		ขอนแก่น (2) ชลบุรี (1) ราชบุรี (4) ระยอง สุพรรณบุรี (2)

ศัตรูพืช	ชื่อโรค	ส่วนที่พืชเข้าทำลาย	แหล่งแพร่กระจาย
MYCOPLASMA			
Mycoplasma like organism, MLO)	โรคใบขาว (White leaf)	ใบ	กาฬสินธ์ (1) ขอนแก่น (3) ระยอง (1) สุพรรณบุรี (1)
PHYTOPLASMA			
Phytoplasma	โรคกอตะไคร้ (Grassy shoot)	ลำต้น	ระยอง (1) ราชบุรี (1)
ข้าวฟ่าง: Sorghum (*Sorghum bicolor* L.)			
FUNGI			
Anamorphic Fungi			
Colletotrichum graminicola (Ces.) G.W. Wilson	ลำต้นเน่า (Stem rot) แอนแทรคโนส (Anthracnose)	ลำต้น	สุพรรณบุรี
Fusarium moniliforme J. Sheld	Stalk rot	ลำต้น	นครราชสีมา
Fusarium moniliforme J. Sheld	โรคเมล็ดเน่า (Kernel rot)	เมล็ด	นครราชสีมา
Macrophomina phaseolina (Tassi) Goid.	โรคเน่าแห้ง Charcoal rot	ลำต้น	สุพรรณบุรี
Class Ascomycetes			
Order: Phyllachorales			
Family: Phyllachoraceae			
Phyllachora sorghi Höhn.	โรคจุดดำ (tar spot)	ใบ	นครราชสีมา เพชรบุรี เพชรบูรณ์ สระบุรี ลพบุรี
Class Basidiomycetes			
Order: Uredinales			
Family: Puciniaceae			
Puccinia purpurea Cooke	โรคราสนิม (Rust)	ใบ ลำต้น	นครราชสีมา
Order: Ustilaginales			
Family: Ustilaginaceae			
Sporisorium cruentum (J.G. Kühn) Vánky	โรคราเขม่าดำ (Smut, loose kernel)	ช่อดอก	นครสวรรค์

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ตรวจค้นเอกสารและรวบรวมรายชื่อโรคพืชของโรคของข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง อ้อย และข้าวฟ่าง ที่เกิดในประเทศไทยพบโรคพืชที่เกิดจากรา แบคทีเรีย ไวรัสและไส้เดือนฝอย รวบรวม เก็บตัวอย่างโรคจากแหล่งปลูกต่าง ๆ ในประเทศไทย และศึกษาชนิดของโรคพืชของพืชส่งออก ได้แก่ ข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง พืชนำเข้าได้แก่ อ้อย และข้าวฟ่าง ศึกษาและจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุที่ได้จากการสำรวจดังนี้ มะม่วง พบโรคแอนแทรคโนส สาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum gloeosporioidea* ระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี จันทบุรี ฉะเชิงเทรา เชียงใหม่ เชียงราย นครราชสีมา นครพนม พระนครศรีอยุธยา เพชรบูรณ์ เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ราชบุรี สระแก้ว สระบุรี และอ่างทอง โรคราแป้ง สาเหตุเกิดจากรา *Oidium mangiferae* ระบาดที่จังหวัดฉะเชิงเทรา นครราชสีมา ราชบุรี สระแก้ว สระบุรี และอ่างทอง โรคจุดสาหร่าย สาเหตุเกิดจาก*Cephaleuros virescens* ระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี จันทบุรี ฉะเชิงเทรา ชลบุรี เชียงใหม่ นครราชสีมา นครพนม พระนครศรีอยุธยา เพชรบูรณ์ เพชรบุรี ราชบุรี ลำพูน สระแก้ว และ สระบุรี โรคราสีชมพู สาเหตุเกิดจากรา *Corticium salmonicolor* พบที่จังหวัดจันทบุรี โรคช่อดอกดำ สาเหตุเกิดจากราหลายชนิด ได้แก่ *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alternaria* และ *Pestalotiopsis* พบระบาดที่จังหวัดฉะเชิงเทรา จันทบุรี นครราชสีมา ราชบุรี โรคราดำ สาเหตุเกิดจากรา *Capnodium mangiferae* พบระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี จันทบุรี ฉะเชิงเทรา เชียงราย นครราชสีมา ราชบุรี สระแก้ว สระบุรี และราดำสาเหตุเกิดจากรา *Meliola mangiferae* พบระบาดที่จังหวัดนครราชสีมา ฉะเชิงเทรา สระแก้ว สระบุรี โรคใบจุด สาเหตุเกิดจากรา *Phyllosticta mangiferae* พบระบาดที่จังหวัดนครราชสีมา สระบุรี โรคเปลือกแตกยางไหล สาเหตุเกิดจากรา *Lasiodiplodia theobromae* พบระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี จันทบุรี ฉะเชิงเทรา นครราชสีมา ชลบุรี โรคผลเน่า สาเหตุเกิดจากรา *Lasiodiplodia theobromae* พบระบาดที่จังหวัดจันทบุรี ฉะเชิงเทรา สระแก้ว สระบุรี โรคขั้วผลเน่า สาเหตุเกิดจากรา *Dothiorella dominicana* พบระบาดที่จังหวัดนครราชสีมา จันทบุรี ฉะเชิงเทรา สระแก้ว ราชบุรี อ้อย พบโรคแส้ดำ สาเหตุเกิดจากรา *Ustilago scitaminea* ระบาดที่ขอนแก่น ชลบุรี ราชบุรี ระยอง สุพรรณบุรี โรคราสนิม สาเหตุเกิดจากรา *Puccinia melanocephala* ระบาดที่จังหวัดระยอง โรคใบจุดวงแหวน สาเหตุเกิดจากรา *Leptosphaeria sacchari* พบระบาดที่จังหวัดกาฬสินธ์ ขอนแก่น ชัยภูมิ ชลบุรี นครราชสีมา เพชรบูรณ์ ราชบุรี ระยอง ลพบุรี สุพรรณบุรี โรคใบจุดรูปตา สาเหตุเกิดจากรา *Bipolaris sacchari* พบระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี โรคเส้นใบแดง สาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum falcatum* พบระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี กาฬสินธ์ ชัยภูมิ ชลบุรี นครราชสีมา ราชบุรี ระยอง ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบูรณ์ ลพบุรี สุพรรณบุรี โรคเหี่ยวเน่าแดง สาเหตุเกิดจากรา *Fusarium monilifome* พบที่จังหวัดเพชรบูรณ์และลพบุรี โรคปล้องเน่า สาเหตุเกิดจากรา *Schizophyllum commune* พบที่จังหวัดเพชรบูรณ์และลพบุรี โรคใบขาว สาเหตุเกิดจากไมโคพลาสมา พบระบาดที่จังหวัดกาฬสินธ์ ขอนแก่น ระยอง สุพรรณบุรี โรคกอตะไคร้ สาเหตุเกิดจากไฟโตพลาสมา พบระบาดที่จังหวัดระยอง ราชบุรี และ ข้าวฟ่าง พบโรคแอนแทรคโนส สาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum graminicola* พบระบาดที่จังหวัดสุพรรณบุรี และนครราชสีมา โรคใบจุด สาเหตุเกิดจากรา *Phyllachora sorghi* บระบาดที่จังหวัดนครราชสีมา เพชรบุรี เพชรบูรณ์ สระบุรี ลพบุรี โรคราสนิม สาเหตุเกิดจากรา *Puccinia purpurea* พบระบาดที่จังหวัดนครราชสีมา โรคลำต้นเน่า สาเหตุเกิดจากรา *Fusarium moniliforme* พบ

ระบาดที่จังหวัดนครราชสีมา โรคเมล็ดเน่า สาเหตุเกิดจากรา *Fusarium moniliforme* พบระบาดที่จังหวัดนครราชสีมา โรคเน่าแห้ง สาเหตุเกิดจากรา *Macrophomina phaseolina* พบระบาดที่จังหวัดสุพรรณบุรี

ตัวอย่างแห้งโรคพืชจัดเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

กรรณิการ์ เพี้ยนพักตร์. 2547. *Sphaceloma* spp. สาเหตุโรคสแคปของพืชต่างๆ ในประเทศไทย. เอกสารวิชาการ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 68 หน้า.

กรรณิการ์ เพี้ยนพักตร์ วิรัช ชูบำรุง และวัลลภ หนองคาย. 2527. ศึกษาเชื้อราโรคพืชที่สร้าง pycnidia. หน้า 101-110. *ใน* รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2527 เล่มที่ 3. กลุ่มงานวิทยาไมโคกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. 2545. คู่มือโรคพืชไร่. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 105 หน้า.

กอบกุล วิภาวสุ. 2531. โรคข้าวฟ่างหวานและโรคลำต้นเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium moniliforme* Sheldon. วิทยานิพนธ์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 141 หน้า.

จินันทนา จอมดวง และ วิชชา สอาดสุด. 2546. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Gliocladium virens* ในการควบคุม เชื้อรา Colletotrichum gloeosporioides และโรคแอนแทรกโนสบนผลมะม่วง. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 6. 24-27 พฤศจิกายน 2546 ณ โรงแรมโซฟิเทล ราชาออคิด จ. ขอนแก่น.

ชุติมันต์ พานิชศักดิ์พัฒนา โกมินทร์ วิโรจน์วัฒนกุล และอดิศักดิ์ คำนวณศิลป์. 2547. โรคข้าวโพดและการป้องกันกำจัด. สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 69 หน้า.

เชาวนาถ พฤทธิเทพ กิตติภพ วายุภาพ จิราลักษณ์ ภูมิไธสง อัจฉรา จอมสง่าวงศ์ และ ศักดิ์ เพ่งผล. 2556. การป้องกันกา จัดโรคราน้ำ ค้างของข้าวโพดหวานโดยการใช้สารเคมี. หน้า 303-309. *ใน* การประชุมวิชาการข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ ครั้งที่ 36 วันที่ 5-7 มิถุนายน 2556 ณ โรงแรมอัศวรรณ จังหวัดหนองคาย.

ชุติมันต์ พานิชศักดิ์พัฒนา เพ็ชรรัตน์ โยวะบุตร พีระวรรณ พัฒนวิภาส และปัญญา พุกสุ่น. 2554. ประสิทธิภาพของสารป้องกันกาจัดเชื้อ ราต่อโรคราน้ำค้างข้าวโพดสายพันธุ์ใหม่. หน้า 234-237 *ใน* รายงานการประชุมข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ ครั้งที่ 35 วันที่ 24 - 27 พฤษภาคม 2554. ณ โรงแรมมารวย การ์เด้น กรุงเทพฯ.

ฉวีวรรณ บุญเรือง. 2536. โรคขั้วผลเน่าหลังเก็บเกี่ยวของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ที่เกิดจากเชื้อรา *Phomopsis mangiferae* Admad. และการควบคุม.วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2536. 66 หน้า.

เฉลิมพล ไหลรุ่งเรือง อัปสร เปลี่ยนสินไชย และกนกทิพย์ เลิศประเสริฐรัตน์. 2541. การประเมินสายพันธุ์ข้าวฟ่างต้านทานโรคราที่เมล็ด. หน้า 1-9. *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2539: ข้าวฟ่างและพืชท้องถิ่น กรมวิชาการเกษตร สถาบันวิจัยพืชไร่ ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี.

เฉลิมพล ไหลรุ่งเรือง และคณะ , 2547 , เอกสารวิชาการอ้อย. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพ ฯ. 147 หน้า

เตือนใจ บุญ-หลง และโกมินทร์ วิโรจน์วัฒนกุล. 2530. การศึกษาพืชอาศัยของโรคเออร์กอทของข้าวฟ่าง. หน้า 32-36. ใน รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2530 กลุ่มวิจัยโรคพืชไร่ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

เตือนใจ บุญ-หลง ธีรยุทธ์ กลิ่นสุคนธ์ และอนงค์ จันทร์ศรีกุล. 2527. เออร์กอทโรคใหม่ของข้าวฟ่างในประเทศไทย. วารสารวิชาการเกษตร 2(2) : 146-150.

เตือนใจ บุญ-หลง สุชาติ วิจิตรานนท์ และ แสงมณี ชิงดวง. 2545. โรคไม้ผลกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

ธนาคร จารุพัฒน์ วิชัย ก่อประดิษฐ์สกุล นิพนธ์ ทวีชัย และ ศศินาฏ แสงวงศ์. 2526. โรคอ้อยในประเทศไทย. สมาคมนักวิชาการอ้อยและน้ำตาลแห่งประเทศไทย. กรุงเทพ ฯ. 180 หน้า

นิพนธ์ วิสารทานนท์. 2542. โรคไม้ผลเขตร้อนและการป้องกันกำจัด. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการหลักสูตร “หมอพืช-ไม้ผล” ฉบับที่ 1. โครงการเพื่อบรรเทาผลกระทบทางสังคมเนื่องจากวิกฤตการณ์ทางเศรษฐกิจ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 172 หน้า.

นิพนธ์ วิสารทานนท์ และสุชาติ คูอาริยะกุล. 2526. การทดสอบการเป็นโรคยางไหลด้วยเชื้อรา *Botryodiplodia theobromae* Pat. ที่แยกจากยางไหล กิ่งแห้งตายและขั้วผลเน่ากับมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย. หน้า 297-306 *ใน* รายงานการประชุมวิชาการครั้งที่ 21 สาขาพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

นิพนธ์ วิสารทานนท์ และสุรชาติ คูอาริยกุล. 2533. การทดสอบ การเป็นโรคยางไหลด้วยเชื้อรา *Botryodiplodia theobromae* Pat ที่แยกจากอาการยางไหล กิ่งแห้งตาย และขั้วผลเน่ากับมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย. หน้า 297-306 *ใน* การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 28 29 - 31 มกราคม 2533 กรุงเทพฯ.

นิลุบล ทวีกุล1 ทักษิณา ศันสยะวิชัย กาญจนา กิรศักดิ์ และศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล. 2555. การจัดการโรคใบขาวอ้อยด้วยการใช้พันธุ์ปลอดโรค. แก่นเกษตร 40 ฉบับพิเศษ 3 : 241-248.

ประชุม จุฑาวรรธนะ ธรรมศักดิ์ สมมาตย์ และ จีรนันท์ แหยมสูงเนิน. 2544. การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อสาเหตุโรคข้าวโพดในประเทศไทย. หน้า 192-210. *ใน* ธำรง ศิลป โพธิสูง (ผู้รวบรวม). การประชุมวิชาการข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ ครั้งที่ 30. 19-23 สิงหาคม 2544 ณ โรงแรมเนวาด้า แกรนด์, อุบลราชธานี.

ปริญญา จันทรศรี รัฐพล พรประสิทธิ์ และวิชชา สอาดสุด. 2553. ผลของการจัดการสวนมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองในระยะก่อนเก็บเกี่ยวที่มีต่อการเกิดโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงหลังเก็บเกี่ยว. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 41: 325-328.

ปรีชา สุรินทร์. 2508. การศึกษาโรคใบจุดของมะม่วงอกร่องที่เกิดจากเชื้อรา *Pestalotia*. วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 37 หน้า.

ผุด จันทร์สุขโข วันทนีย์ อู่วาณิชย์ โสภณ สินธุประมา และอัปสร เปลี่ยนสินไชย. 2536. การประเมินความเสียหายของอ้อยจากการระบาดของโรคแบคทีรีโอซีสในสภาพธรรมชาติ. หน้า 327-330 *ใน* การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 31 สาขาพืช 3-6 กุมภาพันธ์ 2536. กรุงเทพฯ.

ผุสดี พันธุ์ประสิทธิ์. 2529. โรคขั้วผลเน่าของผลมะม่วงภายหลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Dothiorella dominicana* Pet. et. Cif. และการควบคุม. วิทยานิพนธ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

พจนา ตระกูลสุขรัตน์ เพลินพิศ สงสังข์ อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และพรพิมล อธิปัญญาคม. 2553. สำรวจ รวบรวม และจำแนกราสกุล *Macrophomina* สาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ. หน้า 1827-1831 *ใน* รายงานผลงานประจำปี 2553. สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

พัฒนา สนธิรัตน, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน, ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์, วิรัช ชูบำรุง และ อุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

พิพัฒน์ เชี่ยงหลิว. 2532. ราดำในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 177 หน้า.

พีระวรรณ พัฒนวิภาส. 2546. โรคกาบและใบไหม้ข้าวโพดที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani*. หน้า 260-264. *ใน* การประชุมวิชาการข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ ครั้งที่ 31 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พีระวรรณ พัฒนวิภาส ทัศนาพร ทัศคร และธารทิพย ภาสบุตร. 2553. สำรวจ รวบรวม และจำแนกเชื้อราสกุล *Curvularia* spp. สาเหตุโรคพืช. หน้า 1762-1793 *ใน* ผลงานวิจัยประจำปี 2553. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.

พีระวรรณ พัฒนวิภาส ศิวิไล ลาภบรรจบ พิเชษฐ์ กรุดลอยมา สุริพัฒน์ ไทยเทศ. 2553. หน้า 451-459 *ใน* ปฏิกิริยาพันธุ์ข้าวโพดต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่. ผลงานวิจัยประจำปี 2553. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษจร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.

พิสสวรรณ เจียมสมบัติ และปวีณา เกษมสินธุ์. 2554. การตรวจพบเชื้อ Sugarcane streak mosaic virus ในข้าวโพด. หน้า 266-270. *ใน* การประชุมวิชาการข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ ครั้งที่ 35กรุงเทพฯ.

พิสสวรรณ เจียมสมบัติ สุดฤดี ประเทืองวงศ์ สุพจน์ กาเซ็ม และประชุม จุฑาวรรธนะ. 2552. การพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการโรคไวรัสใบด่างลาย (SCMV) ไวรัสใบด่างจุดเหลือง (MCMV) โรคเหี่ยว และโรคลำต้นเน่าแบคทีเรียของข้าวโพดหวานปีที่ 2. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ 92 หน้า.

พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และชนินทร ดวงสอาด. 2554. การจำแนกชนิดของราสกุล *Colletotrichum* สาเหตุโรคพืช โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรม. หน้า..... ในรายงานผลงานวิจัยประจำปี 2554 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

พรภิมล จันทร์อ่อน สุพจน์ กาเซ็ม ประชุม จุฑาวรรธนะ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. 2550. การศึกษาลักษณะสำคัญและการพัฒนาวิธีการปลูกเชื้อ *Erwinia chrysanthemi* สาเหตุโรคลำต้นเน่าข้าวโพดหวาน. หน้า 655-662 ใน เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

พรภิมล จันทร์อ่อน สุพจน์ กาเซ็ม ประชุม จุฑาวรรธนะ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. 2550. การศึกษาลักษณะสำคัญและการพัฒนาวิธีการปลูกเชื้อ *Erwinia chrysanthemi* สาเหตุโรคลำต้นเน่าข้าวโพดหวาน. หน้า 655-662 *ใน* เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

พัชรวิภา ใจจักรคา วราภรณ์ บุญเกิด และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. 2556. เทคนิคการปลูกเชื้อราน้ำค้างข้าวโพดในโรงเรือน. หน้า 287-292. *ใน* การประชุมวิชาการข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ ครั้งที่ 36 วันที่ 5-7 มิถุนายน 2556 ณ โรงแรมอัศวรรณ จังหวัดหนองคาย.

พจนา ตระกูลสุขรัตน์ พีระวรรณ พัฒนวิภาส อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และกนกทิพย์ เลิศประเสริฐรัตน์. 2553. (ก) ปกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคลำต้นเน่าดำที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา*Macrophomina phaseolina.* หน้า 2683-2688 *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

พจนา ตระกูลสุขรัตน์ พีระวรรณ พัฒนวิภาส อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และกนกทิพย์ เลิศประเสริฐรัตน์. 2553. (ข)ปกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum sublineolum*. หน้า 2690-2695. *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และธารทิพย ภาสบุตร. 2553. สำรวจรวบรวมและจำแนกเชื้อราแป้งสาเหตุโรคพืช. หน้า 1808-0805 *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

พจนา ตระกูลสุขรัตน์ พีระวรรณ พัฒนวิภาส อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และกนกทิพย์ เลิศประเสริฐรัตน์. 2553. (ก) ปกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคลำต้นเน่าดำที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา*Macrophomina phaseolina.* หน้า 2683-2688 *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

พจนา ตระกูลสุขรัตน์ พีระวรรณ พัฒนวิภาส อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และกนกทิพย์ เลิศประเสริฐรัตน์. 2553. (ข)ปกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum sublineolum*. หน้า 2690-2695. *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

วันทนีย์ อู่วาณิชย์. 2545. โรคอ้อยสำคัญที่เกิดจากเชื้อรา. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชไร่ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 78 หน้า.

วันทนีย์ อู่วาณิชย์. 2547. โรคอ้อย กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า 45-56.

วัลลภา ธีรภาวะ และสุภา สุชเกษม. 2529. การศึกษาโรคผลเน่าของมะม่วงที่เกิดจากเชื้อรา *Botryosphaeria ribis* Grossenbacher & Duggar. หน้า 32-33. ใน รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2529. กลุ่มงานโรคพืชผลิตผลเกษตร กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

วัลลิภา สุชาโต อัปสร เปลี่ยนสินไชย และวัฒนศักดิ์ ชมภูนิช. 2546. การป้องกันกำจัดโรคกอตะไคร้โดยวิธีใช้ Tetracycline. หน้า 315-320 *ใน* รายงานผลงานวิจัย ปี 2546 อ้อย ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

วิชชา สอาดสุด อุราภรณ์ สอาดสุด ปริญญา จันทรศรี และ เมธาสิทธ์ คนการ. 2548. การอาบแสง UV เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกหลังการเก็บเกี่ยว. Postharvest Newsletter ปีที่ 4 ฉบับที่ 3 กรกฎาคม - กันยายน 2548. หน้า 5.

ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล ทักษิณา ศันสยะวิชัย วีระพล ผลภักดี สุนี ศรีสิงห์ นฤทัย วรสถิตย์ และมัทนา วินิชย์. 2550. การสำรวจโรคใบขาวและความทนทานต่อโรคของอ้อยป่าและอ้อยลูกผสม. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2550 ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 3 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ สถาบันอินทรีจันทรสถิตย์เพื่อการค้นคว้าและพัฒนาพืชศาสตร์. 2550. โรคที่สำคัญของข้าวโพดและการป้องกันกำจัด. นิตยสารเกษตรศาสตร์ ปีที่ 8 ฉบับที่ 5 พฤษภาคม 2550.

ศิวิไล ลาภบรรจบ พีระวรรณ พัฒนวิภาส พิเชษฐ์ กรุดลอยมา สุริพัฒน์ ไทยเทศ. 2554. การประเมินพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่. หน้า 383-389. ใน รายงานผลงานวิจัย ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ศิวิไล ลาภบรรจบ สุริพัฒน์ ไทยเทศ อมรา ไตรศิริ และพิเชษฐ์ กรุดลอยมา. 2556. การตอบสนองของข้าวโพดลูกผสมและสายพันธุ์แท้ต่อโรคใบด่างแคระ. หน้า 293-302. *ใน* การประชุมวิชาการข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ ครั้งที่ 36 วันที่ 5-7 มิถุนายน 2556 ณ โรงแรมอัศวรรณ จังหวัดหนองคาย.

สมเกียรติ ฐิตะฐาน ดิลก อัญชลิสังกาศ นิยม จิ้วจิ้น และฤกษ์ ศยามานนท์. 2521. โรคราน้ำค้างของอ้อยในประเทศไทย. เอกสารทางวิชาการสาขาพืชไร่ กองวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 14 หน้า.

สุชาติ วิจิตรานนท์. 2541. โรคมะม่วงและการป้องกันกำจัดโดยวิธีผสมผสาน. กลุ่มงานวิจัยโรคไม้ผล พืชสวน อุตสาหกรรมและสมุนไพร กองโรคพืชและจุลชีววิมยา กรมวิชาการเกษตร. 30 หน้า.

สุชาติ วิจิตรานนท์ และมาโนช ทศพล. 2537. ศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีบางชนิดในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง. หน้า 149-162 ใน รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2537 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชากการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ พรพิมล อธิปัญญาคม ชนินทร ดวงสอาด และอภิรัชต์ สมฤทธิ์.....การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของราสนิม (tropical maize rust): *Physopella zeae* (Mains) Cummins & Ramachar ในข้าวโพด. หน้า 1679-1685 *ใน* รายงานผลงานประจำปี ..... สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สุนีย์ ศรีสิงห์ นงลักษณ์ ศรินทุ และอัปสร เปลี่ยนสินไชย. 2537. การใช้ ELISA ในการตรวจสอบความต้านทานโรคใบขาวของอ้อย, หน้า 612-617 *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2535: อ้อย. สุพรรณบุรี.

สุนีย์ ศรีสิงห์ และวัลลิภา สุชาโต. 2555. การทดสอบฤดูปลูกเพื่อหลีกเลี่ยงโรคใบขาวในเขตภาคตะวันตก. แก่นเกษตร 40 ฉบับพิเศษ 3 : 249-253.

สุนีย์ ศรีสิงห์ และอุดม เลียบวัน. 2550. การทดสอบปฏิกิริยาของพันธ์อ้อยต่อโรคอ้อยที่สำคัญในภาคกลางและภาคเหนือ (โรคเหี่ยวเน่าแดง). หน้า 68-77 ใน รายงานประจำปี 2547 ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี ศูนย์วิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สุนีย์ ศรีสิงห์ อัปสร เปลี่ยนสินไชย และวันทนีย์ อู่วาณิชย์. 2538. ความเสียหายของผลผลิตอ้อยจากโรคใบจุดเหลือง. หน้า 442-447 *ใน* การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 33 สาขาพืช. กรุงเทพฯ.

สุพจน์ กาเซ็ม พรนภา คากองแก้ว ฐาปนี คงสิทธิ์ธนกร นวลวรรณ ทองเสน วราภรณ์ บุญเกิด พิสสวรรณ เจียมสมบัติ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. 2556. การระบาดของโรคข้าวโพดในแหล่งผลิตที่สำคัญของประเทศไทย. หน้า 195-205. *ใน* การประชุมวิชาการข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ ครั้งที่ 36 วันที่ 5-7 มิถุนายน 2556 ณ โรงแรมอัศวรรณ จังหวัดหนองคาย.

สุดฤดี ประเทืองวงศ์ ประชุม จุฑาวรรธนะ กลชนา เกศสุวรรณ และสุพจน์ กาเซ็ม. 2547. การระบาดของโรคข้าวโพดจากแบคทีเรียชนิดใหม่ในประเทศไทย. หน้า 249-262. *ใน* การประชุมข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ กรุงเทพฯ.

สายพิณ จันทรเทพ. 2532. โรคขั้วผลเน่าของผลมะม่วงภายหลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Botryodiplodia theobromae* Pat. และการควบคุม. วิทยานิพนธ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อภิรัชต์ สมฤทธิ์ พีระวรรณ พัฒนวิภาส พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และกนกทิพย์ เลิศประเสริฐรัตน์. 2553.ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคช่อดอกไหม้และยอดบิดที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium moniliforme*. หน้า 2676-2682. *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

อภิรัชต์ สมฤทธิ์ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี ธารทิพย ภาสบุตร และสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ. 2553. สำรวจรวบรวม และจำแนกรา *Fusarium* สาเหตุโรคพืช. หน้า 1762-1781. *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (โรคลำต้นเน่าแดงของข้าวฟ่าง *Fusarium* oxysporum)

อัปสร เปลี่ยนสินไชย ชวลิต หาญดี ประชา ถ้ำทอง อุดม เลียบวัน นิพนธ์ เอี่ยมสุภาษิต. 2536. การคัด เลือกพันธุ์อ้อยเพื่อให้ต้านทานต่อโรคแส้ดำ. หน้า 303-311 *ใน* การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 31 สาขาพืช 3-6 กุมภาพันธ์ 2536. กรุงเทพฯ.

อุบล คือประโคน วิรัช ชูบำรุง พัชรา โพธิ์งาม และสมศักดิ์ เสียงก้อง. 2529 (ก) ศึกษาลักษณะอาการและเชื้อสาเหตุโรคโคนและรากเน่าของมะม่วงในระยะกล้า. หน้า 10-21 *ใน* รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2529. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

อุบล คือประโคน สมศักดิ์ เสียงก้อง กรรณิการ์ เพี้ยนพักตร์ และวิรัช ชูบำรุง. 2529 (ข). เชื้อรา *Phytopthora palmivora* (Butl.) Butl. สาเหตุของโรคเน่าดำกล้ามะม่วง.วารสารวิชาการเกษตร. 4 : 67-73.

CABI. 2003. Crop Protection Compendium. CAB International, Wallingford, UK.

Chunram, C. 1972. A list of plant parasitic nematodes in Thailand. Plant Protection Service Technical Bulletin, Ministry of Agriculture, Bangkok, Thailand, No. 1:44 pp.

Boonduang, A. and U. Pliansinchai,. 1986. Identification of Plant Parasitic Nematodes in Thailand. Nematology Section Technical Bull. No.6. Plant Pathology and Microbiology Div. Dept. of Agriculture. Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok. 17 pp.

Pliansinchai, U. and A. Boonduang. 1986. Identification of plant parasitic nematodes of Thailand. Nematology Section Technical Bulletin No. 4. Plant Pathology and Microbiology Division, Dept of Agriculture, Bangkok. 47 pp.

Pholecharoen, S., A. Boonduang and A.L. Taylor. 1972. Identification of plant parasitic nematodes of Thaland. Plant Protection Service Tech. Bull. No. 1 Criconimatidae. Plant Pathology and Microbiology Division, Dept. of Agriculture, Bangkok.

Ratanaprapa, D. and A. BoonDuang. 1975. Identification of plant parasitic nematodes of Thaland. Plant Protection Service Tech. Bull. No. 27. Hoplolaimidae. Plant Pathology and Microbiology Division, Dept. of Agriculture, Bangkok.

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของข้าวฟ่าง นำเข้าจากอินเดีย

Pest Risk Analysis for Sorghum Seeds from India

สุรพล ยินอัศวพรรณ ชลธิชา รักใคร่
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช พบศัตรูพืชในเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างมี 383 ชนิด ศัตรูพืชที่เกี่ยวข้องกับเมล็ดเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากอินเดียมี 337 ชนิด ศัตรูพืชที่เข้าทำลายในระยะให้ผลผลิตและหลังเก็บเกี่ยว 77 ชนิด ในจำนวนนี้มีในอินเดีย 53 ชนิด เป็น แมลง 26 ชนิด ได้แก่ *Alphitobius laevigatus, Araecerus fasciculatus, Brevennia rehi, Cadra cautella, Carpophilus, Corcyra cephalonica, Cryptolestes pusillus, Gonocephalum, Liposcelis bostrychophila, Liposcelis entomophila, Liposcelis paeta, Locusta migratoria, Nezara viridula, Oedaleus senegalensis, Oryzaephilus surinamensis, Plodia interpunctella, Rhyzopertha dominica, Schistocerca gregaria, Sitophilus granaries, Sitophilus zeamais, Sitotroga cerealella, Solenopsis geminate, Stenodiplosis sorghicola, Tenebroides mauritanicus, Tribolium confusum, Trogoderma granarium* ไร 1 ชนิด ได้แก่ *Acarus siro* ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด ได้แก่ *Pratylenchus brachyurus* สัตว์มีกระดูกสันหลังมี 1 ชนิด ได้แก่ หนู (*Mus musculus domesticus*) เชื้อรา 21 ชนิด ได้แก่ *Alternaria padwickii, Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Balansia oryzae-sativae, Choanephora cucurbitarum, Cochliobolus heterostrophus, Cochliobolus lunatus, Colletotrichum sublineolum, Corticium rolfsii, Curvularia, Gibberella fujikuroi, Gibberella zeae, Gloeocercospora sorghi, Glomerella graminicola, Lasiodiplodia theobromae, Macrophomina phaseolina, Puccinia purpurea, Sclerophthora macrospora, Sphacelotheca reiliana, Sporisorium sorghi, Thanatephorus cucumeris* แบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *Acidovorax avenae* subsp. *avenae, Erwinia chrysanthemi* pv. *zeae,* และ *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-02-02-01-56

คำนำ

ข้าวฟ่างเป็นพืชวงศ์หญ้า (Poaceae) อยู่ในสกุล *Sorghum* เป็นธัญพืชที่สำคัญชนิดหนึ่งของโลก มีการปลูกมากรองจากข้าวสาลี ข้าวเจ้าและข้าวโพด ปลูกแพร่หลายทั่วไปในทุกทวีปทั้งในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อนตลอดจนเขตอบอุ่นของโลก ข้าวฟ่างเป็นธัญพืชที่มนุษย์นำมาใช้ประโยชน์ได้หลายรูปแบบ เมล็ดข้าวฟ่างใช้เป็นอาหารของมนุษย์และสัตว์ ลำต้นและใบสามารถนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ที่อยู่อาศัย และเป็นเชื้อเพลิง การใช้เมล็ดข้าวฟ่างเป็นอาหารสัตว์ภายในประเทศเริ่มมีความสำคัญเพิ่มขึ้นตามลำดับ เนื่องจากเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างมีคุณค่าอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อสัตว์เลี้ยงทัดเทียมกับข้าวโพดและธัญพืชอื่นๆ แต่มีราคาถูกกว่า ความนิยมที่จะใช้เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากอินเดียมาทดแทนธัญพืชอื่นๆ ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์มีแนวโน้มที่จะเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ

สถานภาพเดิมเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากอินเดียตามกฎหมายกักพืชเป็น**สิ่งกำกัด**ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ฉบับ เรื่อง กำหนดพืช หรือพาหะเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 ฉบับที่ 2 (สิ่งกำกัด) พ.ศ. 2529 เมื่อมีการทบทวนมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าพืชใหม่ โดยพิจารณาศัตรูพืชกักกันและพืชอาศัยทั้งหมดของศัตรูพืชกักกันนั้น พิจารณามาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกัน หากมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชไม่มีความยุ่งยากสลับซับซ้อนก็จะพิจารณาพืชนั้นเป็นสิ่งกำกัด หากมาตรการจัดการความเสี่ยงดังกล่าวมีความยุ่งยากสลับซับซ้อน จะพิจารณาพืชนั้นเป็นสิ่งต้องห้าม และได้ปรับให้ทุกส่วนของพืชสกุล *Sorghum* จากทุกแหล่งเป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชและพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็น**สิ่งต้องห้าม** ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน พ.ศ. 2550 ประกาศในราชกิจจานุเบกษา วันที่ 1 มิถุนายน 2550 ในประกาศฉบับนี้ได้ทำให้มีสิ่งต้องห้ามเพิ่มขึ้นหลายชนิดรวมถึงทุกส่วนของพืชสกุล *Sorghum* ด้วย

ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ในมาตรา 8 (2) ระบุการนำเข้าสิ่งต้องห้ามเพื่อการค้าต้องผ่านการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากสาธารณรัฐอินเดีย โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช (International Standards for Phytosanitary Measures: ISPM) ภายใต้อนุสัญญาว่าด้วยการอารักขาพืชระหว่างประเทศ (International Plant Protection Convention, IPPC) (Anonymous, 1997) ฉบับที่ 2 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis) (Anonymous, 1996) และฉบับที่ 11 เรื่อง คำแนะนำสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม (Pest Risk Analysis for quarantine pests including analysis of environmental risks and living modified organisms) (Anonymous, 2003) เพื่อใช้เป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนในการออกประกาศทบทวนมาตรการสุขอนามัยพืช และกำหนดเงื่อนไขนำเข้าเมล็ดพันธุ์เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากสาธารณรัฐอินเดีย

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. คอมพิวเตอร์พร้อมเครื่องพิมพ์ 1 ชุด
2. ระบบอินเตอร์เน็ตสำหรับสืบค้นข้อมูลเพิ่มเติม

วิธีการ

1. การศึกษาข้อมูลเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากอินเดียและข้อมูลศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากอินเดีย

ศึกษาข้อมูลของพืชที่จะวิเคราะห์ฯ คือเมล็ดพันธุ์เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากสาธารณรัฐอินเดีย โดยค้นคว้ารวบรวมจากเอกสารรายงานจากต่างประเทศและข้อมูลในประเทศไทย เพื่อให้ได้ข้อมูลของเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากสาธารณรัฐอินเดีย ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name) ชื่อพ้อง (Synonym) ชื่อสามัญ (Common name) แหล่งปลูก (Geographical distribution) เอกสารอ้างอิง (References) ข้อมูลศัตรูพืชที่สำคัญของเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากสาธารณรัฐอินเดีย ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง ชื่อสามัญ แหล่งแพร่กระจาย ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย/อาศัย (Plant part affected) การปรากฏพบในประเทศไทย การควบคุม พร้อมเอกสารอ้างอิง

2. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากสาธารณรัฐอินเดีย ตามมาตรฐานระหว่างประเทศสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง “การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช” และฉบับที่ 11 เรื่อง “คำแนะนำสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม” โดยมีขั้นตอน ดังนี้

2.1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยง (STAGE 1: INITIATING THE PRA PROCESS)

พิจารณาสถานภาพของเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากสาธารณรัฐอินเดียในปัจจุบัน เหตุผลความจำเป็นที่ต้องวิเคราะห์ความเสี่ยง นโยบายของประเทศไทย พิจารณาสถานภาพเดิม ปริมาณการค้านำเข้า สรุปปัญหา เสนอแนวนโยบายปรับปรุง

2.2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (STAGE 2: PEST RISK ASSESSMENT) ของเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากสาธารณรัฐอินเดีย

2.2.1 การจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest Categorization) ที่พบบนเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากสาธารณรัฐอินเดีย

เนินการโดยการค้นคว้ารวบรวมรายชื่อของสิ่งมีชีวิตที่มีรายงานพบบนเมล็ดพันธุ์เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากสาธารณรัฐอินเดีย โดยจัดแบ่งออกเป็น 10 กลุ่มตามลำดับ ดังนี้ (1). แมลง (Insect) (2). ไร (Mite) (3). ไวรัส (Virus) (4). ไวรอยด์ (Viroid) (5). แบคทีเรีย (Bacteria) (6). รา (Fungus) (7). ไส้เดือนฝอย (Nematode) (8). มายโคพลาสมา (Phytoplasma) (9).วัชพืช (Weed) และ (10). ไม่ทราบสาเหตุ (Unknown Etiology)

สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดที่มีรายงานพบบนเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากสาธารณรัฐอินเดียจะถูกบันทึกรายละเอียดเกี่ยวกับ (1). ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name) (2). ชื่อพ้อง (Synonym) (3). ชื่อสามัญ (Common name) (4). แหล่งแพร่กระจาย (Geographical distribution) (5). ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย/อาศัย (Plant part affected) (6). พบในประเทศไทยหรือไม่ : พบ/ไม่พบ (Present in

Thailand: Yes/No) (7). เป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ : เป็น/ไม่เป็น (Quarantine pest: Yes/No) และเอกสารอ้างอิง (References)

2.2.2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Risk Assessment) ของเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากสาธารณรัฐอินเดีย

เป็นการประเมินความเสี่ยงของศัตรูพืชในเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากสาธารณรัฐอินเดียที่สำคัญที่ไม่พบในประเทศไทยที่อาจมีโอกาสติดเข้ามาแล้วแพร่ระบาดในประเทศ และการประเมินศักยภาพที่มีผลกระทบทางเศรษฐกิจ (Economic importance criteria) รวมทั้งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เพื่อให้แสดงศักยภาพในความสำคัญทางเศรษฐกิจ ศัตรูพืชนั้นต้องเข้ามาดำรงชีวิตและแพร่กระจายได้ ปัจจัยที่พิจารณาคือ

2.2.2.1 ศักยภาพในการเข้ามาดำรงชีวิต (Establishment Potential)

เพื่อให้สามารถประมาณศักยภาพการเข้ามาดำรงชีวิตของศัตรูพืช ต้องมีข้อมูลชีววิทยา (วงจรชีวิต พืชอาศัย กระแพร่ระบาด การอยู่รอดข้ามฤดู ฯลฯ) ในพื้นที่ที่เกิดศัตรูพืชระบาดนั้น สถานภาพในพื้นที่ PRA area หมายถึงพื้นที่ที่จะวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชซึ่งในที่นี้คือประเทศไทย จะถูกเปรียบเทียบกับสถานภาพในพื้นที่ที่เกิดการระบาดขึ้นในปัจจุบัน และจะทำการประเมินศักยภาพในการเข้ามาดำรงชีวิต สามารถพิจารณาจากประวัติเก่าที่เกี่ยวข้อง ตัวอย่างปัจจัยที่ที่ใช้พิจารณา คือ ปริมาณและการแพร่กระจายของพืชอาศัยในพื้นที่ PRA area สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมใน PRA area ศักยภาพในการปรับตัวของศัตรูพืช การขยายพันธุ์ของศัตรูพืช วิธีการอยู่รอดข้ามฤดูของศัตรูพืช หากศัตรูพืชไม่มีศักยภาพเข้ามาดำรงชีวิตใน PRA area การประเมินความเสี่ยงจะหยุดตรงจุดนี้

2.2.2.2 ศักยภาพการแพร่กระจายหลังการเข้ามาดำรงชีวิต (Spread Potential after Establishment)

เพื่อประมาณศักยภาพการแพร่กระจายของศัตรูพืช ต้องมีข้อมูลชีววิทยาของศัตรูพืชนั้นจากพื้นที่ที่ระบาดอยู่ในปัจจุบัน เปรียบเทียบสถานภาพใน PRA area ในประเทศผู้นำเข้า กับในพื้นที่ที่ศัตรูพืชนั้นระบาดอยู่ในปัจจุบันที่แหล่งผลิตต้นทาง และจะทำการประเมินศักยภาพในการเข้ามาดำรงชีวิต สามารถพิจารณาจากประวัติเก่าที่เกี่ยวข้อง ตัวอย่างปัจจัยที่ที่ใช้พิจารณา คือ

ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อม และ/หรือสภาพแวดล้อมที่ปรับปรุงเพื่อให้เกิดการแพร่กระจายอย่างธรรมชาติของศัตรูพืช การเคลื่อนย้ายสินค้าหรือพาหนะ เจตนาในการใช้สินค้าพืชนั้น พาหะที่มีศักยภาพของศัตรูพืชในพื้นที่ PRA area ศัตรูธรรมชาติ (Natural enemies) ที่มีศักยภาพในพื้นที่ PRA area ข้อมูลเกี่ยวกับศักยภาพการแพร่กระจายจะนำมาใช้ประมาณความเร็วในการก่อความเสียหายที่สำคัญทางเศรษฐกิจภายในบริเวณ PRA area ข้อมูลนี้มีความสำคัญในขั้นตอนการจัดการความเสี่ยงในการพิจารณาความยากง่ายของการควบคุมหรือกำจัดศัตรูพืชที่เข้ามา

2.2.2.3 ศักยภาพในความสำคัญทางเศรษฐกิจ (Potential Economic Importance)

ขั้นถัดไปในขบวนการ PRA คือ การตัดสินว่าศัตรูพืชมีศักยภาพความสำคัญทางเศรษฐกิจใน PRA area หรือไม่ เพื่อที่จะประมาณศักยภาพความสำคัญทางเศรษฐกิจของศัตรูพืชได้ ต้องมีข้อมูลจากพื้นที่ที่ปัจจุบันระบาดอยู่ สำหรับแต่ละพื้นที่นั้นขอให้มีข้อมูลความเสียหายว่าเสียหายเป็นส่วนใหญ่ เสียหายเล็กน้อยหรือไม่เสียหายเลย เกิดความเสียหายขึ้นบ่อยแค่ไหน หากเป็นไปได้ ให้ดูความสัมพันธ์กับ ปัจจัยที่เกี่ยวข้องทั้งที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งสภาพภูมิอากาศ

เปรียบเทียบสถานภาพใน PRA area กับในพื้นที่ที่เกิดการระบาดในปัจจุบัน และจะทำการประเมินศักยภาพในการเข้ามาดำรงชีวิต สามารถพิจารณาจากประวัติเก่าที่เกี่ยวข้อง ตัวอย่างปัจจัยที่ที่ใช้พิจารณา คือ แบบความเสียหาย การลดลงของผลผลิต สูญเสียตลาดส่งออก เพิ่มต้นทุนการกำจัดศัตรูพืช ผลกระทบต่อโครงการ IPM การทำลายสภาพแวดล้อม ความสามารถเป็นพาหะสำหรับศัตรูพืชชนิดอื่น และภาระทางสังคมเนื่องจากการไม่จ้างงาน

หากศัตรูพืชไม่มีศักยภาพความสำคัญทางเศรษฐกิจใน PRA area ก็ไม่เป็นศัตรูพืชกักกันและการวิเคราะห์ความเสี่ยงจะหยุดลงแค่ตรงนี้

2.3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (STAGE 3: PEST RISK MANAGEMENT)

การจัดการความเสี่ยง เพื่อปกป้องพื้นที่เสี่ยงภัย (Endangered area) ในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ซึ่งในที่นี้พื้นที่เสี่ยงภัยหมายถึงพื้นที่ประเทศไทยทั้งหมด ควรเป็นสัดส่วนกับความเสี่ยงที่จำแนกได้ในการประเมินความเสี่ยง อยู่บนพื้นฐานของข้อมูลที่รวบรวมได้ในการประเมินความเสี่ยง มาตรการสุขอนามัยพืชต้องใช้ตามความจำเป็นเพื่อประสิทธิภาพในการป้องกันของพื้นที่เสี่ยงภัย

2.3.1 ทางเลือกในการจัดการความเสี่ยง (Risk Management Option)

การรวมทางเลือกเพื่อให้ลดความเสี่ยงศัตรูพืชลงมาถึงระดับที่ยอมรับได้ (Appropriate level) ทางเลือกเหล่านี้เกี่ยวข้องกับเส้นทาง (path way) ศัตรูพืช เพื่อไปกำหนดเงื่อนไขประกอบการอนุญาตนำเข้าของสินค้าพืชนั้น ตัวอย่าง เช่น การรวมเข้าไปในรายชื่อศัตรูพืชกักกัน (Quarantine pests) การตรวจสอบเพื่อรับรองสุขอนามัยพืชก่อนส่งออก ออกข้อกำหนดเงื่อนไขปฏิบัติก่อนส่งออก (เช่น ผลิตจากพื้นที่ปลอดศัตรูพืช การตรวจสอบศัตรูพืชในระหว่างพืชกำลังเจริญเติบโตในแปลงปลูกและการคลุกยา) การตรวจสอบศัตรูพืชที่จุดนำเข้า การกำจัดศัตรูพืช ณ จุดนำเข้า ด่านตรวจพืช หรือถ้าเหมาะสมก็กระทำ ณ สถานที่ปลายทาง การกักในสถานกักพืช มีมาตรการหลังการนำเข้า (จำกัดการใช้ประโยชน์ของสินค้านำเข้า หรือมีมาตรการควบคุม) การห้ามนำเข้าสินค้าเฉพาะชนิดจากแหล่งนำเข้าเฉพาะแห่ง อาจเกี่ยวข้องกับทางลดความเสี่ยงของความเสียหาย

2.3.2 ประสิทธิภาพและผลกระทบของทางเลือก (Efficacy of Impact of the Options)

ควรประเมินประสิทธิภาพและผลกระทบของทางเลือกต่างๆ ในการลดความเสี่ยงลงมาถึงระดับที่ยอมรับได้ เช่น ประสิทธิภาพทางชีววิธี ต้นทุน/กำไรของการนำวิธีการไปใช้ปฏิบัติ ผลกระทบต่อกฎระเบียบที่มีอยู่ ผลกระทบทางการค้า ผลกระทบทางสังคม การพิจารณานโยบายด้านสุขอนามัยพืช ระยะเวลาที่จะปฏิบัติตามกฎระเบียบใหม่ ประสิทธิภาพของทางเลือกต่อศัตรูพืชกักกันอื่นๆ ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ต้องระบุข้อดีข้อเสียของทางเลือก แต่ละประเทศมีสิทธิเสรีที่จะใช้และกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชโดยมีหลักการ Minimal impact คือให้มีผลกระทบน้อยที่สุด

2.3.3 สรุปขั้นตอนที่ 3 (Conclusion for Stage 3)

ในตอนท้ายของขั้นตอนที่ 3 เป็นการตัดสินใจใช้มาตรการสุขอนามัยที่เหมาะสมที่เกี่ยวข้องกับศัตรูพืชหรือเส้นทางศัตรูพืช ความสมบูรณ์ของขั้นตอนที่ 3 เป็นสิ่งจำเป็น ภายหลังใช้มาตรการสุขอนามัยพืชแล้วควรติดตามตรวจสอบประสิทธิภาพ และควรมีการทบทวนการจัดการความเสี่ยงที่เลือกใช้หากจำเป็น

2. การจัดทำเอกสารขั้นตอนการวิเคราะห์ความเสี่ยง (DOCUMENT THE PRA PROCESS)

จัดทำรายงานเป็นเอกสารเพื่อใช้ทบทวน หรือใช้ได้เมื่อเกิดมีการพิพาทโต้แย้ง ข้อมูลผลการวิเคราะห์ความเสี่ยงจะแสดงสถานะของแหล่งข้อมูลและคำชี้แจงเหตุผลที่ใช้ในการเข้าถึงการตัดสินใจเลือกจัดการความเสี่ยงในการใช้หรือถูกดำเนินการใช้มาตรการสุขอนามัยพืช

เวลาและสถานที่

เวลา: เริ่ม ตุลาคม 2555-กันยายน 2556

สถานที่: กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การศึกษาข้อมูลเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากสาธารณรัฐอินเดียและข้อมูลศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากสาธารณรัฐอินเดีย

เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากสาธารณรัฐอินเดีย (*Sorghum bicolor*) เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Poaceae เป็นพืชที่เพาะปลูกง่ายมีการเพาะปลูกเพื่อเป็นอาหารทั้งของมนุษย์และสัตว์ มีแหล่งเพาะปลูกอยู่ในเขตอบอุ่นทั่วโลก และจัดว่าเป็นพืชท้องถิ่นในภูมิภาคเขตร้อนและกึ่งเขตร้อนในทุกทวีป แต่ก็มีปลูกในทวีปออสเตรเลียและโอเชียเนีย มีการจัดหมวดหมู่ของเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากสาธารณรัฐอินเดีย ดังนี้

Domain: Eukaryota
Kingdom: Viridiplantae
Phylum: Spermatophyta
Subphylum: Angiospermae
Class: Monocotyledonae
Order: Poales
Family: Poaceae
Genus: Sorghum

โดยทั่วไปเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างเจริญเติบโตได้ในดินแทบทุกชนิด ตั้งแต่ดินทราย ดินร่วนปนทรายจนถึงดินเหนียว แต่ดินที่เหมาะสมสำหรับปลูกเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างให้ได้ผลผลิตสูง ควรเป็นดินร่วนเหนียวที่มีการระบายน้ำดี มีความเป็นกรดด่าง อยู่ระหว่าง 5.0-7.5 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและสร้างเมล็ดของเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจะอยู่ระหว่าง 20-30 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิสูงกว่านี้ จะมีผลต่อประสิทธิภาพในการสร้างเมล็ด เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างต้องการปริมาณน้ำฝนตลอดฤดูปลูกประมาณ 320-800 มิลลิเมตร โดยเฉพาะในช่วงที่เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างตั้งท้อง ดอกบาน และ เมล็ดในระยะเป็นน้ำนมถ้าขาดน้ำในช่วงเหล่านี้จะมีผลต่อการติดเมล็ด ความต้องการน้ำ ของเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจะลดลงในระยะที่เมล็ดเริ่มแต่จนถึงเก็บเกี่ยว นอกจากนี้เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างไม่ทนทานต่อสภาพน้ำขังในช่วงแรกของการเจริญเติบโต(ระยะกล้า) จะพบว่า เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างมีใบเหลืองต้นแคระแกร็นและอาจตายไปในที่สุด

เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างสามารถเจริญเติบโตได้ในพื้นที่ที่มีปริมาณน้ำฝนไม่มากนัก เมื่อเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างครั้งแรกแล้วหากมีการตัดแต่งไว้ตอปล่อยให้หน่อเจริญเติบโต ถ้าไม่มีปัญหาก็จะผลิดอกออกช่อติดเมล็ดและสามารถเก็บเกี่ยวผลิตผลได้อีกครั้ง

ประเทศไทยมีการปลูกเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างกันมานาน **แหล่งปลูกที่สำคัญของเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างในประเทศไทย ได้แก่ ลพบุรี เพชรบูรณ์ นครสวรรค์ สระบุรี สุพรรณบุรี** เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่ผลิตได้ส่วนใหญ่ส่งออกไปขายยังตลาดต่างประเทศเช่นเดียวกับข้าวโพด ประเทศผู้นำเข้ารายใหญ่ ได้แก่ มาเลเซีย ไต้หวัน ไนจีเรีย ญี่ปุ่น สิงคโปร์ ฮ่องกง และประเทศแถบตะวันออกกลาง

พันธุ์เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่ปลูกในประเทศไทย เดิมเกษตรกรปลูกเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างพันธุ์เฮกการีหนักและพันธุ์เฮกการีเบาซึ่งเป็นพันธุ์ดั้งเดิมของกรมกสิกรรม ต่อมากรมวิชาการเกษตรได้ออกพันธุ์แนะนำ คือพันธุ์อู่ทอง 1 พันธุ์สุพรรณบุรี 60 และพันธุ์สุพรรณบุรี 1 และเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างลูกผสมสีแดงพันธุ์ต่างๆ ของบริษัทผู้ผลิตและจำหน่ายเมล็ดพันธุ์

การปลูก

ส่วนใหญ่เกษตรกรจะปลูกตามหลังข้าวโพดในเขตการปลูกข้าวโพดจังหวัดนครสวรรค์ ลพบุรี และเพชรบูรณ์ การปลูกเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างเพื่อให้ได้ผลผลิตเมล็ดสูง ควรปลูกในปลายฤดูฝนหรือตั้งแต่เดือนสิงหาคมถึงต้นเดือนกันยายน สำหรับการปลูกเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างครั้งเดียวที่ต้องการปลูกเพื่อตัดต้นสดในรุ่นแรก และเก็บเกี่ยวเมล็ดเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างต่อ ควรปลูกในช่วงต้นฤดูฝนหรือประมาณเดือนพฤษภาคม ถึงเดือนมิถุนายน การปลูกเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างเพื่อเก็บเมล็ดอย่างเดียว ควรพิจารณาดูว่า ต้นเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจะไม่ ขาดความชื้นสำหรับการเจริญเติบโต จนถึงระยะที่ดอกบาน

การเตรียมดิน

ควรไถดินให้ลึกประมาณ 15-20 เซนติเมตร 1-2 ครั้งแล้วตากดินไว้ 1-2 สัปดาห์ เพื่อให้แสงแดดทำลายวัชพืชและโรคแมลงที่อยู่ในดิน หลังจากนั้นจึงพรวนให้ดินร่วนซุย แต่โดยทั่วไปเกษตรกร จะไถด้วยผานเจ็ด เพียงครั้งเดียว

วิธีปลูก

เกษตรกรสามารถปลูกเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างได้หลายวิธี

1. หว่าน เป็นวิธีที่เกษตรกรนิยมปฏิบัติ โดยใช้เมล็ดเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างอัตรา 2-3 กิโลกรัมต่อไร่ วิธีนี้เป็นวิธีที่สะดวก ประหยัดแรงงานและเวลา แต่มีข้อเสีย คือ ถ้ามีการเตรียมดินไม่ดี และหว่านแน่นไปทำให้มีจำนวนต้นต่อไร่มาก จะได้ช่อเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่มีขนาดเล็ก

2. เปิดร่องแล้วโรยเป็นแถว ใช้เมล็ดพันธุ์ อัตราประมาณ 2 กิโลกรัม/ไร่ วิธีนี้จะช่วยให้การควบคุมกำจัดวัชพืชเป็นไปได้สะดวก แต่เมื่อเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างงอกได้ 2 สัปดาห์ ต้องทำการถอนแยกให้เหลือ 10 ต้น ต่อแถวยาว 1 เมตร

3. หยอดเป็นหลุม โดยใช้จอบขุดหรือใช้ไม้ปลายแหลมจิ้ม ให้มีระยะระหว่างหลุม 30 เซนติเมตร ระหว่างแถว 60 เซนติเมตร หยอดหลุมละ 5-7 เมล็ด หลังจากที่เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างงอกแล้ว 15 วัน ถอนแยกให้เหลือหลุมละ 3 ต้น การหยอดเป็นหลุมในสภาพที่ดิน มีความชื้นพอประมาณ จะงอกดีกว่าการเปิดร่องแล้วโรยเป็นแถว

การดูแลรักษา

เมื่อเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างงอกได้ประมาณ 2 สัปดาห์ ถ้าต้นเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างในแปลงมีจำนวนหนาแน่นเกินไปให้ถอนแยกให้เหลือประชากร 10 ต้นต่อความยาว 1 เมตร ในกรณีที่แปลงปลูกมีน้ำท่วมขัง ให้ทำการระบายน้ำออกจากแปลงปลูกเพราะในสภาพน้ำท่วมขังแปลง ทำให้ต้นเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างไม่เจริญเติบโต มีผลทำให้ต้นเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างมีขนาดเล็ก ช่อเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจะมีขนาดเล็กหรือตายได้ในที่สุด

การใส่ปุ๋ย

ในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่ดินมีความอุดมสมบูรณ์สูงไม่จำเป็นต้องใส่ปุ๋ย เพราะเป็นการเพิ่มต้นทุนโดยไม่จำเป็น แต่ถ้าดินมีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ คือ มีอินทรีย์วัตถุต่ำกว่า 1% ฟอสฟอรัสต่ำกว่า 10 ส่วนในล้านส่วน (ppm) และโปแตสเซียมต่ำกว่า 0 ส่วนในล้านส่วน (ppm) ซึ่งสามารถทราบได้จากการส่งตัวอย่างดินไปวิเคราะห์ ควรมีการใส่ปุ๋ยในแปลงปลูก ปุ๋ยที่ใช้ควรเป็นปุ๋ยอินทรีย์ เช่น ปุ๋ยคอก ปุ๋ยพืชสด เพื่อปรับปรุงสมบัติทางกายภาพของดินร่วมกับปุ๋ยเคมี โดยทั่วไปแนะนำให้ใส่ ปุ๋ยเคมีในอัตรา 5-10 กิโลกรัมของไนโตรเจน และฟอสฟอรัส หรือจะใส่สูตรปุ๋ย สำเร็จที่มีขายในท้องตลาดโดยมีเนื้อปุ๋ยใกล้เคียงกันก็ได้ เช่น สูตร 16-20-0 อัตรา 30-50 กิโลกรัมต่อไร่ สำหรับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่ปลูกในดินทรายควรใส่โพแทสเซียมเพิ่มในอัตรา 5 กิโลกรัมต่อไร่ การใส่ปุ๋ยให้โรยปุ๋ยระหว่างแถวปลูกแล้วพรวนดินกลบพร้อมทั้งดายหญ้าและกำจัดวัชพืชเมื่อเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างงอกได้ประมาณ 3-สัปดาห์

โรคของเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง

ข้อมูลเกี่ยวกับโรคของเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างในสหรัฐอเมริกามีรายงานโรคของเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างโดย Horne และ Frederiksen (1993) โรคที่มีสาเหตุจากแบคทีเรีย ได้แก่ *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris* pv. *holcicola*, และ *Pseudomonas andropogonis* สาเหตุจากเชื้อรา ได้แก่ *Acremonium strictum*, *Colletotrichum graminicola*, *Macrophomina phaseolina*, *Sclerophthora macrospora*, *Aspergillus* spp., *Exserohilium* sp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., and other species. *Fusarium moniliforme*, *Cercospora sorghi*, *Cercospora fusimaculans*, *Setosphaeria turcica*, (anamorph: *Exserohilum turcicum*) *Periconia circinata*, *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans, P. graminicola*, *Ascochyta sorghi*, *Puccinia purpurea*, *Colletotrichum graminicola, Exserohilum turcicum*, *Fusarium moniforme*, *P. aphanidermatum*, *Sporisorium sorghi*, (= *Sphacelotheca sorghi*), *Sphacelotheca reiliana*, (= *Sporisorium holci-sorghi*), *Sporisorium cruentum*, (= *Sphacelotheca cruenta*), *Ramulispora sorghi*, *Peronosclerospora sorghi*, *Bipolaris cookei* (= *Helminthosporium cookei*), *Gloeocercospora sorghi*, *Dolichodorus* spp., *Xiphinema americanum*, *Pratylenchus* spp., *Longidorus africanus*, *Paratylenchus* spp., *Rotylenchus* spp., *Criconemella* spp., *Meloidogyne* spp., *Helicotylenchus* spp., *Belonolaimus longicaudatus*, *Paratrichodorus* spp., *P. minor*, *Tylenchorhynchus* spp. และ *Merlinius brevidens*

โรคที่มีสาเหตุจากไวรัสและไฟโตพลาสมา (MLO) ได้แก่ *Maize chlorotic dwarf virus, Maize dwarf mosaic virus, Sugarcane mosaic virus* และ *Yellow sorghum stunt MLO* (CABI, 2007)

โรคเมล็ดพันธุ์ของเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างเดิมมีการรายงานไว้ ได้แก่ *Alternaria alternata, Aspergillus flavus, A. fumigatus, A. niger, Cladosporium* sp., *Fusarium moniliforme, F. oxysporum, F. pallidoroseum, Drechslera tetramera, Nigrospora* sp., *Phoma* sp., and *Rhizopus* sp., (Abdullah and Kadhum, 1987; Ahmed *et al.*, 1992).

ต่อมา Fakhrunnisa et al (2006) รายงานตรวจพบเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง 13 สกุล 23 ชนิด ได้แก่ *Alternaria alternata, Aspergillus* sp., *A. candidus, A. flavus, A.*

niger, A. sulphureus, Curvularia sp., *C. lunata, Cladosporium* sp., *Drechslera* sp., *D. halodes, D. tetramera, D. hawaiiensis, Nigrospora oryzae, Trichoderma hamatum, Trichothecium roseum, Piptocephalis* sp., *Syncephalastrum racemosum, Fusarium moniliforme, F. subglutinans, Penicillium* spp., และ *Rhizopus* sp. โดยได้พบเชื้อราที่ไม่เคยมีรายงานบนเมล็ดพันธุ์เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างมาก่อน คือ *Aspergillus sulphureus, Nigrospora oryzae, Trichoderma hamatum, Fusarium subglutinans, Piptocephalis* sp., and *Syncephalastrum racemosum* on sorghum (Ahmed *et al*., 1992; Ahmed *et al*., 1997; Ghaffar & Abbas, 1972; Mirza & Qureshi, 1978; Williams and McDonald, 1983)

ความสำคัญทางเศรษฐกิจของเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง

การผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างทั่วโลกในปี 2550 มีผลผลิตรวม 6,578,000 ตัน สหรัฐอเมริกาเป็นประเทศที่ผลิตได้มากที่สุดคือ 12,827,000 ตัน รองลงมาคือสาธารณรัฐไนจีเรีย ซึ่งผลิตได้ 10,500,000 ตัน ขณะที่ประเทศไทยผลิตได้ 55,23 ตัน เป็นอันดับที่ 5 ของโลก (FAO, 2007) ประเทศไทยผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างเพื่อนำมาใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์แทนข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ โดยรัฐมีนโยบายรักษาระดับการผลิตและเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต เป้าหมายเพื่อให้เกษตรกรผู้ปลูกสามารถผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างคุณภาพดีสอดคล้องกับความต้องการของตลาด พื้นที่ปลูกส่วนใหญ่อยู่ในภาคเหนือและภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดนครสวรรค์ เพชรบูรณ์ สระบุรี ลพบุรี ชัยนาท สุพรรณบุรีและสระแก้ว พื้นที่เพาะปลูกรวม 210,321 ไร่ ผลผลิตเฉลี่ย 268 กิโลกรัมต่อไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2550) ผลผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่ได้จะใช้ในประเทศเกือบทั้งหมด มีการส่งออกน้อยมาก

ตามข้อตกลงองค์การการค้าโลกในปี 2550 ประเทศไทยไม่มีโควตานำเข้า แต่กำหนดภาษีนำเข้า 2.75 บาท/กก. ใน AFTA กำหนดภาษี 5 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2553 มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างปริมาณ 225.8 ตัน มูลค่า 9.23 ล้านบาท โดยแหล่งนำเข้าคือสหรัฐอเมริกา ออสเตรเลียและอินเดียตามลำดับ

2. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

2.1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยง

สถานภาพเดิมของเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากทุกแหล่งก่อนปี 2550 เป็นสิ่งกำกัดตามพระราชบัญญัติกักพืช การนำเข้าสามารถนำเข้ามาได้โดยมีเพียงใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำเข้า จึงอาจมีมาตรการตรวจสอบและรับรองสุขอนามัยพืชจากต้นทางไม่เพียงพอ เป็นโอกาสที่ศัตรูพืชอาจติดเข้ามาได้ จำเป็นต้องปรับปรุงมาตรการกักกันพืชให้สามารถป้องกันศัตรูพืชที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง ดังนั้นจึงถือว่าการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากอินเดียครั้งนี้เป็นการวิเคราะห์ความเสี่ยงจากการปรับปรุงนโยบายเพื่อสร้างประสิทธิภาพในงานกักกันพืชสำหรับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากอินเดียที่นำเข้า (PRA initiated by the review or revision of a policy) โดยผ่านขั้นตอนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

2.2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

ผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช พบศัตรูพืชในเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างมี 383 ชนิด ศัตรูพืชที่เกี่ยวข้องกับเมล็ดเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากอินเดียมี 337 ชนิด ศัตรูพืชที่เข้าทำลายในระยะให้ผลผลิตและหลังเก็บเกี่ยว 77 ชนิด ในจำนวนนี้มีในอินเดีย 53 ชนิด เป็น แมลง 26 ชนิด ได้แก่ *Alphitobius laevigatus, Araecerus fasciculatus, Brevennia rehi, Cadra cautella,*

Carpophilus, Corcyra cephalonica, Cryptolestes pusillus, Gonocephalum, Liposcelis bostrychophila, Liposcelis entomophila, Liposcelis paeta, Locusta migratoria, Nezara viridula, Oedaleus senegalensis, Oryzaephilus surinamensis, Plodia interpunctella, Rhyzopertha dominica, Schistocerca gregaria, Sitophilus granaries, Sitophilus zeamais, Sitotroga cerealella, Solenopsis geminate, Stenodiplosis sorghicola, Tenebroides mauritanicus, Tribolium confusum, Trogoderma granarium ไร 1 ชนิด ได้แก่ *Acarus siro* ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด ได้แก่ *Pratylenchus brachyurus* สัตว์มีกระดูกสันหลังมี 1 ชนิด ได้แก่ หนู (*Mus musculus domesticus*) เชื้อรา 21 ชนิด ได้แก่ *Alternaria padwickii, Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Balansia oryzae-sativae, Choanephora cucurbitarum, Cochliobolus heterostrophus, Cochliobolus lunatus, Colletotrichum sublineolum, Corticium rolfsii, Curvularia, Gibberella fujikuroi, Gibberella zeae, Gloeocercospora sorghi, Glomerella graminicola, Lasiodiplodia theobromae, Macrophomina phaseolina, Puccinia purpurea, Sclerophthora macrospora, Sphacelotheca reiliana, Sporisorium sorghi, Thanatephorus cucumeris* แบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *Acidovorax avenae* subsp. *avenae, Erwinia chrysanthemi* pv. *zeae,* และ *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*

เอกสารอ้างอิง

Abdullah, S.K. and S.A. Kadhum. 1987. Seed mycoflora of Sorghum bicolor in Iraq. Art Gulf J. Sci. Res., 5(3): 401-410.

Ahmed S., S.H. Iqbal and A.N. Khalid. 1997. Fungi of Pakistan. Dept. Bot., University of the Punjab.

Ahmed, I., S. Iftikhar and A.R. Bhutta. 1992. Seed-borne microorganism in Pakistan Checklist 1991. PARC, Islamabad.

Anonymous. 1996. Guidelines for pest risk analysis. ISPM No. 2, FAO, Rome.

Anonymous. 1997. International Plant Protection Convention, 1997. FAO, Rome.

Anonymous. 2003. Pest risk analysis for quarantine pests including analysis of environmental risk. ISPM No. 11 Rev.1, FAO, Rome.

CAB International, 2007. Crop Protection Compendium, 2007 Edition.

Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAO) 2007. FAOSTAT: Sorghum production. URL: http://faostat.fao.org/site/389/default.aspx.

Fakhrunnisa, M., H. Hashmi and A. Ghaffar. 2006. Seed-borne mycoflora of wheat, sorghum and barley. Pak. J. Bot., 38(1): 185-192, 2006.

Ghaffar, A. and S.Q. Abbas. 1972. Fungi of Pakistan Suppl. II. Pak. J. Bot., 4: 195-208.Mirza & Qureshi, 1978.

Horne, C.W. and Frederiksen, R.A., 1993. Diseases of Sorghum. Common name of plant diseases. APS.

Williams, R.J. and D. McDonald. 1983. Grain molds in the tropics: Problems and Importance. Annual Review of Phytopathology, 21: 153-178.

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากสาธารณรัฐประชาชนจีน
Study on Pest Risk Analysis for Importation of Tomato Seed from China

สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ[1/] ณัฏฐพร อุทัยมงคล[1/] วาสนา ฤทธิ์ไธสง[1/] สิทธิศักดิ์ แสไพศาล[2/]

[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

มะเขือเทศจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญในหลายประเทศทั่วโลก การผลิตมะเขือเทศแหล่งใหญ่ที่สุดในโลก คือประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน ซึ่งประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากสาธารณรัฐประชาชนจีนเพื่อการเพาะปลูกปริมาณมากถึง 3,101 กิโลกรัมในปี 2554 คิดเป็นมูลค่า 25.8 ล้านบาท โดยเส้นทางการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศมายังประเทศไทย พบว่ามีเส้นทางการนำเข้ามาหลายลักษณะแตกต่างกันและด้วยวัตถุประสงค์ที่หลากหลาย ทั้งใช้ประโยชน์ในประเทศและส่งออกต่างประเทศ ส่วนเส้นทางของศัตรูพืชที่อาจจะปรากฏในประเทศไทยภายหลังการนำเข้า พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่เข้ามาโดยเฉพาะการผลิตเมล็ดเพื่อส่งออกไปยังต่างประเทศ ส่วนใหญ่ต้นกล้าจะผ่านขั้นตอนการทาบกิ่งก่อนการย้ายลงปลูกทั้งในสภาพโรงเรือน และแปลงปลูกสภาพธรรมชาติของประเทศไทย ผลการตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการผลปรากฏว่ายังไม่พบการปนเปื้อนเชื้อไวรอยด์ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน

ผลการศึกษาข้อมูลศัตรูพืชของมะเขือเทศจากสาธารณรัฐประชาชนจีน จำนวน 330 ชนิด ในจำนวนนี้เป็นศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทย และสามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์จำนวน 15 ชนิดซึ่งมีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน ได้แก่ *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas cichorii, Pseudomonas corrugate*, *Pseudomonas viridiflava, Didymella lycopersici, Verticillium albo-atrum, Alfalfa mosaic virus, Tobacco streak virus, Tomato spotted wilt virus, Tomato mosaic virus, Tobacco etch virus*, *Pepino mosaic virus*, *Tobacco ringspot virus*, *Tomato ringspot virus, Potato spindle tuber viroid*

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-02-02-02-56

คำนำ

จากการที่ประเทศไทยเข้าเป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (World Trade organization, WTO) ทำให้ประเทศสมาชิกต้องปฏิบัติตามข้อตกลงว่าด้วยการใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement of Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, SPS Agreement) ซึ่งเป็นมาตรการในการปกป้องชีวิตมนุษย์ สัตว์และพืช จากสิ่งปนเปื้อน สารพิษ หรือเชื้อโรคที่มีพืชหรือสัตว์เป็นตัวนำ เพื่อป้องกันหรือจำกัดความเสียหายอันเนื่องศัตรูพืชที่อาจติดมากับสินค้าเกษตรนำเข้า สามารถเจริญเติบโต และแพร่กระจายออกไปได้ ดังนั้นประเทศผู้นำเข้าจึงจำเป็นต้องมีการใช้เทคนิคและวิธีการที่เหมาะสมและเป็นที่ยอมรับตามสากลประเทศ โดยต้องมีการทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเพื่อป้องกันหรือกำจัดความเสียหายที่อาจเกิดขึ้น ต้องมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของสินค้าเกษตร โดยใช้เทคนิคและวิธีการที่เหมาะสม ที่พัฒนาโดยองค์กรระหว่างประเทศ

มะเขือเทศ (Tomato; *Solanum lycopersicum* L.) เป็นพืชผักที่สำคัญอันดับสองรองจากมันฝรั่ง สถานการณ์การผลิตมะเขือเทศในต่างประเทศทั่วโลก ปี 2552 พบว่าประเทศที่มีการผลิตมะเขือเทศสูงสุด คือ สาธารณรัฐประชาชนจีน รองลงมาคือ สหรัฐอเมริกา (FAO, 2011) ซึ่งมีแหล่งปลูกที่สำคัญมาจากรัฐแคลิฟอร์เนีย และฟลอริดา จากการศึกษารวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของมะเขือเทศในสหรัฐอเมริกาในเบื้องต้นปรากฏว่า มีศัตรูพืชร้ายแรงหลายชนิดที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทย (CABI, 2007) ซึ่งศัตรูพืชเหล่านี้มีโอกาสที่จะติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์นำเข้าได้ มาตรการกักกันพืชที่ใช้ควบคุมการนำเข้ามะเขือเทศปัจจุบันได้อาศัยอำนาจตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 มะเขือเทศจัดอยู่ในประเภทสิ่งต้องห้าม หากประเทศไทยไม่มีมาตรการสุขอนามัยพืชที่เข้มงวดแล้ว อาจก่อให้เกิดปัญหาของศัตรูพืชหลายชนิดที่ไม่เคยพบในประเทศติดมากับสินค้าที่นำเข้า เกิดการแพร่กระจายและเพิ่มปริมาณจนเกิดเป็นการระบาดของศัตรูพืชชนิดใหม่ขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้เกิดผลเสียต่อเศรษฐกิจของประเทศอย่างใหญ่หลวง ผลการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในเบื้องต้นพบว่าศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงสูงมีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนหลายชนิด เช่น ได้แก่ แบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ไวรัส *Pepino mosaic virus* (PepMV) และไวรอยด์ *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) เป็นต้น (CABI, 2007; CABI online 2012) ดังนั้น วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อศึกษาในเบื้องต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนเพื่อใช้เป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนในการประกาศทบทวนมาตรการทางสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากสาธารณรัฐประชาชนจีน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ชุดคอมพิวเตอร์ที่ติดตั้งระบบอินเตอร์เน็ต
2. เครื่องพิมพ์ หมึกสี และขาวดำ
3. แผ่นเก็บข้อมูล กระดาษ A4
4. แผ่นข้อมูล Crop Protection Compendium (CABI, 2007, CABI online)
5. เอกสารงานวิจัยทั้งในและต่างประเทศ ตำราวิชาการ วารสารวิชาการ รายงานการประชุม และสัมมนาทางวิชาการ ข้อมูลการประชุมอภิปรายจากแหล่งต่างๆ ทั่วโลก

6. ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะด้านโรคพืชและแมลงศัตรูพืช ทั้งในประเทศและต่างประเทศ

วิธีการ

1. การรวบรวมข้อมูลพืชและศัตรูพืชของมะเขือเทศ

1.1 ข้อมูลทั่วไปของพืชมะเขือเทศ ที่จะดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยง โดยทำการศึกษา ค้นคว้า และรวบรวมข้อมูลของมะเขือเทศจากฐานข้อมูล เอกสาร และรายงานทั้งในและต่างประเทศ ตำราวิชาการ วารสารวิชาการ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะด้าน ข้อมูลทางอิเลคโทนิค หรือเว็บไซท์ ต่างๆ ทั่วโลก เพื่อศึกษาข้อมูลทางอนุกรมวิธาน ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การจำแนกชีววิทยา การปลูก การเก็บเกี่ยว สถานการณ์การผลิตมะเขือเทศและการส่งออกมะเขือเทศในทั่วโลก สถิติการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ ลักษณะเส้นทางการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากจีนมายังประเทศไทย เส้นทางของศัตรูพืชที่จะปรากฏในประเทศไทยภายหลังการนำเข้าเป็นต้น

1.2 การรวบรวมข้อมูลศัตรูพืช โดยทำการศึกษา ค้นคว้า รวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของมะเขือเทศได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ข้อมูลทางชีววิทยา แหล่งแพร่กระจาย ลักษณะอาการที่ปรากฏบนพืช ความสำคัญของศัตรูพืชและความเสียหายทางเศรษฐกิจ วิธีควบคุมและการป้องกันกำจัดจากแหล่งข้อมูลดังต่อไปนี้

1.2.1 ข้อมูลจากเอกสารวิชาการ วารสารวิชาการ รายงานการประชุม สัมมนาทางวิชาการ งานวิจัย การประชุมอภิปรายจากแหล่งต่างๆทั่วโลก ข้อมูลจาก Crop protection compendium (CPC) และข้อมูลทางอิเลคโทนิค หรือเว็บไซท์ ต่างๆ ซึ่งเป็นข้อมูลล่าสุดที่มีรายงานจนถึงปัจจุบันนี้และเชื่อถือได้

1.2.2 ข้อมูลศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้ามาในราชอาณาจักร (Interception) ซึ่งดำเนินการตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ โดยทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากจีน ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1993) เพื่อตรวจหาไวรอยด์ศัตรูพืชกักกัน ซึ่งอาจติดมากับเมล็ดพันธุ์นำเข้า โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล ได้แก่ Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) และ Reat time RT-PCR

2. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากสาธารณรัฐประชาชนจีน

การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis, PRA) ได้ดำเนินการตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช (International Standard for Phytosanitary Measures, ISPM) ฉบับที่ 11 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม (Pest Risk Analysis for Quarantine Pests Including Analysis of Environmental Risks) โดยการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลักที่สำคัญ ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1: การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Initiation of pest risk analysis)

ขั้นตอนนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อกำหนดศัตรูพืช และเส้นทางศัตรูพืช ซึ่งเกี่ยวข้องกับทางกักกันพืช และทำการพิจารณาการวิเคราะห์ความเสี่ยงที่สัมพันธ์กับพื้นที่หนึ่งที่กำหนดซึ่งจะต้องวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ดำเนินการโดยการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของมะเขือเทศของจีน ที่จะดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงจากฐานข้อมูล เอกสาร และรายงานทั้งในและ

ต่างประเทศ ตำราวิชาการ วารสารวิชาการ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ ข้อมูลทางอิเลคโทนิค หรือเว็บไซท์ ต่างๆ ทั่วโลกซึ่งเป็นข้อมูลล่าสุดที่มีรายงานจนถึงปัจจุบันนี้และเชื่อถือได้ เพื่อศึกษาข้อมูลศัตรูพืชของมะเขือเทศ ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ข้อมูลทางชีววิทยา แหล่งแพร่กระจาย ลักษณะอาการที่ปรากฏบนพืช ความสำคัญของศัตรูพืชและความเสียหายทางเศรษฐกิจ วิธีควบคุมและการป้องกันกำจัด รวมทั้งข้อมูลการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของประเทศ ซึ่งได้ทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของมะเขือเทศมาก่อนแล้ว ข้อมูลดังกล่าวจะนำมาจัดทำบัญชีรายชื่อและจำแนกชนิดของศัตรูพืชของมะเขือเทศ (Pest list and Pest Identification) ที่มีรายงานพบในต่างประเทศ จากนั้นระบุเส้นทาง (Pathway) ซึ่งเกี่ยวข้องกับทางกักกัน โดยทำการพิจารณาการวิเคราะห์ความเสี่ยงโดยใช้หลักความสัมพันธ์ของชนิดศัตรูพืชมะเขือเทศกับเส้นทางศัตรูพืช ในกรณีนี้ คือ ศัตรูพืชที่สามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ และพิจารณาการวิเคราะห์ความเสี่ยงที่สัมพันธ์กับพื้นที่ในประเทศไทย โดยพื้นที่บางแห่งมีพืชอาศัยที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของศัตรูพืชปรากฏอยู่ และมีปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่พันธุ์อย่างถาวรของศัตรูพืชซึ่งอาจจะติดเข้ามาพร้อมกับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศเพื่อการเพาะปลูก

ผลการวิเคราะห์ในขั้นตอนนี้นำมาดำเนินการจำแนกศัตรูพืชและเส้นทางศัตรูพืชที่เกี่ยวข้องและศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทย และเก็บรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องเพื่อใช้ประกอบการวิเคราะห์ รวมทั้งจำแนกและคัดเลือกศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชที่จะต้องดำเนินมาตรการสุขอนามัยพืช หรือ ชนิดศัตรูพืชที่เป็นตัวแทนของศัตรูพืชที่จำเป็นต้องใช้มาตรการสุขอนามัยพืช โดยอาจเป็นศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งที่เฉพาะเจาะจง หรือศัตรูพืชที่มีโอกาสปะปนมากับเส้นทางศัตรูพืช

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk assessment) ประกอบด้วยการจำแนกประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) เพื่อตัดสินว่ามีศัตรูพืชชนิดใดอยู่ภายใต้หลักเกณฑ์ที่จะเป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ การประเมินความเสี่ยงที่จะต้องดำเนินการต่อไปหลังจากนั้น คือ การประเมินโอกาสเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชจะเข้ามา (Introduction) การเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร (Establishment) การแพร่ระบาด (Spread) และศักยภาพที่จะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจ (Economic Consequences) โดยการดำเนินการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงของศัตรูพืชประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ตามที่ IPPC กำหนด ซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องสัมพันธ์กัน คือ

2.1 การจำแนกประเภทศัตรูพืช (Pest categorization)

ตรวจสอบศัตรูพืชแต่ละชนิดว่าเข้าอยู่ในหลักเกณฑ์ที่กำหนดในคำนิยามสำหรับศัตรูพืชกักกันหรือไม่ ดังนี้

2.1.1 จำแนกชนิดศัตรูพืชของพืชที่นำเข้าที่มีรายงานในประเทศคู่ค้า โดยค้นคว้าจากฐานข้อมูล ตำราวิชาการ วารสารวิชาการ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ ข้อมูลจากการประชุมอภิปรายจากแหล่งต่างๆ ทั้งในและนอกประเทศ และแยกเป็นกลุ่มๆให้ชัดเจนตามลำดับดังนี้ (1). ไร (Mite) (2). แมลง (Insect) (3). แบคทีเรีย (Bacteria) (4). รา (Fungus) (5). ไส้เดือนฝอย (Nematode) (6). ไวรัส (Virus) (7). วัชพืช (Weed) (8). สัตว์ฟันแทะ (Vertebrate)

ศัตรูพืชแต่ละชนิดที่มีรายงานพบบนพืชจะถูกบันทึกรายละเอียดเกี่ยวกับ (1). ชื่อวิทยาศาสตร์ (2). อนุกรมวิธานของศัตรูพืช (3). ชื่อสามัญ (Common name) (4). ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย/อาศัย (5). พบในประเทศไทยและประเทศคู่ค้าหรือไม่ และ (6). เอกสารอ้างอิง (Reference)

2.1.2 จำแนกชนิดศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน ตามคำนิยามของศัตรูพืชกักกันตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 5 (ฉบับแก้ไขปรับปรุง) เรื่อง

รายการคำอธิบายศัพท์บัญญัติด้านสุขอนามัยพืช ระบุไว้ว่า ศัตรูพืชกักกัน หมายถึง **ศัตรูพืชชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพสำคัญทางเศรษฐกิจต่อพื้นที่ซึ่งมีปัจจัยสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญแพร่ขยายพันธุ์ โดยศัตรูพืชชนิดนี้ไม่เคยปรากฏในพื้นที่นั้น หรือปรากฏแล้วแต่ยังไม่แพร่กระจายอย่างกว้างขวาง และอยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ**

2.1.3 จำแนกชนิดศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดเข้ามากับเส้นทางศัตรูพืช โดยพิจารณาศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันตามข้อ 2.1.2 ที่มีโอกาสติดเข้ามากับเส้นทางศัตรูพืชได้

2.2 การประเมินโอกาสการเข้ามาและแพร่ระบาดของศัตรูพืช (Assessment of the probability of introduction and spread)

ประเมินโอกาสความเป็นไปได้ของการเข้ามาและแพร่ระบาด โดยอยู่บนพื้นฐานการพิจารณาด้านชีววิทยาเพื่อประเมินโอกาสความเป็นไปได้ของศัตรูพืชที่จะเข้ามาและอาจเจริญแพร่ระบาดอย่างถาวรโดย

2.2.1 โอกาสการเข้ามาของศัตรูพืช (Probability of entry of a pest) ประเมินโอกาสการเข้ามาของศัตรูพืชชนิดหนึ่งโดยพิจารณาจากปัจจัย ดังนี้

- การระบาดของศัตรูพืชอย่างรุนแรงในแหล่งผลิต
- การจัดการศัตรูพืชในแหล่งผลิต
- ช่วงวงจรชีวิตของศัตรูพืชซึ่งมีโอกาสปะปนเข้ามากับส่วนของพืช ภาชนะบรรจุหรือพาหนะขนส่ง
- การรอดชีวิตของศัตรูพืชภายใต้สภาวะแวดล้อมขณะขนส่ง
- ปริมาณและความถี่ที่นำเข้าสินค้า
- ความยากง่ายในการตรวจพบศัตรูพืชที่จุดนำเข้า

2.2.2 โอกาสการตั้งรกรากอย่างถาวร (Probability of establishment)

ประเมินโอกาสการตั้งรกรากอย่างถาวรของศัตรูพืช โดยพิจารณาข้อมูลด้านชีววิทยาของศัตรูพืช (วงจรชีวิต พืชอาศัย การแพร่ระบาด การมีชีวิตรอด เป็นต้น) จากพื้นที่ที่ศัตรูพืชนั้นปรากฏอยู่ในปัจจุบัน มาประเมินโอกาสที่ศัตรูพืชจะเข้ามาเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ โดยปัจจัยที่นำมาพิจารณา ได้แก่

- การมีพืชอาศัย จำนวนและชนิดพืชอาศัย
- ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชต่อศัตรูพืช
- ศักยภาพความสามารถในการปรับตัวของศัตรูพืช
- วิธีการมีชีวิตอยู่รอดของศัตรูพืช
- การปฏิบัติทางการเกษตรและมาตรการป้องกันกำจัด

2.2.3 โอกาสการแพร่ระบาดของศัตรูพืชหลังจากเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร (Probability of spread after establishment)

ประเมินโอกาสการแพร่ระบาดของศัตรูพืช ด้วยข้อมูลทางชีววิทยาที่เชื่อถือได้จากพื้นที่ที่ศัตรูพืชนั้นระบาดอยู่ในปัจจุบัน หรือกรณีตัวอย่างที่เคยเกิดมาแล้วกับศัตรูพืชที่คล้ายคลึงกันมาใช้ประโยชน์ในการพิจารณา ปัจจัยที่พิจารณา ได้แก่

- การกระจายของพืชอาศัยในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

- ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในสภาพธรรมชาติและ/หรือ
  สภาพแวดล้อมที่จัดการสำหรับการแพร่ระบาดของศัตรูพืชโดยธรรมชาติ
- มีสิ่งกีดขวางโดยธรรมชาติ
- ศักยภาพสำหรับการเคลื่อนย้ายไปกับสินค้าหรือพาหนะขนส่ง
- การนำสินค้าไปใช้ประโยชน์
- พาหะที่มีศักยภาพของศัตรูพืชในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช
- ศัตรูธรรมชาติที่มีศักยภาพกับศัตรูพืชในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

2.3 การประเมินผลทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้น (Assessment of potential economic consequence)

2.3.1 ผลที่เกิดจากศัตรูพืชโดยตรง

- ความสูญเสียของผลผลิตในแง่ปริมาณและคุณภาพ
- รูปแบบ จำนวน และความถี่ของความเสียหาย
- ค่าใช้จ่ายในการควบคุมศัตรูพืช
- ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากศัตรูพืช

2.3.2 ผลกระทบทางอ้อม

- ผลกระทบต่อการส่งออกรวมถึงการบังคับใช้กฎระเบียบด้านสุขอนามัยพืช
- ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นทำให้ราคาสินค้าสูงขึ้น
- ผลกระทบต่อความหลากหลายทางชีวภาพอันเนื่องมาจากการป้องกัน
  กำจัดศัตรูพืช
- ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช

2.4 ข้อสรุปของการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Conclusion of the pest risk assessment stage)

ผลที่ได้จากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช ศัตรูพืชที่ได้จำแนกประเภทแล้วบางชนิดหรือทั้งหมดจะถูกนำมาพิจารณาเกี่ยวกับการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชให้เหมาะสม รวมทั้งพื้นที่บางส่วนหรือทั้งหมดของพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชอาจกำหนดเป็นพื้นที่ที่มีปัจจัยสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืชจนทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจที่สำคัญ การประเมินโอกาสเชิงคุณภาพหรือเชิงปริมาณของการนำเข้ามาของศัตรูพืชชนิดหนึ่งหรือหลายชนิด และการประเมินผลที่ตามมาทางเศรษฐกิจ (รวมทั้งผลต่อสภาพแวดล้อม) จะต้องจัดทำไว้เป็นหลักฐานเอกสาร รวมทั้งความไม่แน่นอนที่เกิดร่วมอยู่ด้วย จะต้องนำมาใช้ในขั้นตอนการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช

ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk management) เกี่ยวข้องกับการกำหนดทางเลือกสำหรับการจัดการความเสี่ยง ทั้งนี้เพื่อลดความเสี่ยงที่ระบุในขั้นตอนที่ 2 ทางเลือกเหล่านี้จะถูกประเมินถึงประสิทธิภาพ ความเป็นไปได้ และผลกระทบ เพื่อที่จะคัดเลือกหาทางเลือกที่เหมาะสมที่สุดและกำหนดมาตรการจัดการความเสี่ยงทั้งทางกฎหมาย และทางวิชาการภายใต้บทบัญญัติของพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 สำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากสาธารณรัฐประชาชนจีน

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2555 - กันยายน 2556

สถานที่ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมข้อมูลพืชและศัตรูพืชของมะเขือเทศจากสาธารณรัฐประชาชนจีน

1.1 รวบรวมข้อมูลพืชมะเขือเทศ

มะเขือเทศ (Tomato) เป็นพืชผักที่อยู่ในวงศ์ Solanaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Solanum lycopersicum* L. (ชื่อพ้อง: *Lycopersicon lycopersicum* (L.) H. Karst. และ *Lycopersicon esculentum* Mill.) แหล่งผลิตมะเขือเทศเป็นอันดับหนึ่งของโลก คือ สาธารณรัฐประชาชนจีน โดยเฉพาะในมณฑลซินเจียง และมองโกเลียใน นอกจากนั้นรัฐแคลิฟอร์เนียสหรัฐอเมริกา ประเทศแถบเมดิเตอร์เรเนียน เป็นต้น มะเขือเทศเป็นพืชที่ใช้เมล็ดในการเพาะปลูก ทำให้มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศเพื่อนำมาจำหน่าย หรือปลูกเพื่อปรับปรุงพันธุ์ หรือใช้เป็นพ่อแม่เพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมส่งกลับไปจำหน่ายในประเทศทั่วโลก ในปี 2555 ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากทั่วโลก จำนวน 4,585.06 กิโลกรัม เป็นมูลค่า 53.7 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2555) จากสถิติการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ในช่วงปี 2554-2556 ปริมาณทั้งสิ้น 3,101 กิโลกรัม 1,831 กิโลกรัม 1,071 กิโลกรัม เป็นมูลค่า 25.85 ล้านบาท 22.04 ล้านบาท และ 12.82 ล้านบาท ตามลำดับ (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2557)

เส้นทางของการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศมายังประเทศไทยจากทุกประเทศ รวมถึงประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน พบว่ามีเส้นทางการนำเข้ามาหลายลักษณะแตกต่างกันและด้วยวัตถุประสงค์ที่หลากหลาย ในขณะที่เส้นทางของศัตรูพืชที่จะปรากฏในประเทศไทยภายหลังการนำเข้าพบว่าเมล็ดพันธุ์ที่เข้ามาโดยเฉพาะการผลิตเมล็ดเพื่อส่งออกไปยังต่างประเทศ ส่วนใหญ่ต้นกล้าจะผ่านขั้นตอนการทาบกิ่งในโรงเพาะกล้า (Nursery) ก่อนการย้ายต้นกล้าลงปลูกทั้งในสภาพโรงเรือน และแปลงปลูกสภาพธรรมชาติของประเทศไทย (ดังแสดงในภาพที่ 1) โดยการนำเข้ามีทั้งที่เป็นเมล็ดพันธุ์พ่อแม่พันธุ์ (stock seed) และเมล็ดพันธุ์ลูกผสม (Hybrid seed) เพื่อใช้ในประเทศและส่งออกไปยังต่างประเทศ

มะเขือเทศเป็นพืชสามารถเพาะปลูกได้ตลอดทั้งปี โดยเฉพาะในฤดูกาลปลูกเริ่มเพาะกล้าเดือนตุลาคมจนถึงเก็บเกี่ยวเดือนกุมภาพันธุ์ ส่วนนอกฤดูกาลปลูกเริ่มตั้งแต่เมษายนถึงเดือนกันยายน มะเขือเทศสามารถขึ้นได้กับดินแทบทุกชนิด แต่ชอบดินร่วนที่มีความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของดินในช่วง 6.0-6.8 และความชื้นของดินพอเหมาะ ต้องการแสงแดดเต็มที่ตลอดวัน ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต ระหว่าง 21-24 องศาเซลเซียส

1.2 รวบรวมศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากสาธารณรัฐประชาชนจีนที่นำเข้ามาในราชอาณาจักร (Interception)

จากสุ่มตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการจากตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากจีน เพื่อการตรวจหาไวรอยด์ศัตรูพืชกักกัน ระหว่างเดือน ตุลาคม 2555 ถึง ธันวาคา 2556 จำนวน 9 ตัวอย่าง โดยการสกัดอาร์เอ็นเอจากเมล็ดโดยตรง และวินิจฉัยด้วยวิธี RT-PCR และ Real time RT-PCR ผลปรากฏว่ายังไม่พบตัวอย่างปนเปื้อนเชื้อไวรอยด์ *Potato spindle tuber viroid*

2. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากสหรัฐอเมริกา

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Initiation of pest risk analysis)

จุดเริ่มต้นของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากจีนเข้ามาในประเทศไทยเกิดขึ้นจากการทบทวนด้านนโยบายเพื่อปรับปรุงมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากจีนให้รัดกุมยิ่งขึ้น (PRA initiated by the review or revision of a policy) เนื่องจากมาตรการควบคุมการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากจีน ปัจจุบันอาศัยอำนาจตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติม พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจัดเป็นพืชสิ่งต้องห้าม การนำเข้าต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย อย่างไรก็ตาม การนำเข้าที่มีใบรับรองสุขอนามัยพืช แต่มิได้มีการระบุว่ามีศัตรูพืชชนิดใดบ้างเป็นศัตรูพืชกักกันตลอดจนมาตรการทางกักกันพืชกำกับมาด้วย จึงทำให้นำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากจีนยังมีความเสี่ยงที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามา จึงจำเป็นต้องวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อทราบว่ามีศัตรูพืชชนิดใดบ้างเป็นศัตรูพืชกักกัน โดยพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Identification of PRA area) ที่กำหนดในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากจีนคือ “ประเทศไทย”

พื้นที่ที่อยู่ในอันตราย (Endangered area) ได้แก่ พื้นที่หนึ่งพื้นที่ใดในประเทศไทย ซึ่งมีปรากฏอยู่ของพืชอาศัยที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของศัตรูพืช และมีปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่พันธุ์อย่างถาวรของศัตรูพืชซึ่งอาจจะติดเข้ามากับการนำเข้า โดยเส้นทาง (Pathway) ที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามา คือเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ ที่ปลูกเป็นการค้านำเข้ามาจากจีน เพื่อการเพาะปลูก

จากการสืบค้นข้อมูลของประเทศที่เคยดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศมาก่อนแล้ว ซึ่งยังไม่ปรากฏมีรายงานพบสำหรับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากจีน

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk assessment)

2.1 การจำแนกประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) ที่พบเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ

ผลการรวบรวมข้อมูลศัตรูมะเขือเทศที่มีรายงานในสาธารณรัฐประชาชนจีนพบว่ามีจำนวนทั้งสิ้น 330 ชนิด แบ่งเป็นแมลง 78 ชนิด ไร 4 ชนิด แบคทีเรีย 18 ชนิด เชื้อรา 51 ชนิด ไส้เดือนฝอย 19 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด ไวรัส 21 ชนิด ไวรอยด์ 2 ชนิด วัชพืช 136 ชนิด

โดยเป็นศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทย และมีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศเพื่อการเพาะปลูก ซึ่งที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน จำนวน 15 ชนิด แบ่งเป็นแบคทีเรีย 4 ชนิด ได้แก่ *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas cichorii, Pseudomonas corrugate*, *Pseudomonas viridiflava* เชื้อรา 2 ชนิด ได้แก่ *Didymella lycopersici, Verticillium albo-atrum* ไวรัส 8 ชนิด ได้แก่ *Alfalfa mosaic virus, Tobacco streak virus, Tomato spotted wilt virus, Tomato mosaic virus, Tobacco etch virus*, *Pepino mosaic virus*, *Tobacco ringspot virus*, *Tomato ringspot virus* ไวรอยด์ 1 ชนิด ได้แก่ *Potato spindle tuber viroid*

สำหรับการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันในขั้นตอนการประเมินศักยภาพการเข้ามา การดำรงชีพอย่างถาวร และการแพร่ระบาด (Assessment for probability of entry, establishment and spread) และการประเมินศักยภาพของผลกระทบทางเศรษฐกิจที่เกิดจาก

ศัตรูพืช (Assessment of potential consequences) และขั้นตอนการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk management) อยู่ในระหว่างการดำเนินการ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

มะเขือเทศ (Tomato, *Solanum lycopersicum* L.) เป็นพืชที่อยู่วงศ์โซลานาซีอี้ เช่นเดียวกับมันฝรั่ง พริก มะเขือม่วง ยาสูบ และพิทูเนีย ซึ่งแหล่งผลิตมะเขือเทศที่สำคัญของโลก ได้แก่สาธารณรัฐประชาชนจีน สหรัฐอเมริกา สเปน อิตาลี ตุรกี และอินเดีย เป็นต้น ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากสาธารณรัฐประชาชนจีนปริมาณมากอันดับต้นๆ โดยเส้นทางการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศมายังประเทศไทย พบว่ามีเส้นทางการนำเข้ามาหลายลักษณะแตกต่างกัน และด้วยวัตถุประสงค์ที่หลากหลาย ในขณะที่เส้นทางของศัตรูพืชที่อาจจะปรากฏในประเทศไทยภายหลังการนำเข้า พบว่าเมล็ดพันธุ์พ่อแม่ที่เข้ามาเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมแล้วส่งออกไปขายในต่างประเทศ ส่วนใหญ่ต้นกล้าจะผ่านขั้นตอนการทาบกิ่งในโรงเพาะกล้า จากนั้นย้ายต้นกล้าลงปลูกทั้งในสภาพโรงเรือน และแปลงปลูกสภาพธรรมชาติของประเทศไทย จากผลการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของพืชมะเขือเทศที่มีรายงานในประเทศจีน จำนวนทั้งสิ้น 330 ชนิด ในจำนวนนี้พบว่าเป็นศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทย และมีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้า ซึ่งมีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน จำนวน 15 ชนิด ที่มีโอกาสในการเข้ามา การดำรงชีพอย่างถาวร และการแพร่ระบาดและส่งผลกระทบทางเศรษฐกิจ และจำเป็นต้องมีมาตรการจัดการความเสี่ยงเพื่อลดความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันลงมาในระดับที่ยอมรับได้

เอกสารอ้างอิง

สำนักควบคุมพืช และวัสดุการเกษตร. 2557. สถิติการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ. สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.

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

CABI (CAB International). Online. 2012. Crop Protection Compendium. (Computer Program).

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nation). 2011. FAOSTAT: Tomato Production. (Online). Available. http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx (8 June, 2013).

Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF). 2008. Information of petunia seed for exportation to Thailand. the National Plant Protection Organization, Japan.

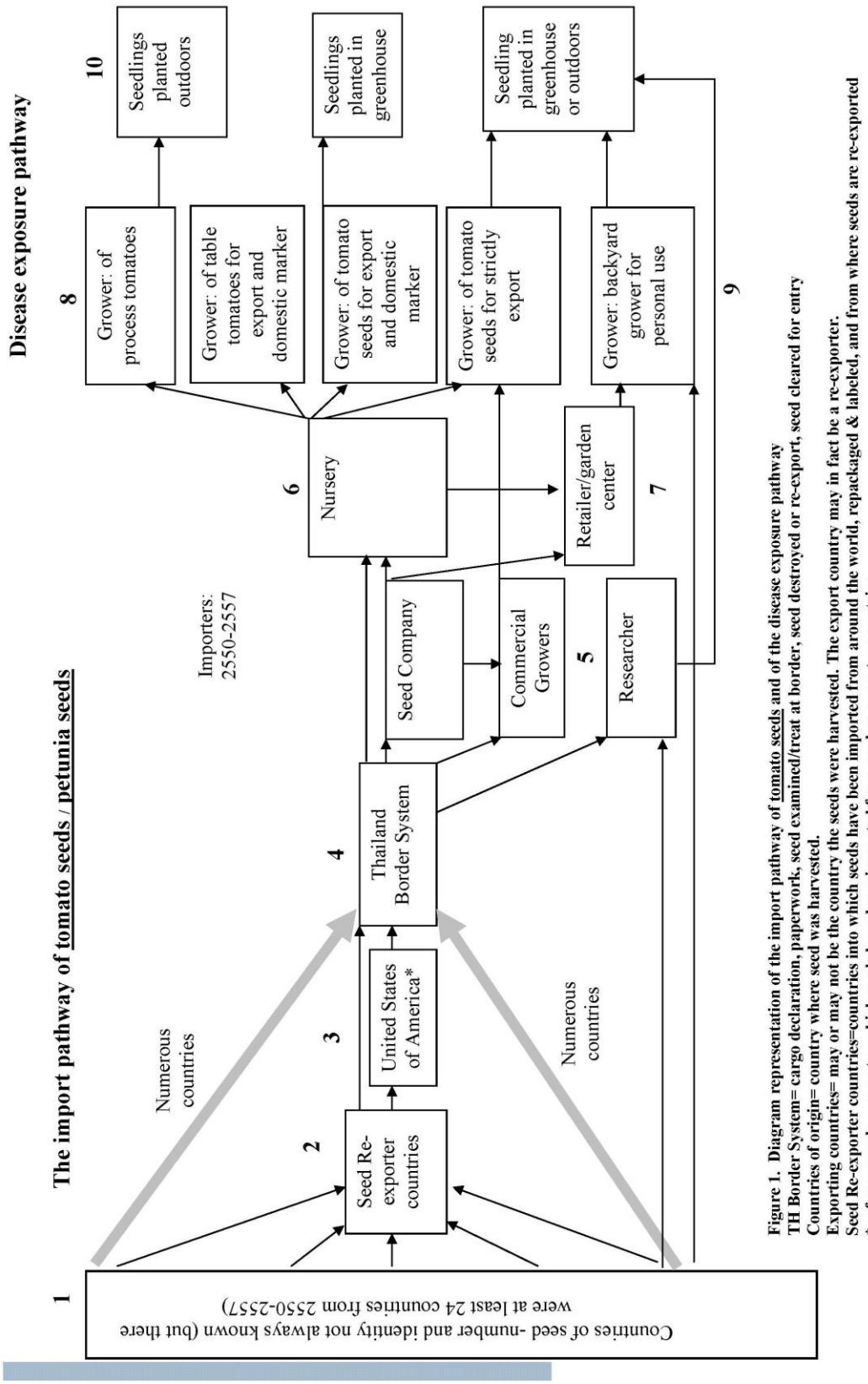


Figure 1. Diagram representation of the import pathway of tomato seeds and of the disease exposure pathway
TH Border System= cargo declaration, paperwork, seed examined/treat at border, seed destroyed or re-export, seed cleared for entry
Countries of origin= country where seed was harvested.
Exporting countries= may or may not be the country the seeds were harvested. The export country may in fact be a re-exporter.
Seed Re-exporter countries=countries into which seeds have been imported from around the world, repackaged & labeled, and from where seeds are re-exported
*** = for example, a country which seeds have been imported from seed re-exporter countries**

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของผลแอปเปิลสด นำเข้าจากสหรัฐอเมริกา

Study on Pest Risk Analysis for the Importation of Fresh Apple Fruit from the United States of America

อลงกต โพธิ์ดี วรัญญา มาลี ณัฏฐพร อุทัยมงคล
วาสนา ฤทธิ์ไธสง
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของแอปเปิลสดนำเข้าจากประเทศอเมริกา ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2555-กันยายน 2556 ณ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งแอปเปิลเป็นพืชอยู่ในวงศ์ Rosaceae สกุลมาลัส (*Malus*) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Malus* x *domestica* Borkh. หรือ *M. domestica* Borkh. ชื่อพ้อง *Pyrus malus* L., *M. malus* Britt., *M. pumila* Mill. และ *M. sylvestris* Mill. จัดเป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 และตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 กำหนดให้การนำเข้าสิ่งต้องห้ามเพื่อการค้าต้องผ่านการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช โดยผลแอปเปิลสดจากประเทศสหรัฐอเมริกาได้รับการผ่อนผันให้นำเข้าประเทศไทยได้ตามบทเฉพาะกาลของประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ดังกล่าวจนกว่าการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชจะเสร็จสิ้น ผลการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืช พบว่าศัตรูแอปเปิลที่มีรายงานพบในประเทศสหรัฐอเมริกามีจำนวน 214 ชนิด สำหรับศัตรูแอปเปิลที่มีรายงานพบในประเทศไทยมีจำนวน 36 ชนิด ซึ่งดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนอื่น ๆ ต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-02-02-03-56

คำนำ

จากการที่ประเทศไทยเข้าเป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (World trade organization: WTO) ทำให้ประเทศไทยต้องปฏิบัติตามความตกลงว่าด้วยการใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement of Application of Sanitary and Phytosanitary Measures: SPS Agreement) ซึ่งเป็นมาตรการในการปกป้องชีวิตหรือสุขภาพของมนุษย์ สัตว์ และพืช ซึ่งการนำมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชไปใช้ จะต้องอยู่ในระดับเพื่อการปกป้องชีวิตหรือสุขภาพของมนุษย์ สัตว์ หรือพืชเท่านั้น โดยจะต้องอยู่บนพื้นฐานของหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ ดังนั้นการกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าสินค้าเกษตรโดยไม่ก่อให้เกิดการกีดกันทางการค้าแอบแฝง ประเทศไทยจำเป็นต้องมีการทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของสินค้าเกษตรที่นำเข้าเพื่อกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าในการป้องกันหรือจัดการความเสี่ยงของศัตรูพืชที่อาจเกิดขึ้น ซึ่งกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช อาจเริ่มในสถานการณ์ต่าง ๆ ดังต่อไปนี้ มีการร้องขอให้พิจารณาเส้นทางผ่านเส้นใดเส้นหนึ่งที่อาจต้องมีมาตรการสุขอนามัยพืช มีการตรวจพบศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งที่อาจเป็นเหตุผลให้มีมาตรการสุขอนามัยพืช มีการศึกษาทบทวนหรือปรับปรุงมาตรการหรือนโยบายสุขอนามัยพืชต่าง ๆ หรือ มีการขอร้องให้มีการกำหนดชี้ชัดว่าสิ่งมีชีวิตชนิดใดชนิดหนึ่งเป็นศัตรูพืชหรือไม่ โดยใช้กรอบ มาตรฐานแนวปฏิบัติ ซึ่งพัฒนาขึ้นมาโดยองค์การระหว่างประเทศ คือ อนุสัญญาว่าด้วยการอารักขาพืชระหว่างประเทศ (International Plant Protection Convention: IPPC)

แอปเปิล (apple) จัดอยู่ในวงศ์ Rosaceae ซึ่งปัจจุบันผลสดของพืชสกุลมาลัส (*Malus* spp.) จากทุกแหล่งจัดเป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 การนำเข้าหรือนำผ่านเพื่อการค้า จะต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย และต้องผ่านการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การนำเข้าต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกรมวิชาการเกษตรกำหนด จึงจะสามารถนำเข้าหรือนำผ่านราชอาณาจักรได้ ในปี พ.ศ. 2554 ประเทศไทยนำเข้าสินค้าเกษตรและผลิตภัณฑ์เป็นมูลค่า 379,060 ล้านบาท โดยเป็นผลไม้และผลิตภัณฑ์ มูลค่า 19,726 ล้านบาท ซึ่งมูลค่านำเข้ามากที่สุด คือ แอปเปิลสด มูลค่า 4,161 ล้านบาท มีปริมาณ 123,414 ตัน โดยนำเข้าจากประเทศอเมริกา ปริมาณ 18,085 ตัน คิดเป็นมูลค่า 563 ล้านบาท (ศูนย์สารสนเทศเกษตร, 2555) จากการศึกษารวบรวมข้อมูลศัตรูพืชพบว่า มีศัตรูพืชหลายชนิดที่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทย ซึ่งศัตรูพืชเหล่านี้มีโอกาสที่จะติดเข้ามากับผลแอปเปิลสดนำเข้าได้ ดังนั้นหากประเทศไทยไม่มีมาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสมแล้ว อาจก่อให้เกิดปัญหาของศัตรูพืชหลายชนิดที่ไม่เคยพบในประเทศติดมากับผลแอปเปิลสดที่นำเข้า เกิดการแพร่กระจายและเพิ่มปริมาณจนเกิดเป็นการระบาดของศัตรูพืชชนิดใหม่ขึ้นได้ ซึ่งจะส่งผลให้เกิดผลเสียหายต่อเศรษฐกิจของประเทศอย่างใหญ่หลวง ดังนั้นจึงได้ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของแอปเปิลนำเข้า (เฉพาะผลสดเพื่อบริโภค) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้รายชื่อศัตรูพืชกักกัน และกำหนดมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่เหมาะสมสำหรับการนำเข้าผลแอปเปิลสดจากประเทศอเมริกา และใช้เป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนในการประกาศทบทวนมาตรการทางสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าแอปเปิลจากประเทศอเมริกา

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เอกสารงานวิจัยทั้งในและต่างประเทศ ตำราวิชาการ วารสารวิชาการ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ

2. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช (International Standards for Phytosanitary Measures: ISPM) ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for Pest Risk Analysis) (FAO, 2007)

3. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช (International Standards for Phytosanitary Measures: ISPM) ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม และสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม (Pest risk analysis for quarantine pests including analysis of environmental risks and living modified organisms) (FAO, 2004)

วิธีการ

1 การศึกษาข้อมูลพืชและข้อมูลศัตรูพืชของแอปเปิล

ศึกษาข้อมูลพืชและข้อมูลศัตรูพืชของแอปเปิล โดยค้นคว้ารวบรวมข้อมูลจาก ตำราวิชาการ วารสารวิชาการ เอกสารเผยแพร่ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ ที่มีรายงานทั้งในและต่างประเทศ เพื่อให้ได้ข้อมูล ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง ชื่อสามัญ ชีววิทยา แหล่งแพร่กระจาย ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย การป้องกันกำจัด และมาตรการทางสุขอนามัยพืช

2 การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกับผลแอปเปิลสดนำเข้าจากประเทศอเมริกา โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช และฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม และสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม โดยมีขั้นตอน ดังนี้

2.1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation)

โดยการจำแนกชนิดสิ่งมีชีวิตและเส้นทางผ่านต่าง ๆ ที่จะมีการพิจารณาสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่เกี่ยวข้องกับพื้นที่การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่ได้มีการระบุจำแนกไว้ และการกำหนดพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชรวมทั้งการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่ผ่านมา

2.2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment)

การจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest Categorization)

ดำเนินการโดยการค้นคว้ารวบรวมรายชื่อสิ่งมีชีวิตที่มีรายงานว่าเป็นศัตรูของแอปเปิล โดยจัดแบ่งออกเป็นกลุ่ม เช่น แมลง ไร ไวรัส ไวรอยด์ แบคทีเรีย รา ไส้เดือนฝอย เป็นต้น พร้อมทั้งบันทึกรายละเอียดของศัตรูแอปเปิลแต่ละชนิด ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ แหล่งแพร่กระจาย ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย/อาศัย พบในประเทศไทยหรือไม่พบ พิจารณาคัดเลือกเฉพาะศัตรูพืชที่ไม่พบในประเทศไทย มีโอกาสติดเข้ามากับผลแอปเปิลสดและอาจจะก่อให้เกิดความเสียหายได้ นำมาประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่อไป

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Risk Assessment)

โดยการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของแอปเปิลที่นำเข้าจากประเทศอเมริกาที่ไม่พบในประเทศไทย มีโอกาสติดเข้ามากับผลแอปเปิลสด ตั้งรกรากอย่างถาวร และแพร่ระบาดในประเทศ ตลอดจนประเมินศักยภาพที่จะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจรวมทั้งผลกระทบทางตรงและทางอ้อมหากติดเข้ามา ปัจจัยที่พิจารณา คือ

1. การประเมินศักยภาพในการที่ศัตรูจะเข้ามาเจริญพันธุ์ตั้งรกรากอย่างถาวร และการแพร่กระจาย ในพื้นที่ที่ทำการวิเคราะห์ (Assessment of entry, establishment and spread) โดยพิจารณาปัจจัยต่าง ๆ ที่สามารถทำให้ศัตรูพืชเข้ามาเจริญแพร่พันธุ์ได้ โดยมีหลักฐานสนับสนุนผลการวิเคราะห์ เช่น สภาพแวดล้อมและสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่พันธุ์และแพร่ระบาดของศัตรูพืช พืชอาศัย เครื่องกีดกั้นตามธรรมชาติ การเคลื่อนย้ายของศัตรูพืช และพาหะของศัตรูพืชที่มีปรากฏในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยง เป็นต้น

2. การประเมินศักยภาพที่จะเกิดผลตามมาทางเศรษฐกิจในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Potential economic consequence) ความเป็นไปได้สูงที่ศัตรูพืชจะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจ ซึ่งอาจมีผลกระทบทางตรงต่อพืช สัตว์ มนุษย์ และสิ่งแวดล้อม หรือมีผลกระทบทางอ้อม เช่น การป้องกันกำจัด การค้าภายในประเทศและระหว่างประเทศ ผลกระทบทางสังคม เป็นต้น โดยพิจารณาว่ามีผลกระทบจนถึงระดับที่ยอมรับไม่ได้ ในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

2.3 การบริหารจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest Risk Management)

การบริหารจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อปกป้องพื้นที่เสี่ยงภัย (Endangered area) โดยเป็นสัดส่วนกับความเสี่ยงที่จำแนกได้ในการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช อยู่บนพื้นฐานของข้อมูลที่รวบรวมได้ในการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช มาตรการสุขอนามัยพืชต้องมีประสิทธิภาพและใช้เท่าที่จำเป็นเพื่อประสิทธิภาพในการป้องกันของพื้นที่เสี่ยงภัย

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2555 - กันยายน 2556

สถานที่ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในปี 2555 - 2556 ได้ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของแอปเปิลสดนำเข้าจากประเทศอเมริกา ผลการดำเนินงานดังนี้

1 การศึกษาข้อมูลพืชและข้อมูลศัตรูพืชของแอปเปิล

แอปเปิลเป็นพืชอยู่ในวงศ์ Rosaceae สกุลมาลัส (*Malus*) ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อวิทยาศาสตร์ *Malus* x *domestica* Borkh. หรือ *M. domestica* Borkh. ชื่อพ้อง *Pyrus malus* L., *M. malus* Britt., *M. pumila* Mill. และ *M. sylvestris* Mill. (Luby, 2003) ซึ่งตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 กำหนดให้ผลสดของพืชสกุล *Malus* เป็นสิ่งต้องห้าม ซึ่งแอปเปิลจากประเทศสหรัฐอเมริกาได้รับการผ่อนผันให้นำเข้าประเทศไทยได้ตามบทเฉพาะกาลของประกาศดังกล่าว

แอปเปิลที่ปลูกเป็นการค้าในประเทศสหรัฐอเมริกามีเกือบ 100 สายพันธุ์ แต่มีเพียง 15 สายพันธุ์ ที่ได้รับความนิยม และผลิตได้มากถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2551 ได้แก่ Braeburn, Cortland, Empire, Fuji, Gala, Ginger Gold, Golden Delicious, Granny Smith, Honeycrisp, Idared, Jonagold, Jonathan, McIntosh, Red Delicious และ Rome (U.S. Apple Association, 2012)

ผลการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืช พบว่าศัตรูแอปเปิลที่มีรายงานพบในประเทศสหรัฐอเมริกามีจำนวน 214 ชนิด ข้อมูลศัตรูพืช ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ การจัดลำดับทางอนุกรมวิธาน ลักษณะการทำลาย พืชอาหาร/พืชอาศัย การเป็นพาหะของเชื้อสาเหตุโรคพืช และการป้องกันกำจัด

สำหรับศัตรูแอปเปิลที่มีรายงานพบในประเทศไทยมีจำนวน 36 ชนิด ข้อมูลศัตรูพืช ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ การจัดลำดับทางอนุกรมวิธาน ลักษณะการทำลาย พืชอาหาร/พืชอาศัย การเป็นพาหะของเชื้อสาเหตุโรคพืช และการป้องกันกำจัด

2 การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

2.1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation)

ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แบ่งสิ่งที่อยู่ภายใต้การควบคุมออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ สิ่งต้องห้าม สิ่งกำกัด และสิ่งไม่ต้องห้าม ซึ่งการนำเข้าหรือนำผ่านสิ่งต้องห้ามเพื่อการค้า ต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย และต้องผ่านการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การนำเข้าต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกรมวิชาการเกษตรกำหนดโดยคำแนะนำของคณะกรรมการกักพืชโดยประกาศลงในราชกิจจานุเบกษา จึงจะสามารถนำเข้าหรือนำผ่านราชอาณาจักรได้ ซึ่งผลสดของพืชสกุล *Malus* จากทุกแหล่งเป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 ลงวันที่ 26 เมษายน 2550 ซึ่งตามบทเฉพาะกาลของประกาศดังกล่าวสิ่งต้องห้ามตามท้ายประกาศที่เคยมีการนำเข้ามาในราชอาณาจักรแล้วในลักษณะทางการค้าก่อนที่ประกาศนี้มีผลใช้บังคับ จะได้รับการผ่อนผันให้นำเข้าได้ต่อไปจนกว่าการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของสิ่งต้องห้ามนั้นเสร็จสิ้น ซึ่งประเทศอเมริกาได้ร้องขอนำเข้าผลแอปเปิลสดมายังประเทศไทยเพื่อบริโภค โดยพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่กำหนดในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าผลแอปเปิลสด คือ ประเทศไทย ซึ่งเป็นพื้นที่ที่อยู่ในอันตราย (endangered area) ที่ศัตรูพืชอาจจะติดเข้ามาพร้อมกับการนำเข้าผลแอปเปิลสดที่จัดเป็นเส้นทางศัตรูพืช (pathway) และประเทศไทยยังไม่เคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของผลแอปเปิลสดนำเข้าจากประเทศอเมริกา

2.2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment)

การจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest Categorization)

ผลการจัดกลุ่มศัตรูพืชสำหรับแอปเปิลจากประเทศสหรัฐอเมริกาที่ไม่พบในประเทศไทย ได้แก่ แมลงวันผลไม้ *Anastrepha fraterculus* (Southern Texas), *Anastrepha ludens* (Texas; found but not established in Arizona and California; intercepted in Florida), *Anastrepha serpentina* (few occurrences), *Anastrepha suspensa* (restricted distribution), *Ceratitis capitata* ((only Hawaii); introduced and eradicated several times in California during 1980s and 1990s; introduced, eradicated and still absent in Florida and Texas), ผีเสื้อ *Cydia pomonella*, เพลี้ยหอย *Epidiaspis leperii* (CABI, 2007)

สำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของแอปเปิลนำเข้าจากประเทศอเมริกาในขั้นตอนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment) และขั้นตอนต่อไป จะดำเนินการในปีต่อไป (2556-2557)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลสดของแอปเปิลจากทุกแหล่งเป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 ซึ่งการนำเข้าหรือนำผ่านสิ่งต้องห้ามเพื่อการค้า ต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย และต้องผ่านการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การนำเข้าต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกรมวิชาการเกษตรกำหนดโดยคำแนะนำของคณะกรรมการกักพืช ซึ่งการนำเข้าผลแอปเปิลสดจากประเทศอเมริกาได้รับการผ่อนผันให้นำเข้าได้ตามบทเฉพาะกาลของประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ฉบับดังกล่าวจนกว่าการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชจะเสร็จสิ้น และมีการกำหนดเงื่อนไขใหม่ ผลการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืช พบว่าศัตรูแอปเปิลที่มีรายงานพบในประเทศสหรัฐอเมริกามีจำนวน 214 ชนิด สำหรับศัตรูแอปเปิลที่มีรายงานพบในประเทศไทยมีจำนวน 36 ชนิด ซึ่งจะนำไปดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่อไป

เอกสารอ้างอิง

“**ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และ เงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550**” (2550, 1 มิถุนายน). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. หน้า 1-3.

“**พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542**” (2542, 18 พฤษภาคม) ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 116 ตอนที่ 39 ก. หน้า 1-9.

“**พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551**” (2551, 1 มีนาคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 125 ตอนที่ 40 ก. หน้า 28-37.

“**พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507**” (2507, 21 มีนาคม) ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 81 ตอนที่ 27 ฉบับพิเศษ หน้า 1-12.

ศูนย์สารสนเทศเกษตร. 2555. **สถิติการค้าสินค้าเกษตรไทยกับต่างประเทศ ปี 2554**. ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

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

FAO. 2004. ISPM 11: 2004 **Pest risk analysis for quarantine pests, including analysis of environmental risks and living modified organisms** (originally adopted in 2001, with supplements integrated in 2003 and 2004). FAO, Rome.

FAO. 2007. ISPM 02: 2007 **Framework for pest risk analysis** (originally adopted in 1995, revised in 2007). FAO, Rome.

Luby, J.J. 2003. Taxonomic classification and brief history, pp. 1-14. *In* Ferree, D.C., and I.J. Warrington (eds.), **Apples: botany, production and uses**. CABI Publishing: Wallingford.

การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา

Study on Pest Risk Analysis for the Importation of Capsicum Seeds from United States of America

วาสนา ฤทธิ์ไธสง[1/] ณัฏฐพร อุทัยมงคล[1/] สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ[1/]
คมศร แสงจินดา[1/] ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาส[2/] ชมัยพร บัวมาศ[3/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริก ประมาณ 10.60 ตัน คิดเป็นมูลค่ากว่า 37 ล้านบาท โดยนำเข้าจากหลายประเทศ รวมถึงสหรัฐอเมริกาที่ปัจจุบันสามารถนำเข้ามาในราชอาณาจักรโดยมีใบรับรองสุขอนามัยพืชที่ไม่มีการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชใดๆ กำกับมาด้วย ในการนำเข้าจึงมีความเสี่ยงที่ศัตรูพืชจะติดมาได้ ผลจากการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของพริกที่พบในไทยและสหรัฐอเมริกาพบศัตรูพืชรวม 281 ชนิด แบ่งเป็นแมลง 116 ชนิด ไร 10 ชนิด หอยทาก 1 ชนิด แบคทีเรีย 20 ชนิด ไฟโตพลาสมา 3 ชนิด โปรโตซัว 1 ชนิด รา 51 ชนิด ไวรัส 28 ชนิด ไส้เดือนฝอย 21 ชนิด วัชพืช 29 ชนิด และสัตว์ฟันแทะ 1 ชนิด โดยพบศัตรูพืชที่มีในสหรัฐอเมริกา จำนวน 257 ชนิด เป็นแมลง 101 ชนิด ไร 9 ชนิด หอยทาก 1 ชนิด แบคทีเรีย 19 ชนิด ไฟโตพลาสมา 3 ชนิด โปรโตซัว 1 ชนิด รา 49 ชนิด ไวรัส 25 ชนิด ไส้เดือนฝอย 20 ชนิด และวัชพืช 29 ชนิด จากการจัดกลุ่มศัตรูพืช พบว่ามีศัตรูพืชที่ไม่มีในไทยแต่มีในสหรัฐอเมริกาและสามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกที่จะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจ จำนวน 20 ชนิด เป็น แบคทีเรีย 4 ชนิด ได้แก่ *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, *Pseudomonas viridiflava*, *Rhodococcus fascians* เชื้อรา 5 ชนิด ได้แก่ *Didymella lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum*, *Phomopsis longicolla*, *Phytophthora vignae*, *Verticillium dahliae* และไวรัส 11 ชนิด ได้แก่ *Alfalfa mosaic virus*, *Broad bean wilt virus*, *Cherry leaf roll virus*, *Cucumber green mottle mosaic virus*, *Pepper mild mottle virus*, *Tobacco ringspot virus*, *Tobacco streak virus*, *Tomato black ring virus* , *Tomato bushy stunt virus*, *Tomato mosaic virus* และ*Tomato ringspot virus* นำศัตรูพืชทั้ง 20 ชนิด ที่ได้จากการจัดกลุ่มศัตรูพืชมาประเมินโอกาสการเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร แพร่ระบาด และก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจทั้ง

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-02-02-04-56

ทางตรงและทางอ้อม ซึ่งอาจเกิดผลกระทบต่อผลิตผลทางการเกษตรของประแทศ รวมทั้งการส่งออกพืชผักไปยังประเทศที่ไม่มีการระบาดของเชื้อสาเหตุโรคเหล่านี้ โดยเริ่มดำเนินการวิเคราะห์จากแบคทีเรียศัตรูพืชแต่ละชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, *Pseudomonas viridiflava* และ *Rhodococcus fascians* และจะดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชอื่นๆ ต่อไป

คำนำ

พริกเป็นพืชสวนเศรษฐกิจที่มีความสำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทยและเป็นพืชที่นิยมปลูกหลายประเทศทั่วโลก ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริก ประมาณ 10.60 ตัน คิดเป็นมูลค่ากว่า 37 ล้านบาท โดยนำเข้าจากหลายประเทศ เช่น เครือรัฐออสเตรเลีย สาธารณรัฐประชาชนจีน สาธารณรัฐอินเดีย สาธารณรัฐอินโดนีเซีย อิสราเอล ญี่ปุ่น สาธารณรัฐเกาหลี ราชอาณาจักรเนเธอร์แลนด์ สาธารณรัฐฟิลิปปินส์ ไต้หวัน และสหรัฐอเมริกา เป็นต้น (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2556) ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 กำหนดให้ส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชในวงศ์ Solanaceae เป็นสิ่งต้องห้าม ซึ่งตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 การนำเข้าซึ่งสิ่งต้องห้ามต้องผ่านการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช และต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกำหนด โดยเมล็ดพันธุ์พริกจากสหรัฐอเมริกาได้รับการผ่อนผันให้มีการนำเข้าเพื่อการค้า โดยการนำเข้าไม่มีมาตรการสุขอนามัยพืชใดๆ กำหนด และสามารถนำเข้ามาได้จนกว่าการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชจะแล้วเสร็จ จากเอกสารวิชาการหลายๆ เล่ม พบว่ามีศัตรูพืชหลายชนิดที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทย และมีโอกาสที่จะติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าได้ หากประเทศไทยไม่มีมาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสมอาจเกิดปัญหาของศัตรูพืชหลายชนิดที่ไม่เคยพบในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้า เกิดการแพร่กระจายและเพิ่มปริมาณจนเกิดเป็นการระบาดของศัตรูพืชชนิดใหม่ขึ้นได้ จะส่งผลให้เกิดผลกระทบต่อเศรษฐกิจของประเทศ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้า โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้รายชื่อศัตรูพืชกักกัน และกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่เหมาะสม และใช้เป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เพื่อสนับสนุนในการกำหนดมาตรการทางสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริกจากสหรัฐอเมริกา

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for Pest Risk Analysis (2007)) (FAO, 2007)

2. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม และสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม (Pest Risk Analysis for Quarantine Pests Including Analysis of Environmental Risks and Living Modified Organisms (2004)) (FAO, 2006)

3. คู่มือสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ตามแนวทางของอนุสัญญาอารักขาพืชระหว่างประเทศ (IPPC: International Plant Protection Convention)

4. หนังสือ เอกสารและวารสารทางวิชาการที่เกี่ยวข้อง Crop Protection Compendium 2007 (CABI, 2007) และ 2013 (CABI, 2013) ข้อมูลทางอิเล็กทรอนิกส์ และเว็บไซต์ต่างๆ

5. วัสดุสำนักงาน เช่น กระดาษ แผ่นบันทึกข้อมูล

6. วัสดุคอมพิวเตอร์ เช่น แผ่นจัดเก็บข้อมูล (ซีดี) และหมึกพิมพ์ เป็นต้น

วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของพริกและศัตรูพืชที่จะดำเนินการวิเคราะห์

รวบรวมข้อมูลพืชและข้อมูลศัตรูพืชของพริก โดยค้นคว้ารวบรวมข้อมูลจากตำรา หนังสือวิชาการ วารสารวิชาการ เอกสารเผยแพร่ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ ข้อมูลทางอิเล็กทรอนิกส์ และเว็บไซต์ต่างๆ ที่มีรายงานทั้งในและต่างประเทศ เพื่อให้ได้ข้อมูล ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง ชื่อสามัญ ชีววิทยา แหล่งแพร่กระจาย ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย การป้องกันกำจัด และมาตรการทางสุขอนามัยพืช

2. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินโดนีเซีย โดยใช้หลักเกณฑ์การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช (International Standards for Phytosanitary Measures: ISPM) ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for Pest Risk Analysis (2007)) และฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงต่อสภาพแวดล้อม และสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม (Pest Risk Analysis for Quarantine Pests Including Analysis of Environmental Risks and Living Modified Organisms (2004)) ซึ่งประกอบด้วย 3 ขั้นตอนสัมพันธ์กัน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1: การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation of pest risk analysis)

ขั้นตอนที่ 2: การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest risk assessment)

ขั้นตอนที่ 3: การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest risk management)

ขั้นตอนที่ 1: การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation of pest risk analysis)

การเริ่มขบวนการวิเคราะห์ก็เพื่อจำแนกศัตรูพืช (pest) และเส้นทางศัตรูพืช (pest pathway) ที่เกี่ยวข้องกับกักกันพืชและควรได้รับการพิจารณา โดยวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่เกี่ยวข้องกับพื้นที่หนึ่งที่กำหนด คือ

1.1 จุดเริ่มต้นการวิเคราะห์ (Initiation point) พิจารณาเหตุผลการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงว่าเริ่มต้นด้วยเหตุผลใด ดังนี้

1.1.1 การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเริ่มต้นโดยการจำแนกเส้นทางศัตรูพืช (PRA initiated by the identification of a pathway) มีความจำเป็นต้องวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชขึ้นมาใหม่หรือเพื่อทบทวนของเดิมที่เคยวิเคราะห์ไว้แล้วกับเส้นทางศัตรูพืชเส้นทางหนึ่งโดยเฉพาะที่อาจเกิดขึ้นได้เพราะสถานการณ์ดังนี้

- การค้าขายระหว่างประเทศเริ่มมีสินค้าชนิดหนึ่งที่ไม่เคยมีการนำเข้ามาในประเทศมาก่อน หรือสินค้าชนิดหนึ่งมาจากพื้นที่ใหม่หรือจากแหล่งกำเนิดใหม่

- พืชชนิดใหม่ถูกนำเข้าเพื่อการคัดเลือกพันธุ์และวัตถุประสงค์เพื่อการวิจัย

- พบเส้นทางศัตรูพืชอื่นนอกเหนือจากการนำเข้าสินค้า เช่น การแพร่กระจายโดยธรรมชาติ วัสดุหีบห่อ ไปรษณีย์ภัณฑ์ เศษอาหาร สัมภาระของผู้โดยสาร เป็นต้น

การจัดทำรายชื่อศัตรูพืชซึ่งมีโอกาสปะปนมาในเส้นทางศัตรูพืชนี้ อาจดำเนินการได้โดยรวบรวมจากแหล่งข้อมูลของส่วนราชการ ฐานข้อมูล เอกสารอ้างอิงทางวิทยาศาสตร์อื่นๆ หรือโดยการปรึกษากับผู้เชี่ยวชาญ กรณีจำแนกพบว่าไม่มีศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันมีโอกาสปะปนมากับเส้นทางศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชอาจยุติ ณ จุดนี้

1.1.2 การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเริ่มต้นโดยการจำแนกศัตรูพืช (PRA initiated by the identification of a pest) มีความจำเป็นต้องวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชขึ้นใหม่หรือทบทวนของเดิมที่ได้เคยวิเคราะห์ไว้แล้วกับศัตรูพืชชนิดหนึ่งโดยเฉพาะ อาจเกิดได้เพราะสถานการณ์ ดังนี้

- เกิดภาวะฉุกเฉินมีการตรวจพบการเข้าทำลายหรือการระบาดของศัตรูพืชชนิดใหม่ภายในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

- เกิดภาวะฉุกเฉินจากการตรวจพบศัตรูพืชชนิดใหม่ติดมากับสินค้านำเข้าชนิดหนึ่ง

- การวิจัยทางวิทยาศาสตร์ค้นพบความเสี่ยงจากศัตรูพืชชนิดใหม่

- มีการจำแนกพบสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งเป็นพาหะของศัตรูพืชชนิดอื่นเพิ่มขึ้นอีก

- สิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งที่ได้รับการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมในลักษณะซึ่งสามารถจำแนกได้อย่างชัดเจนว่ามีศักยภาพที่จะเป็นศัตรูพืชได้

1.1.3 การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเริ่มต้นโดยการทบทวนหรือการปรับปรุงนโยบาย (PRA initiated by the review or revision of a policy) มีความจำเป็นต้องวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชขึ้นใหม่ หรือทบทวนของเดิมที่ได้เคยวิเคราะห์ไว้แล้ว ส่วนมากแล้วจะเกิดขึ้นเนื่องจากสถานการณ์ ดังนี้

- ได้มีการตัดสินใจในระดับชาติเพื่อทบทวนกฎระเบียบสุขอนามัยพืช ข้อกำหนด หรือการปฏิบัติการ

- ข้อเสนอจากประเทศหนึ่งหรือโดยหน่วยงานอารักขาพืชนานาชาติ (หน่วยงานอารักขาพืชระดับภูมิภาค องค์อาหารแห่งสหประชาชาติ) ให้มีการทบทวนหรือปรับปรุง

- มีวิธีการกำจัดศัตรูพืชใหม่ หรือการสูญเสียระบบการกำจัดศัตรูพืช มีกระบวนการใหม่ หรือข้อมูลใหม่ที่มีผลกระทบต่อการตัดสินใจก่อนหน้านี้

- ข้อโต้แย้งเกิดขึ้นกับมาตรการสุขอนามัยพืช

- สถานการณ์ทางสุขอนามัยพืชในประเทศหนึ่งเปลี่ยนแปลงไป มีประเทศใหม่เกิดขึ้นหรือ ขอบเขตทางการปกครองเปลี่ยนแปลงไป

1.2 การจำแนกพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Identification of PRA area)

ต้องกำหนดพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชให้ชัดเจนเพื่อประโยชน์ในการพิจารณาหาข้อมูลที่ต้องการได้เหมาะสมถูกต้องกับพื้นที่

1.3 รวบรวมข้อมูลสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

การรวบรวมข้อมูลเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชทุกขั้นตอน โดยเฉพาะการวิเคราะห์ในระยะเริ่มต้นเพื่อให้เกิดความชัดเจนเกี่ยวกับสถานภาพการแพร่ระบาดของศัตรูพืชในปัจจุบัน ตลอดจนโอกาสที่ศัตรูพืชจะติดมากับพืชอาศัยและสินค้า สำหรับข้อมูลอื่นๆ จะรวบรวมตามที่มีความต้องการใช้ประกอบเมื่อถึงจุดที่ต้องตัดสินใจ ขณะที่การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชดำเนินต่อไป

ข้อมูลสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชอาจมาจากแหล่งที่หลากหลาย ซึ่งตามบทบัญญัติภายใต้อนุสัญญาอารักขาพืชระหว่างประเทศ (มาตรา 18 ข้อซี) ประเทศภาคีสมาชิกต้องมีจุดประสานงานเป็นทางการ เพื่ออำนวยความสะดวกในการให้ข้อมูลของทางราชการ

1.4 ตรวจสอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่มีการดำเนินการแล้ว

ก่อนเริ่มขบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช จะต้องตรวจสอบว่าได้เคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชมาแล้วหรือไม่ ทั้งกรณีวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชโดยศัตรูพืช หรือเส้นทางศัตรูพืช หรือโดยนโยบายของรัฐทั้งภายในและต่างประเทศ กรณีที่มีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชมาแล้วจะต้องตรวจสอบว่ายังมีความเหมาะสมหรือไม่ หรือยังสามารถนำมาใช้ได้หรือไม่เนื่องจากสภาพอาจเปลี่ยนแปลงไป โดยอาจจะนำมาใช้เพียงบางส่วนหรือทั้งหมด ทั้งนี้เพื่อว่าอาจจะสามารถทดแทนความต้องการที่จะต้องการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชใหม่ได้

1.5 ข้อสรุปของขั้นตอนการเริ่มกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

เมื่อสิ้นสุดขั้นตอนที่ 1 สามารถดำเนินการจำแนกศัตรูพืชและเส้นทางที่เกี่ยวกับศัตรูพืชที่เกี่ยวข้องและพื้นที่วิเคราะห์ศัตรูพืช รวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องเพื่อใช้ประกอบการวิเคราะห์ รวมทั้งจำแนกและคัดเลือกศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชที่จะต้องดำเนินมาตรการสุขอนามัยพืช โดยอาจเป็นศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งที่เฉพาะเจาะจง หรือศัตรูพืชที่มีโอกาสปะปนมากับเส้นทางศัตรูพืช

ขั้นตอนที่ 2: การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest risk assessment)

จุดมุ่งหมายเพื่อให้จัดลำดับความสำคัญศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงประกอบ ด้วย 3 ขั้นตอน ซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องสัมพันธ์กันคือ ขั้นตอนที่ 1) การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) เพื่อพิจารณาว่าศัตรูพืชชนิดใดมีคุณสมบัติจัดเป็นศัตรูพืชกักกัน (quarantine pest) โดยการพิจารณาตามคำนิยามของศัตรูพืชกักกันตามคำนิยามในมาตรฐานระหว่างประเทศสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช Glossary of Phytosanitary Terms ISPM No. 5 ขั้นตอนที่ 2) ประเมินโอกาสที่ศัตรูพืชชนิดนั้นจะเข้ามา ตั้งรกรากอย่างถาวร และแพร่ระบาด (Assessment for probability of entry and establishment and spread) ในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชได้ ขั้นตอนที่ 3) ประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่เกิดจากศัตรูพืช (Assessment of potential consequences) ในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชทั้งทางตรงและทางอ้อม โดยรายละเอียดขั้นตอนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชที่ใช้ดำเนินการตามอนุสัญญาอารักขาพืชแห่งชาติ (International Plant Protection Convention, IPPC) มีดังนี้

2.1 การจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest categorization)

เพื่อพิจารณาว่าศัตรูพืชชนิดใดมีคุณสมบัติจัดเป็นศัตรูพืชกักกัน (quarantine pest) โดยพิจารณาตามคำนิยามของศัตรูพืชกักกัน ในมาตรฐานระหว่างประเทศสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 5 ซึ่ง “ศัตรูพืชกักกัน” (Quarantine pest) หมายถึง ศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจที่มีศักยภาพต่อพื้นที่ที่อยู่ในอันตรายนั้น และยังไม่มีอยู่ในที่นั้น หรือมีอยู่แต่ไม่แพร่กระจายอย่างกว้างขวางและกำลังมีการควบคุมอยู่อย่างเป็นทางการ (Anonymous, 2006)

2.2 การประเมินโอกาสการเข้ามาและแพร่ระบาด (Assessment of the probability of introduction and spread)

การเข้ามาของศัตรูพืชประกอบด้วยกระบวนการเคลื่อนย้ายของศัตรูพืชเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร และแพร่ระบาดในพื้นที่ได้ ในการประเมินโอกาสการเข้ามาของศัตรูพืชจะต้องวิเคราะห์เส้นทาง แต่ละเส้นทางซึ่งศัตรูพืชอาจปะปนร่วมมากับเส้นทางจากแหล่งกำเนิดจนเข้ามาเจริญตั้งรกรากและแพร่ระบาดในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชซึ่งเริ่มต้นจากเส้นทางศัตรูพืชหนึ่งที่เฉพาะเจาะจง (โดยทั่วไปเป็นการนำเข้าสินค้าเกษตรชนิดหนึ่ง) โอกาสการเข้ามาของศัตรูพืชจะประเมินจากเส้นทางที่สงสัย นอกจากนี้จำเป็นที่จะต้องตรวจสอบโอกาสที่เป็นไปได้ที่ศัตรูพืชจะเข้ามาในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชจะสัมพันธ์กับเส้นทางศัตรูพืชอื่นๆ ด้วยเช่นเดียวกัน

สำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชซึ่งเริ่มจากชนิดศัตรูพืชชนิดหนึ่ง โดยไม่มีการพิจารณาเกี่ยวกับสินค้านำเข้าหรือเส้นทางศัตรูพืช ควรนำเส้นทางศัตรูพืชทุกเส้นทางที่มีศักยภาพในการนำศัตรูพืชเข้ามาในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชมาร่วมพิจารณาด้วย

การประเมินโอกาสความเป็นไปได้ของการแพร่ระบาดในเบื้องต้นจะอยู่บนพื้นฐานการพิจารณาทางด้านชีววิทยาเหมือนกับการประเมินโอกาสความเป็นไปได้ของศัตรูพืชที่จะเข้ามาและตั้งรกรากอย่างถาวร

2.2.1 โอกาสการเข้ามาของศัตรูพืช (Probability of entry of a pest)

โอกาสการเข้ามาของศัตรูพืชชนิดหนึ่งขึ้นอยู่กับเส้นทางศัตรูพืชจากประเทศส่งออกสินค้าไปยังประเทศปลายทาง ความถี่การนำเข้าและปริมาณศัตรูพืชที่มีโอกาสติดมากับสินค้า จำนวนเส้นทางศัตรูพืชยิ่งมีมากขึ้นโอกาสการเข้ามาของศัตรูพืชในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชจะยิ่งสูงขึ้นตามไปด้วย ควรจะมีการสังเกตเส้นทางศัตรูพืชที่ได้มีการบันทึกไว้สำหรับศัตรูพืชที่จะเข้าไปในพื้นที่ใหม่เส้นทางศัตรูพืชที่มีศักยภาพซึ่งยังไม่ปรากฏในปัจจุบันควรนำมาประเมินร่วมด้วย อีกทั้งข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืชกับสินค้านำเข้าอาจเป็นหลักฐานที่แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชชนิดหนึ่งอาจจะติดปะปนมากับเส้นทางศัตรูพืชหนึ่งและมีชีวิตรอดในขณะขนส่งและเก็บรักษา

2.2.2 โอกาสการเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร (Probability of establishment)

การประเมินโอกาสการเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร ควรมีข้อมูลด้านชีววิทยาของศัตรูพืชที่เชื่อถือได้ (วงจรชีวิต พืชอาศัย การแพร่ระบาด การอยู่รอด เป็นต้น) จากพื้นที่ซึ่งศัตรูพืชนั้นปรากฏอยู่ในปัจจุบัน สถานการณ์ในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสามารถนำมาเปรียบเทียบกับสภาพในพื้นที่ที่ศัตรูพืชนั้นปรากฏอยู่ในปัจจุบัน และใช้คำตัดสินใจของผู้เชี่ยวชาญมาประเมินโอกาสเข้ามาเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืช กรณีที่เคยเกิดมาแล้วในอดีตที่เกี่ยวข้องกันศัตรูพืชที่คล้ายคลึงกันสามารถนำมาพิจารณาด้วยเช่นเดียวกัน ตัวอย่างของปัจจัยที่ควรนำมาพิจารณา ได้แก่

- การมีพืชอาศัย จำนวนพืชอาศัยและการแพร่กระจายของพืชอาศัยในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช
- ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช
- ศักยภาพความสามารถในการปรับตัวของศัตรูพืช
- วิธีการมีชีวิตอยู่รอดของศัตรูพืช
- การปฏิบัติทางการเกษตรและมาตรการป้องกันกำจัด

ในการพิจารณาโอกาสการเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวรและแพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืชนั้นควรบันทึกไว้ด้วยว่าศัตรูพืชบางชนิดอาจปรากฏอยู่ในชั่วขณะหนึ่ง (ดู ISPM No.8 Determination of pest status in an area) แต่อาจจะไม่สามารถเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงได้ (เนื่องจากสภาพอากาศไม่เหมาะสม) แต่ว่าสามารถมีผลกระทบทางเศรษฐกิจในระดับที่ยอมรับไม่ได้ในภายหลังได้

2.2.3 โอกาสการแพร่ระบาดของศัตรูพืชหลังจากเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร (Probability of spread after establishment)

ศัตรูพืชชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพสูงในการแพร่ระบาดอาจมีศักยภาพสูงในการเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ ดังนั้นความเป็นไปได้ในการควบคุมศัตรูพืชให้อยู่ในขอบเขตจำกัด และ/หรือ กำจัดให้หมดสิ้นจึงค่อนข้างยากมาก และการตัดสินใจของผู้เชี่ยวชาญจะนำมาใช้ประเมินโอกาสการแพร่ระบาด กรณีตัวอย่างที่เคยเกิดมาแล้วกับศัตรูพืชที่คล้ายคลึงกันสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการพิจารณา ตัวอย่างของปัจจัยที่พิจารณา ได้แก่

- ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในสภาพธรรมชาติและ/หรือสภาพแวดล้อมที่จัดการสำหรับการแพร่ระบาดของศัตรูพืชโดยธรรมชาติ
- มีสิ่งกีดขวางโดยธรรมชาติ
- ศักยภาพสำหรับการเคลื่อนย้ายไปกับสินค้าหรือพาหนะขนส่ง
- ความตั้งใจที่จะนำสินค้าไปใช้ประโยชน์
- พาหะที่มีศักยภาพของศัตรูพืชในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช
- ศัตรูธรรมชาติที่มีศักยภาพของศัตรูพืชในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

ข้อมูลเกี่ยวกับโอกาสการแพร่ระบาดของศัตรูพืช จะถูกนำมาใช้ประเมินศักยภาพความสำคัญทางเศรษฐกิจของศัตรูพืชที่อาจแสดงออกในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยง ศัตรูพืช ซึ่งนับว่ามีความสำคัญ หากศัตรูพืชชนิดนั้นเข้ามาและเจริญตั้งรกรากอย่างถาวรในพื้นที่ที่มีศักยภาพทางความสำคัญทางเศรษฐกิจต่ำและแพร่ระบาดไปในพื้นที่มีศักยภาพทางความสำคัญทางเศรษฐกิจสูงยิ่งกว่านั้นอาจมีความสำคัญในขั้นตอนการจัดการความเสี่ยงเมื่อพิจารณาถึงความเป็นไปได้ในการควบคุมให้อยู่ภายใต้ขอบเขตหรือจำกัดศัตรูพืชให้หมดสิ้นไป

2.2.4 ข้อสรุปเกี่ยวกับโอกาสการเข้ามาเจริญตั้งรกรากอย่างถาวรและแพร่ระบาดของศัตรูพืช (Conclusion on the probability of introduction and spread)

ภาพรวมของโอกาสเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวรอาจแสดงข้อมูลในลักษณะเชิงปริมาณหรือเชิงคุณภาพ เนื่องจากผลลัพธ์ที่ออกมาในกรณีใดก็ตามเป็นการผสมผสานกันของข้อมูลเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ โอกาสการเข้ามาของศัตรูพืชอาจแสดงในเชิงเปรียบเทียบกับข้อมูลจากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกับศัตรูพืชชนิดอื่น

2.3 การประเมินผลทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้น (Assessment of potential economic consequence)

ในขั้นตอนนี้ระบุว่าข้อมูลต่างๆ ที่สัมพันธ์กันของศัตรูพืชและพืชที่มีศักยภาพเป็นพืชอาศัยต้องเอามารวมกัน และระดับการวิเคราะห์ผลกระทบทางเศรษฐกิจทั้งทางตรงและทางอ้อม ซึ่งอาจดำเนินการโดยใช้ข้อมูลนั้นเพื่อประเมินผลกระทบทุกด้านของศัตรูพืช เช่น ศักยภาพของผลที่ตามมาทางเศรษฐกิจ ควรจะมีข้อมูลเชิงปริมาณซึ่งจะให้รายละเอียดมูลค่าที่เป็นเงิน สำหรับข้อมูลเชิงคุณภาพอาจจะใช้ได้เช่นเดียวกัน การปรึกษาหารือกับนักเศรษฐศาสตร์อาจจะเป็นประโยชน์อย่างมาก มีหลายกรณีที่การวิเคราะห์ในรายละเอียดเกี่ยวกับการประเมินผลที่เกิดขึ้นตามมาทางเศรษฐกิจซึ่งคาดว่าจะเกิดขึ้นอาจไม่มีความจำเป็นถ้ามีหลักฐานเพียงพอหรือเป็นที่ยอมรับอย่างกว้างขวางทั่วไปแล้วว่าการเข้ามาของศัตรูพืชชนิดหนึ่งนั้นจะก่อให้เกิดผลทางเศรษฐกิจตามมาในระดับที่ไม่สามารถยอมรับได้ ในเบื้องต้นจะมุ่งเน้นพิจารณาเกี่ยวกับโอกาสการเข้ามาเจริญตั้งรกรากอย่างถาวรและแพร่ระบาด อย่างไรก็ตามมีความจำเป็นต้องตรวจสอบปัจจัยทางเศรษฐกิจด้วยเมื่อระดับของผลที่จะเกิดขึ้นตามมาทางเศรษฐกิจยังเป็นที่สงสัย หรือเมื่อระดับของผลที่ตามมาทางเศรษฐกิจทำให้ต้องประเมินความเข้มแข็งของมาตรการที่ใช้ในการจัดการกับความเสี่ยง หรือในการประเมินต้นทุนกำไรในการกำจัดหรือการควบคุมศัตรูพืชไม่ให้เข้ามา

2.4 ระดับความไม่แน่นอน (degree of uncertainly)

การประเมินโอกาสการเข้ามาของศัตรูพืชและผลที่ตามมาทางด้านเศรษฐกิจจะมีปัจจัยที่ไม่แน่นอนเข้ามาเกี่ยวข้องจำนวนมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นการประเมินที่นอกเหนือจากสภาพซึ่งศัตรูพืชเกิดระบาดตามสภาพทางทฤษฎีในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช จึงเป็นสิ่งสำคัญที่จะต้องบันทึกไว้เป็นหลักฐานเกี่ยวกับปัจจัยที่ไม่แน่นอนและระดับของความไม่แน่นอนที่เข้ามาเกี่ยวข้องในการประเมินและเพื่อแสดงให้เห็นถึงการนำคำตัดสินของผู้เชี่ยวชาญมาใช้ ทั้งนี้เป็นสิ่งจำเป็นเพื่อให้เกิดความโปร่งใสและอาจจะมีประโยชน์สำหรับการจำแนกและการจัดลำดับความต้องการในการวิจัยต่อไป

2.5 ข้อสรุปของการประเมินความเสี่ยงของศัตรูพืช (Conclusion of the pest risk assessment stage)

ผลที่ได้จากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชจะได้ชนิดของศัตรูพืชที่จำแนกประเภทแล้วบางชนิดหรือทั้งหมด และอาจจะถูกนำมาพิจารณาเกี่ยวกับการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชให้เหมาะสม รวมทั้งพื้นที่บางส่วนหรือทั้งหมดของพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชอาจกำหนดเป็นพื้นที่ที่มีปัจจัยสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืชจนทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจที่สำคัญ การประเมินโอกาสเชิงคุณภาพหรือเชิงปริมาณของการนำเข้ามาของศัตรูพืชชนิดหนึ่งหรือหลายชนิด และการประเมินผลที่ตามมาทางเศรษฐกิจ (รวมทั้งผลต่อสภาพแวดล้อม) จะต้องจัดทำไว้เป็นหลักฐานเอกสาร รวมทั้งความไม่แน่นอนที่เกิดร่วมอยู่ด้วย จะต้องนำมาใช้ในขั้นตอนการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช

ขั้นตอนที่ 3: การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest risk management)

ขั้นตอนนี้เกี่ยวข้องกับการกำหนดมาตรการทางเลือกสำหรับการจัดการความเสี่ยงทั้งนี้เพื่อลดความเสี่ยงที่ระบุในขั้นตอนที่ 2 โดยที่ข้อสรุปจากการประเมินความเสี่ยงจะถูกนำมาใช้ประกอบการตัดสินใจว่าจำเป็นหรือไม่ที่ต้องจัดการความเสี่ยงและมาตรการที่ใช้จัดการความเสี่ยงจะมีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะใช้หรือไม่ หลักการจัดการความเสี่ยงนั้นจะต้องคำนึงถึงประเด็น ดังนี้

3.1 ระดับความเสี่ยง (Level of risk) จะใช้หลักการจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่มีระดับที่เหมาะสมซึ่งสามารถยอมรับได้ (Appropriate Level of acceptable; ALOP) หรือระดับความเสี่ยงที่สามารถยอมรับได้ (acceptable)

3.2 ข้อมูลวิชาการประกอบการพิจารณาจัดการความเสี่ยง โดยดูจากข้อมูลที่รวบรวมได้

3.3 การยอมรับความเสี่ยง (Acceptable of risk) นำผลของการประเมินความเสี่ยงนับตั้งแต่การเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร การแพร่ระบาด และผลกระทบต่อเศรษฐกิจที่แสดงความเสี่ยงว่าไม่สามารถยอมรับได้นั้นมาจัดการจำแนกมาตรการสุขอนามัยพืชเพื่อลดความเสี่ยงลงให้ถึงระดับต่ำสุดที่ยอมรับได้

3.4 จำแนกและคัดเลือกวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการลดโอกาสการเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวรและแพร่ระบาดของศัตรูพืชที่เหมาะสม มีเหตุผลภายใต้ข้อจำกัดเกี่ยวกับวิธีการที่สามารถดำเนินการได้ในการจัดการความเสี่ยง มาตรการสุขอนามัยพืชที่นำมาใช้ควรให้ผลแน่นอนและมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติเหมาะสมกับรูปแบบและแหล่งกำเนิดสินค้าที่เป็นพืชอาศัยหรือพาหะ โดยไม่เป็นอุปสรรคขัดขวางการค้าในแง่จำกัดการนำเข้าสินค้าโดยไม่มีเหตุผล บางกรณีอาจต้องนำมาตรการสุขอนามัยพืชมากกว่าสองมาตรการมาใช้เพื่อลดความเสี่ยงจนถึงระดับที่ยอมรับได้ มาตรการสุขอนามัยพืชที่มีการนำมาใช้ในปัจจุบัน สามารถแบ่งได้ตามสถานภาพของศัตรูพืชในเส้นทางศัตรูพืช ณ ประเทศต้นทาง ประกอบด้วยมาตรการ ดังต่อไปนี้

- มาตรการที่ใช้กับสินค้าโดยตรง
- มาตรการที่ใช้เพื่อป้องกันหรือลดปริมาณการเข้าทำลายของศัตรูพืชในแหล่งผลิต
- มาตรการที่ใช้เพื่อให้เกิดความเชื่อมั่นว่าในพื้นที่ผลิตหรือแหล่งผลิตปราศจากศัตรูพืช
- มาตรการห้ามนำเข้าสินค้า

มาตรการทางเลือกอื่นอาจเกิดขึ้นจากพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (จำกัดการใช้ประโยชน์จากสินค้า) มาตรการป้องกันกำจัด การนำเข้าชีวินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช การกำจัดให้หมดสิ้นไป และการควบคุมการระบาดให้อยู่ในขอบเขตจำกัด มาตรการเหล่านี้จะถูกประเมินและนำมาใช้เฉพาะกรณีที่ศัตรูพืชพบระบาดอยู่ก่อนแล้วในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชแต่ระบาดอยู่ในขอบเขตจำกัด

3.5 การรับรองสุขอนามัยพืช (Phytosanitary certificate) โดยการรับรองสุขอนามัยพืชว่าสินค้าปราศจากศัตรูพืชกักกันซึ่งกำหนดโดยประเทศผู้นำเข้า และเป็นไปตามข้อกำหนดด้านสุขอนามัยพืชของประเทศนำเข้า ซึ่งเป็นการยืนยันว่าได้มีการจัดการความเสี่ยงตามที่กำหนด รวมทั้งอาจกำหนดให้ระบุข้อความเพิ่มเติม (additional declaration) เพื่อแสดงให้เห็นว่าได้มีการดำเนินมาตรการสุขอนามัยพืชเป็นการเฉพาะ นอกจากนี้มาตรการอื่นอาจนำมาใช้ร่วมกันตามที่ได้มีการทำความตกลงแบบทวิภาคี หรือพหุภาคี (bilateral or multilateral agreement)

3.6 บทสรุปการจัดการความเสี่ยง

ผลที่ได้รับจากขบวนการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช อาจจะพบว่าไม่มีมาตรการซึ่งได้รับการพิจารณาแล้วว่าเหมาะสม หรือมีการเลือกวิธีการจัดการความเสี่ยงวิธีหนึ่งหรือหลายวิธีการซึ่งพบว่าสามารถทำให้ความเสี่ยงซึ่งเกิดร่วมกับศัตรูพืชลดต่ำจนอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ วิธีการจัดการความเสี่ยงเหล่านี้จะอยู่บนพื้นฐานของกฎระเบียบหรือข้อกำหนดด้านสุขอนามัยพืช

เวลาและสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2555-กันยายน 2556

สถานที่ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของพริกและศัตรูพืชที่จะดำเนินการวิเคราะห์

พริกเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Solanaceae เช่นเดียวกับมะเขือเทศ มะเขือ มันฝรั่ง ยาสูบ และพิทูเนีย จัดอยู่ในสกุล *Capsicum* มีถิ่นกำเนิดดั้งเดิมในทวีปอเมริกาใต้ และใช้ประโยชน์มานานนับหลายพันปี ถูกนำเข้ามาเผยแพร่ในยุโรปในชื่อของพริกแดง (red pepper: *Capsicum* spp.) ตามลักษณะสีของผล พริกมีประมาณ 25 ชนิด ที่นิยมปลูกกันมีเพียง 5 ชนิดเท่านั้น ได้แก่ *C. annuum* L., *C. baccatum* L., *C. chinensis* Jacq., *C. frutescens* L. และ *C. pubescens* R. & P. นอกจากนี้ยังมีพันธุ์ที่ถูกพัฒนาขึ้นอีกมากมาย โดยมีชื่อที่ใช้เรียกกันอยู่หลายคำ ได้แก่ pepper, chili, chilli, chile และ capsicum ปัจจุบันพริก มีอนุกรมวิธาน ดังนี้

Phylum: Spermatophyta

Subphylum: Angiospermae

Class: Dicotyledonae

Order: Solanales

Family: Solanaceae

Genus: *Capsicum*

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น พริกเป็นพืชที่มีการเจริญของกิ่ง กล่าวคือกิ่งจะเจริญจากลำต้นเพียง 1 กิ่ง แล้วแตกเป็น 2 กิ่ง และเพิ่มเป็น 4 เป็น 8 ไปเรื่อยๆ จึงมักพบว่า ต้นพริกที่สมบูรณ์จะมีกิ่งแตกขึ้นมาจากต้นที่ระดับดินหลายกิ่ง จนดูคล้ายกับว่ามีหลายต้นอยู่รวมในที่เดียวกัน

ใบ เป็นแบบใบเดี่ยว เรียบ มีขนบ้างเล็กน้อย มีรูปร่างตั้งแต่รูปไข่ไปจนกระทั่งเรียวยาว ขนาดใบมีต่างๆ กัน ใบพริกหวาน มีขนาดค่อนข้างใหญ่ ส่วนใบพริกขี้หนูโดยทั่วไปมีขนาดเล็ก

ดอก เกิดเป็นดอกเดี่ยวที่ข้อตรงมุมที่เกิดใบที่กิ่ง ดอกประกอบด้วยกลีบรองดอกมีลักษณะเป็นพู 5 พู มีกลีบดอกสีขาวหรือสีม่วง 5 กลีบ เกสรตัวผู้ 5 อัน (เท่าจำนวนกลีบดอก) แตกออกมาจากโคนของกลีบดอก อับเกสรตัวผู้มักมีสีน้ำเงินแยกตัวเป็นกระเปาะเล็กๆ ยาวๆ ส่วนเกสรตัวเมียมีรูปร่างเหมือนกระบองหัวมน รังไข่จะมี 3 พู หรืออาจมี 2 หรือ 4 พู ก็ได้ โดยทั่วไปมักจะออกดอกและติดผลในสภาพที่มีช่วงวันสั้น

ผล มีลักษณะเป็นกระเปาะ โดยทั่วไปผลอ่อนมักชี้ขึ้น เมื่อเป็นผลแก่พันธุ์ที่มีลักษณะขั้วผลอ่อนจะให้ผลที่ห้อยลง ผลมีหลายลักษณะ เช่น แบน กลมยาว จนถึง พอง อ้วน สั้น ขนาดผลมีตั้งแต่ขนาดผลเล็กไปจนถึงผลขนาดใหญ่ขึ้นอยู่กับพันธุ์ เมื่อผลแก่อาจเปลี่ยนสีจากเขียวเป็นแดงหรือเหลืองพร้อมๆ กับการแก่ของเมล็ดในผลควบคู่กันไป ในระหว่างการเจริญเติบโตของผล หากอุณหภูมิในเวลากลางวันสูงและความชื้นในบรรยากาศต่ำจะทำให้ผลพริกมีการเจริญผิดปกติ (off-type) อาจมีรูปร่างบิดเบี้ยวและมีขนาดเล็ก การติดเมล็ดต่ำกว่าปกติ

เมล็ด มีลักษณะกลม-แบน สีเหลืองไปจนถึงสีน้ำตาลมีขนาดค่อนข้างใหญ่กว่าเมล็ดมะเขือเทศ แต่ผิวเมล็ดพริกไม่ค่อยมีขนเหมือนเมล็ดมะเขือเทศ

ราก ต้นที่โตเต็มที่ รากฝอยจะแผ่ออกไปหากินด้านข้าง รัศมีเกินกว่า 1 เมตร และหยั่งลึกลงไปในดินเกินกว่า 1.20 เมตร ตรงบริเวณรอบๆ ต้นจะพบว่ามีรากฝอยสานกันอยู่อย่างหนาแน่น

พันธุ์พริก

การจัดจำแนกพันธุ์พริกในประเทศไทยนิยมจำแนกตามความเผ็ด และตามขนาดผล โดยการแบ่งตามความเผ็ด ส่วนการแบ่งตามขนาดของผลจะแบ่งเป็น 2 ประเภท เช่นเดียวกัน คือ พริกขนาดใหญ่หรือพริกใหญ่ และพริกเล็กหรือพริกขี้หนู

การค้าระหว่างประเทศ

ในปี 2555 ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริก ประมาณ 10.60 ตัน คิดเป็นมูลค่ากว่า 37 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2556) โดยนำเข้าจากหลายประเทศรวมถึงสหรัฐอเมริกา ซึ่งพริกที่นิยมปลูกในสหรัฐอเมริกามีหลายสายพันธุ์ เช่น *C. annuum* (Anaheim, New Mexico, Peter pepper, Pequin pepper) และ *C. chinensis* (Bird's eye, Datil) เป็นต้น

2. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

ขั้นตอนที่ 1: การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation of pest risk analysis)

เมล็ดพันธุ์พริกจัดเป็นสิ่งไม่ต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 ต่อมาเมื่อมีการแก้ไขปรับปรุงเป็นพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติม โดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) 2551 ทำให้พืชในวงศ์ Solanaceae เปลี่ยนแปลงมาเป็นสิ่งต้องห้าม ในการนำเข้าต้องดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเพื่อให้ทราบชนิดของศัตรูพืชที่อาจติดมาเพื่อกำหนดมาตรการทางสุขอนามัยพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งสินค้าที่มีการนำเข้ามาเพื่อการปรับปรุงพันธุ์จะมีความเสี่ยงสูงที่จะมีศัตรูพืชเล็ดลอดติดเข้ามา เนื่องจากเมล็ดพันธุ์พริกจากสหรัฐอเมริกาได้รับการผ่อนผันให้มีการนำเข้าเพื่อการค้าโดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยพืชใดๆ กำกับ และสามารถนำเข้ามาได้จนกว่าการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชจะแล้วเสร็จ ดังนั้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชจึงเกิดจากการปรับปรุงเปลี่ยนแปลงกฎระเบียบการนำเข้าของประเทศไทยทำให้ต้องมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

การจำแนกพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Identification of PRA area)

พื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช คือ ประเทศไทย โดยกำหนดพื้นที่ที่อยู่ในอันตราย ได้แก่ พื้นที่หนึ่งพื้นที่ใดของประเทศไทย ซึ่งมีพืชอาศัยที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของศัตรูพืชและมีปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวรและแพร่กระจายได้

ขั้นตอนที่ 2: การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest risk assessment)

<u>การจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest Categorization)</u>

ผลการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของพริกที่พบในไทยและสหรัฐอเมริกาพบศัตรูพืชรวม 281 ชนิด แบ่งเป็นแมลง 116 ชนิด ได้แก่ *Agrotis ipsilon, Agrotis segetum, Aleurodicus disperses, Anastrepha suspense, Anthonomus eugenii, Aphidoletes aphidimyza, Aphis craccivora, Aphis fabae, Aphis gossypii, Aphis spiraecola, Aspidiotus destructor, Atherigona orientalis, Aulacorthum solani, Bactrocera carambolae, Bactrocera cucurbitae, Bactrocera dorsalis, Bactrocera dorsalis* species complex, *Bactrocera latifrons, Bactrocera papayae, Bactrocera passiflorae*, *Bactrocera tau, Bactrocera tryoni, Bemisia tabaci, Callosobruchus maculatus, Ceratitis capitata, Chrysodeixis chalcites, Chrysodeixis eriosoma, Chrysodeixis*

includens, Coccus hesperidum, Corcyra cephalonica, Dacus dorsalis, Diabrotica speciosa, Diaprepes abbreviates, Dociostaurus maroccanus, Dysmicoccus brevipes, Ephestia kuehniella, Epitrix cucumeris, Epitrix tuberis, Eudocima fullonia, Euproctis scintillans, Feltia subterranean, Frankliniella bispinosa, Frankliniella fusca, Frankliniella intonsa, Frankliniella occidentalis, Frankliniella schultzei, Gonocephalum, Gryllotalpa gryllotalpa, Helicoverpa armigera, Helicoverpa assulta, Helicoverpa zea, Heliothis peltigera, Heliothis virescens, Holotrichia serrate, Icerya aegyptiaca, Icerya seychellarum, Lasioderma serricorne, Liriomyza bryoniae, Liriomyza huidobrensis, Liriomyza sativae, Liriomyza trifolii, Listroderes costirostris, Maconellicoccus hirsutus, Macrosiphum euphorbiae, Macrosiphum rosae, Mamestra brassicae, Manduca quinquemaculata, Manduca sexta, Melanotus communis, Microtermes obesi, *Myzus persicae*, *Nezara viridula, Opogona sacchari, Orthezia insignis, Ostrinia furnacalis, Ostrinia nubilalis, Paracoccus marginatus, Parasaissetia nigra, Peridroma saucia, Phenacoccus madeirensis, Phenacoccus solenopsis, Phthorimaea operculella, Phyllophaga, Phytophthora citrophthora, Piezodorus guildinii, Piezodorus hybneri, Pinnaspis strachani, Platynota stultana, Pseudaulacaspis pentagona, Pseudococcus jackbeardsleyi, Rhopalosiphum maidis, Rhyzopertha dominica, Saissetia coffeae, Scapteriscus, Scirtothrips dorsalis, Sitophilus oryzae, Sitophilus zeamais, Sitotroga cerealella, Spodoptera eridania, Spodoptera exempta, Spodoptera exigua, Spodoptera frugiperda, Spodoptera litura, Spodoptera ornithogalli, Symmetrischema capsicum, Thaumatotibia leucotreta, Thrips hawaiiensis, Thrips palmi, Thrips parvispinus, Tiracola plagiata, Toxoptera aurantii, Trialeurodes abutiloneus, Trialeurodes vaporariorum, Tribolium castaneum, Trichoplusia ni* และ *Unaspis citri* ไร 10 ชนิด ได้แก่ *Aculops lycopersici, Calacarus carinatus, Halotydeus destructor, Phytonemus pallidus, Polyphagotarsonemus latus, Tetranychus cinnabarinus, Tetranychus marianae, Tetranychus marianae, Tetranychus turkestani* และ *Tetranychus urticae* หอยทาก 1 ชนิด ได้แก่ *Helix aspersa* แบคทีเรีย 20 ชนิด ได้แก่ *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis, Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica, Erwinia carotovora* subsp. *carotovora, Erwinia chrysanthemi* pv. *chrysanthemi, Pseudomonas celebensis*, *Pseudomonas cichorii, Pseudomonas corrugate, Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis, Pseudomonas syringae* pv. *aptata, Pseudomonas syringae* pv. *syringae, Pseudomonas syringae* pv. *tabaci, Pseudomonas viridiflava, Ralstonia solanacearum, Ralstonia solanacearum* race 1, *Rhizobium radiobacter, Rhizobium rhizogenes, Rhodococcus fascians, Xanthomonas axonopodis* pv.*vesicatoria, Xanthomonas campestris* และ*Xanthomonas campestris* pv. *raphani* ไฟโตพลาสมา 3 ชนิด ได้แก่ *Phytoplasma aurantifolia*, *Grapevine yellows phytoplasmas* และ *Aster yellows phytoplasma group* โปรโตซัว 1 ชนิด ได้แก่ *Spongospora subterranea* f.sp. *subterranea* รา 51 ชนิด *Alternaria alternata, Alternaria solani, Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Botryotinia fuckeliana, Cercospora apii, Cercospora capsici, Chalara elegans,*

Choanephora cucurbitarum, Cochliobolus lunatus, Colletotrichum acutatum, Colletotrichum capsici, Colletotrichum coccodes, Colletotrichum dematium, Colletotrichum truncatum, Corticium rolfsii, Diaporthe phaseolorum var. *sojae, Didymella lycopersici, Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum, Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum, Fusarium oxysporum* f.sp.*capsici, Fusarium oxysporum, Fusarium solani, Gibberella intricans, Glomerella cingulate, Golovinomyces orontii, Lasiodiplodia theobromae, Leveillula taurica, Macrophomina phaseolina, Monilinia fructigena, Nectria haematococca, Olpidium brassicae, Passalora fulva, Peronospora hyoscyami* f.sp. *tabacina, Phomopsis longicolla, Phytophthora capsici, Phytophthora cryptogea, Phytophthora infestans, Phytophthora nicotianae, Phytophthora vignae, Pseudocercospora fuligena, Pythium aphanidermatum, Pythium debaryanum, Pythium irregulare, Pythium ultimum, Rhizopus arrhizus, Sclerotinia sclerotiorum, Setosphaeria rostrata, Stereum sanguinolentum, Thanatephorus cucumeris* และ *Verticillium dahliae* ไวรัส 28 ชนิด ได้แก่ *Alfalfa mosaic virus, Andean potato mottle virus, Beet curly top virus, Broad bean wilt virus, Cherry leaf roll virus, Chilli veinal mottle virus, Cucumber green mottle mosaic virus, Cucumber mosaic virus, Impatiens necrotic spot virus, Iris yellow spot virus, Pepper golden mosaic virus, Pepper mild mottle virus, Pepper mottle virus, Pepper yellow leaf curl virus, Potato virus Y, Sweet potato feathery mottle virus, Tobacco leaf curl virus, Tobacco mosaic virus, Tobacco rattle virus, Tobacco ringspot virus, Tobacco streak virus, Tobacco vein mottling virus, Tomato black ring virus, Tomato bushy stunt virus, Tomato chlorosis virus, Tomato mosaic virus, Tomato ringspot virus* และ *Tomato spotted wilt virus* ไส้เดือนฝอย 21 ชนิด ได้แก่ *Aphelenchoides besseyi, Belonolaimus longicaudatus, Ditylenchus destructor, Helicotylenchus dihystera, Hemicycliophora arenaria, Hoplolaimus seinhorsti, Longidorus, Meloidogyne arenaria, Meloidogyne chitwoodi, Meloidogyne exigua, Meloidogyne graminicola, Meloidogyne hapla, Meloidogyne incognita, Meloidogyne javanica, Meloidogyne mayaguensis, Nacobbus aberrans, Pratylenchus penetrans, Pratylenchus zeae, Rotylenchulus reniformis, Xiphinema index* และ *Zygotylenchus guevarai* วัชพืช 29 ชนิด ได้แก่ *Amaranthus blitoides, Amaranthus hybridus, Amaranthus retroflexus, Amaranthus viridis, Ambrosia artemisiifolia, Anagallis arvensis, Cirsium arvense, Commelina benghalensis, Cuscuta campestris, Cyperus rotundus, Dactyloctenium aegyptium, Digitaria ciliaris, Echinochloa crus-galli, Galinsoga parviflora, Hibiscus trionum, Murdannia nudiflora, Orobanche, Orobanche aegyptiaca, Orobanche cernua, Orobanche ramose, Panicum repens, Parthenium hysterophorus, Phyllanthus urinaria, Polygonum aviculare, Richardia brasiliensis, Senna obtusifolia, Solanum melongena, Solanum nigrum* และ *Tridax procumbens* และสัตว์ฟันแทะ 1 ชนิด ได้แก่ *Rattus argentiventer* (CABI, 2007; 2013; EPPO-PQR, 2013) โดยพบศัตรูพืชที่มีในสหรัฐอเมริกา จำนวน 257 ชนิด เป็นแมลง 101 ชนิด ไร 9 ชนิด หอยทาก 1 ชนิด แบคทีเรีย 19 ชนิด ไฟโตพลาสมา 3 ชนิด โปรโตซัว 1 ชนิด รา 49 ชนิด ไวรัส

25 ชนิด ไส้เดือนฝอย 20 ชนิด และวัชพืช 29 ชนิด ซึ่งการจัดกลุ่มศัตรูพืชเมื่อพิจารณาตามคำนิยามของศัตรูพืช พบว่ามีศัตรูพืชที่ไม่มีในไทยแต่มีในสหรัฐอเมริกาและสามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกที่จะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจ ได้ 20 ชนิด เป็น แบคทีเรีย 4 ชนิด ได้แก่ *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, *Pseudomonas viridiflava*, *Rhodococcus fascians* เชื้อรา 5 ชนิด ได้แก่ *Didymella lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum*, *Phomopsis longicolla*, *Phytophthora vignae*, *Verticillium dahliae* และไวรัส 11 ชนิด ได้แก่ *Alfalfa mosaic virus*, *Broad bean wilt virus*, *Cherry leaf roll virus, Cucumber green mottle mosaic virus*, *Pepper mild mottle virus*, *Tobacco ringspot virus*, *Tobacco streak virus*, *Tomato black ring virus*, *Tomato bushy stunt virus*, *Tomato mosaic virus* และ*Tomato ringspot virus*

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Risk Assessment)

นำศัตรูพืชทั้ง 20 ชนิด ที่ได้จากการจัดกลุ่มศัตรูพืชมาประเมินโอกาสการเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร แพร่ระบาด และก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจทั้งทางตรงและทางอ้อม เนื่องจากศัตรูพืชมีโอกาสติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากสหรัฐอเมริกาโดยการปนเปื้อนเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้า ซึ่งไม่สามารถสังเกตลักษณะอาการผิดปกติจากภายนอกได้ด้วยตาเปล่า ทั้งยังมีพืชอาศัยหลายชนิดที่เป็นพืชเศรษฐกิจของไทย ซึ่งอาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อผลิตผลทางการเกษตร รวมทั้งการส่งออกพืชผักไปยังประเทศที่ไม่มีการระบาดของเชื้อสาเหตุโรคเหล่านี้ โดยเริ่มดำเนินการวิเคราะห์จากแบคทีเรียศัตรูพืชแต่ละชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, *Pseudomonas viridiflava* และ *Rhodococcus fascians* และจะดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชอื่นๆ ต่อไป

ขั้นตอนที่ 3: การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest risk management)

อยู่ระหว่างดำเนินการ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริก ประมาณ 10.60 ตัน คิดเป็นมูลค่ากว่า 37 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2556) โดยนำเข้าจากหลายประเทศรวมถึงสหรัฐอเมริกา ซึ่งพริกที่นิยมปลูกในสหรัฐอเมริกามีหลายสายพันธุ์ เช่น *C. annuum* (Anaheim, New Mexico, Peter pepper, Pequin pepper) และ *C. chinensis* (Bird's eye, Datil) เป็นต้น

ผลจากการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของพริกที่พบในไทยและสหรัฐอเมริกาพบศัตรูพืชรวม 281 ชนิด แบ่งเป็นแมลง 116 ชนิด ไร 10 ชนิด หอยทาก 1 ชนิด แบคทีเรีย 20 ชนิด ไฟโตพลาสมา 3 ชนิด โปรโตซัว 1 ชนิด รา 51 ชนิด ไวรัส 28 ชนิด ไส้เดือนฝอย 21 ชนิด วัชพืช 29 ชนิด และสัตว์ฟันแทะ 1 ชนิด โดยพบศัตรูพืชที่มีในสหรัฐอเมริกา จำนวน 257 ชนิด เป็นแมลง 101 ชนิด ไร 9 ชนิด หอยทาก 1 ชนิด แบคทีเรีย 19 ชนิด ไฟโตพลาสมา 3 ชนิด โปรโตซัว 1 ชนิด รา 49 ชนิด ไวรัส 25 ชนิด ไส้เดือนฝอย 20 ชนิด และวัชพืช 29 ชนิด จากการจัดกลุ่มศัตรูพืช พบว่ามีศัตรูพืชที่ไม่มีในไทยแต่มีในสหรัฐอเมริกาและสามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกที่จะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจจำนวน 20 ชนิด เป็น แบคทีเรีย 4 ชนิด ได้แก่ *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, *Pseudomonas viridiflava*, *Rhodococcus fascians* เชื้อรา 5 ชนิด ได้แก่ *Didymella lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum*, *Phomopsis longicolla*, *Phytophthora vignae*, *Verticillium dahliae* และไวรัส 11 ชนิด ได้แก่ *Alfalfa*

mosaic virus, *Broad bean wilt virus*, *Cherry leaf roll virus, Cucumber green mottle mosaic virus*, *Pepper mild mottle virus*, *Tobacco ringspot virus*, *Tobacco streak virus*, *Tomato black ring virus*, *Tomato bushy stunt virus*, *Tomato mosaic virus* และ*Tomato ringspot virus*

นำศัตรูพืชทั้ง 20 ชนิด ที่ได้จากการจัดกลุ่มศัตรูพืชมาประเมินโอกาสการเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร แพร่ระบาด และก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจทั้งทางตรงและทางอ้อม เนื่องจากศัตรูพืชมีโอกาสติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากสหรัฐอเมริกาโดยการปนเปื้อนเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้า ซึ่งไม่สามารถสังเกตลักษณะอาการผิดปกติจากภายนอกได้ด้วยตาเปล่า ทั้งยังมีพืชอาศัยหลายชนิดที่เป็นพืชเศรษฐกิจของไทย ซึ่งอาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อผลิตผลทางการเกษตร รวมทั้งการส่งออกพืชผักไปยังประเทศที่ไม่มีการระบาดของเชื้อสาเหตุโรคเหล่านี้ โดยเริ่มดำเนินการวิเคราะห์จากแบคทีเรียศัตรูพืชแต่ละชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, *Pseudomonas viridiflava* และ *Rhodococcus fascians* และจะดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชอื่นๆ ต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนางณัฏฐพร อุทัยมงคล หัวหน้ากลุ่มงานวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช สำหรับคำปรึกษาและคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อการปฏิบัติงาน ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ กลุ่มงานวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับกำลังใจและความช่วยเหลือต่างๆ และขอขอบคุณบิดา-มารดาผู้เป็นกำลังใจสำคัญให้ลูกเสมอมา

เอกสารอ้างอิง

ชวนพิศ อรุณรังสิกุล. มปป. พริก: พืชน่าพิศวง. งานเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์พืช. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://clgc.rdi.ku.ac.th/article/seed/chilli/chilli.html (23 กรกฎาคม 2553).

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2556. ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ควบคุม ประจำปี 2555. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: www.doa.go.th/ard/FileUpload/พันธุ์พืช/สถิติ/ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าฯรายเมล็ดพันธุ์%202555 (8 มีนาคม 2556).

Anonymous. 2006. Phytosanitary Principles for the protection of plants and the application of phytosanitary measures in international trade.

CABI (CAB INTERNATIONAL). 2007. Crop Protection Compendium. CAB INTERNATIONAL, Walling ford, U.K.

CABI (CAB INTERNATIONAL). 2013. Crop Protection Compendium. CAB INTERNATIONAL, Walling ford, U.K.

EPPO-PQR (European and Mediterranean Plant Protection Organization -Plant Quarantine data Retrieval system). 2013. (Online). Available: http://www.eppo.org (January, 2013).

FAO. 2006. ISPM No. 11 Pest Risk Analysis for Quarantine Pests Including Analysis of Environmental Risks and Living Modified Organisms (2004). © FAO 2006. 138 Pages.

FAO. 2007. ISPM No. 2 Framework for pest risk analysis. International Standards for Phytosanitary Measures (2007). © FAO 2007. 15 Pages.

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ส้มจากสาธารณรัฐแอฟริกาใต้
Study on Pest Risk Analysis for the Importation of South Africa Citrus Seeds

ณัฏฐพร อุทัยมงคล วาสนา ฤทธิ์ไธสง อลงกต โพธิ์ดี
ปรียพรรณ พงศาพิชน์
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เนื่องจากปัญหาโรครากเน่าของส้มและทำให้ต้นส้มตายเกษตรกรต้องสูญเสียรายได้ เพื่อแก้ปัญหานี้กรมวิชาการเกษตรได้มีโครงการผลิตพันธุ์ส้มปลอดโรคโดยการใช้เมล็ดพันธุ์ส้มที่ต้านทานโรครากเน่ามาผลิตต้นส้มที่ปลอดโรคแล้วนำไปปลูกทดแทนพร้อมมีการจัดการที่ดีที่จะช่วยแก้ปัญหาได้ จึงมีการนำอนุญาตนำเข้าเมล็ดพันธุ์ส้มซึ่งจัดเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช เข้ามาเพื่อใช้เป็นต้นตอให้กับพันธุ์ส้มเขียวหวานในประเทศ โดยนำเมล็ดเข้ามาจากหลายประเทศเช่นสหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย สาธารณรัฐแอฟริกาใต้ ฯ แต่ได้หยุดการนำเข้าเนื่องจากสาธารณรัฐแอฟริกาใต้มิได้ยื่นความจำนงดำเนินการตามกระบวนการตามบทเฉพาะกาลของประกาศกระทรวงฯขณะนั้น ต่อมาเมื่อมีการปรับปรุงพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และ พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ได้มีผู้ยื่นความประสงค์ขอนำเข้าเมล็ดพันธุ์ส้มจากสาธารณรัฐแอฟริกาใต้มาเพื่อใช้เป็นต้นตอในการปลูกส้มในประเทศไทย ซึ่งการนำเข้าสิ่งต้องห้ามเพื่อการค้าจะต้องผ่านการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis) ก่อนเพื่อให้ทราบว่ามีศัตรูพืชชนิดใดบ้าง เป็นศัตรูพืชกักกันเพื่อนำไปกำหนดมาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ส้มนำเข้าตามพระราชบัญญัติกักพืชต่อไป ผลการรวบรวมข้อมูลศัตรูส้มจากประเทศไทยและสาธารณรัฐแอฟริกาใต้พบศัตรูพืช รวม 437 ชนิด เมื่อนำมาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช (ISPM) ฉบับที่ 11 เรื่องคำแนะนำสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม (Anonymous, 2004) เมื่อนำมาจัดกลุ่มศัตรูพืชแล้วพบว่ามีศัตรูพืช 6 ชนิดที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันได้แก่ รา *Chalara elegans* แบคทีเรีย *Candidatus* Liberibacter africanum และ *Xylella fastidiosa* ไวรัส *Citrus Psorosis* A *Citrus tatter leaf* และ *Citrus leaf blotch* (*Citrus wood Pocket*) เมื่อนำมาประเมินโอกาสการเข้ามาตั้งรกรากถาวร และแพร่ระบาดในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงและผลกระทบทางเศรษฐกิจที่จะเกิดหากศัตรูพืชติดเข้ามากับศัตรูพืช

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-02-01-08-55

6 ชนิดพบว่าเป็นศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงสูงได้แก่ แบคทีเรีย *Candidatus* Liberibacter africanum เชื้อสาเหตุโรคกรีนนิ่ง (*Citrus Greening bacterium*) *Xylella fastidiosa* สาเหตุโรค Variegated chlorosis ไวรัส *Citrus psorosis A* สาเหตุโรค Citrus Psorosis ความเสี่ยงปานกลาง ได้แก่ *Citrus leaf blotch* (Citrus wood Pocket) และ ความเสี่ยงต่ำมากได้แก่ ไวรัส *Citrus tatter leaf* ที่ต้องมีมาตรการจัดการความเสี่ยงทางวิชาการและทางกฎหมายโดยเมล็ดต้องปราศจากดิน แมลงมีชีวิต วัชพืช ส่วนอื่นๆของพืชและสิ่งอื่นใดที่จะนำพาให้เป็นศัตรูพืชได้ และในใบรับรองสุขอนามัยพืชต้องมีการรับรองว่า 1) เมล็ดพันธุ์ส้มต้องมาจากแหล่งปลูกในแอฟริกาใต้ที่ไม่เคยมีการปรากฏ *Xylella fastidiosa* สาเหตุโรค Variegated chlorosis และ 2) เมล็ดพันธุ์ส้มต้องปราศจาก *Candidatus* Liberibacter africanumสาเหตุโรค Citrus Greening bacterium *Citrus Psorosis virus, Citrus leaf blotch virus* และ *Citrus tatter leaf virus* 3) ต้องแช่เมล็ดในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที และฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย1เปอร์เซนต์ Sodium hypochloride 10 นาที หรือ แช่ในสารละลาย 8-hydroxyquinoline sulfate(1กรัมต่อเมล็ด0.1ลิตร) หรือหากเมล็ดมีความอ่อนแอต่อการแช่ในน้ำร้อน ให้ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวและปลูกที่ อุณหภูมิ 22-24 องศาเซลเซียสในสถานกักพืช(Post entry Quarantine) นาน 24 เดือน เพื่อสังเกตอาการและตรวจสอบโรครวมถึงการตรวจสอบด้วยวิธีPCR ก่อนปล่อยออกหากปราศจากศัตรูพืชกักกัน

คำนำ

เมล็ดพันธุ์ส้มเป็นส่วนขยายพันธุ์ที่หลายๆประเทศได้ดำเนินการเป็นธุรกิจโดยจำหน่ายในลักษณะเมล็ดพันธุ์ที่ปราศจากศัตรูพืชที่สำคัญ เช่น ประเทศออสเตรเลีย ฝรั่งเศส อเมริกา สาธารณรัฐแอฟริกาใต้ ฯ การผลิตจะมากน้อย ขึ้นกับชนิดสายพันธุ์และปริมาณการผลิตของแต่ละประเทศที่มีศักยภาพ และตามความต้องการของลูกค้า จากปัญหาโรครากเน่าของต้นส้มที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Phytophthora* ภายในประเทศทำให้ประเทศไทยมีความต้องการที่ต้องนำเข้าเมล็ดพันธุ์ส้มจากสาธารณรัฐแอฟริกาใต้เพื่อมาใช้เป็นต้นตอ เนื่องจากมีสายพันธุ์ตรงตามที่ประเทศไทยต้องการและมีปริมาณผลิตมากเพียงพอ

จากการศึกษาข้อมูลศัตรูพืชของส้มพบว่ามีศัตรูพืชร้ายแรงหลายชนิด ที่ไม่มีในประเทศไทยและสามารถเข้าทำลายส้มได้เช่น แบคทีเรีย *Candidatus Liberibacter africanus*, ไวรัส *Citrus leaf rugose virus*, *Citrus leprosis virus*, *Citrus tatter leaf virus*, *Citrus vein enation virus* ไมโคพลาสมา *Spiroplasma citri* ไวรอยด์ *Hop stunt viroid* (*Citrus cachexia viroid*) เป็นต้น ข้อมูลเบื้องต้นของCrop protection compendium : CABI (2007) มีศัตรูพืชของส้มหลายชนิดพบที่สาธารณรัฐแอฟริกาใต้ เช่นแบคทีเรีย *Candidatus Liberibacter africanus* ไวรัส *Citrus psorosis* ที่จัดเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยที่หลายๆประเทศมีมาตรการควบคุมเช่นประเทศออสเตรเลียที่กำหนดมาตราการทางกักกันพืชสำหรับนำเข้าเมล็ดพันธุ์ส้มสำหรับปลูกว่าเมล็ดจะต้องปราศจากเนื้อ(pulp) และเมล็ดต้องปราศจากศัตรูพืชกักกันตามที่กำหนด รวมทั้งต้องจุ่มด้วยสารละลาย1% 8-Hydroxyquinoline sulphate นาน 3 นาที เมื่อนำเข้า (Davis, 2000) สำหรับประเทศไทยมีศักยภาพในการปลูกส้มหลายชนิดเช่น ส้มเขียวหวาน ส้มโอ รวมถึงมะนาว ขึ้นกับพันธุ์ สภาพพื้นที่และอากาศ เมื่อมีผู้ขอนำเข้าเมล็ดพันธุ์ส้มจากสาธารณรัฐแอฟริกาใต้เพื่อใช้ทำพันธุ์จากแหล่งที่มีสภาพภูมิอากาศใกล้เคียงกับไทยจึงมีความเสี่ยงที่ศัตรูพืชกักกัน (Quarantine pest) อาจจะ

เล็ดลอดติดเข้ามากับเมล็ด แพร่ระบาด และเจริญแพร่พันธุ์อย่างถาวรในประเทศได้ จึงจำเป็นต้องทบทวนมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสม โดยใช้การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเป็นหลักในวิธีการประเมินเพื่อกำหนดชนิดศัตรูพืชกักกันควบคุมและกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสมต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หนังสือ และวารสารทางวิชาการที่เกี่ยวข้องในประเทศและต่างประเทศ
2. CAB INTERNATIONAL(2007 และ 2012 online) ข้อมูลทางอิเลคโทรนิค
3. เครื่องคอมพิวเตอร์

วิธีการ

1. การรวบรวมข้อมูลพืชและศัตรูพืช

สืบค้นและรวบรวมข้อมูลพืชศัตรูพืช เช่น อนุกรมวิธาน ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ แหล่งปลูกส้ม ชนิดหรือสายพันธุ์ส้ม การนำเข้าส่งออกเมล็ด การเก็บรักษา การบรรจุ เป็นต้น จากทั้งในและต่างประเทศ ฐานข้อมูล จากเอกสารวิชาการ วารสาร รายงานการประชุม สัมมนาทางวิชาการและหน่วยงานอื่นที่เกี่ยวข้อง ข้อมูลจาก CAB INTERNATIONAL (2007 และ 2012 online) และข้อมูลทางอิเลคโทรนิค เว็บไซท์ต่างๆจากทั่วโลก โดยเฉพาะข้อมูลศัตรูของส้มในสาธารณรัฐแอฟริกาใต้จากหน่วยงานNational Plant Protection Organization(NPPO)ที่ส่งมาให้ รวมถึงข้อมูลที่ประเทศอื่นๆเคยวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชให้กับเมล็ดพันธุ์ส้มมาก่อน โดยเฉพาะศัตรูพืชส่วนของเส้นทางศัตรูพืช คือ เมล็ดพันธุ์

2. การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชดำเนินตามขั้นตอนคือ

การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเป็นไปตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช (ISPM) ฉบับที่ 11 เรื่อง คำแนะนำสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม (Pest risk analysis for quarantine pests including analysis of environmental risks) (FAO, 2004) เพื่อให้ทราบชนิดศัตรูพืชกักกัน โดยกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชแบ่งเป็น 3 ขั้นตอนที่มีส่วนสัมพันธ์กันได้แก่

ขั้นตอนที่1: การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage1: Initiation of pest risk analysis)

ขั้นตอนที่ 2 : การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest risk assessment)

ขั้นตอนที่ 3: การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest risk management)

ขั้นตอนที่ 1: การเริ่มขบวนการวิเคราะห์ (Initiation)

การเริ่มขบวนการวิเคราะห์เพื่อจำแนกศัตรูพืช (pest) และเส้นทางศัตรูพืช (pest pathway) ที่เกี่ยวข้องกับกักกันพืชและควรได้รับการพิจารณาของเมล็ดพันธุ์ส้ม โดยวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่เกี่ยวข้องกับพื้นที่หนึ่งหรือพื้นที่ที่กำหนด คือ

1.1 จุดเริ่มต้นการวิเคราะห์ (Initiation point) ต้องทราบว่าการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเริ่มขึ้นด้วยเป็นผลมาจากอะไรอันได้แก่

1.1.1 เริ่มต้นโดยการจำแนกเส้นทางศัตรูพืช (PRA initiated by the identification of a pathway) คือเป็นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชขึ้นมาใหม่หรือทบทวนของเดิมที่เคยวิเคราะห์ไว้แล้วกับเส้นทางศัตรูพืชเส้นทางหนึ่งโดยเฉพาะที่อาจเกิดขึ้นได้เพราะว่ามีการค้าขาย

ระหว่างประเทศแล้วเริ่มมีสินค้าชนิดหนึ่งที่ไม่เคยมีการนำเข้ามาในประเทศมาก่อน หรือ สินค้ามาจากพื้นที่ใหม่หรือจากแหล่งกำเนิดใหม่ มีพืชชนิดใหม่ถูกนำเข้าเพื่อการคัดเลือกพันธุ์หรือเพื่อการวิจัย มีเส้นทางศัตรูพืชอื่นนอกเหนือจากการนำเข้าสินค้า(การแพร่กระจายโดยธรรมชาติ,วัสดุหีบห่อ, ไปรษณียภัณฑ์, เศษอาหาร, สัมภาระของผู้โดยสาร เป็นต้น) กรณีจำแนกพบว่าไม่มีศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันมีโอกาสปะปนมากับเส้นทางศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชอาจยุติ ณ จุดนี้

1.1.2 เริ่มต้นโดยการจำแนกศัตรูพืช (PRA initiated by the identification of a pest) เป็นการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชขึ้นใหม่หรือทบทวนของเดิมที่ได้เคยวิเคราะห์ไว้แล้วกับศัตรูพืชชนิดหนึ่งโดยเฉพาะ อาจเกิดได้เนื่องจากเกิดภาวะฉุกเฉินจากการตรวจพบการเข้าทำลายหรือการระบาดของศัตรูพืชชนิดใหม่ภายในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช หรือเกิดภาวะฉุกเฉินจากการตรวจพบศัตรูพืชชนิดใหม่ติดมากับสินค้านำเข้าชนิดหนึ่ง หรือมีการวิจัยทางวิทยาศาสตร์พบความเสี่ยงจากศัตรูพืชชนิดใหม่ หรือมีศัตรูพืชชนิดหนึ่งเข้ามาในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงโดย 1) มีรายงานว่าศัตรูพืชชนิดหนึ่งทำลายก่อให้เกิดความเสียหายรุนแรงในพื้นที่ใหม่มากยิ่งกว่าพื้นที่ที่ซึ่งเป็นแหล่งระบาดเดิม 2) ตรวจพบศัตรูพืชชนิดหนึ่งบนสินค้านำเข้าซ้ำแล้วซ้ำอีก 3) มีผู้ยื่นคำขออนุญาตนำเข้าสิ่งมีชีวิตเพื่อการทดลองวิจัย 4) มีการจำแนกพบสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งเป็นพาหะของศัตรูพืชชนิดอื่นเพิ่มขึ้นอีก 5) สิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งที่ได้รับการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมในลักษณะซึ่งสามารถจำแนกได้อย่างชัดเจนว่ามีศักยภาพที่จะเป็นศัตรูพืชได้

1.1.3 เริ่มต้นโดยการทบทวนหรือการปรับปรุงนโยบาย (PRA initiated by the review or revision of a policy) เป็น การดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชขึ้นใหม่ หรือทบทวนของเดิมที่ได้เคยวิเคราะห์ไว้แล้ว เกิดขึ้นเพราะมีการตัดสินใจในระดับชาติเพื่อทบทวนกฎระเบียบสุขอนามัยพืช, ข้อกำหนด หรือการปฏิบัติการ หรือมีข้อเสนอจากประเทศหนึ่งหรือโดยหน่วยงานอารักขาพืชนานาชาติ (หน่วยงานอารักขาพืชระดับภูมิภาค องค์การอาหารแห่งสหประชาชาติ) ให้มีการทบทวนหรือปรับปรุง หรือ มีวิธีการจำกัดศัตรูพืชใหม่ หรือระบบการกำจัดศัตรูพืชเดิมใช้ไม่ได้ มีกระบวนการใหม่ หรือข้อมูลใหม่ที่มีผลกระทบต่อการตัดสินใจก่อนหน้านี้ หรือมีข้อโต้แย้งเกิดขึ้นกับมาตรการสุขอนามัยพืช หรือสถานการณ์ทางสุขอนามัยพืชในประเทศหนึ่งเปลี่ยนแปลงไป มีประเทศใหม่เกิดขึ้นหรือ ขอบเขตทางการปกครองเปลี่ยนแปลงไป

1.2 การจำแนกพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Identification of PRA area)

กำหนดพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชให้ชัดเจนเพื่อประโยชน์ในการพิจารณาหาข้อมูลที่ต้องการ ได้เหมาะสมถูกต้องกับพื้นที่

1.3 รวบรวมข้อมูลสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

รวบรวมข้อมูลเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชทุกขั้นตอน โดยเฉพาะการวิเคราะห์ในระยะเริ่มต้นเพื่อให้เกิดความชัดเจนเกี่ยวกับสถานภาพการแพร่ระบาดของศัตรูพืชของส้มในปัจจุบัน ตลอดจนโอกาสที่ศัตรูพืชจะติดมากับเมล็ดพันธุ์ส้ม บรรจุภัณฑ์ และตู้สินค้า สำหรับข้อมูลอื่นๆ จะรวบรวมตามที่มีความต้องการใช้ประกอบเมื่อถึงจุดที่ต้องตัดสินใจ ขณะที่การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชดำเนินต่อไป

ข้อมูลสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชอาจมาจากแหล่งที่หลากหลาย รวมถึงตามอนุสัญญาอารักขาพืชระหว่างประเทศ (มาตรา 18 ข้อซี) ประเทศภาคีสมาชิกต้องมีจุดประสานงานเป็นทางการ เพื่ออำนวยความสะดวกในการให้ข้อมูลของทางราชการในที่นี้คือ National Plant

Protection Organization (NPPO) ของประเทศสาธารณรัฐแอฟริกาใต้ที่เคยส่งมาให้ประเทศไทยวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกับผลส้มสด

1.4 ตรวจสอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่มีการดำเนินการแล้ว

ก่อนเริ่มขบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชต้องตรวจสอบว่าได้เคยวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์ส้มจากสาธารณรัฐแอฟริกาใต้มาก่อนแล้วหรือไม่ ถ้าเคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชมาแล้วจะต้องตรวจสอบว่ายังมีความเหมาะสมหรือไม่ หรือยังสามารถนำมาใช้ได้หรือไม่ เนื่องจากสภาพอาจเปลี่ยนแปลงไป โดยอาจจะนำมาใช้เพียงบางส่วนหรือทั้งหมด เพื่อว่าอาจจะสามารถทดแทนความต้องการที่จะวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชใหม่ได้

1.5 ข้อสรุปของขั้นตอนการเริ่มกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

เมื่อสิ้นสุดขั้นตอนที่ 1 จะทราบศัตรูพืชและเส้นทางที่เกี่ยวกับศัตรูพืชที่เกี่ยวข้องและพื้นที่วิเคราะห์ศัตรูพืช รวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องเพื่อใช้ประกอบการวิเคราะห์ รวมทั้งจำแนกและ คัดเลือกศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชที่จะต้องดำเนินมาตรการสุขอนามัยพืช โดยอาจเป็นศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งที่เฉพาะเจาะจง หรือศัตรูพืชที่มีโอกาสปะปนมากับเส้นทางศัตรูพืช

ขั้นตอนที่ 2: การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk assessment)

มีจุดมุ่งหมายเพื่อจัดลำดับความสำคัญศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงที่ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องสัมพันธ์กัน คือ ขั้นตอนที่ 1) การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) เพื่อพิจารณาว่าศัตรูพืชชนิดใดมีคุณสมบัติจัดเป็นศัตรูพืชกักกัน (quarantine pest) ขั้นตอนที่ 2) ประเมินโอกาสที่ศัตรูพืชชนิดนั้นจะเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร และแพร่ระบาด (Assessment for probability of entry & establishment and spread) ในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชได้ ขั้นตอนที่ 3) ประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่เกิดจากศัตรูพืช (Assessment of potential consequences) ในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชทั้งทางตรงและทางอ้อม โดยมีขั้นตอนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชดังนี้

2.1 การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) พิจารณาว่าศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์ส้มชนิดใดมีคุณสมบัติจัดเป็นศัตรูพืชกักกัน(quarantine pest) ตามคำนิยามของศัตรูพืชกักกันในมาตรฐานระหว่างประเทศสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 5.(Glossary of Phytosanitary Terms) (Anonymous, 2006) ที่ว่า“ศัตรูพืชกักกัน (Quarantine pest) หมายถึงศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจที่มีศักยภาพต่อพื้นที่ที่อยู่ในอันตรายนั้นและยังไม่มีอยู่ในที่นั่นหรือมีอยู่แต่ไม่แพร่กระจายอย่างกว้างขวางและกำลังมีการควบคุมอยู่อย่างเป็นทางการ (FAO, 2006)

2.2 การประเมินโอกาสการเข้ามาและแพร่ระบาด (Assessment of the probability of introduction and spread) การเข้ามาของศัตรูพืชประกอบด้วยกระบวนการเคลื่อนย้ายของศัตรูพืชเข้ามาและการเจริญแพร่ขยายพันธุ์ตั้งรกรากอย่างถาวรในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช โดยการประเมินโอกาสการเข้ามาของศัตรูพืชจะต้องวิเคราะห์เส้นทางแต่ละเส้นทางที่ศัตรูพืชอาจปะปนร่วมมากับเส้นทางจากแหล่งกำเนิดจนเข้าเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชได้ ในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่เริ่มต้นจากเส้นทางศัตรูพืชหนึ่งที่เฉพาะเจาะจงต้องตรวจสอบโอกาสที่เป็นไปได้ที่ศัตรูพืชจะเข้ามาในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชจะสัมพันธ์กับเส้นทางศัตรูพืชอื่นๆ ด้วย โดยการประเมินโอกาสความเป็นไปได้ของการแพร่ระบาดในเบื้องต้นจะพิจารณาทางด้านชีววิทยาเหมือนกับการประเมินโอกาสความเป็นไปได้ของศัตรูพืชที่จะเข้ามาและเจริญแพร่ขยายพันธุ์ตั้งรกรากอย่างถาวร

2.2.1 โอกาสการเข้ามาของศัตรูพืช(Probability of entry of a pest) ขึ้นอยู่กับเส้น ทางศัตรูพืชจากประเทศส่งออกสินค้าไปยังประเทศปลายทาง ความถี่และปริมาณศัตรูพืชที่ติดมากับสินค้า จำนวนเส้นทางศัตรูพืชมากโอกาสการเข้ามาของศัตรูพืชในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชจะสูงขึ้นตามด้วย จึงควรมีการสังเกตเส้นทางศัตรูพืชและมีการบันทึกไว้สำหรับศัตรูพืชที่จะเข้าไปในพื้นที่ใหม่ เส้นทางศัตรูพืชที่มีศักยภาพแต่ยังไม่ปรากฏในปัจจุบันควรนำมาประเมินร่วมด้วย รวมถึงข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืชกับสินค้านำเข้าอาจเป็นหลักฐานที่แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชชนิดหนึ่งอาจจะติดปะปนมากับเส้นทางศัตรูพืชหนึ่งและมีชีวิตรอดในขณะขนส่งและเก็บรักษา

2.2.2 โอกาสการเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวรและแพร่ขยายพันธุ์ (Probability of establishment) ควรมีข้อมูลด้านชีววิทยาของศัตรูพืชที่เชื่อถือได้ (วงจรชีวิต พืชอาศัย การแพร่ระบาด การอยู่รอด เป็นต้น) จากพื้นที่ซึ่งศัตรูพืชนั้นปรากฏอยู่ในปัจจุบัน สามารถนำมาเปรียบเทียบกับสภาพในพื้นที่ที่ศัตรูพืชนั้นปรากฏอยู่ในปัจจุบัน (ควรจะนำปัจจัยเกี่ยวกับสภาพแวดล้อมที่ถูกควบคุม เช่นในเรือนกระจกหรือเรือนเพาะชำ) และใช้คำตัดสินใจของผู้เชี่ยวชาญมาประเมินโอกาสเข้ามาเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืช กรณีที่เคยเกิดมาแล้วในอดีต ที่เกี่ยวข้องกันศัตรูพืชที่คล้ายคลึงกันสามารถนำมาพิจารณาด้วยเช่นเดียวกัน ตัวอย่างของปัจจัยที่ควรนำมาพิจารณา ได้แก่ การมีพืชอาศัย จำนวนพืชอาศัยและการแพร่กระจายของพืชอาศัยในพื้นที่ที่ วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ศักยภาพความสามารถในการปรับตัวของศัตรูพืช วิธีการมีชีวิตอยู่รอดของศัตรูพืช การปฏิบัติทางการเกษตรและมาตรการป้องกันกำจัด

ในการพิจารณาโอกาสการเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวรและแพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืชนั้นควรบันทึกไว้ด้วยว่าศัตรูพืชบางชนิดอาจปรากฏอยู่ในชั่วขณะหนึ่ง (ดู ISPM No.8 Determination of pest status in an area) แต่อาจจะไม่สามารถเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงได้ (เนื่องจากสภาพอากาศไม่เหมาะสม) แต่ว่าสามารถมีผลกระทบทางเศรษฐกิจในระดับที่ยอมรับไม่ได้ในภายหลังได้ (ดู IPPC Art. VII.3)

2.2.3 โอกาสการแพร่ระบาดของศัตรูพืชหลังจากเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวรและแพร่ขยายพันธุ์ (Probability of spread after establishment) ต้องใช้ข้อมูลทางชีววิทยาที่เชื่อถือได้จากแหล่งศัตรูพืชมาใช้เปรียบเทียบกับสถานการณ์ในพื้นที่ที่ศัตรูพืชนั้นระบาดอยู่ในปัจจุบัน และการตัดสินใจของผู้เชี่ยวชาญเพื่อนำมาใช้ประเมินโอกาสการแพร่ระบาด และกรณีตัวอย่างที่เคยเกิดมาแล้วกับศัตรูพืชที่คล้ายคลึงกันสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการพิจารณา ปัจจัยที่ใช้พิจารณาได้แก่ ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในสภาพธรรมชาติและ/หรือ สภาพแวดล้อมที่ถูกจัดการสำหรับการแพร่ระบาดของศัตรูพืชโดยธรรมชาติ มีสิ่งกีดขวางโดยธรรมชาติ ศักยภาพการเคลื่อนย้ายไปกับสินค้าหรือพาหนะขนส่ง จุดประสงค์ของสินค้าไปใช้ประโยชน์ พาหะที่มีศักยภาพของศัตรูพืชในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ศัตรูธรรมชาติที่มีศักยภาพของศัตรูพืชในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ช่วงเวลาของวงจรชีวิต จำนวนรุ่นต่อปี ระยะฟักตัว และอื่นๆ

ข้อมูลโอกาสการแพร่ระบาดของศัตรูพืชจะถูกนำมาใช้ประเมินศักยภาพความสำคัญทางเศรษฐกิจของศัตรูพืชที่อาจแสดงออกในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชด้วย หากศัตรูพืชชนิดนั้นเข้ามาและเจริญแพร่ขยายพันธุ์ในพื้นที่ที่มีศักยภาพทางความสำคัญทางเศรษฐกิจต่ำ และแพร่ระบาดไปในพื้นที่มีศักยภาพทางความสำคัญทางเศรษฐกิจสูง ยิ่งกว่านั้นอาจมีความสำคัญในขั้นตอนการจัดการความเสี่ยงเมื่อพิจารณาถึงความเป็นไปได้ในการควบคุมให้อยู่ภายใต้ขอบเขตหรือจำกัดศัตรูพืชให้หมดสิ้นไป

2.2.4 ข้อสรุปเกี่ยวกับโอกาสการเข้ามาเจริญแพร่ขยายพันธุ์และระบาดของศัตรูพืช (Conclusion on the probability of introduction and spread) ภาพรวมของโอกาสเข้ามาเจริญแพร่ขยายพันธุ์ควรแสดงในลักษณะที่เหมาะสม อาจแสดงข้อมูลในลักษณะเชิงปริมาณหรือเชิงคุณภาพ

2.3 การประเมินผลทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้น (Assessment of potential economic consequence) นำข้อมูลต่างๆที่สัมพันธ์ของศัตรูพืชและพืชที่มีศักยภาพเป็นพืชอาศัยมารวมกัน และมีการวิเคราะห์การสูญเสียทางเศรษฐกิจเพื่อประเมินผลกระทบทุกด้านของศัตรูพืช เช่น ศักยภาพของผลที่ตามมาทางเศรษฐกิจ ควรมีข้อมูลเชิงปริมาณที่ให้รายละเอียดมูลค่าที่เป็นเงิน สำหรับข้อมูลเชิงคุณภาพอาจจะใช้ได้เช่นเดียวกัน การหารือกับนักเศรษฐศาสตร์จะเป็นประโยชน์อย่างมาก มีหลายกรณีที่การวิเคราะห์ในรายละเอียดเกี่ยวกับการประเมินผลที่เกิดขึ้นตามมาทางเศรษฐกิจซึ่งคาดว่าจะเกิดขึ้นอาจไม่มีความจำเป็นถ้ามีหลักฐานเพียงพอ หรือเป็นที่ยอมรับอย่างกว้างขวางทั่วไปแล้วว่าการเข้ามาของศัตรูพืชชนิดหนึ่งนั้นจะก่อให้เกิดผลทางเศรษฐกิจตามมาในระดับที่ไม่สามารถยอมรับได้

2.4 ระดับความไม่แน่นอน (degree of uncertainly) การประเมินโอกาสการเข้ามาของศัตรูพืชและผลที่ตามมาทางด้านเศรษฐกิจจะมีปัจจัยที่ไม่แน่นอนเข้ามาเกี่ยวข้องจำนวนมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นการประเมินที่นอกเหนือจากสภาพซึ่งศัตรูพืชเกิดระบาดตามสภาพทางทฤษฎีในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช จึงเป็นสิ่งสำคัญที่จะต้องบันทึกไว้เป็นหลักฐานเกี่ยวกับปัจจัยที่ไม่แน่นอนและระดับของความไม่แน่นอนที่เข้ามาเกี่ยวข้อง

2.5 ข้อสรุปของการประเมินความเสี่ยงของศัตรูพืช(Conclusion of the pest risk assessment stage)

ผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชจะได้ชนิดของศัตรูพืชที่จำแนกประเภทแล้วบางชนิดหรือทั้งหมด และอาจจะถูกนำมาพิจารณาเกี่ยวกับการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชให้เหมาะสม รวมทั้งพื้นที่บางส่วนหรือทั้งหมดของพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชอาจกำหนดเป็นพื้นที่ที่มีปัจจัยสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืชจนทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจที่สำคัญ โดยต้องทำหลักฐานเอกสาร รวมทั้งความไม่แน่นอนที่เกิดร่วมอยู่ด้วย เพื่อจะต้องนำมาใช้ในขั้นตอนการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช

ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk management)

เป็นการกำหนดมาตรการทางเลือกสำหรับการจัดการความเสี่ยงเพื่อลดความเสี่ยงที่ระบุในขั้นตอนที่ 2 โดยที่ข้อสรุปจากการประเมินความเสี่ยงจะถูกนำมาใช้ประกอบการตัดสินใจว่าจำเป็นหรือไม่ที่ต้องจัดการความเสี่ยงและมาตรการที่ใช้จัดการความเสี่ยงจะมีความเข้มแข็งเพียงพอที่จะใช้หรือไม่ หลักการจัดการความเสี่ยงจะต้องคำนึงถึงประเด็น ดังนี้

3.1 ระดับความเสี่ยง (Level of risks) ใช้หลักการจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่มีระดับเหมาะสมซึ่งสามารถยอมรับได้ (Appropriate Level of acceptable; ALOP) หรือระดับความเสี่ยงที่สามารถยอมรับได้ (acceptable)

3.2 ข้อมูลวิชาการประกอบการพิจารณาการจัดการความเสี่ยงโดยดูจากข้อมูลที่รวบรวมได้

3.3 การยอมรับความเสี่ยง (Acceptable of risk) นำผลของการประเมินความเสี่ยงนับตั้งแต่การเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวรและการแพร่ระบาดและผลกระทบต่อเศรษฐกิจที่แสดงความ

เสี่ยงว่าไม่สามารถยอมรับได้นั้นมาจัดการจำแนกมาตรการสุขอนามัยพืชเพื่อลดความเสี่ยงลงให้ถึงระดับต่ำสุดที่ยอมรับได้

3.4 จำแนกและคัดเลือกวิธีการที่เหมาะสมที่มีประสิทธิภาพในการลดโอกาสการเข้ามาเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืชที่เหมาะสม โดยมาตรการที่นำมาใช้ควรให้ผลแน่นอนและมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติเหมาะสมกับรูปแบบและแหล่งกำเนิดสินค้าที่เป็นพืชอาศัยหรือพาหะ โดยไม่เป็นอุปสรรคขัดขวางการค้าในแง่จำกัดการนำเข้าสินค้าโดยไม่มีเหตุผล อาจใช้มากกว่าสองมาตรการเพื่อลดความเสี่ยงจนถึงระดับที่ยอมรับ

3.5 การรับรองสุขอนามัยพืช (Phytosanitary certificate) โดยการรับรองว่าสินค้าปราศจากศัตรูพืชกักกันซึ่งกำหนดโดยประเทศผู้นำเข้าและเป็นไปตามข้อกำหนดด้านสุขอนามัยพืชของประเทศนำเข้า ซึ่งเป็นการยืนยันว่าได้มีการจัดการความเสี่ยงตามที่กำหนด รวมทั้งอาจกำหนดให้ระบุข้อความเพิ่มเติม (additional declaration) เพื่อแสดงให้เห็นว่าได้มีการดำเนินมาตรการสุขอนามัยพืชเป็นการเฉพาะ (Anonymous, 2001b) นอกจากนี้มาตรการอื่นอาจนำมาใช้ร่วมกันตามที่ได้มีการทำความตกลงแบบทวิภาคี หรือพหุภาคี (bilateral or multilateral agreement)

3.6 บทสรุปการจัดการความเสี่ยง ผลที่ได้รับจากขบวนการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชอาจไม่มีมาตรการซึ่งได้รับการพิจารณาแล้วว่าเหมาะสม หรือมีการเลือกวิธีการจัดการความเสี่ยงวิธีหนึ่งหรือหลายวิธีการซึ่งพบว่าสามารถทำให้ความเสี่ยงซึ่งเกิดร่วมกับศัตรูพืชลดต่ำจนอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ วิธีการจัดการความเสี่ยงเหล่านี้จะอยู่บนพื้นฐานของกฎระเบียบหรือข้อกำหนดด้านสุขอนามัยพืช

การจัดทำเอกสารการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Documentation of Pest Risk Anslysis)

ตามอนุสัญญาว่าด้วยการอารักขาพืชระหว่างประเทศและหลักการว่าด้วย “ความโปร่งใส” (ISPM No.1: Principles of plant quarantine as related to international trade) กำหนดให้ประเทศสมาชิกต้องมีเอกสารกระบวนการทั้งหมดจากขั้นตอนริเริ่มถึงการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชและเหตุผลที่ใช้ในการตัดสินใจกำหนดมาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยง เพื่อใช้ประโยชน์เมื่อต้องการทบทวนมาตรการหรือเกิดกรณีโต้แย้ง

4. การสรุปผลและเขียนรายงาน

เวลาและสถานที่

เวลา กันยายน 2555 – ตุลาคม 2556

สถานที่ กลุ่มวิจัยกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง

1. การรวบรวมข้อมูลพืชและศัตรูพืช

ข้อมูลทั่วไปของพืช (Information on crops)

การรวบรวมข้อมูลพืช พืชในวงศ์ Rutaceae ได้แก่ *Citrus* spp. L. *Poncirus* spp. และ *Fortunella* spp. มีกำเนิดมามากกว่า 2ล้านปีล่วงมาแล้วในเขตภูมิอากาศร้อนหรือกึ่งร้อนทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบภาคเหนือของอินเดีย จีน และมาเลเซียมีการแพร่กระจายไปหลายแหล่งทั่วโลก

ปัจจุบันพืชนี้สามารถปลูกได้เป็นการค้าที่ระหว่าง 35 องศาเหนือ และ35 องศาใต้ของเส้นศูนย์สูตร ในสาธารณรัฐแอฟริกาใต้มีการปลูกพืชในสกุล ซิตรัส พอนซิรัสและฟอจูเนล่า โดยส้มเป็นพืชอุตสาหกรรมที่มีอายุมากกว่าสามร้อยปีมาแล้วจึงมีต้นส้มมากกว่ายี่สิบล้านต้นในพื้นที่ห้าหมื่นแปดพันเฮคเตอร์. โดยประมาณหนึ่งพันสามร้อยเกษตรกรปลูกเพื่อส่งออก สองพันสองร้อยเป็นผู้ปลูกขนาดเล็ก

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Citrus* spp. L. *Poncirus* spp. และ *Fortunella* spp.

อนุกรมวิธานของพืช

Kingdom: Plantae
Class: Magnoliosida
Subclass Rosidae
Class: Monocotyledonae
Order: Sapindales
Family: Rutaceae
Genus: *Citrus* *Poncirus* *Fortunella*

ชื่อสามัญ: Citrus, Kumquat, Trifoliate

มีหลายสายพันธุ์เช่น *Citrus aurantifolia, Citrus aurantium, Citrus bergamia, Citrus deliciosa, Citrus excels, Citrus grandis, Citrus hystrix, Citrus jambhiri, Citrus junos, Citrus latifolia, Citrus limon, Citrus limonia, Citrus macrophylla, Citrus madurensis, Citrus medica, Citrus meyerii, Citrus myrtifolia, Citrus nobilis, Citrus reshni, Citrus reticulate, Citrus sinensis, Citrus unshiu, Citrus volkameriana, Citrus paradisi* (syn. *Citrus paradisi*) ,*Citrus reticulate, Citrus sinensis, Citrus tangelo, Fortunella crassifolia, Fortunella japonica, Fortunella margarita* และ *Poncirus trifoliata* (syn. *Citrus trifoliata*)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : Citrus จะเป็นไม้พุ่ม ขนาดใหญ่ หรือเล็กแตกต่างกัน แต่ *Fortunella* และ *Poncirus* จะมีขนาดเล็กกว่าเล็กน้อย

สายพันธุ์ที่ขอนำเข้ามาคือ *Citrus sinensis* (L.) Osbeck x *Poncirus trifoliate* (L) Raf. (Common name = Citrang)

ปริมาณนำเข้า : 19 กิโลกรัมในปี 2548 และ 18 กิโลกรัมในปี2550 (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร)

ข้อมูลเกี่ยวข้องกับแหล่งปลูก: แหล่งผลิตจะแบ่งออกเป็น ส้ม orange 70% . grapefruit 16%, naartjies 7 % และ lemons7 %.โดยแหล่งปลูกซิตรัสจะแตกต่างกันใน สามเขตภูมิอากาศ พบว่ามีปริมาณมากเป็นอันดับสองรองจาก Decidous ซึ่งได้แก่แอปริคอท พลัม แอปเปิลและแพร์. แหล่งปลูกที่สำคัญได้แก่ Eastern Cape ประมาณ 23% ของผลผลิต Limpopo 31% Western Cape 17% Mpumalanga 21% Kwazulu Natal contributes 7% และ แหล่งอื่นๆ 1% ซึ่งผู้ผลิตเมล็ดของแอฟริกาใต้ที่สำคัญคือ บริษัท Surplus seed ที่ได้ส่งเมล็ดออกไปจำหน่ายยังหลายๆ ประเทศได้แก่ China, Chile, Australia, Reunion, Dominican Republic, United State of America, Zimbabwe, Mozambique, Zambia, Namibia Egypt และ Spain .

การผลิตส้มในแอฟริกาใต้ : หน่วยงานที่ควบคุมคือ Citrus Improvement Scheme (CIS)ที่ตั้งthe first Certified seed ในปี 1986 แต่ปัจจุบันจะมี Citrus Research International รับผิดชอบ CIS และ the citrus Foundation Block (CFB)ที่จะให้เกษตรกรผู้ปลูกส้มในโรงเรือนได้รับต้นส้มที่มีคุณภาพดี ลักษณะทางพันธุกรรมที่ดีและปราศจากศัตรูพืช โดย โรงเรือนที่ผลิตต้นส้มต้องได้รับการรับรองว่ามีกระบวนการผลิตที่ดีและมีการตรวจสอบระบบปีละ2ครั้งและต้องปฏิบัติอย่างน้อยขั้นต่ำตามข้อกำหนดของCIS รวมถึงการจดทะเบียนภายใต้ Plant Improvement Act โดยเฉพาะสภาวะเชื้อรา Phytophthora โดยต้นส้มต้องมาจากส่วนขยายพันธุ์ เช่นท่อนพันธุ์ และเมล็ดพันธุ์ที่ได้รับการรับรองว่าปลอดศัตรูพืชร้ายแรงและเชื้อรา Phytophthora ภายใน 21 เดือนหลังจากแตกตา รวมถึงภายใต้ Plant Improvement Act จะกำหนดให้citrus และ/หรือพืชที่มีความใกล้ชิดกัน จะต้องปลอดจาก Citrus Black Spot และ Citrus Greening ปัจจุบันมี โรงเรือนที่ได้รับการรับรองทั้งหมดรวม 22 แห่ง

พื้นที่และผลผลิต : เนื่องจากส้มเป็นอุตสาหกรรมที่มีอายุมากกว่าสามร้อยปีมาแล้ว จึงมีต้นส้มมากกว่ายี่สิบล้านต้นในพื้นที่ห้าหมื่นแปดพันเฮคเตอร์ โดยประมาณหนึ่งพันสามร้อยเกษตรกรปลูกเพื่อส่งออก สองพันสองร้อยเป็นผู้ปลูกขนาดเล็ก และมีคนงานมากกว่าหนึ่งแสนคนในส่วนนี้ แหล่งผลิตส้มจะแบ่งออกเป็น ส้ม orange 70%, grapefruit 16%, naartjies 7% และ lemons 7% โดยแหล่งปลูกซิตรัสจะแตกต่างกันในสามเขตภูมิอากาศ แต่เมื่อพิจารณาถึงปริมาณจะพบว่าปริมาณมากเป็นอันดับสองรองจาก Decidous ซึ่งได้แก่ แอปริคอท พลัม แอปเปิลและแพร์ แหล่งผลิต CFBCitrus ที่สำคัญตั้งอยู่ที่ Eastern Cape แต่ไม่มีการผลิตเป็นการค้า แหล่งผลิตเป็นการค้าที่ใกล้ที่สุดคือ Kirkwood ซึ่ง National Plant Protection Organization กำหนดให้ว่ารอบๆ CFB ต้องไม่ปลูกส้มปลูกเป็นการค้า รวมถึงปลูกในบ้านเป็นระยะ 5 กิโลเมตร ต้นตอของส้มจะที่จะปลูกใน ต้องตรวจสอบว่าปลอดจากไวรัสโดยการกราฟและตรวจสอบโดยใช้พืชทดสอบ หรือ ELISA หรือ PCR ก่อนจะขยายต่อในแหล่งที่ปลอดไวรัส แหล่งผลิต CFBCitrusอื่นๆเช่น Western Cape 17% Mpumalanga 21% Kwazulu Natal contributes 7% Limpopo contributes 31% และแหล่งอื่นๆ 1%

การเก็บเกี่ยว : ผลจะถูกเก็บเกี่ยวโดยใช้มือ แยกเม็ดออกจากผลแล้วนำเมล็ดไปแช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 51.5 องศาเซลเซียสนาน 10 นาทีและจุ่มด้วยสาร 8-Hydroxyquinoline sulphate ที่ 15 กรัมต่อลิตรและสารผสม Celest XL (Fludioxonil (phenylpyrrole) และ Mefenoxam (pheylamide) 0.67 มิลลิลิตรต่อเมล็ด1ลิตร ปล่อยให้เมล็ดแห้งแล้วบรรจุใส่ถุงพลาสติก 1-2 ลิตรและเก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

ข้อมูลการนำเข้า: มีข้อมูลว่าประเทศไทยเคยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากสาธารณรัฐแอฟริกาใต้เพื่อใช้เป็นต้นตอให้กับส้มในประเทศไทย ระหว่างปี 2548-2550 พบว่ามีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากสาธารณรัฐแอฟริกาใต้ 2 ครั้งคือในปี 2548 จำนวน 19 กก. และปี 2550 จำนวน 18 กก. โดยพันธุ์ที่ขอนำเข้ามาคือ *Citrus sinensis* (L.) Osbeck x *Poncirus trifoliate* (L) Raf. (Common name = Citrange)

สายพันธุ์ที่ผลิต : ปัจจุบันมีสายพันธุ์ที่ผลิตเป็นต้นตออยู่ 11 Cultivar จำนวน 2,494 ต้น เมื่อรวมทุกCultivarจะผลิดเมล็ดส้มได้ประมาณ3,320 ลิตรต่อปี (Citrus Research International (Pty) Ltd ; online)

ข้อมูลแหล่งส่งออกเมล็ดพันธุ์ในสาธารณรัฐแอฟริกาใต้ : ผู้ผลิตเมล็ดของแอฟริกาใต้ที่สำคัญคือ บริษัท Surplus seed ที่ได้ส่งเมล็ดออกไปจำหน่ายยังหลายๆประเทศ ได้แก่ จีน, ชิลี, ออสเตรเลีย รียูเนียน บอตสวันนา สหพันธรัฐโดมินิกัน สหพันธรัฐคองโก ซิมบับเวย์ โมแซมบิค แซมเบีย นามิเบีย อิยิปต์ โปรตุเกส และ สเปน

การรวบรวมข้อมูลศัตรูพืช รวบรวมข้อมูลศัตรูพืชทั้งในและนอกประเทศจากเอกสารวิชาการต่างๆทั้งในและนอกประเทศ เว็บไซท์ต่างๆข้อมูลที่หน่วยงานอารักขาพืชของสาธารณรัฐแอฟริกาใต้จัดส่งมาให้ในการขอนำเข้าผลส้มจากสาธารณรัฐแอฟริกาใต้ เช่น ข้อมูลจาก พัฒนาและคณะ (2537); CABI (2007) และ CABI (2012) ได้ศัตรูพืชทั้งหมด 437 ชนิด

การรวบรวมข้อมูลจากประเทศอื่นที่ได้ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงก่อนแล้ว

ประเทศไทยและประเทศอื่นๆยังไม่เคยดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชจากเมล็ดพันธุ์ *Citrus*, *Fortunella* และ*Poncirus* สาธารณรัฐแอฟริกาใต้มาก่อน

2. ผลการศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Risk Assessment)

ขั้นตอนที่1 การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช พบว่าจุดเริ่มต้นการวิเคราะห์ (Initiation point) เกิดขึ้นจากประเทศไทยมีการปรับปรุงกฎระเบียบทางกฎหมายและมีนโยบายปรับปรุงมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ส้มจากต่างประเทศให้รัดกุมยิ่งขึ้นทำให้ประเทศที่ไม่ปฏิบัติตามที่กำหนดต้องยื่นขอการนำเข้าใหม่จึงต้องมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเพื่อกำหนดมาตราการทางสุขอนามัยพืชที่เหมาะสมต่อไปโดยพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่กำหนดในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ส้ม คือ “ประเทศไทย” ซึ่งพื้นที่ที่อยู่ในอันตราย (Endangered area) ได้แก่ พื้นที่หนึ่งพื้นที่ใดในประเทศไทย ที่มีพืชอาศัยที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของศัตรูพืชอยู่และมีปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่พันธุ์อย่างถาวรของศัตรูพืชซึ่งอาจจะติดเข้ามากับเส้นทาง(Pathway) คือ เมล็ดพันธุ์ส้ม จากข้อมูลเบื้องต้นมีศัตรูพืชที่สืบค้นได้มี 437 ชนิด และประเทศไทยยังไม่เคยดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงกับเมล็ดพันธุ์ส้มจากแอฟริกาใต้มาก่อน

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk assessment)

2.1 การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest Categorization) นำศัตรูพืชแต่ละชนิด มาตรวจสอบตามคำนิยามของศัตรูพืชกักกันตามคำนิยามในมาตรฐานระหว่างประเทศสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 5.

ผลการนำศัตรูพืช 437 ชนิด (ตารางที่ 1) ที่เป็นศัตรูพืชของส้มมาศึกษาพบว่าเป็นแมลง 241 ชนิด ไรและแมงมุม 21 ชนิด ไส้เดือนฝอย 20 ชนิด หอย/ทาก 2 ชนิด เชื้อรา 75 ชนิด แบคทีเรีย 8 ชนิด ไวรัสไวรอยด์ 14 ชนิด วัชพืช 54 ชนิดและไม่สามารถจำแนกชนิดได้ 2 ชนิดตามตารางที่ 1 และเมื่อนำศัตรูพืชที่พบในสหรัฐอเมริกา 437 ชนิดมาจัดกลุ่มศัตรูพืชโดยพิจารณาข้อมูลทางชีววิทยาพบว่าศัตรูพืชที่มีในแอฟริกาใต้แต่ไม่มีรายงานในประเทศไทยและสามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์ส้มได้ (ตารางที่ 2) มี 6 ชนิดโดยพบศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันได้ 6 ชนิดได้แก่

รา (1 ชนิด) ได้แก่ *Chalara elegans*

แบคทีเรีย (2ชนิด)ได้แก่ *Candidatus* Liberibacter africanum และ *Xylella fastidiosa*

ไวรัส (3ชนิด) ได้แก่ *Citrus psorosis A* , *Citrus tatter leaf* , *Citrus leaf blotch* (*Citrus wood Pocket*)

2.2 การประเมินศักยภาพการเข้ามาตั้งรกรากถาวรและแพร่ระบาดของศัตรูพืชโดยพิจารณาชีววิทยาของศัตรูพืชแต่ละชนิด การเข้าทำลายตามเส้นทางศัตรูพืช และการเข้าสู่พืชอาศัย ฯลฯ พบศัตรูพืชที่มีศักยภาพการเข้ามาตั้งรกรากถาวรและแพร่ระบาดในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงคือ

ความเสี่ยงสูง ได้แก่ แบคทีเรีย *Candidatus* Liberibacter africanum, *Xylella fastidiosa* , ไวรัส *Citrus psorosis* A และ *Citrus leaf blotch* (*Citrus wood Pocket*)

ความเสี่ยงต่ำ ได้แก่ ไวรัส*Citrus tatter leaf*

ความเสี่ยงต่ำมาก ได้แก่ รา *Chalara elegans*

2.3 การประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจทั้งทางตรงและทางอ้อมพบศัตรูพืชกักกันได้แก่

ผลกระทบสูง ได้แก่ แบคทีเรีย*Candidatus* Liberibacter africanum และ*Xylella fastidiosa*

ผลกระทบปานกลางได้แก่ ไวรัส *Citrus leaf blotch* (*Citrus wood Pocket*)และ *Citrus tatter leaf*

สรุปผลการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชได้ชนิดศัตรูพืชกักกันดังนี้

ความเสี่ยงสูง ได้แก่ แบคทีเรีย *Candidatus* Liberibacter africanum เชื้อสาเหตุโรคกรีนนิ่ง(Citrus Greening bacterium) , *Xylella fastidiosa* สาเหตุโรค Variegated chlorosis ไวรัส Citrus psorosis A สาเหตุโรค Citrus Psorosis

ความเสี่ยงปานกลางได้แก่ *Citrus leaf blotch* (*Citrus wood Pocket*)

ความเสี่ยงต่ำมากได้แก่ ไวรัส *Citrus tatter leaf*

2.4 ระดับความไม่แน่นอน คือ มีความไม่ชัดเจนในสถานภาพของแบคทีเรีย 2 ชนิดคือ *Pseudomonas syringae* และ *Pseudomonas agglomerans* กับเมล็ดพันธุ์ส้มเนื่องจากไม่มีข้อมูล และ *Xylella fastidiosa* สาเหตุโรค Variegated chlorosis แม้จะมีความพยามทดลองว่าไม่ถ่ายทอดทางเมล็ดพันุ์ แต่หลายๆประเทศก็ยังกำหนดมาตรการในการนำเข้าเช่นสหรัฐอเมริกาและออสเตรเลียจึงยังถือว่ามีคงามเสี่ยงในการเป็นศัตรูพืชกักกันให้กับเมล็ดส้ม

2.5 ข้อสรุปของการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

การวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงเป็นผลมาจากมีผู้ยื่นขอนำเข้าเมล็ดพันธุ์ส้มจากแหล่งที่มีศัตรูพืชกักกันซึ่งเป็นผลมาจากการปรับปรุงกฎระเบียบของประเทศไทยซึ่งผลการประเมินพบศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงสูง ปานกลางและต่ำมากที่ต้องมีมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชก่อนการนำเข้า

ข้อมูลศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยง

1. แบคทีเรียCandidatus *Liberibacter africanus* มีชื่อเรียกว่าGreening afrcan stain สาเหตุโรคกรีนนิ่ง เป็นศัตรูของพืชตระกูลส้มทุกชนิดเช่นsweet orange (*Citrus sinensis*) และพันธุ์ Valenciaจะแสดงอาการรุนแรงมากในส้มพันธุ์mandarin และtangelos แต่จะน้อยใน lemon และ acid lime ปัจจุบันในแอฟริกาใต้ตรวจพบเชื้อในพืชตระกูลส้มเท่านั้น

การเข้ามา เชื้อจะติดมากับเมล็ดได้ จะทำลายพืชได้ในระยะดอก ผล ต้นกล้า ต้น กิ่งก้าน และเมล็ด การตรวจสอบด้วยตาเปล่าค่อนข้างยากต้องใช้เทคนิคทางPolymerease chain reaction (PCR) หรือส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน แต่อาการที่อาจพบกับเมล็ดคือเมล็ดเหี่ยวย่น ดังนั้นถ้าเมล็ดพันธุ์ส้มไม่ได้ตรวจสอบด้ววิธีที่เหมาะสมทุกเมล็ดก็จะมีความเสี่ยงสูง

การตั้งรกรากอย่างถาวร เชื้อนี้จะเจริญอยู่ในsieve tube ของท่อลำเลียงอาหารของพืช ในแอฟริกาใต้จะมีอาการรุนแรงไม่มากนัก มักพบมากในละติจูดสูงๆหรือเหนือระดับน้ำทะเล 900 เมตร

เช่นเดียวกับการปลูกส้มในประเทศไทยที่มีอยู่มีแหล่งปลูกหลายพื้นที่ที่ระดับความสูงต่างกัน อุณหภูมิที่เหมาะคือต่ำกว่า 27 องศาเซลเซียส (da Graca and korsten, 2004) พืชอาศัยหลักได้แก่ *Citrus nobilis* (tangor) *Citrus reticulate* (mandarin)และ *Citrus sinensis* (navel orange) ซึ่ง 2 ชนิดหลังเป็นส้มที่ปลูกมากในประเทศไทยความเสี่ยงในระดับปานกลาง

การแพร่กระจาย แมลงพาหะนำเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคกรีนนิ่งมี 2 ชนิด คือแมลง African citrus psyllid (*Trioza erytreae*) พบในแอฟริกาและ Asian citrus psyllid (*Diaphorina citri*) ในแถบทวีปเอเชีย โดยการทดลองพบว่า psyllid 2ชนิดสามารถถ่ายทอดโรคได้ (Massoni et al.,1976; Lallemand et al., 1986) ประเทศไทยมีแมลงพาหะ Asian citrus psyllid เชื้อจะพบในส่วน haemolymph และต่อมน้ำลายของแมลงพาหะทั้ง2ชนิด ความเสี่ยงในระดับสูง

ผลกระทบทางเศรษฐกิจ มีรายงานการสูญเสียผลผลิตในแอฟริกาใต้ประมาณ 30-100 % ในปี ค.ศ.1932-1936 และ 1939-1946 ในช่วงกลางปี 1970 คาดว่าต้นส้มจะติดเชื้อนี้ 4 ล้านต้นจากจำนวนส้ม 11 ล้านต้น พบปัญหาโรค กรีนนิ่งที่เกิดจากเชื้อ *Candidatus* Liberibacter asiatica อยู่แล้วที่ทำความเสียหายทำให้ผลผลิตส้มลดลง ดังนั้นหากมีเชื้อสายพันธุ์อื่นเพิ่มเข้ามาจะยิ่งเกิดปัญหาในการกำจัดมากขึ้น การควบคุมต้องควบคุมแมลงพาหะและป้องกันพืชอาศัย ถ้ามีการเข้าทำลายมากผลผลิตจะเสียหายเพิ่มและเชื้อนี้จัดเป็น Quarantine pest ของหลายๆประเทศผลกระทบสูง

2. แบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* ถ้าเกิดกับส้มเรียก Citrus variegated chlorosis แต่เกิดกับองุ่นใช้ชื่อว่า Pierce's disease of grapevines

การเข้ามา เชื้อสามารถถ่ายทอดทางเมล็ดพันธุ์ได้ มีรายงานเชื้อสามารถถ่ายทอดจากเมล็ดไปยังต้นกล้าได้โดยเฉพาะในเมล็ดพันธุ์ส้ม (Li et al., 2003) และแบคทีเรียนี้มีความไวต่ออากาศแห้งซึ่งส่วนใหญ่พบในเมล็ดส้ม ดังนั้นจึงไม่สามารถมองเห็นเมื่อตรวจสอบด้วยตาเปล่า ณ ด่านตรวจพืชที่นำเข้าจึงมีโอกาสติดเข้ามาในราชอาณาจักรได้ มีความเสี่ยงสูง

การตั้งรกรากอย่างถาวร พบว่ามีพืชอาศัยได้หลายชนิดโดยผลไม้จะเป็นพืชอาศัยหลัก พวกหญ้า กาแฟ แบรคเบอรี ราสเบอรี่ และอื่นๆเป็นพืชอาศัยรองได้แก่ ส้ม พลัมญี่ปุ่นและ องุ่น พีช แพร์ เป็นต้น มีพืชอาศัยหลายชนิดที่ไม่แดงอาการหรือแสดงอาการไม่รุนแรงเมื่อติดเชื้อนี้ เช่นในส้มติดเชื้อนาน 9-12 เดือนจึงจะแสดงอาการมี รายงานเชื้อสามารถเพิ่มจำนวนในท่อลำเลียงน้ำ ราก ลำต้นและใบ สภาพภูมิอากาศของประเทศที่มีราบงานพบเช่นเดียวกับไทยเช่นอาร์เจนตินา บราซิล ความเสี่ยงสูง

การแพร่กระจาย เป็นสาเหตุโรค Citrus variegated chlorosis ในประเทศบราซิล และอาร์เจนตินา ส่วนใหญ่โรคจะเกิดกับส้มพันธุ์ sweet oranges (*C. sinensis*) มีการสังเกตโดยเฉพาะกับส้มพันธุ์ Pera Hamlin พันธุ์ Navol และพันธุ์ Valenciaที่ใช้พันธุ์ต้นตอเป็น *C. limonia C.reshni* และ *C. volkameriana* ที่ประเทศบราซิล การแพร่ระบาดส่วนใหญ่เกิดจากติดต่อจากต้นหนึ่งไปยังอีกต้นหนึ่งในสวน สามารถแพร่กระจายโดยเชื้อมาจากsharpshooter ท่อนพันธ์ที่เป็นโรค และจากการทาบของรากทางธรรมชาติ เชื้อจะเข้าไปเจริญในท่อลำเลียวน้ำ ราก ลำต้น และใบ ท่อลำเลียงจะถูกกั้นโดยเชื้อที่เกาะกลุ่มtyloses และ gums จากพืชเองด้วย และเชื้อสามารถถ่ายทอดจากเมล็ดไปยังต้นอ่อนของส้มเขียวหวานได้ด้วย Li et al.(2003)

โรคนี้ในส้มมีการแพร่กระจายจากต้นหนึ่งไปอีกต้นหนึ่งที่อยู่ใกล้เคียงกัน พบในเรือนเพาะชำและอาจมีการเคลื่อนที่ข้ามได้ ในประเทศบราซิลมีมาตรการควบคุมโดยต้นอ่อนที่ผลิตจะต้องปูแผ่นกันเชื้อ เชื้อสามารถถ่ายทอดผ่าน natural root grafts เชื้อสามารถพบในแมลงที่ไม่มีช่วงฟักตัวและจะอยู่ในแมลงที่เป็นตัวเต็มวัย นอกจากนี้แมลงปากดูดที่ดูดน้ำเลี้ยงจากท่อ Xylem เป็นแมลงพาหะเช่น

Leafhopper และspittle bugs หรือ froghoppers *Cicadella viridis* meadow spittle bug, *Philaenus spumarius* ซึ่งแมลงพาหะมีรายงานพบในประเทศไทย ความเสี่ยงสูง

ผลกระทบทางเศรษฐกิจ เชื้อนี้ก่อให้เกิดโรคที่ทำความเสียหายทางเศรษฐกิจกับประเทศ North Central และ South America จากการสำรวจ http://www.fundecitrus.com.br/english/est_cvc_us.html#inc_cvc) พบว่า พื้นที่ปลูกส้มหลักในบราซิลและMissiones ของอาร์เจนตินา 3 พื้นที่ปลูกส้มหลักมีต้นที่แสดงอาการของโรคประมาณ 44-63เปอร์เซ็นต์ ความเสียหายกับผลคือผลส้มจะมีขนาดเล็ก การบรรจุในกล่องจะต้องใช้ปริมาณที่มากกว่า ปริมาณน้ำตาลในผลที่ติดเชื้อสูงกว่าผลที่ไม่ติดเชื้อ เปลือกผลแข็ง ทำให้เสียหายจากเครื่องบีบทำน้ำส้ม มาตรการที่ใช้ควบคุมในบราซิลคือต้นอ่อนที่ผลิตจะต้องปูแผ่นกันเชื้อ อย่างไรก็ตาม Li et al. (2003) รายงาน*Xylella fastidiosa* ในส้มเขียวหวาน Pera Natalและ Valencia ที่แสดงอาการ Citrus variegated chlorosis เมื่อนำไปตรวจสอบด้วย PCR ในท่อลำเลียงของผลเช่นเดียวกับเมล็ด จะไม่สามารถสังเกตเห็นความผิดปกติด้วยตาเปล่ากับเมล็ดที่มีเชื้อเข้าทำลาย แต่อย่างไรก็ตาม ต้นอ่อนของเมล็ดที่ติดเชื้อจะมีน้ำหนักน้อยกว่าเมล็ดปกติ 25 เปอร์เซ็นต์ อัตราการงอกต่ำกว่าเมล็ดที่ไม่ติดเชื้อ การตรวจสอบต้องใช้real- time PCR และยืนยันโดยการcloningและsequencing พบว่าเชื้อสามารถเข้าไปอยู่ในเนื้อเยื่อผล รวมถึงเมล็ดพันธุ์ได้ต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงในการตรวจสอบ การควบคุมที่มีประสิทธิภาพคือกำจัดแหล่งของเชื้อในสวนส้ม ต้องตัดต้นทิ้งและคุมแมลงโดยการพ่นสารเคมี สิ้นงบประมาณ และเป็นศัตรูพืชกักกันของหลายประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา กลุ่มประเทศในสหภาพยุโรป ผลกระทบสูง

3. ไวรัส Citrus psorosis A

การเข้ามา ไวรัสนี้เป็นศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ส้มได้ Childs (1956) รายงานว่าไวรัสนี้สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดได้ 6เปอร์เซนต์ และพบถ่ายทอดทางเมล็ดในส้มพันธุ์แมนดาลิน โดยพบที่บริเวณเปลือกเมล็ด (seed coats) 56% และ 7.5% กับเมล็ดที่เอาเปลือกออกเมื่อตรวจสอบโดยวิธี DASI ELISA กับเมล็ดที่ไม่ได้ฆ่าเชื้อ (CABI , 2007) เชื้อไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้และการตรวจเมล็ดที่จุดนำเข้าจะไม่พบไวรัสนี้ดังนั้นจึงมีความเสี่ยงสูง

การตั้งรกรากถาวรพบว่าพืชอาศัยได้แก่ส้มเกือบทุกสายพันธุ์รวมทั้งลูกผสมหรือพืชอื่นที่ใกล้เคียงกับส้มในสภาพภูมิอากาศที่ปลูกส้มของไทยมีทั้งอากาศเย็นและอากาศอบอุ่นเช่นแอฟริกาโดยเชื้อจะสามารถอยู่ในต้นส้มและทำให้เนื้อเยื่อกิ่งตาย ใบไหม้ได้หรือพืชแสดงอาการใบด่าง พืชจะแสดงอาการที่อุณหภูมิเย็นสูงสุดของเวลากลางวันประมาณ 24-27 องศาและต่ำสุด 18-21 องศาในเวลากลางคืน ความเสี่ยงปานกลาง

การแพร่กระจายพบว่ามีแมลงหลายชนิดเป็นพาหะที่สำคัญ เช่น *Toxoptera citricidus*, *T. aurantii* และ*Aphis spiraecola* สามารถถ่ายทอดเชื้อไวรัสได้ ซึ่งแมลงพาหะเหล่านี้มีในประเทศไทยจะทำให้เชื้อแพร่กระจายได้เร็ และการใช้เป็นต้นตอจะกระจายเมล็ดไปยังแหล่งปลูกส้มทั่วภูมิภาคของไทยได้และเชื้อจะผ่านการติดตาต่อกิ่งได้ในส้มเกือบทุกสายพันธุ์ การทำความสะอาดฆ่าเชื้ออุปกรณ์ตกแต่งกิ่งจะช่วยกำจัดการแพร่กระจายจากอุปกรณ์ได้ การนำตาหรือยอด หรือตอไปจุ่มในน้ำร้อน40 องศาเซลเซียส นาน 16 ชั่วโมงที่แสงและ30 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมงที่มืด นาน 8-12 สัปดาห์ ความเสี่ยงสูง

ผลกระทบทางเศรษฐกิจ เป็นโรคที่สำคัญของส้ม สร้างความเสียหายในหลายแหล่งปลูกในประเทศอาร์เจนติน่าและหลายๆประเทศ หลายประเทศไม่ได้ประกาศเป็นศัตรูพืชกักกัน จึงมีโอกาสที่เชื้อจะกระจายไปทั่ว จะกลายเป็นปัญหาในพื้นที่ใหม่ได้ การรับรองตาเพื่อการปลอดโรคไม่สามารถใช้

ป้องกันโรคในอาร์เจนติน่าได้ การควบคุมโดยการใช้ต้นอ่อนจากการโคลนนิ่งหรือกิ่งตาที่ปลอดโรคและมีการรับรองว่าปลอดจากไวรัสเป็นทางหนึ่งที่ช่วยลดการเกิดโรค คือต้องมีค่าใช้จ่ายในการตรวจสอบต้องใช้เทคนิคพิเศษ เช่น RT-PCR และพืชจะแสดงอาการเมื่อโตเมื่อให้ผลผลิตจะทำให้ขาดรายได้ หลายประเทศจึงมีมาตรการที่เมล็ดพันธุ์ที่ใช้ต้องปลอดโรคดังกล่าว รวมถึงวัสดุปลูกส้มจากแหล่งหรือประเทศที่มีการระบาดของเชื้อด้วย ผลกระทบสูง

4. ไวรัส Citrus leaf blotch ***(Citrus wood Pocket virus)***

การเข้ามา เป็นไวรัสศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ส้มได้ แต่มีรายงานว่าการถ่ายทอดเชื้อไวรัสผ่านเมล็ดแต่อยู่ในระดับต่ำ จากการทดสอบการถ่ายทอดไวรัสกับ120 ถึง 210 จากเมล็ดพันธุ์ Troyer citrange Nagami Kumquat หรือ sour orange ที่ปลูกเชื้อในโรงเรือน (Guerri et al., 2004) อย่างไรก็ตามเชื้อไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ดังนั้นการตรวจเมล็ดที่จุดนำเข้าจะไม่พบไวรัสนี้ ดังนั้นจึงจะเข้ามาในราชอาณาจักรได้

ความเสี่ยงสูง

การตั้งรกรากถาวร เมื่อเชื้ออยู่ในเมล็ดและถูกนำมาใช้เป็นต้นตอกับส้มในประเทศก็ทำให้เชื้อเจริญอยู่ในพื้นที่ปลูกได้ พืชอาศัยมีหลายชนิด โดยเฉพาะส้มและฟอร์จูเนล่าซึ่งในประเทศไทยมีพืชอาศัยที่เหมาะสมหลายชนิด มีรายงานพบกับพืชตระกูลส้มหลายชนิดจากประเทศออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่นและสเปนโดยมากพบร่วมกับอาการตาดอกหยุดการเชื่อมต่อกับต้นตอในส้มพันธุ์Citrange หรือ Citrumelo แหล่งที่มีการพบเชื้อบางพื้นที่มีสภาพภูมิอากาศคล้ายประเทศไทยเช่นที่แคลิฟอเนีย ฟอร์ริดาของสหรัฐอเมริกา ความเสี่ยงสูง

การแพร่กระจาย สามารถกระจายไปกับเมล็ดส้ม การติดต่อทาบกิ่ง ความเสี่ยงสูง

ผลกระทบทางเศรษฐกิจ ยังไม่พบข้อมูลรายงานความเสี่ยหายแต่มีมาตรการที่ต้องดำเนินการและมีค่าใช้จ่ายในการเคลื่อนย้ายหรือนำเข้า โดยการนำเข้าจึงควรเป็นเมล็ดที่มาจากต้นที่ปลอดโรคโดยการเคลื่อนย้ายระหว่างประเทศให้มีใบรับรองสุขอนามัยพืชที่รับรองว่าเมล็ดมาจากต้นที่ปลอดโรคนี้ ผลกระทบปานกลาง

5. ไวรัส Citrus tatter leaf หรือ *Apple stem grooving capillovirus*

การเข้ามา มีรายงานว่าเชื้อสามารถถ่ายทอดทางเมล็ดใน *Chenopodium quinoa* และ Malus *platycarpa* (Van der Meer, 1976) อย่างไรก็ตามในซิตรัสส่วนมากและในสายพันธุ์ที่เป็นการค้าที่มีไวรัสชนิดนี้พืชมักจะไม่แสดงอาการ (Symptomsless) แต่ยังไม่มีรายงานพบกับเมล็ดพันธุ์ส้ม ความเสี่ยงต่ำมาก

การตั้งรกรากอย่างถาวร มีพืชอาศัยที่สำคัญที่เป็นพืชหลักได้แก่ ซิตรัส ลิลลี่ แอบเปิล แพร์ พีช แอปริคอท พืชอาศัยรองคือ *Chenopodium quinoa*, เชอรี่, ควินส์ ยาสูบ เป็นต้น ความเสี่ยงปานกลาง

การแพร่กระจาย ไวรัสนี้สามารถถ่ายทอดระหว่างพืชด้วยการทาบกิ่งและติดตาที่ต้องใช้เวลาบ่มเชื้อประมาณ 14-15 เดือนเช่นในควินช์ กับพืชส้มลูกสามารถถ่ายทอดทางเครื่องจักรกล การทาบกิ่ง มีเล็กน้อยที่พบถ่ายทอดโดยทาบรากระหว่างต้นพืชปกติกับพืชเป็นโรคกับ ยังไม่ชัดเจนว่ามีพาหะในการแพร่กระจายหรือไม่ ไวรัสนี้บ่อยครั้งที่ไม่แสดงอาการในพืช แต่มีอาการใบด่างใน *Citrus excels*, Rusk และ Troyer citranges, Swingle citrumelos และสามารถถ่ายทอดจาก citron ถึง citron โดยอุปกรณ์เช่นมีด ไม่พบพาหะ ความเสี่ยงสูง

ผลกระทบทางเศรษฐกิจ มีรายงานจาก South Africa ว่าเข้าทำลายต้นส้ม Shamouti บนต้นที่ใช้citrumelo เป็นต้นตอ (Roistacher, 1991) Citrus ส่วนมากและในสายพันธุ์ที่เป็นการค้าที่มีไวรัสชนิดนี้อยู่มักจะไม่แสดงอาการ (Symptomsless) เช่น แอบเปิล แพร์ ความเสียหายปานกลาง

6. เชื้อรา *Chalara elegans*

การเข้ามา มีรายงานว่าเชื้อนี้เป็นโรคเมล็ดพันธุ์กับถั่วลิสง หรือกับดินที่ติดกับเมล็ด เป็น soilborne แต่ไม่มีรายงานกับเมล็ดส้ม ดังนั้นความเสี่ยงต่ำมาก หรือไม่มีความเสี่ยง

ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Management)

ผลการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชพบศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงสูงถึงต่ำที่ต้องมีมาตรการจัดการความเสี่ยงให้หมดไปหรือลดลงจนอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ควรจะประกอบด้วยมาตรการ ดังนี้

มาตราการจัดการในแหล่งผลิตก่อนการเก็บเกี่ยว คือเมล็ดพันธุ์ส้มต้อง 1) มาจากแหล่งที่ไม่มีศัตรูพืชกักกันหรือมาจากแหล่งผลิตที่ไม่มีศัตรูพืชกักกัน (pest free areaหรือ pest free products) ที่ได้รับการยอมรับอย่างเป็นทางการโดยต้องมีการส่งข้อมูลว่าเป็นแหล่งปลอดศัตรูพืชจริงและ/หรือพร้อมผลการบริหารจัดการศัตรูพืชในประเทศต้นทางว่าปลอดจากศัตรูพืชกักกันหรือไม่เคยปรากฏ หรือ 2) เมล็ดมาจากแหล่งผลิตที่ต้นพันธุ์ปลอดจากศัตรูพืชกักกันและยืนยันผลในห้องปฏิบัติการว่าปลอดจากศัตรูพืชกักกัน

มาตรการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว และก่อนส่งออกคือ 1) เมล็ดต้องผ่านการตรวจก่อนส่งออกว่าปลอดจากแมลงที่มีชีวิต ส่วนอาการของโรค เมล็ดวัชพืช ชิ้นส่วนของพืช เช่น ใบ ก้าน เศษซากพืช และดิน 2) ต้องเก็บรักษาอยู่ในโรงบรรจุที่สะอาด มีระบบที่ปิดมิดชิด ป้องกันแมลงเข้าทำลาย 3) เมล็ดต้องผ่านการตรวจสอบโรคพืชกักกันในห้องปฏิบัติการด้วยวิธีการการตรวจสอบ และกำจัดศัตรูพืชกักกันที่เหมาะสมเช่นต้องจุ่มเมล็ดในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที 4. ต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทางซึ่งระบุข้อความเพิ่มเติม เพื่อรับรองว่า “เมล็ดพันธุ์ส้มที่ผลิตในสาธารณรัฐแอฟริกาใต้ เป็นไปตามข้อกำหนดสำหรับการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันของราชอาณาจักรไทย”

มาตราการการจัดการเมื่อนำเข้า ได้แก่ 1). ตรวจเอกสารการนำเข้าตามเงื่อนไขการนำเข้าให้ถูกต้อง 2) เมล็ดพันธุ์ส้มเข้ามาในราชอาณาจักรไทย จะต้องมีสุ่มตรวจสอบศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการและพบว่าปลอดจากศัตรูพืชกักกัน หากตรวจพบศัตรูพืชกักกันจะถูกทำลายหรือให้ส่งกลับ กรณีตรวจพบศัตรูพืชที่ไม่ใช่ศัตรูพืชกักกัน ต้องทำการกำจัดศัตรูพืชดังกล่าวด้วยวิธีการที่เหมาะสม โดยผู้นำเข้าเป็นผู้ออกค่าใช้จ่าย 3) มีการติดตามหลังการนำเข้าว่ามาตรการมีประสิทธิภาพในการป้องกันมิให้ศัตรูพืชกักกันติดเข้ามาหรือไม่

สรุปผลการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

จุดเริ่มต้นเนื่องจากประเทศไทยมีการปรับปรุงกฎระเบียบทางกฎหมายใหม่และมีนโยบายปรับปรุงมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ส้มจากต่างประเทศให้รัดกุมยิ่งขึ้น ดังนั้นเมื่อมีผู้ยื่นขอนำเข้าเมล็ดพันธุ์ส้มมาในประเทศ จึงต้องมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเพื่อกำหนดมาตรการทางสุขอนามัยพืชที่เหมาะสมกับประเทศไทยซึ่งจัดเป็นพื้นที่ที่อยู่ในอันตรายเพราะประเทศไทยสามารถปลูกส้มได้ทั่วทุกภูมิภาค และสภาพภูมิอากาศที่เหมาะปลูกส้มในแอฟริกาใต้ก็ใกล้เคียงกับอากาศของประเทศไทยซึ่งเป็นปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่พันธุ์อย่างถาวรของศัตรูพืชซึ่งอาจจะติดเข้ามากับเส้นทางศัตรูพืชคือเมล็ดพันธุ์ส้มได้และประเทศไทยยังไม่เคยดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงกับเมล็ดพันธุ์ส้มจากแอฟริกาใต้มาก่อน โดยพบว่ามีศัตรูพืชกับส้ม ทั้งหมด

437 ชนิด เมื่อนำมาจัดกลุ่มศัตรูพืชพบว่ามีศัตรูพืช 6 ชนิดมีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันได้แก่รา *Chalara elegans* แบคทีเรีย ได้แก่ *Candidatus* Liberibacter africanum และ *Xylella fastidiosa* ไวรัส ได้แก่ *Citrus psorosis A* , *Citrus tatter leaf* และ *Citrus leaf blotch* (*Citrus wood Pocket* และเมื่อนำมาประเมินความเสี่ยงโดยประเมินโอกาสที่จะเข้ามา ตั้งรกรากอย่างถาวรและแพร่กระจายในสภาพภูมิอากาศของประเทศไทยรวมถึงประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจทั้งทางตรงและทางอ้อมหากศัตรูพืชติดเข้ามา พบศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงสูง 3 ชนิด คือ แบคทีเรีย *Candidatus* Liberibacter africanum เชื้อสาเหตุโรคกรีนนิ่ง (Citrus Greening bacterium), *Xylella fastidiosa* สาเหตุโรค Variegated chlorosis และไวรัส *Citrus psorosis* A สาเหตุโรค Citrus Psorosis ความเสี่ยงปานกลางได้แก่ *Citrus leaf blotch* (*Citrus wood Pocket*) และความเสี่ยงต่ำมากได้แก่ ไวรัส *Citrus tatter leaf* จึงจำเป็นต้องมีมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชให้หมดไปหรืออยู่ในระดับที่ประเทศไทยยอมรับได้ โดยใช้มาตรการทางวิชาการและทางกฎหมายที่เหมาะสม

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของการนำเมล็ดพันธุ์ส้มจากแอฟริกาใต้ โดยการค้นคว้าศึกษาข้อมูลของศัตรูเมล็ดพันธุ์ส้มทั้งในและต่างประเทศจากตำราวิชาการ วารสารทางวิชาการเกี่ยวกับศัตรูส้มจากต่างประเทศ เว็บไซท์ต่างๆ ข้อมูลของผลส้มจากแอฟริกาใต้จากหน่วยงาน NPPO พบศัตรูส้มในประเทศไทยและแอฟริกาใต้มีจำนวน 437 ชนิดเป็นแมลง 241 ชนิด ไรและแมงมุม 21 ชนิด ไส้เดือนฝอย 20 ชนิด หอย/ทาก 2 ชนิด เชื้อรา 75 ชนิด แบคทีเรีย 8 ชนิด ไวรัสไวรอยด์ 14 ชนิด วัชพืช 54 ชนิดและไม่สามารถจำแนกชนิดได้ 2 ชนิด และเมื่อนำมาจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest categolization) โดยพิจารณาข้อมูลทางชีววิทยาพบว่าศัตรูพืชที่มีในแอฟริกาใต้แต่ไม่มีรายงานในประเทศไทยและสามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์ส้มได้มี 6 ชนิด มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันที่จะเข้ามาตั้งรกรากถาวรและแพร่ระบาดในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชและศักยภาพก่อให้เกิดผลกระทบตามมาทางเศรษฐกิจและสิ่งแวดล้อมได้. ได้แก่รา *Chalara elegans* แบคทีเรีย ได้แก่ *Candidatus* Liberibacter africanum และ *Xylella fastidiosa* ไวรัส ได้แก่ *Citrus psorosis A* , *Citrus tatter leaf* และ *Citrus leaf blotch* (*Citrus wood Pocket*) ผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชพบศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงสูง 3 ชนิด คือ แบคทีเรีย *Candidatus* Liberibacter africanum เชื้อสาเหตุโรคกรีนนิ่ง(Citrus Greening bacterium), *Xylella fastidiosa* สาเหตุโรค Variegated chlorosis และไวรัส Citrus psorosis A สาเหตุโรค Citrus Psorosis ความเสี่ยงปานกลางได้แก่ *Citrus leaf blotch* (*Citrus wood Pocket*) และ ความเสี่ยงต่ำมากได้แก่ ไวรัส *Citrus tatter leaf* ดังนั้นเพื่อลดระดับของความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ โดยการกำหนดมาตรการทางวิชาการคือกำหนดสุขอนามัยพืชให้ปฏิบัติก่อนการนำเข้าเพื่อลดความเสี่ยงและมาตรการทางกฎหมายโดยอาศัยอำนาจตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติม พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 (นิรนาม,2542) ออกประกาศกรมวิชาการเกษตรเรื่อง การนำเข้าเมล็ดพันธุ์ส้มจากสาธารณรัฐแอฟริกาใต้ที่อนุญาตเฉพาะส่วนของเมล็ดพันธุ์ ต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์วิธีการและเงื่อนไขตามที่อธิบดีกำหนดคือต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทางที่ระบุมาตรการสุขอนามัยที่กำหนดมาอย่างครบถ้วนกำกับมาด้วยโดยเมล็ดต้องปราศจากดิน แมลงมีชีวิต วัชพืช ส่วนอื่นๆของพืชและสิ่งอื่นใดที่จะนำพาให้เป็นศัตรูพืชได้ และใน

ใบรับรองสุขอนามัยพืชต้องมีการรับรองว่า 1) เมล็ดพันธุ์ส้มต้องมาจากแหล่งปลูกในแอฟริกาใต้ที่ไม่เคยมีการปรากฏ *Xylella fastidiosa* สาเหตุโรค Variegated chlorosis และ 2) เมล็ดพันธุ์ส้มต้องปราศจาก Citrus Greening bacterium (*Candidatus* Liberibacter africanum) และ *Citrus Psorosis* (*Psorosis virus*) *Citrus leaf blotch* , *Citrus tatter leaf* 3) ต้องจุ่มเมล็ดในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 20 นาทีและฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย1 เปอร์เซนต์ Sodium hypochloride 10 นาที หรือ แช่ในสารละลาย 8-hydroxyquinoline sulfate (1กรัมต่อเมล็ด0.1ลิตร) หรือหากเมล็ดมีความอ่อนแอต่อการจุ่มในน้ำร้อน ให้ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวและปลูกที่ อุณหภูมิ 22-24 องศาเซลเซียสในสถานกักพืช(Post entry Quarantine or government PEQ facility) นาน 24 เพื่อสังเกตอาการและตรวจสอบโรครวมถึงการตรวจสอบด้วยวิธี PCR ก่อนปล่อยออกหากปราศจากศัตรูพืชกักกันเช่นเดียวกับที่สหรัฐอเมริกาและออสเตรเลียกำหนดในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ส้มจากสาธารณรัฐแอฟริกาใต้ ซึ่งศัตรูพืชที่กำหนดเป็นศัตรูพืชกักกันนั้นประเทศไทยควรเตรียมความพร้อมในการหาวิธีการตรวจสอบที่ดีมีประสิทธิภาพ รวดเร็ว ถูกต้อง แม่นยำ

เอกสารอ้างอิง

นิรนาม. 2542. พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 12 หน้า.

พัฒนา สนธิรัตน, ประไพรศรี พิทักษ์ไพรวัน, ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์, วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 285 หน้า.

พิสุทธิ์ เอกอำนวย. 2553. โรคและแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ. บริษัท อมรินทร์พริ้นติ้งแอรด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน). กรุงเทพ. 591 หน้า

สำนักควบคุมพืช และวัสดุการเกษตร. 2550. สถิติการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ส้ม สำนักควบคุมพืช และวัสดุการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.

FAO. 2004. Pest Risk Analysis for Quarantine Pests Including Analysis of Environmental Risks Pest risk Analysis for Quarantine Pests. ISPM No. 11, FAO, Rome.

FAO. 2006. Glossary of Phytosanitary Terms (2009). ISPM No. 11, FAO, Rome.

Buitendag CH, LA. von Broembsen , 1993 Living with citrus greening in South Africa. In: Moreno P, da Grata JV, LW, Timmer, eds .Proceeding of the 12 th Conference of the International Organization of Citrus Virologists. University of California, Riverside, USA, IOCV, 269-27

da Graca J, L., Korsten, 2004. Citrus Huanglongbing : Review present status and future strategies. In Navqui S, ed. Diseases of fruits and vegetables: Diagnosis and Management vol 1

CABI Crop Compendium. CAB international, Wallingford, UK.

CABI (CAB INTERNATIONAL) 2007. Crop Protection Compendium. CAB INTERNATIONAL, Wallingford, UK.

CABI (CAB INTERNATIONAL) 2012. Crop Protection Compendium. CAB INTERNATIONAL, Wallingford, UK. (Online). Available: http;//www.cabi.org/cpc/ (May11, 2012)

Child, JFL., 1956 Transmission experiments and Xyloporosis-cachexia relation in Flolorido. Plant Disease Reporter.40: 143-145

Campiglia GH, S. Carlos M., S. Aray A ., 1976 Porosis transmission through seed of trifoliate orange In: Proceeding of the 7 th conference IOCV. IOCV, Riverside, pp 132-134.

Guerri j., J.A. Pina, M.C.Vives, L., Navarro and P. Moreno, 2004. Seed transmission of *Citrus leaf blotch virus*: Implications in Quarantine and Certification Programs , Plant Disease 88: 906

Lallemand. J.A Fos, JM. Bove. 1986, Tranmission de la bactric associe la forme africaine de la maladie du“greening”par le psylle asiatique *Diaphorina citri* Kuwayama,Fruits. 41(5):692-695

Li W.B., P.M.Pria W.D. Jr., P.M.Lacava, X.Qin, J.S. Hartung, 2003. Presence of *Xylella fastidiosa* in sweet orange fruit and seeds and it transmission to seedlings. Phytopathology 93: 953-958

Massoni G, M.Garnier, JM.Bove, 1976. Transmission of Indian citrus decline by *Tryoza erytrreae* (Del G.) the vector of South Africa greening In: Calavan EC, ed. Proceedinggs of the 7 th Conference of the International Organization of Citrus Virologists, University of California, Riverside, USA: IOCV, 18-20

NPPO South Africa, National Plant Protection Organization of South Africa

Roistacher C.N. 1991 Graft-Transmissible diseases of Citrus. In Handbook for detection and diagnosis , FAO , Rome 1991 286 pp

Reanwarakkorn, K and J.S. Semancik. 2005. Correlation of Hop Stunt Viroid variants to Cachexia and Xyloporosis disease of Citrus. Phytopathology 89: 568-574.

Waterhouse DF. 1993. The major arthropod pests and weeds of agriculture in Southeast Asia. Canberra, Australia : ACIAR

ภาคผนวก

ข้อมูลการนำเข้า พบว่าแต่ละปีมีปริมาณนำเข้าไม่มากนักแต่อย่างไรก็ตามมีจุดประสงค์เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ หรือจำหน่าย ระหว่างปี 2548-2550 พบว่ามีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ส้มจากสาธารณรัฐแอฟริกาใต้จำนวน 2 ครั้ง รวม 37 กิโลกรัม เป็นเงินประมาณสองแสนบาท โดยนำไปเป็นต้นตอเพื่อผลิตส้มปลอดโรคขายแก่เกษตรกร หรือนำไปขายโดยตรงเพื่อให้เกษตรกรไปขยายเพื่อผลิตเอง

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
INSECTS								
Insecta	Orthoptera	Acrididae	*Acanthacris ruficornis*		leaf, **seed**	No	Yes	CABI, 2012
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Achaea janata*	castor semilooper	fruit, growing point, leaf, inflorescence	Yes	No	พิสุทธิ์,2553; CABI,2007; Waterhouse,1993
Insecta	Coleoptera	Scarabaeidae	*Adoretus cribosus*	flower beetle	fruit, leaf	No	Yes	IHSfrom ZA,1997
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Agrotis ipsilon*	black cutworm	fruit, leaf, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI,2007; DOA,2006; IHSfrom ZA,1997; Waterhouse,1993
Insecta	Hemiptera	Aleyrodidae	*Aleurocanthus spiniferus*	orange spiny whitefly	leaf, stem	Yes	Yes	CABI,2012; DOA,2006; EPPO,2012
Insecta	Hemiptera	Aleyrodidae	*Aleurocanthus woglumi*	citrus blackfly	leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2012; DOA,2006; EPPO,2012
Insecta	Hemiptera	Aleyrodidae	*Aleurocanthus zizyphi*	whitefly	fruit, leaf, stem	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Aleyrodidae	*Aleurodicus dispersus*	whitefly	leaf, stem	Yes	No	CABI, 2007; EPPO,2012; Waterhouse,1993

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Hemiptera	Aleyrodidae	*Aleurothrixus floccosus*	whitefly	fruit, leaf, inflorescence, **seed**, stem	No	Yes	CABI,2012; EPPO,2012
Insecta	Lepidoptera	Arctiidae	*Amsacta lactinea*	red tiger moth		Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Andaspis hawaiiensis*	Burrowing scale	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta			*Anoplolepis curvipes*	tip wilter	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hymenoptera	Formicidae	*Anoplolepis custodiens*	pugnacious ant	fruit	No	Yes	CABI,2012; DOA,2006
Insecta	Hymenoptera	Formicidae	*Anoplolepis steingroeveri*	ant	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Pentatomidae	*Antestiopsis orbitalis*	antestia bug	Fruit, stem	No	Yes	CABI,2012; DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Pentatomidae	*Antestiopsis variegata*	antestia bug	Fruit, stem	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Aonidiella aurantii*	red scale	fruit, leaf, stem, whole plan	Yes	Yes	พิสุทธิ์,2553;CABI,2012; DOA,2006; Smith *et al*., 1997; Wongsiri, 1991
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Aonidiella citrina*	yellow scale	fruit, leaf, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2012;DOA,2006; EPPO,2012;Smith *et al* 1997

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Aonidiella orientalis*	oriental yellow scale	fruit, leaf, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2012; DOA,2006
Insecta	Coleoptera	Bostrichidae	*Apate indistincta*	black coffee stem borer	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Coleoptera	Bostrichidae	*Apate terebrans*	black coffee stem borer	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Aphididae	*Aphis craccivora*	groundnut aphid	leaf, whole plant	Yes	Yes	พิสุทธิ์,2553; CABI, 2007 DOA,2006; Waterhouse 1993; Wongsiri, 1991.
Insecta	Hemiptera	Aphididae	*Aphis fabae*	black bean aphid	inflorescence, leaf, whole plant	No	Yes	CABI, 2007; DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Aphididae	*Aphis gossypii*	cotton aphid	inflorescence, leaf, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; Smith et al., 1997; Waterhouse,1993; Wongsiri, 1991
Insecta	Hemiptera	Aphididae	*Aphis spiraecola*	Spirea aphid	fruit, leaf, stem, inflorescence, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2012; DOA,2006

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Coleoptera	Anthribidae	*Araecerus fasciculatus*	cocoa weevil	fruit, root, **seed**, stem	Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Insecta	Lepidoptera	Torticidae	*Archips micaceana*	citrus leaf roller	leaf	Yes	No	พิสุทธิ์,2553; Waterhouse,1993
Insecta	Lepidoptera	Geometridae	*Ascotis selenaria*	citrus looper	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Geometridae	*Ascotis selenaria reciprocaria*	citrus looper, giant looper	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Aspidiella sacchari*	sugarcane scale	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Aspidiotus destructor*	coconut scale	fruit, leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; Waterhouse,1993
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Aspidiotus nerii*	oleander scale	Fruits/pods, growing points, leaf, stems and whole plant.	No	Yes	CABI,2012; DOA,2006
Insecta	Coleoptera	Curculionidae	*Asynonychus cervinus*	Fuller's rose beetle	fruit, leaf, root	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Coleoptera	Melyridae	*Astylus atromaculatus*	spotted maize beetle	fruit	No	Yes	CABI,2007; IHSfrom ZA,1997
Insecta	Diptera	Muscidae	*Atherigona orientalis*	pepper fruit fly	fruit, leaf, root,	Yes	Yes	CABI, 2007;

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
					stem, whole plant			DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Saturniidae	*Attacus atlas*	atlas moth	leaf	Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Aulacaspis tubercularis*	mango scale	fruit, leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2012; DOA,2006; Waterhouse,1993
Insecta	Diptera	Tephritidae	*Bactrocera carambolae*	carambola fruit fly	fruit	Yes	No	CABI, 2007
Insecta	Diptera	Tephritidae	*Bactrocera correcta*	guava fruit fly	fruit	Yes	No	CABI, 2007
Insecta	Diptera	Tephritidae	*Bactrocera cucurbitae*	melon fly	fruit, leaf, inflorescence, root, stem	Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Insecta	Diptera	Tephritidae	*Bactrocera dorsalis*	Oriental fruit fly	fruit, leaf, inflorescence, root, stem	Yes	No	CABI, 2007; EPPO,2012; Waterhouse,1993
Insecta	Diptera	Tephritidae	*Bactrocera papayae*	papaya fruit fly	fruit	Yes	No	CABI, 2007
Insecta	Diptera	Tephritidae	*Bactrocera zonata*	fruit fly	fruit	Yes	No	CABI, 2007; EPPO,2012
Insecta	Hemiptera	Aphididae	*Brachycaudus helichrysi*	leaf-curling plum aphid	fruit, leaf, whole plant	Yes	No	CABI, 2007

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Hemiptera	Aphididae	*Brachycereus citriperda*	snout beetle	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Tortricidae	*Cacoecimorpha pronubana*	carnation tortrix	fruit, leaf inflorescence,	No	Yes	CABI, 2012; DOA,2006; EPPO,2012
Insecta	Lepidoptera	Lymantriidae	*Calliteara horsfieldii*			Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Insecta	Hymenoptera	Formicidae	*Camponotus rufoglaucus*	capenter ant	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Coccoidea	Pseudococcidae	*Cataenococcus hispidus*	citrus mealybug		Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Insecta	Diptera	Tephritidae	*Ceratitis capitata*	mediterranean fruit fly	fruit (post-harvest)	No	Yes	CABI, 2012; DOA,2006; EPPO,2012
Insecta	Diptera	Tephritidae	*Ceratitis cosyra*	mango fruit fly	fruit	No	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; EPPO,2012
Insecta	Diptera	Tephritidae	*Ceratitis quinaria*	fruit fly	fruit	No	Yes	CABI, 2012; DOA,2006; EPPO,2012
Insecta	Diptera	Tephritidae	*Ceratitis rosa*	Natal fruitfly	fruit (post-harvest)	No	Yes	CABI, 2007; DOA,2006;

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
								EPPO,2012
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Ceroplastes brevicauda*	citrus vax scale	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Ceroplastes ceriferus*	Indian wax scale	fruit, leaf, stem, whole plant	Yes	No	CABI, 2007; EPPO,2012
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Ceroplastes destructor*	white wax scale	fruit, inflorescence, leaf, stem, whole plant	No	Yes	CABI, 2012; DOA,2006; EPPO,2012
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Ceroplastes floridensis*	soft scale	fruit, leaf, stem, whole plant	No	Yes	CABI, 2012; DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Ceroplastes rubens*	red wax scale	fruit, leaf, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2012; DOA,2006; Smith et al., 1997; Waterhouse,1993
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Ceroplastes rusci*	fig wax scale	fruit, leaf, stem, whole plant	No	Yes	CABI, 2012; DOA,2006
Insecta		Lycaenidae	*Chilades lajus*	lime blue	growing point, leaf	Yes	No	พิสุทธิ์,2553

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Coleoptera	Cerambycidae	*Chlorophorus annularis*	bamboo tiger longicorn	stem	Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Insecta	Orthoptera	Acrididae	*Chondracris rosea*	citrus locust	growing point, leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Chrysodeixis acuta*	tomato semi-looper	fruit, leaf, whole plant	No	Yes	CABI, 2007
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Chrysodeixis chalcites*	golden twin-spot moth	fruit, leaf, whole plant	No	Yes	CABI, 2007
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Chrysomphalus aonidum*	circular scale	fruit, leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2012; DOA,2006; EPPO,2012; Waterhouse,1993
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Chrysomphalus dictyospermi*	dictyospermum scale	fruit, leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2012; DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Chrysomphalus diversicolar*	false circular purple scale	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Chrysomphalus pinnulifer*	pinnule scale	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Cicadellidae	*Circulifer tenellus*	beet leafhopper	leaf	No	Yes	EPPO,2012

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Lepidoptera	Pyralidae	*Citripestis sagittiferella*	citrus fruit borer	fruit	Yes	No	พิสุทธิ์,2553; CABI, 2007 Waterhouse,1993
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Coccus celatus*	soft green scale	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Coccus hesperidum*	brown soft scale	leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2012; DOA,2006; Smith et al., 1997; Wongsiri, 1999
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Coccus viridis*	soft green scale	fruit, leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2012; DOA,2006; EPPO,2012; Smith *et al*., 1997; Waterhouse,1993
Insecta	Coleoptera	Chrysomelidae	*Colasposoma fulgidum*	blue green citrus nibler	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Crambidae	*Conogethes punctiferalis*	castor capsule borer	fruit, growing point, leaf, stem	Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Cribrolecanium andersoni*	white powdery scale	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Pyralidae	*Cryptoblabes gnidiella*	citrus pyralid	fruit, leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2012
Insecta	Lepidoptera	Torticidae	*Cryptophlebia batrachopa*	macadamia nut borer	fruit	No	Yes	DOA,2006

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Lepidoptera	Torticidae	*Cryptophlebia leucotreta*	false codling moth	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Torticidae	*Cryptophlebia peltastica*	litchi moth	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Pseudococcidae	*Delottococcus elisabethae*	mealybug	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Coleoptera	Curculionidae	*Dereodus recticollis*	snout beetle	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Aleyrodidae	*Dialeurodes citri*	citrus whitefly	fruit, leaf, stem, inflorescence,	Yes	Yes	CABI, 2007; 2012; EPPO,2012
Insecta	Hemiptera	Psyllidae	*Diaphorina citri*	Asian citrus psyllid	fruit, leaf	Yes	No	พิสุทธิ์,2553; CABI, 2012 Waterhouse,1993; Wongsiri, 1991
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Diaspidiotus perniciosus*	San Jos∏ scale	fruit, leaf, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Duplaspidiotus claviger*	camellia mining scale	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Heteroptera	Pyrrhocoridae	*Dysdercus cingulatus*	red cotton stainer	inflorescence, **seed**	Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Hemiptera	Pseudococcidae	*Dysmicoccus brevipes*	pineapple mealybug	fruit, leaf, root, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; Laosinchai & Unahawutti, 2000; Waterhouse,1993
Insecta	Hemiptera	Pseudococcidae	*Dysmicoccus neobrevipes*	mealybug	fruit, leaf, root, stem, whole plant	Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Insecta	Lepidoptera	Pyralidae	*Ectomyelois ceratoniae*	carob moth	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Egybolis vaillantina*	peach moth	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Heteroptera	Coreidae	*Elasmopoda valga*	tip wilter	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Homoptera	Cicadellidae	*Empoasca citrusa*	green citrus leaf hopper	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Cicadellidae	*Epignoma natalensis*	leaf hopper	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Coleoptera	Coccinellidae	*Epilachna similis*	epilachna beetle	fruit	No	Yes	CABI,2007; IHSfrom ZA,1997
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Eudocima divitiosa*	fruit piercing moth	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Eudocima falonia*	fruit piercing moth	fruit	Yes	No	พิสุทธิ์,2553

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Eudocima fullonia*	fruit-piercing moth	fruit	Yes	Yes	CABI, 2012; DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Eudocima materna*	fruit-piercing moth	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Eudocima salaminia*	fruit piercing moth	fruit	Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Insecta	Lepidoptera	Lymantriidae	*Euproctis fraterna*			Yes	No	CABI, 2007
Insecta	Coleoptera	Scolytidae	*Euwallacea fornicatus*	tea shot-hole borer	stem, whole plant	Yes	No	CABI, 2007
Insecta	Hemiptera	Pseudococcidae	*Ferrisia malvastra*	mealybug	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Pseudococcidae	*Ferrisia virgata*	striped mealybug	fruit, leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2007;DOA,2006 ; Laosinchai & Unahawutti, 2000; Waterhouse,1993
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Fiorinia fioriniae*	palm fiorinia scale	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Thysanoptera	Thripidae	*Frankliniella occidentalis*	western flower thrips	inflorescence, leaf	Yes	Yes	CABI, 2007; Poonchaisri, 2001; Waterhouse,1993
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Gascardia brevicauda*	citrus wax scale	fruit	No	Yes	DOA,2006

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Coleoptera	Tenebrionidae	*Gonocephalum simplex*	dusty surface weevil	Fruits/pods, growing points, leaf, **seeds**, stems and whole plant	No	Yes	CABI,2007; IHSfrom ZA,1997
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Helicoverpa armigera*	cotton bollworm	fruit. growing point, inflorescence, leaf	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; EPPO,2012; IHSfrom ZA,1997; Waterhouse, 1993
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Helicoverpa assulta*	tobacco bud worm	fruit	Yes	Yes	DOA,2006; Waterhouse,1993
Insecta	Thysanoptera	Thripidae	*Heliothrips haemorrhoidalis*	black tea thrips	fruit, leaf	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; Waterhouse,1993
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Hemiberlesia lataniae*	latania scale	fruit, leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006
Insecta	Coleoptera	Scarabaeidae	*Heteronychus arator*	black beetle	Stems and whole plant	No	Yes	CABI,2007; IHSfrom ZA, 1997
Insecta	Hemiptera	Coreidae	*Holopterna valga*	tip wilter	fruit	No	Yes	DOA,2006

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Coleoptera	Scarabaeidae	*Holotrichia sinensis*	chafer, black		Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Howardia biclavis*	mining scale	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Coleoptera	Curculionidae	*Hypomeces squamosus*	green weevil	growing point, leaf, root	Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993; Wongsiri, 1991
Insecta	Coleoptera	Melolonthidae	*Hypopholis sommeri*	large wattle chafer	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Margarodidae	*Icerya aegyptiaca*	breadfruit mealybug	leaf, stem, whole plant	Yes	No	CABI, 2007; EPPO,2012
Insecta	Hemiptera	Margarodidae	*Icerya purchasi*	cottony cushion scale	leaf, stem, whole plant	Yes	Yes	พิสุทธิ์,2553; CABI, 2012 DOA,2006; EPPO,2012; Smith et al., 1997; Waterhouse,1993
Insecta	Hemiptera	Margarodidae	*Icerya seychellarum*	Seychelles scale	leaf, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2012; DOA,2006; EPPO,2012; Laosinchai & Unahawutti, 2000; Waterhouse,1993

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Ischnaspis longirostris*	black thread scale	fruit, leaf	No	Yes	CABI,2012; DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Ischyja manlia*	fruit piercing moth	fruit	Yes	No	พิสุทธิ์,2553
Insecta	Hemiptera	Cicadellidae	*Jacobiasca formosana*			Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Insecta		Flatidae	*Lawana conspersa*			Yes	No	CABI, 2007
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Lepidosaphes beckii*	purple scale	fruit, leaf, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2012; DOA,2006; Waterhouse,1993
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Lepidosaphes gloverii*	glover scale	fruit, leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2012; DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Coreidae	*Leptoglossus australis*	coried bug		Yes	Yes	DOA,2006; EPPO,2012
Insecta	Hemiptera	Coreidae	*Leptoglossus gonagra*	squash bug	leaf	Yes	Yes	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Insecta	Thysanoptera	Thripidae	*Limothrips cerealium*	corn, thrips	**seed**	No	Yes	CABI, 2012; CSIRO,200
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Lindingaspis rossi*	black araucaria scale	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hymenoptera	Formicidae	*Linepithema humile*	ant	fruit	No	Yes	DOA,2006

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Hemiptera	Pseudococcidae	*Maconellicoccus hirsutus*	pink hibiscus mealybug	fruit, inflorescence, leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2007; EPPO,2012 Laosinchai & Unahawutti, 2000
Insecta	Hemiptera	Aphididae	*Macrosiphum euphorbiae*	potato aphid	fruit, leaf, stem	No	Yes	CABI, 2007; DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Pentatomidae	*Megymenum brevicorne*		fruit, growing point leaf, stem	Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Insecta	Thysanoptera	Thripidae	*Microcephalothrips abdominalis*	composite thrips		Yes	No	CABI, 2007
Insecta	Hemiptera	Aphididae	*Myzus persicae*	green peach aphid	inflorescence, leaf, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; Waterhouse,1993; Wongsiri, 1991
Insecta	Hemiptera	Cicadellidae	*Neoaliturus tenellus*	beet leafhopper	leaf, whole plant	No	Yes	CABI, 2012
Insecta	Hemiptera	Pentatomidae	*Nezara viridula*	green stink bug	fruit, inflorescence, leaf, **seed**, stem	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; Smith et al., 1997; Waterhouse,1993; Wongsiri, 1991

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Hemiptera	Pseudococcidae	*Nipaecoccus nipae*	spiked mealybug	fruit, leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; Waterhouse,1993
Insecta	Hemiptera	Pseudococcidae	*Nipaecoccus viridis*	spherical mealybug	fruit, leaf, stem	Yes	Yes	พิสุทธิ์,2553; CABI, 2012; DOA,2006; Laosinchai & Unahawutti, 2000;
Insecta	Orthoptera	Acrididae	*Nomadacris septemfasciata*	red locust	fruit, leaf, inflorescence, **seed**, stem, whole plant	No	Yes	CABI, 2012; DOA ZA,1998
Insecta	Lepidoptera	Oecophoridae	*Odites sucinea*	leafroller	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Ophiusa coronata*	fruit piercing moth	fruit	Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Oraesia emarginata*	fruit piercing moth	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Oraesia provocans*	fruit piercing moth	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Ortheziidae	*Orthezia insignis*	greenhouse orthezia	inflorescence, leaf, stem, whole plant	No	Yes	CABI, 2007

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Coleoptera	Curculionidae	*Pantomorus cervinus*	Fuller's rose beetle	leaf, root	No	Yes	CABI, 2012
Insecta	Lepidoptera	Papilionidae	*Papilio dardanus*	mocker swallowtail	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Papilionidae	*Papilio demodocus*	citrus swallowtail	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Papilionidae	*Papilio demoleus*	chequered swallowtail	leaf	Yes	No	พิสุทธิ์,2553; CABI, 2007 Waterhouse,1993; Wongsiri, 1991
Insecta	Lepidoptera	Papilionidae	*Papilio nireus lyaeus*	green-banded swallowtail	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Papilionidae	*Papilio memnon*	great mormon		Yes		พิสุทธิ์,2553
Insecta	Lepidoptera	Papilionidae	*Papilio polytes*	common mormon	leaf	Yes	No	พิสุทธิ์,2553; CABI, 2007 Waterhouse,1993; Wongsiri, 1991
Insecta	Hemiptera	Pseudococcidae	*Paracoccus burnerae*	oleander mealybug	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Limacodidae	*Parasa lepida*	nettle caterpillar	fruit, leaf	Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Parasaissetia nigra*	pomegranate scale	leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2007; EPPO,2012 Waterhouse,1993
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Parlatoria cinerea*	gray chaff scale	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Parlatoria pergandii*	chaff scale	fruit, leaf, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2012; DOA,2006; Laosinchi & Unahawutti, 2000
Insecta	Hemiptera	Diaspididae	*Parlatoria ziziphi*	black parlatoria scale	fruit, leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2012; DOA,2006 EPPO,2012; Laosinchi & Unahawutti, 2000; Waterhouse,1993; Wongsiri, 1991
Insecta	Homoptera	Cicadellidae	*Penthimiola bella*	citrus leaf hopper	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Homoptera	Cicadellidae	*Penthimiola mendex*	citrus leaf hopper	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Pericyma atrifusa*	fruit piercing moth	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Pericyma scandulata*	fruit piercing	fruit	No	Yes	DOA,2006

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
				moth				
Insecta	Hymenoptera	Formicidae	*Pheidole megacephala*	brown house ant	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hymenoptera	Formicidae	*Pheidole teniunodis*	ant	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Pseudococcidae	*Phenacoccus manihoti*	mealybug	fruit, growing point, leaf, root, stem	No	Yes	CABI,2012; DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Pseudococcidae	*Phenacoccus solenopsis*	mealybug	fruit, growing point, leaf, root, stem	Yes	No	พิสุทธิ์,2553
Insecta	Lepidoptera	Gracillariidae	*Phyllocnistis citrella*	citrus leaf miner	leaf	Yes	Yes	พิสุทธิ์,2553; CABI, 2012 DOA,2006; EPPO,2012; Smith et al., 1997; Waterhouse,1993; Wongsiri, 1991
Insecta	Orthoptera	Pyrgomorphidae	*Phymateus leprosus*	bush stink locust	fruit	No	Yes	DOA,2006

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Hemiptera	Pseudococcidae	*Planococcus citri*	citrus mealybug	fruit, inflorescence, leaf, root, stem	Yes	Yes	พิสุทธิ์,2553; CABI, 2012 DOA,2006; Smith et al. 1997; Waterhouse,1993; Wongsiri, 1991
Insecta	Hemiptera	Pseudococcidae	*Planococcus lilacinus*	cacao mealybug	fruit, growing point leaf, stem, inflorescence, whole plant	Yes	No	CABI, 2007; EPPO,2012 Loasinchai & Unahawutti, 2000
Insecta	Hymenoptera	Formicidae	*Polyrhychis schistacea*	ant	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Yponomeutidae	*Prays citri*	citrus flower moth	fruit, leaf, infloescence,	Yes	Yes	พิสุทธิ์,2553; CABI, 2012 DOA,2006; EPPO,2012;
Insecta	Coleoptera	Cerambycidae	*Promecidus linearis*	longicorn beetle	fruit	No	Yes	
Insecta	Coleoptera	Cerambycidae	*Prosopocera sofala*	longicorn beetle	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Coleoptera	Cerambycidae	*Prosopocera maculosa*	longicorn beetle	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Protopulvinaria pyriformis*	pyriform scale	fruit	No	Yes	CABI, 2007; DOA,2006

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Coleoptera	Curculionidae	*Protostrophus amplicollis*	ground weevil	fruit	No	Yes	IHSfrom ZA,1997
Insecta	Coleoptera	Curculionidae	*Protostrophus avidus*	ground weevil	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Coleoptera	Curculionidae	*Protostrophus barbifrons*	ground weevil	friut	No	Yes	IHSfrom ZA,1997
Insecta	Coleoptera	Curculionidae	*Protostrophus hamaticollis*	ground weevil	friut	No	Yes	IHSfrom ZA,1997
Insecta	Coleoptera	Curculionidae	*Protostrophus hirtiventris*	ground weevil	friut	No	Yes	IHSfrom ZA,1997
Insecta	Coleoptera	Curculionidae	*Protostrophus perditor*	ground weevil	friut	No	Yes	IHSfrom ZA,1997
Insecta	Coleoptera	Curculionidae	*Protostrophus spinicollis*	ground weevil	friut	No	Yes	IHSfrom ZA,1997
Insecta	Coleoptera	Curculionidae	*Protostrophus sulcatifrons*	weevil	friut	No	Yes	IHSfrom ZA,1997
Insecta	Coleoptera	Curculionidae	*Protostrophus terrenus*	snout beetle	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Pseudococcidae	*Pseudococcus calceolariae*	scarlet mealybug	fruit, root, stem inflorescence, leaf	No	Yes	CABI, 2012; DOA,2006

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Hemiptera	Pseudococcidae	*Pseudococcus longispinus*	long-tailed mealybug	fruit, leaf, stem, growingpoint, inflorescence,	No	Yes	CABI, 2012; DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Pseudococcidae	*Pseudococcus comstocki*	Comstock mealybug	fruit, leaf, stem, whole plant	Yes	No	CABI, 2007
Insecta	Hemiptera	Pseudococcidae	*Pseudococcus jackbeardsleyi*	Jack Beardsley mealybug	fruit, leaf	Yes	No	CABI, 2007
Insecta	Diptera	Stratiomyidae	*Ptecticus cingulatus*			Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Pulvinaria aethiopica*	solf green scale		No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Pulvinaria psidii*	green shield scale	fruit, leaf, stem, inflorescence, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2012; DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Pseudococcidae	*Rastrococcus invadens*	mango mealybug	fruit, leaf,stem, inflorescence, whole plant	Yes	No	CABI, 2007
Insecta	Hemiptera	Aphididae	*Rhopalosiphum maidis*	green corn aphid	leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2007; IHSfrom ZA,1997; Waterhouse,1993

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Hemiptera	Pentatomidae	*Rhynchocoris poseidon*	spined fruit bug	fruit, leaf	Yes	No	พิสุทธิ์,2553; CABI, 2007 Waterhouse,1993;
Insecta	Lepidoptera	Geometridae	*Sabulodes aegrotata*	omnivorous looper		Yes	No	CABI, 2007
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Saissetia coffeae*	hemispherical scale	leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; Waterhouse,1993
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Saissetia jocunda*	black scale	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Saissetia miranda*	black scale	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Saissetia neglecta*	black scale	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Saissetia obsolescens*	black scale	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Saissetia oleae*	olive scale	leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2012; DOA,2006; Smith et al., 1997
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Saissetia privigna*	black scale	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Coccidae	*Saissetia somereni*	black scale	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Cossidae	*Salagena obsolescens*	bark borer	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Cossidae	*Salagena transversa*	bark borer	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Orthoptera	Acrididae	*Schistocerca gregaria*	desert locust	fruit, growing point leaf, stem, inflorescence, **seed,** whole plant	No	Yes	CABI, 2007

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Coleoptera	Curculionidae	*Sciobius granosus*	citrus snout beetle	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Thysanoptera	Thripidae	*Scirtothrips aurantii*	South African citrus thrips	fruit, growing point leaf, **seed**	No	Yes	CABI, 2012; DOA,2006; EPPO,2012
Insecta	Thysanoptera	Thripidae	*Scirtothrips dorsalis*	chilli thrips	inflorescence, leaf, whole plant	Yes	No	พิสุทธิ์,2553; CABI, 2007 EPPO,2012; Poonchais 2001; Wongsiri,1991;
Insecta	Hemiptera	Coccoidae	*Selenaspidus articulatus*	rufous scale	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Serrodes partita*	fruit piercing moth	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera		*Siphoninus phillyreae*	ash whitefly	fruit, leaf, stem inflorescence	No	Yes	CABI,2012
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Spodoptera eridania*	southern armyworm	fruit, leaf	No	Yes	CABI, 2012
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Spodoptera exigua*	beet armyworm	fruit, inflorescence, leaf	Yes	Yes	CABI, 2007; Waterhouse,1993; Wongsiri, 1991
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Spodoptera littoralis*	cotton leafworm	fruit	No	Yes	DOA,2006

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Spodoptera litura*	taro caterpillar	leaf	Yes	Yes	พิสุทธิ์,2553; CABI, 2007 Waterhouse,1993; Wongsiri, 1991;
Insecta	Hymenoptera	Formicidae	*Technomyrmex albipes*	brown ant	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Pentatomidae	*Tessaratoma papillosa*	litchi stink bug	fruit, inflorescence, stem	Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Insecta	Lepidoptera	Tortricidae	*Thaumatotibia leucotreta*	false codling moth	fruit, leaf, **seed**	No	Yes	CABI, 2012; EPPO,2012
Insecta	Hemiptera	Cicadellidae	*Theronopus lobatus*	leaf hopper	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Cicadellidae	*Theronopus loratus*	leaf hopper	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Limacodidae	*Thosea sinensis*	assam nettle, grub	**seed**	Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Insecta	Thysanoptera	Thripidae	*Thrips flavus*	honeysuckle thrips	fruit, growing point leaf, **seed**, whole plant	Yes	No	CABI, 2007; Poonchaisri, 2001; Waterhouse,1993

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Thysanoptera	Thripidae	*Thrips hawaiiensis*	Hawaiian flower thrips	fruit, leaf inflorescence	Yes	No	CABI, 2007; Poonchaisri, 2001; Waterhouse,1993; Wongsiri, 1991
Insecta	Thysanoptera	Thripidae	*Thrips palmi*	melon thrips	fruit, leaf	Yes	No	CABI, 2007; EPPO,2012 Poonchaisri, 2001; Waterhouse,1993
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Tiracola plagiata*	plague caterpillar	friut	Yes	No	CABI, 2007; EPPO,2012 Waterhouse,1993
Insecta	Lepidoptera	Torticidae	*Tortrix capensana*	fruit piercing moth	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Torticidae	*Tortrix occidentalis*	fruit piercing moth	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Hemiptera	Aphididae	*Toxoptera aurantii*	camellia aphid	inflorescence, leaf	Yes	Yes	พิสุทธิ์,2553; CABI, 2012 DOA,2006; Smith et al 1997; Waterhouse,1993; Wongsiri, 1991

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Hemiptera	Aphididae	*Toxoptera citricida*	black citrus aphid	fruit, leaf	Yes	Yes	พิสุทธิ์,2553; CABI, 2012 DOA,2006; Smith et al 1997; Waterhouse,1993; Wongsiri, 1991
Insecta	Hemiptera	Aphididae	*Toxoptera citricidus*	brown citrus aphid		Yes	Yes	EPPO,2012; Waterhouse,1993
Insecta	Coleoptera	Cerambycidae	*Tragocephala formosa*	longicorn beetle	fruit	No	Yes	DOA,2006
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Trichoplusia ni*	cabbage looper	leaf, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; Waterhouse,1993; Wongsiri, 1991
Insecta	Hemiptera	Triozidae	*Trioza erytreae*	citrus psylla	fruit, leaf, whole plant	No	Yes	CABI,2012; DOA,2006; EPPO,2012
Insecta	Coleoptera	Scolytidae	*Xyleborus perforans*	island pinhole borer	whole plant	Yes	No	CABI, 2007
Insecta	Coleoptera	Scolytidae	*Xyleborus volvulus*		fruit, stem, inflorescence, leaf, root, **seed,**	Yes	Yes	CABI, 2007

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Lepidoptera	Cossidae	*Zeuzera coffeae*	red twig borer	growingpoint, whole plant	Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Insecta	Orthoptera	Pyrgomorphidae	*Zonocerus elegans*	elegant grasshopper	fruit, stem, inflorescence, whole plant	No	Yes	CABI, 2012; DOA,2006
MITES AND SPIDERS								
Arachnida		Eriophyidae	*Aceria sheldoni*	citrus bud mite	bud, fruit	No	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; EPPO,2012
Arachnida		Tetranychidae	*Aplonobia honiballi*		fruit	No	Yes	DOA,2006
Arachnida		Tenuipalpidae	*Brevipalpus californicus*	citrus flat mite	fruit, leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2012; Charanasri *et al*., 1996; DOA,2006 Edward,1975; EPPO, 2012
Arachnida		Tenuipalpidae	*Brevipalpus obovatus*	scarlet tea mite	fruit, leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2012; DOA,2006; Edward,1975
Arachnida		Tenuipalpidae	*Brevipalpus phoenicis*	false spider mite	leaf, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2012; DOA,2006; Edward,1975
Arachnida		Eriophyidae	*Calacarus citrifolii*	citrus gray mite	fruit	No	Yes	DOA,2006

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Arachnida			*Colomerus vitis*	grape erineum mite	Growing point, leaf	No	Yes	CABI,2012
Arachnida		Tetranychidae	*Eotetranychus lewisi*	lewis spider mite		No	Yes	EPPO,2012
Arachnida		Tetranychidae	*Eutetranychus africanus*	citrus brown mite	leaf	Yes	Yes	พิสุทธิ์,2553; CABI, 2007 DOA,2006;
Arachnida		Tetranychidae	*Eutetranychus cendanai*	citrus yellow mite	leaf	Yes	No	พิสุทธิ์,2553; Edward,1975
Arachnida		Tetranychidae	*Eutetranychus orientalis*	citrus brown mite	leaf	Yes	Yes	CABI, 2012; DOA,2006; Edward,1975; EPPO,2012
Arachnida		Tetranychidae	*Oligonychus coffeae*	tea red spider mite	leaf	Yes	Yes	CABI, 2007; Edward,1975
Arachnida		Tetranychidae	*Panonychus citri*	citrus red mite	fruit, leaf, stem, whole plant	No	Yes	CABI, 2012; DOA,2006
Arachnida		Tetranychidae	*Panonychus ulmi*	European red spider mite	leaf	No	Yes	CABI, 2012
Arachnida		Eriophyidae	*Phyllocoptruta oleivora*	citrus rust mite	fruit, leaf, stem	Yes	Yes	พิสุทธิ์,2553; CABI, 2012; DOA,2006;

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Arachnida		Tarsonemidae	*Polyphagotarsonemus latus*	broad mite	fruit, inflorescence, leaf, stem, whole plant	Yes	Yes	พิสุทธิ์,2553; CABI, 2007; Charanasri et al., 2001; DOA,2006; Smith *et al*., 1997
Arachnida		Tenuipalpidae	*Tenuipalpus emeticae*		fruit	No	Yes	DOA,2006
Arachnida		Tetranychidae	*Tetranychus cinnabarinus*	carmine spider mite	leaf	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006
Arachnida		Tetranychidae	*Tetranychus fijiensis*			Yes	No	EPPO,2012
Arachnida		Tetranychidae	*Tetranychus kanzawai*	kanzawa spider mite	leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006
Arachnida		Tetranychidae	*Tetranychus urticae*	two-spotted spider mite	leaf	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; IHSfrom ZA,1997; Smith *et al*., 1997
Nematode			*Criconemella* spp.	ring nematode	friut, root	Yes	Yes	CABI, 2007
Nematode		Anguinidae	*Ditylenchus destructor*	potato tuber nematode	leaf, root	No	Yes	CABI, 2007
Nematode		Hoplolaimidae	*Helicotylenchus dihystera*	common spiral nematode	leaf, root, whole plant	Yes	No	CABI, 2007

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Nematode		Hoplolaimidae	*Helicotylenchus multicinctus*	banana spiral nematode	root, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007
Nematode		Criconematidae	*Hemicriconemoides mangiferae*		fruit, leaf, root	Yes	Yes	CABI, 2012
Nematode		Hoplolaimidae	*Hoplolaimus pararobustus*	lance nematode	root	No	Yes	CABI, 2007
Nematode		Longidoridae	*Longidorus*	longidorids	leaf, root, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007
Nematode		Trichodoridae	*Paratrichodorus porosus*		fruit, leaf, root, stem, whole plant	No	Yes	CABI, 2012
Nematode		Pratylenchidae	*Pratylenchus brachyurus*	root-lesion nematode	leaf, root, seed, stem, whole plant	No	Yes	CABI, 2012
Nematode		Pratylenchidae	*Pratylenchus coffeae*	banana root nematode	leaf, root, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007; Sontirat *et al.*, 1994
Nematode		Pratylenchidae	*Pratylenchus penetrans*	nematode, northern root lesion	leaf, root, whole plant	No	Yes	CABI, 2007
Nematode		Pratylenchidae	*Radopholus similis*	burrowing nematode	leaf, root, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Nematode		Hoplolaimidae	*Rotylenchulus parvus*	reniform nematode	leaf, root, stem, whole plant	No	Yes	CABI, 2012
Nematode		Hoplolaimidae	*Rotylenchulus reniformis*	reniform nematode	leaf, root, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007; EPPO,2012
Nematode		Hoplolaimidae	*Scutellonema brachyurus*		leaf, root	Yes	Yes	CABI, 2007
Nematode		Hoplolaimidae	*Scutellonema clathricaudatum*		leaf, root, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007
Nematode			*Trichodorus* spp.	stubby root nematodes	leaf, root, whole plant	No	Yes	CABI, 2007
Nematode		Dolichodoridae	*Tylenchorhynchus claytoni*	stunt nematode	root	No	Yes	CABI, 2007
Nematode		Tylenchulidae	*Tylenchulus semipenetrans*	citrus root nematode	leaf, root	Yes	Yes	CABI, 2012; EPPO,2012; Sontirat, 1995
Nematode		Xiphinematidae	*Xiphinema index*	fan-leaf virus nematode	root	No	Yes	CABI, 2007
SNAILS AND SLUGS								
Gastropoda		Helicidae	*Helix aspersa*	common snail	fruit, leaf, root, inflorescence, **seed**, stem, whple plant	No	Yes	CABI, 2007; IFAS,2012

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Gastropoda		Helicidae	*Theba pisana*	white garden snail		No	Yes	CABI, 2007; EPPO,2012
FUNGI								
fungi			*Alternaria alternata*	alternaria leaf spot	fruit, leaf, **seed**	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; IHSfrom ZA,1997; Sontirat,1994
fungi			*Alternaria brassicae*	dark spot of crucifers	fruit, leaf, inflorescence, **seed**, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007; Sontirat,1994
fungi			*Alternaria citri*	stalk end rot	fruit, leaf	No	Yes	CABI, 2012; DOA,2006
fungi	Agaricales	Marasmiaceae	*Armillaria mellea*	armillaria root rot	fruit, leaf, root, **seed**, stem	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; Sontirat,1994
fungi			*Antennella citri*	sooty mold	fruit, leaf, stem	Yes	No	พิสุทธิ์,2553
fungi			*Aspergillus flavus*	storage rot	**seed**	Yes	Yes	CABI,2007; IHSfrom ZA,1997

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
fungi			*Aspergillus niger*	collar rot	fruit, leaf, root, inflorescence, **seed**, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; IHSfrom ZA,1997; Sontirat,1994
fungi	Polyporales	Corticiaceae	*Athelia rolfsii (anamorph Sclerotium rolfsii)*	root rot, cob rot	Fruits/pods, leaf, inflorescence, root **seeds**, stems, vegetative organs and whole plant	Yes	Yes	CABI,2007; IHSfrom ZA,1997
fungi	Dothideales	Botryosphaeriaceae	*Botryosphaeria ribis*	canker: apple	fruit, leaf, stem, inflorescence, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; Sontirat,1994
fungi	Helotiales	Sclerotiniaceae	*Botryotinia fuckeliana (anamorph Botrytis cinerea)*	grey mould-rot	leaf, stem	No	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; IHSfrom ZA,1997
fungi			*Capnodium citri*	sooty mold	fruit, leaf, stem	Yes	No	พิสุทธิ์,2553
fungi			*Capnodium salicinum*	sooty mold	fruit	No	Yes	DOA,2006
fungi	Microascales	Ceratocystidaceae	*Ceratocystis fimbriata*	Ceratocystis blight	fruit, leaf, root, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; Sontirat,1994

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
fungi			*Cercospora angolensis*	leaf spot of citrus	fruit	Yes	Yes	DOA,2006
fungi			*Cercospora citri*	greasy melanosa	leaf	Yes	No	พิสุทธิ์,2553
fungi			*Chalara elegans* Syn =*Thielaviopsis basicola*	black root rot	fruit, leaf, root, whole plant	No	Yes	CABI, 2007
fungi	Pleosporales	Pleosporaceae	*Cochliobolus heterostrophus (anamorph Bipolaris maydis)*	southern leaf blight	Inflorescence, leaf, **seeds** and stems	Yes	Yes	CABI,2007; IHSfrom ZA,1997
fungi	Pleosporales	Pleosporaceae	*Cochliobolus lunatus* Syn= *Curvularia lunata*	head mould of grasses, rice and sorghum	inflorescence, leaf, **seed**	Yes	Yes	CABI, 2007; Sontirat,1994
fungi			*Colletotrichum acutatum*	black spot of strawberry	(Post harvest) fruit, leaf, root, stem	Yes	Yes	DOA,2006; Sontirat,1994
fungi		Glomerellaceae	*Colletotrichum graminicola*	anthracnose	Inflorescence, leaf, **seeds**, stems	Yes	Yes	CABI,2007; IHSfrom ZA,1997
fungi	Polyporales	Corticiaceae	*Corticium rolfsii* Syn=*Sclerotium rolfsii*	sclerotium rot	fruit, leaf, root, inflorescence, **seed**, stem,	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; Sontirat,1994

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
					whole plant			
fungi	Corticiaceae	Corticiaceae	*Corticium salmonicolor*	damping off	leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; Sontirat,1994
fungi	Diaporthales	Valsaceae	*Diaporthe citri*	melanose of Citrus	fruit, leaf, stem	Yes	Yes	พิสุทธิ์,2553; CABI, 2012 EPPO,2012; Sontirat,1994;
fungi			*Diplodia maydis*	ear rot of maize	Inflorescence, leaf, roots, stems **seeds** and whole plant	Yes	Yes	CABI,2007; IHSfrom ZA,1997
fungi			*Diplodia natalensis*	stem-end rot	fruit, stem	Yes	No	พิสุทธิ์,2553
fungi	Myriangiales	Elsinoaceae	*Elsino‰e fawcettii*	citrus scab	fruit, leaf, stem, inflorescence,	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; EPPO,2012; Sontirat,1994
fungi		Corticiaceae	*Erythricium salmonicolor*	pink disease of citrus		Yes	Yes	EPPO,2012
fungi	Xylariales	Diatrypaceae	*Eutypa lata*	Eutypa dieback	fruit, leaf, stem, inflorescence, whole plant	No	Yes	CABI, 2007

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
fungi	Hypocreales		*Fusarium oxysporum*	basal rot	fruit, leaf, stem	Yes	Yes	CABI, 2007; IHSfrom ZA,1997; Sontirat,1994
fungi	Hypocreales		*Fusarium solani*	fusarium rot	fruit, leaf, stem	Yes	Yes	DOA,2006; Sontirat,1994
fungi	Polyporales	Ganodermataceae	*Ganoderma lucidum*	basal stem rot: Hevea spp.	growing point, leaf, root, stem, whole plant	Yes	No	
fungi			*Geotrichum candidum var. citrus-aurantii*	fusarium rot	fruit	Yes	Yes	DOA,2006; พิสุทธิ์,2553
fungi			*Gibberella acuminata (anamorph Fusarium acuminatum)*	root rot	fruit	No	Yes	CABI,2007; IHSfrom ZA,1997
fungi			*Gibberella avenacea (anamorph Fusarium avenaceum)*	fusarium rot	fruit	Yes	Yes	IHSfrom ZA,1997; Sontirat,1994
fungi	Hypocreales	Nectriaceae	*Gibberella intricans (anamorph Fusarium equiseti)*	damping-off of safflower	fruit	No	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; IHSfrom ZA,1997
Fungi	Hypocreales		*Gibberella fujikuroi (anamorph Fusarium*	ear rot	fruit	Yes	Yes	IHSfrom ZA,1997; Sontirat,1994

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
			fujikuroi)					
Fungi	Hypocreales		*Gibberella fujikuroi var. subglutinans (anamorph Fusarium fujikuroi var. subglutinans*	gibberella ear rot	fruit	No	Yes	IHSfrom ZA,1997
Fungi	Hypocreales	Nectriaceae	*Gibberella zeae (anamorph Fusarium graminearum)*	red ear rot	fruit	Yes	Yes	IHSfrom ZA,1997; Sontirat,1994
fungi		Glomerellaceae	*Glomerella cingulata*	anthracnose	fruit, leaf, stem, inflorescence	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; Sontirat,1994
fungi	Dothideales	Botryosphaeriaceae	*Guignardia citricarpa*	citrus black spot	fruit, leaf, stem	Yes	Yes	CABI,2012; DOA,2006; EPPO,2012
Fungi			*Khuskia oryzae (anamorph Nigrospora oryzae)*	cob rot of maize	**seed**	No	Yes	CABI,2012; IHSfram ZA, 1997

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
fungi			*Lasiodiplodia theobromae*	diplodia pod rot of cocoa	fruit, growing point leaf, root, stem inflorescence, **seed**,	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; Sontirat,1994
fungi			*Macrophomina phaseolina*	charcoal rot of bean/tobacco	leaf, root, **seed**, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; IHSfrom ZA,1997; Sontirat,1994
fungi			*Meliola citrocolor*	sooty mold	fruit, leaf, stem	Yes	No	พิสุทธิ์,2553
fungi			*Mycosphaerelle citri*	greasy melanosa	leaf	Yes	No	พิสุทธิ์,2553
fungi			*Mycosphaerelle horii*	greasy melanosa	leaf	Yes	No	พิสุทธิ์,2553
fungi			*Mycosphaerelle tassiana*	black leaf spot	fruit, leaf	No	Yes	DOA,2006
fungi	Hypocreales	Nectriaceae	*Nectria haematococca (anamorph Fusarium solani)*	dry rot of potato	leaf, root, stem, whole plant	No	Yes	CABI, 2007; IHSfrom ZA,1997
fungi	Saccharomycetales	Eremotheciaceae	*Nematospora coryli*	yeast spot of beans	fruit	No	Yes	CABI, 2007; DOA,2006
fungi			*Oidium sp.*	powdery mildew	leaf	Yes	No	พิสุทธิ์,2553

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
fungi	Eurotiales		*Penicillium digitatum*	green mould	fruit	No	Yes	CABI, 2012; DOA,2006
fungi	Eurotiales		*Penicillium expansum*	blue mould	fruit	No	Yes	CABI,2007; IHSfrom ZA,1997
fungi	Eurotiales		*Penicillium italicum*	blue mould	fruit	No	Yes	CABI, 2012; DOA,2006
fungi			*Phomopsis citri*	gummosis		Yes	Yes	พิสุทธิ์,2553; DOA,2006; Sontirat,1994;
fungi	Blastocladiales	Physodermataceae	*Physoderma maydis*	brown spot	Inflorescence, leaf, stems and whole plant	Yes	Yes	CABI,2007; IHSfrom ZA,1997; Sontirat,1994
fungi	Pythiales	Pythiaceae	*Phytophthora cactorum*	apple collar rot	fruit, leaf, root, stem	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; Sontirat,1994
fungi	Pythiales	Pythiaceae	*Phytophthora capsici*	stem and fruit rot of Capsicum	fruit, stem	Yes	Yes	CABI, 2007; Sontirat,1994
fungi	Pythiales	Pythiaceae	*Phytophthora citrophthora*	brown rot of citrus fruit	fruit, leaf, root, stem	Yes	Yes	CABI, 2012
fungi	Pythiales	Pythiaceae	*Phytophthora cryptogea*	tomato foot rot	leaf, root,stem, whole plant	No	Yes	CABI, 2007; DOA,2006

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
fungi	Pythiales	Pythiaceae	*Phytophthora nicotianae*	black shank	fruit, leaf, root, stem	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; Sontirat,1994
fungi	Pythiales	Pythiaceae	*Phytophthora palmivora*	coconut budrot	fruit, inflorescence, leaf, root, stem, whole plant	Yes	No	CABI, 2007; Sontirat,1994
fungi	Pythiales	Pythiaceae	*Phytophthora paracitica*	root rot	fruit, leaf, root, inflorescence, stem, whole plant	Yes	No	พิสุทธิ์,2553
fungi			*Pseudocercospora angolensis*	leaf spot of Citrus spp.	fruit, leaf, stem, inflorescence,	No	Yes	CABI,2012
fungi	Saprolegniales		*Pythium debaryanum*	damping-off	whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; Sontirat,1994
fungi	Saprolegniales		*Pythium splendens*	blast of oil palm	leaf, root, **seed**, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; IHSfrom ZA,1997; Sontirat,1994

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
fungi	Saprolegniales		*Pythium vexans*	damping off	fruit, leaf, root, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; Sontirat,1994
fungi			*Puccinia sorghi (anamorph Aecidium oxalidis)*	maize rust	Fruits/pods, inflorescence, leaf and stems	Yes	Yes	CABI,2007; IHSfrom ZA,1997
fungi	Mucorales	Mucoraceae	*Rhizopus stolonifer*	bulb rot		No	Yes	IHSfrom ZA,1997
fungi	Xylariales	Xylarialceae	*Rosellinia necatrix*	dematophora root rot	leaf, root, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007; Sontirat,1994
fungi	Helotiales	Sclerotiniaceae	*Sclerotinia sclerotiorum*	cottony soft rot	fruit, leaf, root, inflorescence, **seed**, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; Sontirat,1994
fungi			*Setosphaeria turcica (anamorph Exserohilum turcicum)*	northern corn leaf	Leaf, roots and whole plant	Yes	Yes	CABI,2007; IHSfrom ZA,1997
fungi			*Sphaceloma fawcetti*	scap	fruit, leaf	Yes	No	พิสุทธิ์,2553
fungi			*Stomiopeltis citri*	sooty blotch	fruit	No	Yes	DOA,2006

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
fungi	Ceratobasidiales	Ceratobasidiaceae	*Thanatephorus cucumeris (anamorph Rhizoctonia solani)*	many names, depending on host	fruit, growing point, leaf, root, **seed**, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; IHSfrom ZA,1997; Sontirat,1994
fungi	Hypocreales	Hypocreaceae	*Trichoderma viride*	root, seed and stalk rot	**seed**	No	Yes	IHSfrom ZA,1997
BACTERIA								
Bacteria			*Candidatus Liberibacter asiaticus*	Asian greening	fruit, growing point, leaf, root, **seed**, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007; 2012; EPPO,2012
Bacteria			*Candidatus libertobacter africanum* sym. *Liberibacter africanus*	greening disease	fruit, growing point, leaf, root, **seed**, stem, whole plant	No	Yes	CABI,2012; DOA,2006; EPPO,2012
Bacteria			*citrus huanglongbing*	greening disease	fruit, growing point leaf, root, **seed**, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2012
Bacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	*Pantoea agglomerans*	bacterial grapevine blight	fruit	Yes	Yes	CABI, 2007

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Bacteria			*Pseudomonas syringae*	bacterial canker or blast	fruit, growing point leaf, root, **seed**, stem, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2007; 2012; DOA,2006; Sontirat,1994
Bacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	*Rhizobium radiobacter*	crown gall	fruit, root, stem, whole plant	No	Yes	CABI, 2007
Bacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	*Rhizobium rhizogenes*	gall	fruit, root, stem, whole plant	No	Yes	CABI, 2007
Bacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*	citrus canker	fruit, leaf, stem	Yes	Yes	DOA,2006; CABI, 2012; EPPO,2012
Bacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	*Xanthomonas campestris*	black rot of crucifers	leaf	Yes	No	CABI, 2007; Sontirat,1994
Bacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	*Xanthomonas campestris pv. citri*	canker	fruit, leaf, stem	Yes	No	พิสุทธิ์,2553
VIRUSES								
Virus		Flexiviridae	*Apple stem grooving virus* Or *Citrus tatter leaf virus*	yellow ring of citrus	fruit, leaf, stem, whole plant, **seed**	No	Yes	CABI, 2012
Virus			*Citrus blight agent*	blight citrus virus	fruit, leaf, stem	No	Yes	EPPO,2012
Virus		Pospiviroidae	*Citrus cachexia viroid*	citrus xyloporosis	leaf	No	Yes	CABI, 2007

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Virus		Pospiviroidae	*Citrus exocortis viroid*	citrus exocortis	fruit, growing point leaf, stem, inflorescence, whole plant	Yes	Yes	CABI, 2012; DOA,2006; EPPO,2012
Virus			*Citrus impietratura disease*	impietratura	fruit	No	Yes	CABI,2012; DOA,2006
Virus		Rhabdoviridae	*Citrus leprosis virus*	leprosis of citrus	fruit, growing point, leaf, stem, whole plant	No	Yes	CABI, 2012; DOA,2006
Virus		OPhioviridae	*Citrus psorosis* A	citrus ring spot	Fruit , **seed**	No	Yes	Campiglia *et al*.,1976
Virus		OPhioviridae	*Citrus psorosis* B	citrus ring spot	fruit	No	Yes	DOA,2006
Virus			*Citrus ringspot virus*	citrus ring spot	leaf	No	Yes	EPPO,2012
Virus			*Citrus tatter leaf virus*	yellow ring of citrus	leaf, **seed**	No	Yes	CABI,2012; EPPO,2012
Virus			*Citrus tetter leaf virus*	teter leaf disease	fruit	No	Yes	DOA,2006
Virus		Closteroviridae	*Citrus tristeza virus*	grapefruit stem pitting	fruit, leaf, root, stem	Yes	Yes	พิสุทธิ์,2553; CABI, 2012; EPPO,2012;
Virus			*Citrus vein enation virus*	citrus woody gall	leaf, stem	No	Yes	CABI, 2007; DOA,2006; EPPO,2012

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Virus		Pospiviroidae	*Hop stunt viroid*	Xyloporosis of citrus	leaf	Yes	Yes	EPPO,2012; Reanwarakorn,2005
PLANTS								
Plant	Asterales	Asteraceae	*Acanthospermum hispidum*	bristly starbur		Yes	Yes	CABI, 2007
Plant	Asterales	Asteraceae	*Ageratum conyzoides*	billy goat weed		Yes	Yes	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Plant	Fabales	Fabaceae	*Alhagi maurorum*	camelthorn		No	Yes	CABI, 2007
Plant	Caryophyllales	Amaranthaceae	*Amaranthus blitum*	livid amaranth		Yes	Yes	CABI, 2007
Plant	Caryophyllales	Amaranthaceae	*Amaranthus retroflexus*	redroot pigweed		No	Yes	CABI, 2007
Plant	Cyperales	Poaceae	*Axonopus compressus*	carpet grass		Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Plant	Asterales	Asteraceae	*Bidens pilosa*	blackjack		Yes	Yes	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Plant	Cyperales	Poaceae	*Cenchrus echinatus*	southern sandbur		Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Plant	Caryophyllales	Chenopodiaceae	*Chenopodium album*	fat hen		No	Yes	CABI, 2007
Plant	Asterales	Asteraceae	*Cirsium vulgare*	spear thistle		No	Yes	CABI, 2007

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Plant	Commelinales	Commelinaceae	*Commelina benghalensis*	wandering jew		Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Plant	Commelinales	Commelinaceae	*Commelina diffusa*	spreading dayflower		Yes	No	CABI, 2007
Plant	Asterales	Asteraceae	*Crassocephalum crepidioides*	phak pet maeo		Yes	No	CABI, 2007
Plant	Cyperales	Poaceae	*Cynodon dactylon*	Bermuda grass		Yes	Yes	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Plant	Cyperales	Cyperceae	*Cyperus rotundus*	purple nutsedge		Yes	Yes	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Plant	Cyperales	Poaceae	*Dactyloctenium aegyptium*	crowfoot grass		Yes	Yes	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Plant	Cyperales	Poaceae	*Echinochloa crus-galli*	barnyard grass		Yes	Yes	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Plant	Polygonales	Polygonaceae	*Emex australis*	Doublegee		No	Yes	CABI, 2012
Plant	Asterales	Asteraceae	*Emilia sonchifolia*	red tasselflower		Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Plant	Euphorbiales	Euphorbiaceae	*Euphorbia helioscopia*	sun spurge		No	Yes	CABI, 2007

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Plant	Euphorbiales	Euphorbiaceae	*Euphorbia hirta*	garden spurge		Yes	Yes	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Plant	Papaverales	Papaveraceae	*Fumaria officinalis*	common fumitory		No	Yes	CABI, 2007
Plant	Asterales	Asteraceae	*Galinsoga parviflora*	gallant soldier		Yes	Yes	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Plant	Boraginales	Boraginaceae	*Heliotropium europaeum*	common heliotrope		No	Yes	CABI, 2007
Plant	Cyperales	Poaceae	*Imperata cylindrica*	satintail		Yes	Yes	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Plant	Solanales	Convolvulaceae	*Ipomoea triloba*	three-lobe morning glory		Yes	Yes	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Plant	Cyperales	Cyperceae	*Kyllinga brevifolia*	green kyllinga		Yes	No	CABI, 2007
Plant	Capparales	Brassicaceae	*Lepidium draba*	hoary cress		No	Yes	CABI, 2007
Plant	Cyperales	Poaceae	*Lolium multiflorum*	Italian ryegrass		No	Yes	CABI, 2007
Plant	Fabales	Fabaceae	*Mimosa diplotricha*	giant sensitive plant		Yes	Yes	CABI, 2007
Plant	Fabales	Fabaceae	*Mimosa pudica*	sensitive plant		Yes	No	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Plant	Violales	Cucurbitaceae	*Momordica charantia*	bitter gourd		Yes	No	CABI, 2007

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Plant	Commelinales	Commelinaceae	*Murdannia nudiflora*	doveweed		Yes	Yes	CABI, 2012; Waterhouse,1993
Plant	Geraniales	Oxalidaceae	*Oxalis corniculata*	creeping woodsorrel		Yes	Yes	CABI, 2012
Plant	Cyperales	Poaceae	*Panicum maximum*	Guinea grass		Yes	Yes	CABI, 2007
Plant	Cyperales	Poaceae	*Panicum repens*	torpedo grass		Yes	Yes	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Plant	Asterales	Asteraceae	*Parthenium hysterophorus*	Parthenium weed		No	Yes	CABI, 2007
Plant	Cyperales	Poaceae	*Pennisetum purpureum*	elephant grass		Yes	No	CABI, 2012; Waterhouse,1993
Plant	Euphorbiales	Euphorbiaceae	*Phyllanthus urinaria*	leafflower		Yes	No	CABI, 2007
Plant	Scrophulariales	Plantaginaceae	*Plantago lanceolata*	ribwort plantain		No	Yes	CABI, 2007
Plant	Polygonales	Polygonaceae	*Polygonum aviculare*	prostrate knotweed		No	Yes	CABI, 2007
Plant	Gentianales	Rubiaceae	*Richardia brasiliensis*	white-eye		Yes	Yes	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Plant	Cyperales	Poaceae	*Rottboellia cochinchinensis*	itch grass		Yes	Yes	CABI, 2007; Waterhouse,1993

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Plant	Fabales	Fabaceae	*Senna obtusifolia*	sicklepod		Yes	Yes	CABI, 2007
Plant	Fabales	Fabaceae	*Sesbania punicea*	red sesbania		No	Yes	CABI,2012
Plant	Cyperales	Poaceae	*Setaria parviflora*	knotroot foxtail		Yes	Yes	CABI, 2012; Waterhouse,1993
Plant	Cyperales	Poaceae	*Setaria pumila*	yellow foxtail		Yes	Yes	CABI, 2007
Plant	Solanales	Solanaceae	*Solanum nigrum*	black nightshade		Yes	Yes	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Plant	Cyperales	Poaceae	*Sorghum halepense*	Johnson grass		Yes	Yes	CABI, 2007
Plant	Lamiales	Verbenaceae	*Stachytarpheta jamaicensis*	Jamaica vervain		Yes	Yes	CABI, 2012
Plant	Caryophyllales	Caryophyllaceae	*Stellaria media*	common chickweed		No	Yes	CABI, 2007
Plant	Geraniales	Zygophyllaceae	*Tribulus terrestris*	puncture vine		Yes	Yes	CABI, 2007
Plant	Asterales	Asteraceae	*Tridax procumbens*	coat buttons		Yes	Yes	CABI, 2007; Waterhouse,1993
Plant	Urticales	Urticaceae	*Urtica urens*	annual nettle		No	Yes	CABI, 2007

Table 1. Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) in Thailand and South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
UNKNOWN AETIOLOGY								
			Citrus blight disease	citrus blight	fruit, growing point, leaf, root, stem, whole plant	No	Yes	CABI, 2012
NOT SPECIFIED								
			Otala lactea	milk snail				

Table 2 Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) seed in Thailand but absent in South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
INSECTS								
Insecta	Orthoptera	Acrididae	*Acanthacris ruficornis*		leaf, **seed**	No	Yes	CABI, 2012
Insecta	Hemiptera	Aleyrodidae	*Aleurothrixus floccosus*	whitefly	fruit, inflorescence, leaf, **seed**, stem	No	Yes	CABI,2012; EPPO,2012
Insecta	Coleoptera	Tenebrionidae	*Gonocephalum simplex*	dusty surface weevil	Fruits/pods, growin points, leaf, **seeds** stems, whole plan	No	Yes	CABI,2007; IHSfrom ZA,1997

Table 2 Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) seed in Thailand but absent in South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
Insecta	Thysanoptera	Thripidae	*Limothrips cerealium*	corn, thrips	**seed**	No	Yes	CABI, 2012; CSIRO,2009
Insecta	Orthoptera	Acrididae	*Nomadacris septemfasciata*	red locust	fruit, leaf, inflorescence, **seed**, stem, whole plant	No	Yes	CABI, 2012; DOA ZA,1998
Insecta	Orthoptera	Acrididae	*Schistocerca gregaria*	desert locust	fruit, growing point, inflorescence, leaf, **seed,** stem, whole plant	No	Yes	CABI, 2007
Insecta	Thysanoptera	Thripidae	*Scirtothrips aurantii*	South African citrus thrips	fruit, growing point, leaf, **seed**	No	Yes	CABI, 2012; DOA,2006; EPPO,2012
Insecta	Lepidoptera	Tortricidae	*Thaumatotibia leucotreta*	false codling moth	fruit, leaf, **seed**	No	Yes	CABI, 2012; EPPO,2012
Insecta	Orthoptera	Pyrgomorphidae	*Zonocerus elegans*	elegant grasshopper	fruit, inflorescence, leaf,**seed,** stem, whole plant	No	Yes	CABI, 2012; DOA,2006

Table 2 Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) seed in Thailand but absent in South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
SNAILS AND SLUGS								
Gastropoda		Helicidae	*Helix aspersa*	common snail	fruit, inflorescence, leaf, root, **seed**, stem, whple plant	No	Yes	CABI, 2007; IFAS,2012
FUNGI								
Fungi			*Khuskia oryzae (anamorph Nigrospora oryzae)*	cob rot of maize	**seed**	No	Yes	CABI,2012; IHSfram ZA,1997
fungi	Hypocreales	Hypocreaceae	*Trichoderma viride*	root, seed and stalk rot	**seed**	No	Yes	IHSfrom ZA,1997
BACTERIA								
Bacteria			*Candidatus libertobacter africanum* sym. *Liberibacter africanus*	greening disease	fruit, growing point, leaf, root, **seed**, stem, whole plant	No	Yes	CABI,2012; DOA,2006; EPPO,2012

Table 2 Pest associated with Citrus (*Citrus* spp.) seed in Thailand but absent in South Africa.

Class	Order	Family	Scientific name	Common name	Plant part attacked	Geographic distribution		Reference ZA-TH
						TH	ZA	
			Xylella fastidiosa	Citrus Variegated chlorosis,Citrus blight	**Seed ?**	No	Yes	EPPO,2012
VIRUSES								
Virus			*Citrus tatter leaf virus*	yellow ring of citrus	leaf, **seed**	No	Yes	CABI,2012; EPPO,2012
			Citrus leaf blotch virus (*Citrus wood pocket virus*)	yellow ring of citrus	leaf, **seed**	No	Yes	CABI,2012; EPPO,2012
			Citrus psorosis *A, B virus*	Citrus ring spot yellow ring of citrus	fruit, **seed**	No	Yes	CABI,2012; EPPO,2012

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช ของเมล็ดพันธุ์ยาสูบนำเข้าจากบราซิล
Study on Pest Risk Analysis for the Importation of Tobacco Seed from Brazil

ปรียพรรณ พงศาพิชญ์ วรัญญา มาลี วันเพ็ญ ศรีชาติ
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์ยาสูบนำเข้าจากบราซิล มีวัตถุประสงค์เพื่อทราบชนิดศัตรูพืชกักกันและแนวทางการกำหนดมาตรการทางวิชาการด้านสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์ยาสูบนำเข้าจากบราซิล และมีขั้นตอนวิธีการดำเนินการตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช และฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม ผลการศึกษาพบว่าศัตรูของยาสูบที่มีรายงานพบในบราซิล จำนวน 130 ชนิด ชนิด ได้แก่ ไร 3 ชนิด แมลง 46 ชนิด ไส้เดือนฝอย 19 ชนิด แบคทีเรีย 13 ชนิด รา 36 ชนิด และไวรัส 13 ชนิด

ผลการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนจัดลำดับศัตรูพืช (Pest caterogorization) พบว่าศัตรูพืชที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ยาสูบนำเข้าจากบราซิลและไม่มีรายงานพบในประเทศไทยมีทั้งหมด 5 ชนิดคือ ไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* เชื้อรา *Alternaria longipes*, *Ascochyta gossypii, Peronospora hyoscyami* f.sp. *tabacina* และเชื้อไวรัส *Tobacco ringspot virus* ผลจากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชทั้ง 5 ชนิด พบว่าศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงปานกลางได้แก่ *Peronospora hyoscyami* f.sp. *tabacina* และศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงต่ำ ได้แก่ *Alternaria longipes*, *Ascochyta gossypii, Tobacco ringspot virus* และ *Ditylenchus dipsaci* มาตรการสุขอนามัยพืชเพื่อลดความเสี่ยงที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามาคือกำหนดให้มีการตรวจรับรองจากห้องปฏิบัติการว่าปราศจากศัตรูพืชกักกันทั้ง 5 ชนิดและต้องกำจัดศัตรูพืชที่อาจติดมาโดยวิธี แช่เมล็ดยาสูบที่อุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หรือ แช่ในสารละลาย 1%โซเดียมไฮโปคลอไรด์ นาน 10 นาที

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-02-01-09-55

คำนำ

พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และ พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ที่มีผลใช้บังคับตั้งแต่ 28 สิงหาคม 2551 ได้แบ่งประเภทของพืชออกเป็น 3 ชนิดคือ สิ่งต้องห้าม สิ่งกำกัด และสิ่งไม่ต้องห้าม โดยให้สิ่งต้องห้ามสามารถนำเข้ามาในราชอาณาจักรได้ตามวัตถุประสงค์ 3 ประการ คือ 1. เพื่อทำการวิจัย 2. เพื่อการค้า และ 3. เพื่อกิจการอื่น ซึ่งในการนำเข้ามาเพื่อการจะต้องยื่นขออนุญาตนำเข้า และดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชก่อนจึงจะได้รับการอนุญาตจากอธิบดีกรมวิชาการเกษตร การนำเข้าต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ที่อธิบดีกำหนด ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชและพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติ กักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 กำหนดให้พืชในวงศ์ *Solanaceae* จากทุกแหล่งเป็นสิ่งต้องห้าม ยาสูบซึ่งเป็นพืชในวงศ์ *Solanaceae* เปลี่ยนสถานภาพจากเดิมเป็นสิ่งกำกัดมาเป็นสิ่งต้องห้าม ประกอบกับประเทศบราซิลได้ยื่นขอเปิดตลาดเมล็ดยาสูบส่งออกมายังประเทศไทย จากข้อมูลศัตรูพืชของยาสูบในประเทศบราซิลมีรายงานศัตรูพืชหลายชนิดที่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทย ทั้งไวรัส เช่น *Alfalfa mosaic virus, Bean golden mosaic virus, Tobacco necrosis virus, Tobacco rattle virus, Tobacco ringspot virus, Tobacco streak virus* เชื้อรา เช่น *Peronospora hyoscyami f.sp. tabacina, Ascochyta gossypii* และเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas cichorii* เป็นต้น ศัตรูพืชเหล่านี้ มีรายงานทำความเสียหายให้กับพืชผลเกษตรของหลายๆประเทศ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เนื่องจากการนำเข้าอาจมีศัตรูพืชกักกันที่สำคัญที่สามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์ยาสูบ ศัตรูพืชเหล่านี้ยากต่อการตรวจสอบด้วยตาเปล่า และอาจจะสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย และยากต่อการกำจัดให้หมดไป หรือต้องเสียค่าใช้จ่ายในการกำจัดและมีผลต่อการส่งออก จึงจำเป็นต้องกำหนดมาตรการการนำเข้าที่สามารถจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่เหมาะสมต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช
2. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม
3. คู่มือสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ตามแนวทางของอนุสัญญาอารักขาพืชระหว่างประเทศ (IPPC: International Plant Protection Convention) (FAO, 2007)

วิธีการ

1. สืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไปของยาสูบที่ปลูกในบราซิล เช่น พันธุ์ และแหล่งปลูก เป็นต้น
2. ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชโดยใช้หลักเกณฑ์การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม และสิ่งมีชีวิตดัดแปลง

พันธุกรรม คู่มือสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ตามแนวทางของอนุสัญญาอารักขาพืชระหว่างประเทศ และแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของออสเตรเลีย ซึ่งมีขั้นตอนการวิเคราะห์ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช
(Stage 1: Initiation of Pest Risk Analysis)

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช
(Stage 2: Pest Risk Assessment)

ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช
(Stage 3: Pest risk management)

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

1.1 กำหนดจุดเริ่มต้นของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช อาจเป็นศัตรูพืช เส้นทางที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามา หรือการทบทวนโยบายของประเทศ ซึ่งเกี่ยวข้องกับทางกักกันพืช

1.2 กำหนดพื้นที่ที่จะทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

1.3 ตรวจสอบว่าเคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงโดยศัตรูพืช เส้นทางศัตรูพืช หรือนโยบายของรัฐมาก่อนหรือไม่ ทั้งภายในประเทศและในต่างประเทศ กรณีที่มีการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชมาแล้ว ตรวจสอบดูว่ายังมีความเหมาะสมสามารถนำมาใช้ได้หรือไม่ เนื่องจากสภาพอาจเปลี่ยนแปลงไป พิจารณาความเป็นไปได้ในการนำเอาการวิเคราะห์ความเสี่ยงจากเส้นทางศัตรูพืชที่เหมือนกัน หรือศัตรูพืชที่เหมือนกัน มาใช้เพียงบางส่วนหรือทั้งหมด

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

กระบวนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช สามารถแบ่งออกได้อย่างกว้างเป็น 3 ขั้นตอน ตามที่ IPPC กำหนด ซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องสัมพันธ์กัน คือ

2.1 การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest Categorization) ที่พบบนยาสูบ

2.1.1 ค้นคว้ารวบรวมรายชื่อของสิ่งมีชีวิตที่มีรายงานว่าเป็นศัตรูของยาสูบในบราซิล จากผลงานวิจัย ฐานข้อมูลศัตรูพืช ตำรา หรือเอกสารวิชาการต่าง ๆ ที่น่าเชื่อถือ

2.1.2 พิจารณาจัดกลุ่มศัตรูพืช เช่น แมลง ไร ไวรัส แบคทีเรีย และ รา เป็นต้น

2.1.3 บันทึกรายละเอียดของศัตรูยาสูบแต่ละชนิด ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ แหล่งแพร่กระจาย ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย/อาศัย และเป็นพาหะของศัตรูพืชชนิดอื่นหรือไม่

2.1.4 ตรวจสอบว่าเป็นศัตรูพืชที่พบในประเทศไทยหรือไม่ รวมถึงสถานภาพการควบคุมศัตรูพืชดังกล่าวในประเทศไทย

2.1.5 พิจารณาคัดเลือกเฉพาะศัตรูพืชที่ไม่พบในประเทศไทย หรือพบแต่มีการควบคุมอย่างเป็นทางการ มีศักยภาพในการเข้ามา ตั้งรกราก และแพร่กระจายในประเทศไทย ตลอดจนอาจก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจหากศัตรูเข้ามาได้ในประเทศไทย

2.2 การประเมินโอกาสการเข้ามาและการแพร่กระจาย (Assessment for probability of introduction and spread) ของศัตรูยาสูบในประเทศไทย

นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากข้อ 2.1.5 มาประเมินโอกาสของศัตรูพืชในการนำเข้า (การเข้ามาและตั้งรกราก) และแพร่กระจายในประเทศไทย โดยพิจารณาปัจจัยต่างๆ ที่มีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่เชื่อถือได้

2.2.1 การประเมินโอกาสการเข้ามา เป็นการประเมินโอกาสที่ศัตรูพืชจะปะปนมากับเส้นทางศัตรูพืชเข้ามาในประเทศไทย ปัจจัยที่นำมาพิจารณา ได้แก่ ระยะการเจริญเติบโตที่มีความเสี่ยงติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ยาสูบนำเข้า ลักษณะการติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ยาสูบ ความยากง่ายในการตรวจพบ การมีชีวิตรอดระหว่างขนส่ง การเล็ดรอดจากการตรวจที่จุดนำเข้า การเคลื่อนย้ายไปยังพืชอาศัย/พืชอาหารที่เหมาะสม

2.2.2 การประเมินโอกาสการตั้งรกราก เป็นการประเมินโอกาสที่ศัตรูพืชสามารถมีชีวิตอยู่รอดในประเทศไทยได้ ปัจจัยที่นำมาพิจารณาคือ ข้อมูลชีววิทยาของศัตรูพืช เช่น วงจรชีวิต จำนวนรุ่นต่อปี พืชอาหาร/พืชอาศัย จำนวนและการกระจายตัวของพืชอาหาร/พืชอาศัย พาหะ การแพร่ขยายพันธุ์ ความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในการเจริญเติบโตและแพร่พันธุ์ เป็นต้น

2.2.3 การประเมินโอกาสการแพร่กระจาย เป็นการประเมินโอกาสที่ศัตรูสามารถแพร่กระจายในพื้นที่ของประเทศไทย ปัจจัยที่นำมาพิจารณา ได้แก่ การเคลื่อนย้ายของศัตรูพืชไปกับผลิตผลเกษตร สินค้า หรือพาหนะขนส่ง ความสามารถในการเคลื่อนย้ายหาพืชอาหารโดยศัตรูพืชเอง หรือต้องอาศัยพาหะ ซึ่งต้องพิจารณาต่อว่าพาหะดังกล่าวมีปรากฏในประเทศไทยหรือไม่ ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในสภาพธรรมชาติ สิ่งกีดขวางโดยธรรมชาติ และพืชอาหาร/พืชอาศัย (รวมทั้งพืชที่มีความใกล้เคียงกับพืชอาหาร/พืชอาศัย)

2.3 การประเมินผลทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้นภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืช (Potential economic consequence) ในประเทศไทย

นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากข้อ 2.1.5 มาพิจารณาความเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชจะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจ ซึ่งอาจมีผลกระทบทางตรงต่อพืช สัตว์ มนุษย์ และสิ่งแวดล้อม เช่น ทำให้พืชสูญเสียผลผลิต หรือมีผลกระทบทางอ้อม เช่น ต้องเพิ่มต้นทุนในการป้องกันกำจัด กระทบต่อระบบการผลิตพืชภายในประเทศ กระทบต่อการค้าภายในประเทศและระหว่างประเทศ เป็นต้น โดยพิจารณาว่ามีผลกระทบจนถึงระดับที่ยอมรับไม่ได้ในพื้นที่ประเทศไทย

2.4 สรุปการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

สรุปผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช ได้แก่ การประเมินโอการการนำเข้าและการแพร่กระจายตลอดจนศักยภาพในการเกิดผลทางเศรษฐกิจภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืช โดยใช้แนวทางการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของอนุสัญญาอารักขาพืชระหว่างประเทศ

ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช

การจำแนกและคัดเลือกวิธีการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชให้เหมาะสม (Identification and selection of appropriate risk management options) เพื่อลดความเสี่ยงของศัตรูพืช จากการประเมินในขั้นตอนที่ 2 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชเพื่อปกป้องพื้นที่เสี่ยงภัยควรอยู่บนพื้นฐานของข้อมูลที่รวบรวมได้ในการประเมินความเสี่ยง ซึ่งจะถูกนำมาใช้ประกอบการตัดสินใจว่ามีความจำเป็นหรือไม่ที่ต้องจัดการความเสี่ยง และมาตรการที่ใช้จะต้องมีความเหมาะสมกับศัตรูพืช มีประสิทธิภาพ และใช้ตามความจำเป็น ให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้

เวลาและสถานที่

เวลา: เดือนตุลาคม 2554-กันยายน 2556

สถานที่: กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1.สืบค้นข้อมูลทั่วไป

1.1 การผลิตเมล็ดพันธุ์ยาสูบในบราซิล

พื้นที่ปลูก/สายพันธุ์ : เมล็ดพันธุ์ยาสูบที่ผลิตเป็นการค้าเป็นเมล็ดพันธุ์ลูกผสม ชนิด *Nicotiana tabacum* เช่น สายพันธุ์ K326, PVH03, KT204LC, HB04P, HB4488P, PVH09, NC6, PVH2254, PVH2241, PVH2299 ซึ่งมีพื้นที่ปลูกอยู่บริเวณ Arroio do Couto เมือง Santa Cruz do Sul รัฐ Rio Grande do Sul ซึ่งอยู่ทางใต้ของบราซิล

วิธีการปลูก

การเพาะกล้า : การปลูกยาสูบเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์เริ่มจากการเพาะกล้าในโรงเรือนโดยใช้เมล็ดพันธุ์หลัก (foundation seed) หลังจากต้นกล้าอายุได้ 45-60 วัน หรือความสูงประมาณ 15-20 นิ้ว จึงย้ายลงแปลง

การเตรียมดิน : ปรับ pH โดยใช้ปูนขาวก่อนปลูกอย่างน้อย 3 เดือน เพื่อให้ ได้ pH 6.0 ไถพรวนและใส่ปุ๋ยตามที่บริษัทผู้ผลิตยาสูบแนะนำ การปลูกอาจปลูกแบบยกร่องหรือปลูกพื้นราบขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ แปลงที่ผลิตเมล็ดพันธุ์จะต้องแยกห่างจากแปลงยาสูบอื่นเพื่อป้องกันการผสมข้ามตามที่กำหนดใน isolation rules for seed certification of Brazil

การผสมเกสร : การผสมเกสรใช้แรงงานคนในต้นยาสูบที่เป็นหมัน (male sterile)

การเก็บเกี่ยว : เริ่มเก็บเกี่ยวในเดือนธันวาคมถึงมีนาคม โดยเก็บฝักและตากในโรงเรือน พอเมล็ดแห้งก็ทำการแยกเมล็ดออกจากฝักและทำความสะอาดโดยใช้ตะแกรงและการเป่าลม เมล็ดที่ทำความสะอาดแล้วจะต้องผ่านการทดสอบคุณภาพโดยห้องปฏิบัติการของรัฐจะถูกเก็บในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น (Plant Health Department, 2010)

1.2 ข้อมูลการนำเข้าเมล็ดยาสูบ ประเทศไทยเคยนำเข้าเมล็ดยาสูบจนก่อนที่ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 จะมีผลบังคับใช้ ผลการตรวจศัตรูพืชจากเมล็ดพันธุ์ยาสูบนำเข้าจากบราซิลพบ เชื้อรา *Alternaria brassicicola* (ตารางที่ 1) (กลุ่มวิจัยการกักกันพืช, 2548-51)

Table 1 Importation of tobacco seed in Thailand

year	origin	weight	port	frequency	result
1995	Brazil	168.0	air	6	-
	USA	1.5	air	1	-
1996	Brazil	105.6	air	3	*Alternaria brassicicola*
1997	Brazil	284.0	air	2	-
	USA	1.0	air	1	-
1998	Brazil	26.0	air	2	-

2. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

1.1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์ยาสูบ เนื่องมาจากการปรับปรุงแก้ไขกฎหมายด้านกักกันพืช ดังปรากฏในประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 ได้กำหนดทุกส่วนของพืชในวงศ์ *Solanaceae* เป็นสิ่งต้องห้ามการนำเข้าเพื่อการค้าจำเป็นต้องผ่านการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชและปฏิบัติตามเงื่อนไขตามที่อธิดีกำหนดเสียก่อน จึงจำเป็นต้องดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับควบคุมการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ยาสูบจากบราซิลให้มีประสิทธิภาพ

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

2.1 การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest Categorization) ที่พบบนยาสูบ ผลการศึกษาพบว่าศัตรูของยาสูบที่มีรายงานพบในบราซิล จำนวน 130 ชนิด ชนิด ได้แก่ ไร 3 ชนิด แมลง 46 ชนิด ไส้เดือนฝอย 19 ชนิด แบคทีเรีย 13 ชนิด รา 36 ชนิด ไวรัส 13 ชนิด

ผลการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนจัดลำดับศัตรูพืช (Pest caterogorization) พบว่าศัตรูพืชที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ยาสูบนำเข้าจากบราซิลและไม่มีรายงานพบในประเทศไทยมีทั้งหมด 5 ชนิดคือ ไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* เชื้อรา *Alternaria longipes*, *Ascochyta gossypii, , Peronospora hyoscyami* f.sp. *tabacina* และเชื้อไวรัส *Tobacco ringspot virus*

2.2 การประเมินโอกาสการเข้ามาและการแพร่กระจาย (Assessment for probability of introduction and spread) ของศัตรูยาสูบในประเทศไทยและการประเมินผลทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้นภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืช (Potential economic consequence) ในประเทศไทย

Tobacco ringspot virus

พืชอาศัย *Capsicum* (peppers), *Capsicum annuum* (bell pepper), *Citrullus lanatus* (watermelon), *Cucumis melo* (melon), *Cucumis sativus* (cucumber), *Cucurbita pepo* (ornamental gourd), *Gladiolus hybrids* (sword lily), *Glycine max* (soyabean), *Lycopersicon esculentum* (tomato), *Nicotiana tabacum* (tobacco), *Vaccinium (blueberries)* (CPC, 2007)

ชีววิทยา

TRSV เป็นไวรัสที่มีพืชอาศัยกว้าง ส่วนใหญ่อยู่ในวงศ์ *Fabaceae* และ *Solanaceae* เช่น พริก มะเขือเทศและยาสูบ แต่มันฝรั่งไม่ใช่พืชอาศัยหลักของไวรัสเป็นเพียงพืชอาศัยรอง (minor host) ไวรัสสามารถถ่ายทอดด้วยวิธีกล ถ่ายทอดผ่านเมล็ดพันธุ์และละอองเกสร และโดยแมลงและไส้เดือนฝอยเป็นพาหะ โดยทั่วไปในสภาพธรรมชาติการถ่ายทอดโรคเกิดจากไส้เดือนฝอยพาหะ *Xiphinema americanum* โดยพบไวรัสในส่วน oesophagus และ stylte ของไส้เดือนฝอย ประสิทธิภาพในการถ่ายทอดไวรัสของไส้เดือนฝอยขึ้นกับชนิดพืชอาศัยและสภาพแวดล้อม มีรายงานว่าไส้เดือนฝอยสามารถถ่ายทอดไวรัสได้ถึง 100% ในแตงกวา มะเขือม่วง บานไม่รู้โรยและบานชื่น มีรายงานว่า TRV สามารถถ่ายทอดผ่านเมล็ดในพืชหลายชนิด เช่น เจอเรเนียม ผักกาดหอม บานชื่น และ Amaranthus มีรายงานว่าสามารถถ่ายทอดในเมล็ดถั่วเหลืองได้ถึง 100% และมีผลทำให้ความ

งอกลดลง 5-42% สายพันธุ์ Andean potato calico สามารถถ่ายทอดในเมล็ดมันฝรั่ง 2-9% โดยไวรัสจะอยู่ที่ embryo และ perisperm แต่ไม่อยู่ที่ seed coat ไวรัสยังคงสามารถในการถ่ายทอดโรคได้หลังจากเก็บเมล็ดไว้นานถึง 5 ปีที่อุณหภูมิห้องหรือที่ 1-2 องศาเซลเซียส (CPC, 2007)

ประเมินโอกาสการเข้ามาของศัตรูพืช

โอกาสการเข้ามา ต่ำ

เนื่องจากมีรายงานว่า TRSV สามารถถ่ายทอดโรคทางเมล็ดยาสูบได้แต่ในระดับที่ต่ำมาก การแพร่ระบาดในธรรมชาติเกิดจากไส้เดือนฝอยเป็นพาหะ (CPC, 2007)

ประเมินโอกาสการตั้งรกรากอย่างถาวร

โอกาสการตั้งรกรากอย่างถาวร สูง

เนื่องจากมีพืชอาศัยและมีแมลงพาหะ ของไวรัสในประเทศไทย นอกจากนี้ไวรัสสามารถอยู่ใน

ประเมินโอกาสการแพร่กระจาย

โอกาสการแพร่กระจาย ปานกลาง

เนื่องจากในประเทศไทยมีพืชอาศัยของไวรัสหลายชนิดและกระจายอยู่ทั่วไปดังนั้นจึงมีโอกาสเกิดโรคได้ตลอดปี มีรายงานพบไส้เดือนฝอยพาหะ *Xiphinema americanum* ในประเทศไทยในดินไผ่ที่จังหวัดเชียงใหม่ซึ่งเป็นจังหวัดที่มีการปลูกมันฝรั่ง (สืบศักดิ์, 2541) แต่การแพร่กระจายด้วยไส้เดือนฝอยเกิดได้ช้า เนื่องจากไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ระยะทาง 1 เมตรต่อปี อย่างไรก็ตามไวรัสอาจแพร่กระจาย โดยแมลงพาหะได้หรือการแพร่กระจายในระยะไกลโดยติดไปกับเมล็ด (CPC,2007)

ประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจ

ผลกระทบทางเศรษฐกิจ สูง

ความเสียหายที่เกิดจาก TRSV มีรายงานก่อให้เกิดความเสียหายอย่างรุนแรงในถั่วเหลือง โดยทำให้เกิดโรคตาไหม้ (soybean bud blight) ในช่วงระหว่างปี 1943–1947 โรคนี้ทำความเสียหายกับผลผลิตถั่วเหลือง ในแถบตอนกลางของฝั่งตะวันตกของสหรัฐอเมริกา ถึง 25-100% และในอินเดียมีรายงานความว่าทำให้ผลผลิตลดลงถึง 66% นอกจากนี้ยังมีรายงานทำความเสียหายกับพืชในวงศ์ Fabaceae Solanaceae และ Cucurbitaceae ในประเทศอินเดียโรคใบจุดวงแหวนทำให้ผลผลิตมะเขือม่วงลดลง 55-70% (CPC,2007)

สำหรับในประเทศไทยหาก TRSV เข้ามาแพร่ระบาดในประเทศ ผลกระทบอาจเกิดกับพืชเศรษฐกิจอื่นอีกหลายชนิดที่เป็นพืชอาศัยเช่น ถั่วเหลือง พริก มะเขือเทศ มะเขือม่วง และพืชในวงศ์ Cucurbitaceae นอกจากนี้ TRSV ยังจัดเป็นศัตรูพืชกักกันระดับ A1 (A1 quarantine organism) โดย EPPO (CPC,2007) อีกด้วย ซึ่งประเทศไทยมีการผลิตและส่งออกเมล็ดพันธุ์ลูกผสมของพืชในวงศ์ Solanaceae และ Cucurbitaceae ไปยังหลายประเทศในยุโรป หากมีการระบาดของ TRSV ในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ ประเทศผู้ซื้ออาจจะระงับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากประเทศไทยได้ หรืออาจจะต้องเสียค่าใช้จ่ายจำนวนมากในการตรวจรับรองการปลอดโรคหรือกำจัดให้หมดสิ้นไป

สรุปผลการประเมินความเสี่ยง ความเสี่ยงต่ำ

Ditylenchus dipsaci

พืชอาศัย: *Allium* (onions, garlic, leek, etc.), *Allium cepa* (onion), *Allium porrum* (leek), *Allium sativum* (garlic), *Avena sativa* (oats), *Begonia* , *Beta vulgaris* var. *saccharifera* (sugarbeet), *Cannabis sativa* (hemp), *Fragaria*

ananassa (strawberry), *Gladiolus hybrids* (sword lily), *Hyacinthus orientalis* (hyacinth), *Medicago sativa* (lucerne), *Narcissus* (daffodil), *Narcissus pseudonarcissus* (wild lent lily), *Nicotiana tabacum* (tobacco), *Phaseolus* (beans), *Phlox drummondii* (Annual phlox), *Phlox paniculata* (summer perennial phlox), *Pisum sativum* (pea), *Polyphagous* (polyphagous), *Secale cereale* (rye), *Solanum tuberosum* (potato), *Trifolium pratense* (purple clover), *Trifolium repens* (white clover), *Tulipa* (tulip), *Vicia faba* (broad bean), *Zea mays* (maize) (CPC,2007)

ชีววิทยา *D. dipsaci* เป็นไส้เดือนฝอยประเภทเคลื่อนย้ายและเข้าทำลายภายในเนื้อเยื่อพืช (migratory endoparasite) ซึ่งมีพืชอาศัยมากกว่า 450 ชนิดไส้เดือนฝอยสามารถทำลาย ส่วนของลำต้น ใบและ ดอก ทำให้เกิดอาการบวม (swelling) และบิดเบี้ยวผิดรูปร่าง (distortion) และทำให้เกิดอาการแผลเซลตาย (necrosis) หรือเน่า ที่โคนต้นหรือส่วนใต้ดิน ไส้เดือนฝอยสามารถเจริญและก่อให้เกิดความเสียหายในระหว่างการเก็บรักษาผลผลิตห้องเย็น

D. dipsaci พบระบาดในเขตอบอุ่น (temperate region) เช่นในยุโรป เมดิเตอร์เรเนียน อเมริกาเหนือและใต้ อาฟริกาเหนือและใต้ เอเชียและโอเชียนเนีย โอกาสเข้าไปตั้งรกรากในเขตร้อนน้อย ยกเว้นในพื้นที่ที่มีสภาพอากาศหนาวเย็น วงจรชีวิตของ *D. dipsaci* ในต้นหอมที่สภาพอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส มีระยะเวลาประมาณ 20 วัน ช่วงเวลาของวงจรชีวิตขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและความแตกต่างของ isolates ของไส้เดือนฝอยจากแหล่งต่างๆ อุณหภูมิที่ไส้เดือนฝอยสามารถเจริญและเข้าทำลายพืชสูงที่สุด อยู่ระหว่าง 10-20 องศาเซลเซียส ตัวเต็มวัยเพศเมียแต่ละตัวสามารถวางไข่ได้ 200-500 ฟอง ตัวอ่อนทั้ง 4 ระยะมีการพัฒนาอย่างรวดเร็ว ภายใต้ผิวเนื้อเยื่อพืชที่ถูกทำลาย เพื่อสร้างกลุ่มของ “eelworm wool” ซึ่งสามารถอยู่รอดในสภาพแห้งได้เป็นเวลาหลายปี ทนทานในดินเหนียวได้เป็นเวลาหลายปี สภาพเย็นชื้นส่งเสริมให้ไส้เดือนฝอยเข้าทำลายพืชได้ดี

การแพร่กระจายของไส้เดือนฝอย สามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์พืชได้ถึง 15 ชนิดเช่น หอมหัวใหญ่ ถั่วปากอ้า แครอท และ Lucerne ดินเป็นพาหะที่สำคัญในการแพร่กระจายที่สำคัญ ไส้เดือนฝอยชนิดนี้สามารถคงอยู่ในดินได้เป็นเวลาหลายปีแม้ในสภาพแห้งแล้งและไม่มีพืชอาศัย (CPC, 2007)

ประเมินโอกาสการเข้ามา

โอกาสการเข้ามา ต่ำ

ถึงแม้ว่าจะมีรายงานว่า *D. dipsaci* สามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์หลายชนิด เช่น แต่ยังไม่มีรายงานว่าสามารถติดมากับเมล็ดยาสูบ

ประเมินโอกาสการตั้งรกรากอย่างถาวร

โอกาสการตั้งรกราก ปานกลาง

ในประเทศไทยมีพืชอาศัยหลักของ *D. dipsaci* หลายชนิด และไส้เดือนฝอยชนิดนี้ทนทานต่อความแห้งแล้งและสามารถสร้าง eel worm wool ซึ่งเป็นระยะพักตัวที่ทนทานต่อสภาพแวดล้อม

อุณหภูมิและสภาพแวดล้อมในประเทศไทยไม่เหมาะสมต่อการเจริญและเข้าทำลายพืช อุณหภูมิที่เหมาะในการพัฒนาและเข้าทำลายสูงสุดของไส้เดือนฝอยชนิดนี้ คือ 10-20 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตาม พบว่า *D. dipsaci* เป็นไส้เดือนฝอยที่มีความผันแปรสูงโดยพบว่ามีความแตกต่างกันตาม

ชนิดพืชอาศัยถึง 20 biological race ดังนั้นจึงมีโอกาสที่สามารถปรับตัวให้เจริญในสภาพอากาศที่แตกต่างไปได้ (CPC, 2007)

ประเมินโอกาสการแพร่ระบาด

โอกาสแพร่ระบาด ต่ำ

ในประเทศไทย มีพืชอาศัยของไส้เดือนฝอยชนิดนี้ซึ่งมีจำนวนมากก็มีปลูกอยู่ทั่วไป

ประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจ

ผลกระทบทางเศรษฐกิจ สูง

D. dipsaci เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ร้ายแรงชนิดหนึ่ง โดยเฉพาะในแถบหนาว ถ้าไม่มีการป้องกันกำจัด ไส้เดือนฝอยชนิดนี้สามารถก่อให้เกิดความเสียหายร้ายแรงในพืชหลายชนิด เช่น หอม กระเทียม ธัญญพืช พืชตระกูลถั่ว สตรอเบอรี่ และไม้ประดับ โดยเฉพาะไม้ดอกที่ใช้หัวทำพันธุ์ รายงานความเสียหายจากการเข้าทำลายของ *D. dipsaci* ในประเทศอิตาลีรายงานว่าต้นกล้าหอมตายถึง 60% ก่อนถึงระยะการย้ายปลูก กระเทียมสูญเสียผลผลิตถึง 50% ในประเทศฝรั่งเศส โปแลนด์ กระเทียมสูญเสียผลผลิตมากกว่า 90% นอกจากนี้ไส้เดือนฝอยชนิดนี้เมื่อเข้าทำลายพืชร่วมกับเชื้อสาเหตุโรคพืชนิดอื่นเช่น *Corynebacterium insidiosum* และ *Peronospora schleidenii* จะก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชอาศัยได้มากกว่าการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยตามลำพัง (CPC, 2007)

D. dipsaci เป็นศัตรูพืชกักกันที่สำคัญของหลายประเทศ และเป็นข้อกำหนดว่าจะต้องรับรองการปลอดโรคในการส่งออกสินค้าทางการเกษตรไปยังประเทศเหล่านั้น เช่น การส่งออกผักและส่วนใต้ดินของพืชไปไต้หวันและการส่งออกต้นกล้วยไม้ไปประเทศแอฟริกาใต้ จะต้องรับรองว่าปราศจาก *D. dipsaci* ดังนั้นหากไส้เดือนฝอยชนิดนี้เข้ามาระบาดในประเทศไทยนอกจากจะทำความเสียหายร้ายแรงกับพืชปลูกหลายชนิดแล้ว ยังทำให้ไม่สามารถส่งออกพืชผักและส่วนขยายพันธุ์ของไม้ดอกหลายชนิด หรืออาจต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงในการตรวจรับรองหรือกำจัดให้หมดสิ้นไป

สรุปผลการประเมินความเสี่ยง ความเสี่ยงต่ำ

Alternaria longipes

พืชอาศัย: *Nicotiana tabacum* (tobacco) (CPC, 2007)

ชีววิทยา เชื้อราเข้าทำลายพืชโดยสร้าง conidia ซึ่งแพร่กระจายไปกับลมและน้ำฝน conidia งอกและเข้าทำลายใบยาสูบโดยสร้าง appressoria โดยเริ่มเข้าทำลายใบแก่ เชื้อเจริญได้ดีที่อุณหภูมิและความชื้นสูง เชื้อสามารถอยู่ในดินในเศษซากพืช ไม่มีรายงานการถ่ายทอดโรคกับเมล็ดยาสูบ แต่ว่าเชื้ออาจปนเปื้อนมากับเมล็ดจากต้นเป็นโรค(CPC,2007)

ประเมินโอกาสการเข้ามา

โอกาสการเข้ามา ต่ำ

ไม่มีรายงานการถ่ายทอดโรคกับเมล็ดยาสูบ แต่ว่าเชื้ออาจปนเปื้อนมากับเมล็ดจากต้นเป็นโรค

ประเมินโอกาสการตั้งรกรากอย่างถาวร

โอกาสการตั้งรกราก สูง

อุณหภูมิและสภาพแวดล้อมในประเทศไทยเหมาะสมต่อการเจริญและเข้าทำลายพืช

ประเมินโอกาสการแพร่ระบาด

โอกาสแพร่ระบาด ต่ำ

พืชอาศัยมีเพียงชนิดเดียวคือยาสูบซึ่งปลูกได้เฉพาะในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย

ประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจ

ผลกระทบทางเศรษฐกิจ ต่ำ

ความเสียหายที่เกิดจากโรคใบจุดสีน้ำตาลขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรคซึ่งมีผลกระทบกับคุณภาพของใบยาสูบ มีรายงานความเสียหายที่เกิดขึ้นในรัฐนอร์ทแครอลินาในปี 1956 ถึง 10ล้านเหรียญ แต่ความเสียหายเกิดเฉพาะกับยาสูบซึ่งไม่ใช่พืชเศรษฐกิจหลักของประเทศไทย

สรุปผลการประเมินความเสี่ยง ความเสี่ยงต่ำ

Ascochyta gossypii

พืชอาศัย: *Gossypium* (cotton) *Lupinus angustifolius* (lupin) *Nicotiana tabacum* (tobacco),

ชีววิทยา conidia เชื้อราสามารถเข้าทำลายฝ้ายในระยะต้นกล้าและในแปลงปลูก ทำให้เกิดอาการจุดสีน้ำตาลอ่อนขนาดประมาณ 2 มิลลิเมตรที่ใบเลี้ยง ใบ กิ่ง และสมอ เชื้อราสร้าง pycnidia ที่บริเวณแผล ภายในมี conidia ลักษณะรูปไข่หรือทรงกระบอกขนาด 8x10 ไมโครเมตร มีสองเซล conidia สามารถแพร่กระจายไปกับลมและ น้ำฝน การระบาดของโรคเกิดได้ดีช่วงเวลาที่ฝนตกและอุณหภูมิต่ำ(20-25 องศาเซลเซียส) เชื้ออยู่ข้ามฤดูในเศษซากพืชหรือวัชพืชและสามารถติดกับเมล็ด (CPC, 2007) (Kirkpatrick and Rothrock, 2001)

ประเมินโอกาสการเข้ามา

โอกาสการเข้ามา ต่ำ

ยาสูบไม่ใช่พืชอาศัยหลัก และไม่มีรายงานติดมากับเมล็ดยาสูบ

ประเมินโอกาสการตั้งรกรากอย่างถาวร

โอกาสการตั้งรกราก สูง

อุณหภูมิและสภาพแวดล้อมในประเทศไทยเหมาะสมต่อการเจริญและเข้าทำลายพืช

ประเมินโอกาสการแพร่ระบาด

โอกาสแพร่ระบาด ต่ำ

พืชอาศัยหลักมีเพียงชนิดเดียวคือฝ้าย

ประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจ

ผลกระทบทางเศรษฐกิจ ต่ำ

ไม่มีรายงานความเสียหายที่เกิดจากเชื้อราชนิดนี้

สรุปผลการประเมินความเสี่ยง ความเสี่ยงต่ำ

Peronospora hyoscyami f.sp. *tabacina*

พืชอาศัย: *Nicotiana tabacum* (tobacco)

ชีววิทยา *P. hyoscyami* f.sp. *tabacina* เป็นสาเหตุโรคและทำให้เกิดความเสียหายร้ายแรงกับยาสูบ เชื้อสาเหตุเป็น obligate parasite ขยายพันธุ์แบบมีเพศโดยสร้าง oospore และแบบไม่มีเพศโดยสร้าง conidia บนก้าน conidiophores conidia แพร่กระจายโดยลมและน้ำฝน มีรายงานว่า conidia สามารถปลิวไปกับลมได้เป็นพันไมล์ การงอกของ conidia ต้องอาศัยน้ำบนผิวใบ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการงอกคือ 14-21 องศาเซลเซียส โรคระบาดรุนแรงเมื่อสภาพอากาศเย็นและความชื้นในอากาศมากกว่า 90% หรือหมอกลงจัด แสงแดดและความแห้งแล้งสามารถยับยั้งการเกิดโรค หาก

สภาพอากาศเหมาะสม โรคสามารถทำลายยาสูบเสียหายทั้งแปลงอย่างรวดเร็ว ในบราซิลการเกิดโรคพบเฉพาะในโรงเรือน (CPC, 2007) (Shew and Lucas, 1998)

ประเมินโอกาสการเข้ามา

โอกาสการเข้ามา ต่ำ

มีรายงานติดกับเมล็ดยาสูบที่ออสเตรเลีย แต่ไม่มีการยืนยัน และสปอร์ของเชื้อสามารถอยู่รอดในสภาพโรงเก็บได้ในระยะสั้น

ประเมินโอกาสการตั้งรกรากอย่างถาวร

โอกาสการตั้งรกราก สูง

อุณหภูมิและสภาพแวดล้อมในประเทศไทยเหมาะสมต่อการเจริญและเข้าทำลายพืช

ประเมินโอกาสการแพร่ระบาด

โอกาสแพร่ระบาด ปานกลาง

สปอร์ของเชื้อแพร่กระจายได้รวดเร็วและระยะทางไกล แต่มีพืชอาศัยเพียงชนิดเดียวคือยาสูบ ซึ่งปลูกเฉาะทางภาคเหนือ

ประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจ

ผลกระทบทางเศรษฐกิจ ปานกลาง

มีรายงานความเสียหายที่เกิดจากโรคนี้ในหลายประเทศ ในสหรัฐอเมริกาและแคนาดาโรคนี้ทำให้เกิดความสูญเสียถึง 240 ล้านเหรียญ ในอิตาลีมีรายการทำลายสูงถึง 65% ในปี 1961 ซึ่งเป็นสาเหตุของการว่างงาน ในปัจจุบันยังคงมีความเสียหายถึง 50-100% ในพื้นที่ทางตอนใต้ของอิตาลี นอกจากนี้ยังมีรายงานการระบาดอย่างรุนแรงใน อิสราเอล อิหร่าน ออสเตรเลีย และเม็กซิโก แต่ความเสียหายเกิดเฉพาะกับยาสูบซึ่งไม่ใช่พืชเศรษฐกิจหลักของประเทศไทย

สรุปผลการประเมินความเสี่ยง ความเสี่ยงต่ำ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์ยาสูบ เนื่องมาจากการปรับปรุงแก้ไขกฎหมายด้านกักกันพืช โดย เมล็ดพันธุ์ยาสูบนำเข้าจากบราซิลจึงเป็นเส้นทางสำคัญที่ศัตรูพืชจะเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศไทย

ผลการศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชซึ่งดำเนินการตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช และฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม พบว่า ผลการศึกษาพบว่าศัตรูของยาสูบที่มีรายงานพบในบราซิล จำนวน 130 ชนิด ชนิด ได้แก่ ไร 3 ชนิด แมลง 46 ชนิด ไส้เดือนฝอย 19 ชนิด แบคทีเรีย 13 ชนิด รา 36 ชนิด และไวรัส 13 ชนิด

ผลการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนจัดลำดับศัตรูพืช (Pest caterogorization) พบว่าศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ยาสูบนำเข้าจากบราซิลและไม่มีรายงานพบในประเทศไทย คือ *Ditylenchus dipsaci* เชื้อรา *Alternaria longipes*, *Ascochyta gossypii*, *Peronospora hyoscyami* f.sp. *tabacina* และเชื้อไวรัส *Tobacco ringspot virus*

ผลจากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชทั้ง 5 ชนิด พบว่าศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงปานกลางได้แก่ *Peronospora hyoscyami* f.sp. *tabacina* และศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงต่ำได้แก่ *Alternaria longipes*, *Ascochyta gossypii, Tobacco ringspot virus* และ *Ditylenchus dipsaci*

มาตรการสุขอนามัยพืชเพื่อลดความเสี่ยงที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามาคือกำหนดให้มีการตรวจรับรองจากห้องปฏิบัติการว่าปราศจากศัตรูพืชกักกันทั้ 5 ชนิดและต้องกำจัดศัตรูพืชที่อาจติดมาโดยวิธีแช่เมล็ดยาสูบที่อุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หรือ แช่ในสารละลาย 1%โซเดียมไฮโปคลอไรด์ นาน 10 นาที (BA, 2012)

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยการกักกันพืช 2548-51. รายงานผลการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชและผลผลิตพืชที่นำเข้าจากต่างประเทศ. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพ.

พัฒนา สนธิรัตน ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร สหมิตรพริ้นติ้ง อ.บางใหญ่ จ.นนทบุรี. 285 หน้า.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน. 2538. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในประเทศไทย. สำนักพิมพ์รั้วเขียว กรุงเทพ 275 หน้า.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน. 2541. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช : โรคและการจัดการ.สำนักพิมพ์รั้วเขียว. กรุงเทพ. 204 หน้า.

APSnet : http://www.apsnet.org/publications/commonnames/Pages/Tobacco.aspx

CABI (CAB International). 2007. Crop Protection Compendium 2012 [online]. Retrieved May 11,2012 from http://www.cabi.org/cpc/

Dragoljub, D.S., E.F. Richaerd and T.T. Malisa. 1999. Handbook of plant virus diseases. CRC press, Boca Raton London New York Washington, D.C. 553pp.

EPPO Plant Quarantine Data Rerieval System 4.6. 2007. European and Mediterranean plant Protection Organization

FAO (Food and Agriculture Organization). 2004. International Standards for Phytosanitary Measures no. 11: Pest risk analysis for quarantine pests including analysis of environmental risks and living modified organisms. FAO, Rome, Italy.

FAO (Food and Agriculture Organization). 2007. Pest Risk Analysis Training: Participant Manual. FAO, International Plant Protection Convention, Standards and Trade Development Facility and Canadian Food Inspection. Rome. Italy.

Kirkpatrick, T.L. and C.S. Rothrock. 2001. Compendium of Cotton Disease. 2nd Ed. The American Phytopathology Society, Minnesota. 77 pp.

Plant Health Department. 2010. The Tobacco (*Nicotiana tabacum*) production in Brazil. Ministry of Agriculture, Livestock and Food supply . Brazil

BA (Biosecurity Australia) 2012 ICON database - Import condition. http://www.daff.gov.au/biosecurity/import/icon-icd (20 Aug 2013)

Shew , H.D. and G.B.Lucas. 1998. Compendium of Tobacco Disease. 2nd Ed. The American Phytopathology Society, Minnesota. 68 pp.

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์แคนตาลูป นำเข้าจากสหรัฐอเมริกา

Study on Pest Risk Analysis for the Importation of Cantaloupe Seed from the United States of America

คมศร แสงจินดา ณัฏฐพร อุทัยมงคล สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ วาสนา ฤทธิ์ไธสง
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์แคนตาลูปนำเข้าจากประเทศอเมริกา ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2555 - กันยายน 2556 ณ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งแคนตาลูปมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cucumis melo* เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์คูเคอร์บิตาซีอี้ สกุลคูคูมิส ซึ่งปัจจุบันเมล็ดพันธุ์แคนตาลูปจากทุกแหล่งจัดเป็นสิ่งกำกัดตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนด เป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 การนำเข้าหรือนำผ่านเพื่อการค้า มีเพียงใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย ผลการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืช พบว่าศัตรูแคนตาลูปที่มีรายงานพบในประเทศสหรัฐอเมริกามีจำนวน 100 ชนิด ศัตรูแคนตาลูปที่มีรายงานพบในประเทศไทยมีจำนวน 59 ชนิด ผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชขั้นตอนการจัดกลุ่มศัตรูพืชได้ชนิดศัตรูแคนตาลูปที่มีรายงานพบในสหรัฐอเมริกาแต่ไม่มีในประเทศไทย จำนวน 15 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย 2 ชนิด รา 2 ชนิด ไวรัส 9 ชนิด และไร 2 ชนิด สำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชและขั้นตอนอื่นๆ จะดำเนินการต่อในปี 2557

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-02-01-10-56

คำนำ

พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กำหนดให้เมล็ดพันธุ์พืชผักต่าง ๆ ไม้ดอกหรือไม้ประดับหลายชนิดจัดเป็นสิ่งกำกัด และสิ่งไม่ต้องห้าม ในการนำเข้าต้องแจ้งการนำเข้าและมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย กรณีนำเข้าพืชบางชนิดที่จัดอยู่ในประเภทสิ่งกำกัด อนุญาตให้นำเข้าได้โดยมีใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทางกำกับมาซึ่งไม่มีมาตรการสุขอนามัยกำหนดไว้แต่อย่างใด ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชที่เป็นศัตรูพืชร้ายแรงซึ่งอาศัยอยู่กับพืชที่มีการนำเข้ามาในประเทศจำนวนมาก โดยเฉพาะศัตรูพืชที่ทำลายพืชเศรษฐกิจของประเทศไทย

แคนตาลูป (Cantaloupe) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cucumis melo* เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์คูเคอร์บิตาซีอี้ ซึ่งปัจจุบันเมล็ดพันธุ์ของพืชสกุลคูคูมิส จากทุกแหล่งจัดเป็นสิ่งกำกัดตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนด เป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 การนำเข้าหรือนำผ่านเพื่อการค้า จะต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย จากการศึกษารวบรวมข้อมูลศัตรูพืชพบว่า มีศัตรูพืชหลายชนิดที่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทย ซึ่งศัตรูพืชเหล่านี้มีโอกาสที่จะติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ได้ ดังนั้นหากประเทศไทยไม่มีมาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสมแล้ว อาจก่อให้เกิดปัญหาของศัตรูพืชหลายชนิดที่ไม่เคยพบในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์แคนตาลูปที่นำเข้า เกิดการแพร่กระจายและเพิ่มปริมาณจนเกิดเป็นการระบาดของศัตรูพืชชนิดใหม่ขึ้นได้ ซึ่งจะส่งผลให้เกิดผลเสียหายต่อเศรษฐกิจของประเทศอย่างใหญ่หลวง ดังนั้นจึงได้ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์แคนตาลูป โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้รายชื่อศัตรูพืชกักกัน และกำหนดมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่เหมาะสมสำหรับเมล็ดพันธุ์แคนตาลูปจากประเทศอเมริกา และใช้เป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนในการประกาศทบทวนมาตรการทางสุขอนามัยพืชสำหรับการปรับเปลี่ยนสถานะเมล็ดพันธุ์แคนตาลูปนำเข้าจากประเทศอเมริกา

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เอกสารงานวิจัยทั้งในและต่างประเทศ ตำราวิชาการ วารสารวิชาการ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ

2. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช (International Standards for Phytosanitary Measures: ISPM) ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for Pest Risk Analysis) (FAO, 2007)

3. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช (International Standards for Phytosanitary Measures: ISPM) ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม และสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม (Pest risk analysis for quarantine pests including analysis of environmental risks and living modified organisms) (FAO, 2004)

วิธีการ

1 การศึกษาข้อมูลพืชและข้อมูลศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์แคนตาลูป

ศึกษาข้อมูลพืชและข้อมูลศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์แคนตาลูป โดยค้นคว้ารวบรวมข้อมูลจาก ตำราวิชาการ วารสารวิชาการ เอกสารเผยแพร่ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ ที่มีรายงานทั้งในและต่างประเทศ เพื่อให้ได้ข้อมูล ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง ชื่อสามัญ ชีววิทยา แหล่งแพร่กระจาย ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย การป้องกันกำจัด และมาตรการทางสุขอนามัยพืช

2 การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์แคนตาลูปนำเข้าจากประเทศอเมริกา โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช และฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม และสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม โดยมีขั้นตอน ดังนี้

2.1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation)

โดยการจำแนกชนิดสิ่งมีชีวิตและเส้นทางผ่านต่าง ๆ ที่จะมีการพิจารณาสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่เกี่ยวข้องกับพื้นที่การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่ได้มีการระบุจำแนกไว้ และการกำหนดพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชรวมทั้งการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่ผ่านมา

2.2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment)

การจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest Categorization)

ดำเนินการโดยการค้นคว้ารวบรวมรายชื่อสิ่งมีชีวิตที่มีรายงานว่าเป็นศัตรูของแคนตาลูป โดยจัดแบ่งออกเป็นกลุ่ม เช่น แมลง ไร ไวรัส ไวรอยด์ แบคทีเรีย รา ไส้เดือนฝอย เป็นต้น พร้อมทั้งบันทึกรายละเอียดของศัตรูแคนตาลูปแต่ละชนิด ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ แหล่งแพร่กระจาย ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย/อาศัย พบในประเทศไทยหรือไม่พบ พิจารณาคัดเลือกเฉพาะศัตรูพืชที่ไม่พบในประเทศไทย มีโอกาสติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์แคนตาลูปและอาจจะก่อให้เกิดความเสียหายได้ นำมาประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่อไป

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Risk Assessment)

โดยการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของแคนตาลูปที่นำเข้าจากประเทศอเมริกา ที่ไม่พบในประเทศไทย มีโอกาสติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์แคนตาลูป ตั้งรกรากอย่างถาวร และแพร่ระบาดในประเทศ ตลอดจนประเมินศักยภาพที่จะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจรวมทั้งผลกระทบทางตรงและทางอ้อมหากติดเข้ามา ปัจจัยที่พิจารณา คือ

1. การประเมินศักยภาพในการที่ศัตรูจะเข้ามาเจริญพันธุ์ตั้งรกรากอย่างถาวร และการแพร่กระจาย ในพื้นที่ที่ทำการวิเคราะห์ (Assessment of entry, establishment and spread) โดยพิจารณาปัจจัยต่าง ๆ ที่สามารถทำให้ศัตรูพืชเข้ามาเจริญแพร่พันธุ์ได้ โดยมีหลักฐานสนับสนุนผลการวิเคราะห์ เช่น สภาพแวดล้อมและสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่พันธุ์และแพร่ระบาดของศัตรูพืช พืชอาศัย เครื่องกีดกั้นตามธรรมชาติ การเคลื่อนย้ายของศัตรูพืช และพาหะของศัตรูพืชที่มีปรากฏในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยง เป็นต้น

2. การประเมินศักยภาพที่จะเกิดผลตามมาทางเศรษฐกิจในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Potential economic consequence) ความเป็นไปได้สูงที่ศัตรูพืชจะก่อให้เกิด

ผลกระทบทางเศรษฐกิจ ซึ่งอาจมีผลกระทบทางตรงต่อพืช สัตว์ มนุษย์ และสิ่งแวดล้อม หรือมีผลกระทบทางอ้อม เช่น การป้องกันกำจัด การค้าภายในประเทศและระหว่างประเทศ ผลกระทบทางสังคม เป็นต้น โดยพิจารณาว่ามีผลกระทบจนถึงระดับที่ยอมรับไม่ได้ ในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

2.3 การบริหารจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest Risk Management)

การบริหารจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อปกป้องพื้นที่เสี่ยงภัย (Endangered area) โดยเป็นสัดส่วนกับความเสี่ยงที่จำแนกได้ในการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช อยู่บนพื้นฐานของข้อมูลที่รวบรวมได้ในการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช มาตรการสุขอนามัยพืชต้องมีประสิทธิภาพและใช้เท่าที่จำเป็นเพื่อประสิทธิภาพในการป้องกันของพื้นที่เสี่ยงภัย

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2555 - กันยายน 2556

สถานที่ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในปี 2555 - 2556 ได้ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์แคนตาลูปนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา ผลการดำเนินงานดังนี้

1 การศึกษาข้อมูลพืชและข้อมูลศัตรูพืชของแคนตาลูป

แคนตาลูป เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Cucurbitaceae มีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกา เป็นพืชที่ชอบอากาศอบอุ่นถึงร้อน อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโต อยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสำหรับการงอกของรากแคนตาลูป อยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส ชอบแสงแดดตลอดวัน ดินที่ใช้ปลูกควรเป็นดินร่วนปนทรายซึ่งระบายน้ำได้ดี มีความเป็นกรด-ด่าง อยู่ระหว่าง 6.0-6.8 โดยพื้นที่ปลูกแคนตาลูปในประเทศไทยมีประมาณ 5,964 ไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2543) ในปี 2550-2552 ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์แคนตาลูป ประมาณ 6 ตัน คิดเป็นมูลค่ากว่า 82 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2556) โดยนำเข้าจากหลายประเทศ เช่น สาธารณรัฐประชาชนจีน ไต้หวัน เกาหลีใต้ ญี่ปุ่น อินโดนีเซีย ฮอลแลนด์ และสหรัฐอเมริกา

เมล็ดพันธุ์แคนตาลูปที่นำเข้าในปี 2555 จากสหรัฐอเมริกามีปริมาณ 119.55 กิโลกรัม มูลค่าประมาณ 1,723,910.25 บาท ในสหรัฐอเมริกามีการปลูกแคนตาลูปมากกว่า 7,500 ราย พื้นที่มากกว่า 100,000 เอเคอร์ มีการผลิตแคนตาลูปตลอดทั้งปี ส่วนใหญ่ผลิตใน แคลิฟอร์เนีย, แอริโซนา, เท็กซัส แคนตาลูปมีด้วยกันหลายพันธุ์ที่นิยมปลูก ได้แก่ Gold star, Burpee hybrid, Summet, Santa claus, Honeydews

ผลการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืช พบว่าศัตรูแคนตาลูปที่มีรายงานพบในประเทศสหรัฐอเมริกามีจำนวน 100 ชนิด ข้อมูลศัตรูพืช ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ การจัดลำดับทางอนุกรมวิธาน ลักษณะการทำลาย พืชอาหาร/พืชอาศัย การเป็นพาหะของเชื้อสาเหตุโรคพืช และการป้องกันกำจัด

สำหรับศัตรูแคนตาลูปที่มีรายงานพบในประเทศไทยมีจำนวน 59 ชนิด ข้อมูลศัตรูพืช ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ การจัดลำดับทางอนุกรมวิธาน ลักษณะการทำลาย พืชอาหาร/พืชอาศัย การเป็นพาหะของเชื้อสาเหตุโรคพืช และการป้องกันกำจัด

2 การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

2.1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation)

ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แบ่งสิ่งที่อยู่ภายใต้การควบคุมออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ สิ่งต้องห้าม สิ่งกำกัด และสิ่งไม่ต้องห้าม ซึ่งเมล็ดพันธุ์แคนตาลูป จากทุกแหล่งเป็นสิ่งกำกัดตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนด เป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 โดยการนำเข้ามีเพียงใบรับรองสุขอนามัยพืช ซึ่งอาจมีศัตรูพืชติดเข้ามาพร้อมกับเมล็ดพันธุ์แคนตาลูปเป็นเส้นทางศัตรูพืช (pathway) และประเทศไทยยังไม่เคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์แคนตาลูปนำเข้าจากประเทศอเมริกา

2.2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment)

การจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest Categorization)

ผลการจัดกลุ่มศัตรูพืชสำหรับแคนตาลูปจากสหรัฐอเมริกาที่ไม่พบในประเทศไทย 15 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย *Acidovorax avenae subsp. citrulli, Pseudomonas syringae* เชื้อรา *Alternaria cucumerina*, *Golovinomyces orontii* ไวรัส *Alfalfa mosaic virus*, *Beet curly top virus*, *Cucumber yellow stunting disorder virus*, *Lettuce infectious yellows virus, Squash leaf curl virus, Squash mosaic virus, Tobacco ringspot virus, Watermelon mosaic virus, Zucchini yellow mosaic virus* และ ไร *Tetranychus pacificus, Petrobia latens* (CABI, 2007)

สำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของแคนตาลูปนำเข้าจากประเทศอเมริกาในขั้นตอนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชและขั้นตอนต่อไป จะดำเนินการในปี 2557

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์แคนตาลูปจากสหรัฐอเมริกา ได้ข้อมูลเกี่ยวกับแคนตาลูป ได้แก่ สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในการปลูก สถิติการนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา และพันธุ์และแหล่งปลูกในสหรัฐอเมริกา และข้อมูลศัตรูแคนตาลูปที่มีรายงานพบในประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งพบว่ามีจำนวน 100 ชนิด และได้ข้อมูลชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ การจัดลำดับทางอนุกรมวิธาน ลักษณะการทำลาย พืชอาหาร/พืชอาศัย การเป็นพาหะของเชื้อสาเหตุโรคพืช และการป้องกันกำจัด สำหรับศัตรูแคนตาลูปที่มีรายงานพบในประเทศไทยมีจำนวน 59 ชนิด ผลการศึกษาขั้นตอนการจัดกลุ่มศัตรูพืช พบว่าศัตรูแคนตาลูปที่มีรายงานในสหรัฐอเมริกาที่ไม่พบในประเทศไทยมี 15 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย *Acidovorax avenae subsp. citrulli, Pseudomonas syringae* เชื้อรา *Alternaria cucumerina*, *Golovinomyces orontii* ไวรัส *Alfalfa mosaic virus*, *Beet curly top virus*, *Cucumber yellow stunting disorder virus*, *Lettuce infectious yellows virus, Squash leaf curl virus, Squash mosaic virus, Tobacco ringspot virus, Watermelon mosaic virus, Zucchini yellow mosaic virus* และ ไร *Tetranychus pacificus, Petrobia latens*

เอกสารอ้างอิง

“**ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้น และ เงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550**” (2550, 1 มิถุนายน). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. หน้า 5.

“**พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507**” (2507, 21 มีนาคม) ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 81 ตอนที่ 27 ฉบับพิเศษ หน้า 1-12.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2543. คู่มือ พืชสวนเศรษฐกิจ. กองส่งเสริมพืชสวน. กรมส่งเสริมการเกษตร กรุงเทพฯ. 314 หน้า.

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2556. ข้อมูลสถิติ 2550-2553. สำนักควบคุมพืชและวัสดการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล :http://as.doa.go.th/ard/stat2.php?cat=4 (14 ตุลาคม 2556)

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

FAO (Food and Agriculture Organization)**.** 2004. ISPM 11: 2004 **Pest risk analysis for quarantine pests, including analysis of environmental risks and living modified organisms** (originally adopted in 2001, with supplements integrated in 2003 and 2004). FAO, Rome.

FAO (Food and Agriculture Organization). 2007. ISPM 02: 2007 **Framework for pest risk analysis** (originally adopted in 1995, revised in 2007). FAO, Rome.

การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ฟักทอง สควัอช และแว๊กกราวด์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ

Study on Quarantine Pests Associated with some Imported Pumpkin Squash and Wax Gourd Seeds

วันเพ็ญ ศรีชาติ ศรีวิเศษ เกษสังข์ ชลธิชา รักใคร่
วานิช คำพานิช โสภา มีอำนาจ
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ฟักทอง (Pumpkin and Squash) ข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายส่วนต่างๆ ของฟักทอง มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 295 ชนิด คือเชื้อรา 58 ชนิด แบคทีเรีย 12 ชนิด ไวรัส 21 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 12 ชนิด แมลง 163 ชนิด ไร 17 ชนิด ทาก 2 ชนิด และวัชพืช 9 ชนิด และจากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควัอชจาก 16 ประเทศ ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา ชิลี ฝรั่งเศส เม็กซิโก บราซิล อิตาลี ออสเตรเลีย อินเดีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ สาธารณรัฐประชาชนจีน เนเธอร์แลนด์ เกาหลี เปรู และ ไต้หวัน มาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ลักษณะเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควัอช มีสีขาว เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควัอช ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา จำนวน 11 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis, Cladosporium* sp., *Chaetomium* sp., *Curvularia lunata, Curvularia pallescens, Dreshlera halodes, Fusarium semitectum, Fusarium solani*, *Ghaphium* sp., *Macrophomina* sp. และ *Phoma* sp. และจากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แว๊กกราวด์ที่นำเข้าจาก 3 ประเทศ ได้แก่ ประเทศฟิลิปปินส์ ญี่ปุ่นและไต้หวัน มาตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *Curvularia lunata*, *Curvularia pallescens* และ *Macrophomina* sp. แต่จากการนำเมล็ดพันธุ์ฟักทอง สควัอชและแว๊กกราวด์ มาตรวจด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคบนต้นพืชในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นฟักทอง ควัอช และแว๊กกราวด์ ลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ไม่แสดงอาการโรคพืช ซึ่งจากการตรวจเอกสารและการสังเกตเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากบางประเทศ มีการคลุกสารเคมีฆ่าเชื้อรา ได้แก่ Thiram หรือ Captan หรือ คลุกสารเคมีทั้ง 2 ชนิดกับเมล็ดพันธุ์นำเข้าอัตราการใช้

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-03-00-12-55

85 กรัมต่อเมล็ดพันธุ์น้ำหนัก 45 กิโลกรัม และผลการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควัอชนำเข้าจากต่างประเทศ ในภาคเหนือ 2 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดน่านและลำพูน และในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 3 จังหวัดได้แก่ อุดรธานี หนองบัวลำภู และขอนแก่น พบอาการโรคบนใบของฟักทองและสควัอช จำนวน 5 โรค ได้แก่ โรคราน้ำค้างเชื้อสาเหตุ *Pseudoperonospora cubensis* โรคราแป้ง เชื้อสาเหตุ *Oidium* sp. โรคใบจุด เชื้อสาเหตุ *Cercospora citrullina* โรคใบแห้ง เชื้อสาเหตุ *Corynespora melonis* โรคใบจุดแบคทีเรีย เชื้อสาเหตุ sp. อาการที่พบบนผล จำนวน 1 โรค ได้แก่ โรคผลเน่า เชื้อสาเหตุ *Choanephora cucurbitarum* อาการที่พบที่โค่นต้น จำนวน 1 โรค ได้แก่ โรคเหี่ยว เชื้อสาเหตุ *Fusarium semitectum* และ *Fusarium oxysporum* ซึ่งศัตรูพืชที่พบทั้งในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและตรวจสอบโรคในแปลงปลูก ไม่ใช่ศัตรูพืชด้านกักกันพืชของประเทศไทย

คำนำ

ตามรายชื่อพืช แนบท้ายประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนด เป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 ภายใต้พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กำหนดให้ส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชในวงศ์คูเคอร์บิตาซีอี้ Cucurbitaceae (ไม่รวมถึง ผล) ได้แก่ พืชสกุลคูเคอร์บิตา *Cucurbita* spp. ซึ่งเป็นพืชฟักทอง สควัอช จัดเป็น สิ่งกำกัด ส่วนแว๊กกราวด์ (Wax gourd: *Benincasa hispida*) จัดเป็นสิ่งไม่ต้องห้าม โดยในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวเข้ามายังประเทศไทยต้องแจ้งการนำเข้า และมีใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทางกำกับมาพร้อมกับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้า ซึ่งการนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศมีโอกาสที่ศัตรูพืชหลายชนิดที่อาจเป็นศัตรูพืชกักกันที่ร้ายแรงหรือศัตรูพืชที่สำคัญที่ก่อความเสียหายกับผลิตผลทางการเกษตรติดเข้ามากับเมล็ดพืชด้วย โดยอาจเป็นศัตรูพืชร้ายแรงที่ไม่มีปรากฏในประเทศไทย โดยเฉพาะในกลุ่มของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่ติดมากับพืชวงศ์แตง ซึ่งมีการนำเข้ามาเพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์หรือเป็นต้นพันธุ์ในการส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกกระจายทั่วประเทศไทย โดยในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เหล่านี้ในปริมาณมาก หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวสามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศไทย จะก่อให้เกิดผลกระทบทำความเสียหายต่อการเกษตรในประเทศและกระทบต่อการส่งออกพืชผักผลไม้ไทยไปยังต่างประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการตรวจสอบศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับพืชนำเข้า เพื่อให้ทราบชนิด แหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้าและเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืช มีประโยชน์ใช้อ้างอิงทางวิชาการ นำมาพิจารณาหามาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และกำหนดเป็นมาตรการทางด้านกฎหมายและทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้า หรือเปลี่ยนแปลงสถานรูปของพืชนำเข้าให้เป็นสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกำกัดตามพระราชบัญญัติกักพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แตงกวานำเข้าจากต่างประเทศ
2. กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope และ compound microscope
3. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

4. สารเคมีตรวจสอบเชื้อโรคพืช
5. ภาชนะเก็บตัวอย่างพืช
6. ชุดตรวจสอบศัตรูพืช (ELISA Kit)
7. หนังสือ และวารสารทั้งในประเทศและต่างประเทศ
8. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมทั้งการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสรูปแวดล้อม" (ISPM No. 11 : Pest risk analysis for quarantine pest including analysis of environmental risk)

วิธีการ

1.รวบรวมข้อมูลทั่วไปของฟักทองและสควัอช และข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเตอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของฟักทองสควัอช และแว๊กกราวด์ ลักษณะทั่วไปของพืช สายพันธุ์ พื้นที่การเพาะปลูก รายชื่อของประเทศที่ประเทศไทยมีการการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืชทั้งนอกประเทศและในประเทศ

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ฟักทอง สควัอช และแว๊กกราวด์นำเข้าในห้องปฏิบัติการ

ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ฟักทอง สควัอช และแว๊กกราวด์ที่นำเข้าจากต่างประเทศมาทำการตรวจวินิจฉัยโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลง เมล็ดวัชพืช หรือลักษณะเมล็ดด่าง มีสีดำ บิดงอ ขนาดเล็ก ที่มีสาเหตุจากเชื้อโรค

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1999) และตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์นำเข้า

2.2.1 การตรวจสอบเชื้อรา

1) การตรวจสุขรูปเมล็ดพันธุ์พืชขณะยังไม่งอก (Dry seed examination)

โดยตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์เชื้อราหรือศัตรูพืชอื่นๆ ซึ่งปะปนมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เช่นเมล็ดพันธุ์มีรูปร่างผิดปกติ หรืออาจติดมา ภายในเมล็ดพันธุ์โดยไม่แสดงอาการ รวมทั้งอาจติดมากับเศษพืชในลักษณะเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์เช่น Pycnidia เป็นต้น

2) การตรวจสุขรูปเมล็ดพันธุ์พืชขณะเมล็ดงอก

สุ่มตัวอย่างเมล็ดตามวิธีการมาตรฐาน ในปริมาณที่เหมาะสมวิเคราะห์โดยสุ่มแยกตามสายพันธุ์ มาทดสอบด้วยวิธี Blotter method โดยวางเมล็ดลงบนกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จำนวน 3 แผ่นที่ชุ่มน้ำซึ่งวางอยู่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วางเมล็ดพันธุ์ฟักทอง สควัอชและแว๊กกราวด์ 10 เมล็ดต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวน 200 เมล็ด จากนั้นนำจานเพาะเมล็ดไปบ่มเชื้อ (incubate) ใต้แสง near ultraviolet (NUV) สลับกับความมืด 12/12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ด

พันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอไมโครสโคป (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope)

2.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

ในกรณีที่เชื้อติดมาในปริมาณมากจะสามารถแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรง หลังจากทำการแยกเชื้อด้วยวิธี Blotter method ได้ หรือทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate โดยสุ่มเมล็ดตามมาตรฐาน นำมาแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที ล้างตามด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ เมื่อได้เมล็ดพันธุ์จึงนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบด แล้วนำผงของเมล็ดใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ (0.85% NaCl) หรือบัฟเฟอร์ จำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยวางบนเครื่องเขย่า จากนั้นนำมาทำให้เจือจางในอาหารเหลว Nutrient broth ให้มีความเจือจางเป็น 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} และ 10^{-5} ตามลำดับ ใช้ไปเปตต์ดูด suspension แต่ละความเข้มข้น จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) แล้วใช้แท่งแก้วลนไฟฆ่าเชื้อ spread ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ดผิดปกติ

โดยการเพาะเมล็ดในดินนึ่งฆ่าเชื้อ โดยเพาะ 25-50 เมล็ดต่อถุง และเก็บถุงเพาะที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส รดน้ำเช้าเย็นในโรงเรือนกักกันพืช ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช เมื่อต้นกล้าออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชุ่มชื้นเป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนใบ กิ่ง ลำต้น โค่นต้น และราก เก็บส่วนของพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

2.1) วิธี Dilution plate ตัดใบพืชที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ แล้วบดชิ้นส่วนในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาทำให้เจือจางเป็นลำดับจาก 10^{-1} ถึง 10^{-5} และดำเนินการเช่นเดียวกับขั้นตอนในข้อ (1)

2.2) วิธี Tissue transplanting ตัดใบพืชเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 2x2 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อแล้ววางชิ้นพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA หรืออาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง (semiselective media) นำจานเลี้ยงเชื้อไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จึงนำมาตรวจสอบหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรียเก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจนครบ 3-5 วัน เพื่อตรวจหาโคโลนีของแบคทีเรียชนิดอื่นจากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และนำไปศึกษาคุณลักษณะเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

1. ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

2. ทดสอบแกรม (Gram reaction) โดยใช้สารละลายโปรแตสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (3%KOH) ที่เตรียมใหม่ใช้ภายใน 2 สัปดาห์ หากตรวจพบเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) มีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) และแกรมบวก (Gram positive) รูปร่างแบบ Coryneform rod ก็จะนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3. ทดสอบ hypersensitivity reaction บนยาสูบ โดยการฉีดสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียอายุ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เข้าไปในใบยาสูบ *(Nicotiana tabacum* L.) บริเวณใต้ใบโดยฉีดเข้าเนื้อใบระหว่างเส้นใบ สังเกตลักษณะอาการเซลล์ตายตรงเนื้อใบหลังการฉีดเชื้อ 24-48 ชั่วโมง หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช

4. ทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical properties) เช่น การใช้ยูเรีย การย่อยเจลาติน การย่อยเอสคูลิน และแป้ง reduce ไนเตรต ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นต้น

5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัย (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่นปลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยง หรือเนื้อใบของต้นฟักทอง สควัอชและแว๊กกราวด์ อายุ 2-3 สัปดาห์ ฉีดพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจลักษณะอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

2.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

1) ปลูกสังเกตลักษณะอาการโรคบนต้นกล้า (Seedling symptom test) โดยเพาะ เมล็ดพันธุ์ในดินอบฆ่าเชื้อ ตัวอย่าง 50-200 เมล็ด เก็บรักษาไว้ในโรงปลูกพืชกันแมลงเมื่อต้นพืชออกใบจริง 1-2 ใบ จึงตรวจสอบลักษณะอาการโรค ต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ สงสัยว่ามีสาเหตุจากเชื้อไวรัสจะนำใบอ่อนไปตรวจสอบด้วยวิธีการอื่นเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

2) ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) เตรียมน้ำคั้นพืชสำหรับทดสอบโดยบดใบพืชที่แสดงอาการผิดปกติในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ตรวจสอบเชื้อไวรัสใช้ 0.1 M phosphate buffer pH 7.0) โดยใช้ใบพืชหนัก 1 กรัมต่อบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร ในสรูปเย็น จากนั้นใช้สำลีหรือนิ้วที่สะอาดจุ่มน้ำคั้นพืชทาลงบนใบพืชทดสอบ ซึ่งโรยด้วยผงคาร์โบรันดัม (carborundum ขนาด 600 mesh) หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 5 นาที ล้างใบพืชและนำพืชทดสอบไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส สังเกตลักษณะอาการบนพืชทดสอบหลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 1-4 สัปดาห์ โดยพืชทดสอบจะแสดงอาการแผลเฉพาะแห่ง (local lesion) หรืออาการแบบกระจายทั่วลำต้น (systemic infection)

3) การตรวจสอบด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา (Serological techniques) การตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme – linked Immunosorbent Assay : ELISA เป็นวิธีตรวจสอบเชื้อไวรัสที่มีความไวสูง แม้จะมีเชื้อไวรัสปริมาณต่ำหรืออนุภาคแตกหักก็สามารถตรวจได้ ให้ผลรวดเร็ว แน่นอน

และยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมาก วิธีการที่นำมาใช้เป็นแบบ Indirect ELISA ทำการบันทึกผล

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์นำเข้าในพื้นที่ของเกษตรกร

ทำการติดตามตรวจสอบต้นพืชที่มีการนำเมล็ดพันธุ์นำเข้าไปเพาะปลูกในแปลงปลูกของเกษตรกรตามภาคต่างๆ โดยสังเกตอาการความผิดปกติของต้นพืชทั้ง โคนต้น ราก ลำต้น ใบและผลของพืช และทำการสุ่มเก็บตัวอย่างอาการดังกล่าว นำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง แยกเชื้อ จัดจำแนกชนิดของเชื้อ และทดสอบการเกิดโรคกับพืชในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวินิจฉัยเชื้อโรคศัตรูพืชอย่างละเอียด เช่นเดียวกับในขั้นตอนที่ 2

4.การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและศัตรูพืชที่ติดตามตรวจสอบในแปลงปลูก และสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

โดยการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบในห้องปฏิบัติการจากเมล็ดพันธุ์นำเข้าและศัตรูพืชที่ติดตามตรวจสอบในแปลงปลูกของเกษตรกรและสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

เวลาและสถานที่

เวลา: เดือนตุลาคม 2554 – กันยายน 2556

สถานที่: ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช ด่านตรวจพืช และและแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมข้อมูลทั่วไปของฟักทอง สควัอชและแว๊กกราวด์ และข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ฟักทอง (Pumpkinหรือ สควัอช) (รูปที่ 1) เป็นพืชผักที่จัดอยู่ในกลุ่มพืชตระกูลแตง (Cucurbitaceae) ซึ่งได้แก่ ฟักทองและสควัอช แตงร้าน ฟักแฟง มะระ บวบ แตงโม แคนตาลูป ฯลฯ

แหล่งปลูก ฟักทอง (Pumpkin) ในประเทศไทย มีหลายจังหวัด แต่ที่ปลูกมากคือ ศรีษะเกษ , สกลนคร, ขอนแก่น, กาญจนบุรี, ชุมพร และฉะเชิงเทรา

ลักษณะทางพฤษศาสตร์ของฟักทองหรือสควัอช ฟักทองเป็นพืชผักที่มีลำต้นทอดและเลื้อยไปตามพื้นดิน เช่นเดียวกับแตงโม มีดอกสีเหลือง ทั้งตัวผู้และตัวเมียจะแยกกันแต่อยู่ในต้นเดียวกัน ดังนั้น จึงต้องการช่วยผสมเกสร โดยวิธีธรรมชาติ เช่น ลมพัด หรือมีแมลงผสมเกสร หรือผู้ปลูกช่วยผสมเกสรเพื่อการติดผล เป็นไม้เถาอ่อน มีขนสากมือ มีหนวดสำหรับเกี่ยวพันทอดไปตามพื้นดิน จึงต้องการเนื้อที่ปลูกมากกว่าพืชผักอื่นๆ เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ที่มีอายุปีเดียว (ฤดูเดียว) เมื่อให้ผลแล้วก็ตายไป มีหลายพันธุ์ทั้งแบบต้นเลื้อยและเป็นพุ่มเตี้ย พันธุ์เบามีอายุเก็บเกี่ยวประมาณ 50-60 วัน ส่วนพันธุ์หนักมีอายุตั้งแต่หยอดเมล็ดจนติดผลอ่อน 45-60 วันและให้ผลแก่เมื่อ 120-180 วัน โดยทยอยเก็บผลได้หลายครั้งจนหมดผล

พันธุ์ฟักทอง มีพันธุ์พื้นเมืองหลายพันธุ์ เรียกตามลักษณะของผล เช่น พันธุ์ข้องปลา จะมีลักษณะของผลคล้ายข้องปลา, พันธุ์ผลมะพร้าว จะมีลักษณะผลคล้ายมะพร้าว เป็นต้น

- ฟักทองพันธุ์ดำ เมื่อแก่เปลือกจะมีสีเขียวเข้มอมดำ เปลือกจะขรุขระเป็นปุ่มปม คล้ายผิวคางคก (บางทีก็เรียกพันธุ์คางคก) ก้นของผลยุบเข้าไปในผล ทำให้ปอกเปลือกยาก แต่เป็นพันธุ์หนักผลโต

- ฟักทองพันธุ์น้ำตก ผิวจะไม่ค่อยขรุขระนัก ก้นของผลจะนูนออกมา ทำให้ปอกเปลือกง่าย ผลเล็กกว่าพันธุ์ดำเล็กน้อย

พันธุ์ฟักทองนี้ จะมีชื่อเรียกแต่ละท้องถิ่นไม่เหมือนกัน มีขนาดรูปร่างสีเปลือก ผล และเนื้อก็แตกต่างกันไป พันธุ์เบาให้ผลเล็ก อายุเก็บเกี่ยว 120-180 วัน โดยทยอยเก็บผลได้เรื่อยๆ 4-5 ครั้ง ต้นหนึ่งๆ จะให้ผลได้ 4-5 ผล หรือมากกว่าถึง 7 ผล

สรุปแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการปลูก ฟักทอง ปลูกได้ในดินแทบทุกชนิดที่มีการปลูกผัก ชอบดินร่วนปนทรายที่มีความอุดมสมบูรณ์ดี และมีการระบายน้ำดี มีค่าความเป็นกรด-ด่างของดินระหว่าง 5.5-6.8 (ชอบดินเป็นกรดเล็กน้อย) ชอบอากาศแห้ง ดินไม่ชื้นแฉะ และน้ำไม่ขัง **ฤดูปลูก** ส่วนมากจะเริ่มปลูกในช่วงเดือนกุมภาพันธุ์-มีนาคม หรือหลังฤดูทำนา แต่สามารถได้ดีในปลายฤดูฝนและต้นฤดูหนาวคือช่วงเดือนกันยายน-ตุลาคม และปลูกได้ดีที่สุดคือช่วงเดือนพฤศจิกายน-กุมภาพันธุ์

ปริมาณการนำเข้า

ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควอชจากต่างประเทศ ในปี 2555-56 ปริมาณนำเข้า 14,069.31 กิโลกรัม มูลค่าการนำเข้า 13,463,213.42 บาท

ศัตรูพืชที่พบเข้าทำลายฟักทอง สควอชและแว๊กกราวด์ การศึกษาเบื้องต้นในการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช พบว่า ขั้นตอนการจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest categorization) มีสิ่งมีชีวิตที่เป็นศัตรูพืชรวม 295 ชนิด คือเชื้อรา 58 ชนิด แบคทีเรีย 12 ชนิด ไวรัส 21 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 12 ชนิด แมลง 163 ชนิด ไร 17 ชนิด ทาก 2 ชนิด และวัชพืช 9 ชนิด จากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเบื้องต้นสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ฟักทอง สควอชและแว๊กกราวด์ จากต่างประเทศเข้ามาในราชอาณาจักร พบศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทย และเป็นศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงสูงที่อาจติดเข้ามาและก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชผลในประเทศ ดังนั้นเพื่อเป็นการป้องกันการระบาดของศัตรูพืชดังกล่าว หรือศัตรูชนิดใหม่จึงทำการตรวจสอบหาศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์เป็นข้อมูลในการหามาตรการที่เหมาะสมกับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ฟักทอง สควอชและแว๊กกราวด์ จากต่างประเทศเข้ามาในราชอาณาจักร

แว๊กกราวด์ ฟักเขียว หรือ **ฟักแฟง** (ชื่อวิทยาศาสตร์: *Benincasa hispida*; อังกฤษ: winter melon หรือ wax gourd) (รูปที่ 2) หรือที่เรียกสั้น ๆ ว่า **"ฟัก"** เป็นผักพื้นบ้านพืชล้มลุกจำพวกไม้เถาตระกูลแตงลำต้น ใบสีเขียวลักษณะหยักหยาบ ดอกมีสีเหลือง ผลกลมยาวมีนวลขาว ปลูกกันมากในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เอเชียตะวันออก และเอเชียใต้

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

แว๊กกราวด์ หรือฟักเขียวเป็นพืชอายุสั้น มีลำต้นสีเขียวมีขนขึ้นปกคลุมอยู่ทั่วลำต้น แตกกิ่งก้านสาขามากมาย ใบมีลักษณะเป็นหยักคล้ายฝ่ามือขอบใบแยกออกเป็น 5–7 แฉก ปลายแฉกแหลมใบหยาบเรียงสลับกันตามข้อต้น ใบกว้างประมาณ 5–15 เซนติเมตร มีขนปกคลุม ก้านใบยาวประมาณ 10 เซนติเมตร มีดอกเดี่ยว (Solitary Flower) สีเหลือง ดอกเพศผู้มีลักษณะเป็นหลอดยาว 5–10 เซนติเมตร ปลายดอกแยกออกเป็น 5 กลีบ มีกลีบเลี้ยง 5 กลีบ ส่วนดอกเพศเมียก้านดอกจะสั้นกว่าดอกเพศผู้ ปลายดอกแยกออกเป็น 3 แฉก มีรังไข่อยู่ภายในดอก ผลมีลักษณะเป็นรูปกลมยาวกว้างประมาณ 20–30 เซนติเมตร ยาว 30–60 เซนติเมตร เปลือกแข็ง สีเขียวเนื้อในสีขาว เนื้อแน่นฉ่ำน้ำ มีเมล็ดอยู่ภายในจำนวนมากสีขาวออกเหลือง

การปลูก

แว๊กกราวด์ หรือฟักเขียวขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด ปลูกได้ดีในดินร่วนปนทรายโดยการนำเมล็ดที่เตรียมไว้หยอดลงหลุมลึกประมาณ 3–5 เซนติเมตร ประมาณ 2–3 เมล็ด กลบหลุมและ รดน้ำสม่ำเสมอทุกวันโดยเฉพาะช่วงติดดอกและผล ซึ่งอาจทำให้ดอกและผลที่ติดหลุดร่วงได้ ในช่วงเวลา 15 วัน ก่อนการเก็บเกี่ยวควรหยุดการให้น้ำเพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณรูปและเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ในช่วง 35–60 วัน

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ฟักทอง สควัอชและแว๊กกราวด์นำเข้าจากต่างประเทศในห้องปฏิบัติการ

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากทุกประเทศในเบื้องต้น พบว่าลักษณะของเมล็ดมีสีขาว เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด ซึ่งจากการตรวจเอกสารและการสังเกตเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากบางประเทศ มีการคลุกสารเคมีฆ่าเชื้อรา ได้แก่ Thiram หรือ Captan หรือคลุกสารเคมีทั้ง 2 ชนิดกับเมล็ดพันธุ์นำเข้า อัตราการใช้ 85 กรัมต่อเมล็ดพันธุ์น้ำหนัก 45 กิโลกรัม (รูปที่ 3)

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1999) และการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดเมล็ดพันธุ์นำเข้าในห้องปฏิบัติการและการปลูกทดสอบในโรงเรือน

เมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควัอช

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควัอช นำเข้าจาก 16 ประเทศ ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา ชิลี ฝรั่งเศส เม็กซิโก บราซิล อิตาลี ออสเตรเลีย อินเดีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ สาธารณรัฐ-ประชาชนจีน เนเธอร์แลนด์ เกาหลี เปรู และ ไต้หวัน และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควัอช ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method โดยแยกตามสายพันธุ์ ซึ่งเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวมีการนำเข้าเพื่อทำการเพาะปลูก หรือเป็นพ่อ-แม่พันธุ์ในการผสมพันธุ์ให้ได้เป็นลูกผสมและส่งเมล็ดพันธุ์ลูกผสมจำหน่ายกลับไปยังต่างประเทศ พบว่า เมล็ดพันธุ์ฟักทองหรือสควัอชที่นำเข้าจากไต้หวัน พบเชื้อรา จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis* (รูปที่ 4ก), *Chaetomium* sp. (รูปที่ 4ข), *Cladosporium* sp. (รูปที่ 5ก) และ *Macrophomima* sp. เมล็ดพันธุ์ฟักทองที่นำเข้าจากออสเตรเลีย เชื้อราจำนวน 1 ชนิด ได้แก่*Chaetomium* sp. เมล็ดพันธุ์นำเข้าจากประเทศอินเดีย พบเชื้อรา จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *Chaetomium* sp., *Curvularis pallescens* (รูปที่ 5ข) และ *Dreshlera halodes* (รูปที่ 6ก) เมล็ดพันธุ์นำเข้าจากประเทศอินโดนีเซีย พบเชื้อรา จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *Fusarium solani* (รูปที่ 6ข) *Macrophomina* sp. (รูปที่ 7ก) และ *Phoma* sp. (รูปที่ 7ข) เมล็ดพันธุ์นำเข้าจากประเทศญี่ปุ่น พบเชื้อรา จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Curvularia lunata* (รูปที่ 8ก), *Curvularia pallescens, Fusarium semitectum* (รูปที่ 8ข), *Fusarium solani, Ghaphium* sp. (รูปที่ 9) และ *Phoma* sp. เมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน พบเชื้อรา จำนวน 1 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis* แต่จากการตรวจด้วยวิธี Dilution technique ในทุกตัวอย่างไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นฟักทองและสควัอชลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ (รูปที่ 10) แต่อย่างไรก็ตาม มีความจำเป็นที่ต้องหาเทคนิคการตรวจสอบ

ศัตรูพืชที่เฉพาะเจาะจงกับเชื้อโรคบางชนิดเพื่อให้แน่ใจมากขึ้นว่า ไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อสาเหตุโรคที่อาจติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์เข้ามาระบาดในประเทศไทยได้

เมล็ดพันธุ์แว๊กกราวด์

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แว๊กกราวด์ที่นำเข้าจาก 3 ประเทศ ได้แก่ ประเทศฟิลิปปินส์ ญี่ปุ่น และไต้หวัน มาตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบว่า เมล็ดพันธุ์แว๊กกราวด์นำเข้าจากฟิลิปปินส์พบเชื้อรา จำนวน 1 ชนิด ได้แก่ *Curvularia pallescens* และ เมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากไต้หวัน พบเชื้อรา จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Curvularia lunata* และ *Macrophomina* sp. และเมื่อตรวจสอบเมล็ดด้วยวิธี dilution method และ นำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการในโรงเรือน ไม่พบลักษณะเชื้อที่เป็นสาเหตุโรคและไม่พบอาการโรคที่ผิดปกติกับต้นแว๊กกราวด์ (รูปที่ 11)

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์นำเข้าในพื้นที่ของเกษตรกร

จากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสคว๊อชนำเข้าจากต่างประเทศ ในภาคเหนือ 2 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดน่านและลำพูน และในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 3 จังหวัดได้แก่ อุดรธานี หนองบัวลำภู และขอนแก่น พบอาการโรคบนใบของฟักทองและสคว๊อช จำนวน 5 โรค ได้แก่ โรคราน้ำค้างเชื้อสาเหตุ *Pseudoperonospora cubensis* (รูปที่ 12) โรคราแป้ง เชื้อสาเหตุ *Oidium* sp. (รูปที่ 13) โรคใบจุด เชื้อสาเหตุ *Cercospora* ***citrullina*** (รูปที่ 14) โรคใบแห้ง เชื้อสาเหตุ *Corynespora melonis* (รูปที่ 15) โรคใบจุด เชื้อสาเหตุ *Xanthomonas* sp. (รูปที่ 16) อาการที่พบบนผล จำนวน 1 โรค ได้แก่ โรคผลเน่า เชื้อสาเหตุ *Choanephora cucurbitarum* (รูปที่ 17) อาการที่พบที่โค่นต้น จำนวน 1 โรค ได้แก่ โรคเหี่ยว เชื้อสาเหตุ *Fusarium semitectum* และ *Fusarium oxysporum* (รูปที่ 18) ซึ่งศัตรูพืชที่พบทั้งในเมล็ดพันธุ์และตรวจสอบโรคในแปลงปลูก ไม่ใช่ศัตรูพืชด้านกักกันพืชของประเทศไทย

4. การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและศัตรูพืชที่ติดตามตรวจสอบในแปลงปลูก และสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสคว๊อช ที่นำเข้าจากต่างประเทศ พบศัตรูพืชสรุปได้ดังตารางที่ 1 และจากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสคว๊อชที่นำเข้าจากต่างประเทศ สรุปได้ดังตารางที่ 2

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสคว๊อช นำเข้าจาก 16 ประเทศ ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา ชิลี ฝรั่งเศส เม็กซิโก บราซิล อิตาลี ออสเตรเลีย อินเดีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ สาธารณรัฐ-ประชาชนจีน เนเธอร์แลนด์ เกาหลี เปรู และ ไต้หวัน ทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ลักษณะเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสคว๊อช มีสีขาว เมล็ดสมบูรณ์สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสคว๊อช ในห้องปฏิบัติการ พบเชื้อรา 11 ชนิด และจากการสุ่มเมล็ดพันธุ์แว๊กกราวด์นำเข้าจาก 3 ประเทศ พบเชื้อรา 3 ชนิด ส่วนผลจากการตรวจด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของ

โรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นฟักทอง สควัอช และแว๊กกราวด์ ลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ และผลการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควัอชนำเข้าจากต่างประเทศ ในภาคเหนือ 2 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดน่านและลำพูน และในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 3 จังหวัดได้แก่ อุดรธานี หนองบัวลำภู และขอนแก่น พบอาการโรคบนใบของฟักทองและสควัอช จำนวน 5 โรค ได้แก่ โรคราน้ำค้างเชื้อสาเหตุ *Pseudoperonospora cubensis* โรคราแป้ง เชื้อสาเหตุ *Oidium* sp. โรคใบจุด เชื้อสาเหตุ *Cercospora* ***citrullina*** โรคใบแห้ง เชื้อสาเหตุ *Corynespora melonis* โรคใบจุด เชื้อสาเหตุ *Xanthomonas* sp. อาการที่พบบนผล จำนวน 1 โรค ได้แก่ โรคผลเน่า เชื้อสาเหตุ *Choanephora cucurbitarum* อาการที่พบที่โค่นต้น จำนวน 1 โรค ได้แก่ โรคเหี่ยว เชื้อสาเหตุ *Fusarium semitectum* และ *Fusarium oxysporum* ซึ่งศัตรูพืชที่พบทั้งในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและตรวจสอบโรคในแปลงปลูก ไม่ใช่ศัตรูพืชด้านกักกันพืชของประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ผู้เชี่ยวชาญ อุดร อุณหวุฒิ คุณศรีวิเศษ เกษสังข์ คุณชลธิชา รักใคร่ คุณปรียพรรณ พงศาพิชณ์ ที่ช่วยแนะนำแนวทางการวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณ คุณวานิช คำพานิช คุณโสภา พิศวงปราการ คุณยุทธนา ประมาณ คุณวิชาญ สมาธิ คุณวิภา เกิดพิพัฒน์ คุณอรนุช นาคะโร คุณสุธรรม คงเอียด คุณจิรวัฒน์ ไกรนรา และคุณอัญชลี ราศี (ช่วยสนับสนุนตัวอย่างพืชและเตรียมงานในห้องปฏิบัติการ) คุณชัยรัตน์ หมั่นการ (สนับสนุนรูปถ่ายประกอบงานวิจัย) และน้องๆ ในห้องปฏิบัติการที่ช่วยสนับสนุนในการทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ และ วันเพ็ญ ศรีทองชัย. 2545. โรคไวรัสที่สำคัญองพืชผักและพืชน้ำมัน. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ. 88 หน้า.

เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. 2550. ฐานข้อมูลโรคพืชที่สำคัญในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อการส่งออก : โรคพืชวงศ์แตง.ศูนย์พันธุกรรมและเทคโนโลยีชีวรูปแห่งชาติ. 81 หน้า.

Burdman, S., Kots, N., Kritzman, G. and Kopelowitz, J. 2005. Molecular, physiological, and host-range characterization of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* isolates from watermelon and melon in Israel. Plant Disease 89(12), 1339-1347.

Crop Protection Compendium. 2007. ed. Wallingford, UK: CPC. (http://www.cabicompendium.org/cpc)

Denis, P. 1994. Diseases of vegetable crops. Department of Primary Industries. Australia 164 pp.

Doubrava, N., Blake, J. H. Keinath, A. P. and Williamson, J€. 2007. Cucumber, Squash, Melon & Other Cucurbit Diseases. Clemson University Cooperative Extension Service. USA. (http://www.clemson.edu/extension/hgic/pests/plant_pests/veg_fruit/hgic2206.html)

Extension Plant Pathology. 2010 . Diseases of melon (Cucumis melo) in Arizona. The University of Arizona. USA. (http://cals.arizona.edu/PLP/plpext/diseases/vegetables/melon/melon.html)

Horlock, C. and McGrath, M. T. 2004. Powdery mildew of melons (watermelon, rockmelon and honeydew). Department of Primary Industries. Queensland government. Australia. (http://www2.dpi.qld.gov.au/horticulture/11644.html)

Horlock, C. and Persley, D. 2004. Viruses affecting melons (watermelon, rockmelon and honeydew). Department of Primary Industries. Queensland government. Australia (http://www2.dpi.qld.gov.au/horticulture/9575.html)

Koile, S.T., Gladders, P. and Paulus, A.O. 2007. Cucurbitaceae. Vegetable diseases: A color handbook. Manson Publishing. England. 220-250 p.

Lamey, H. A. 1991. Disease Management In Home-Grown Cucumbers, Melons and Squash. North Dakota State University USA. (http://www.ag.ndsu.edu)

Lamey, H. Arthur. 1991. Disease Management In Home-Grown Cucumbers, Melons and Squash. Extension Plant Pathologist. North Dakota State University. USA. (http://www.ag.ndsu.edu/pubs/plantsci/hortcrop/pp656w.htm)

Zitter, T. A. and Banik, M. T. 1984. Virus Diseases of Cucurbits. Department of Plant Pathology, Cornell University. (http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/factsheets/Viruses_Cucurbits.htm)

Zitter, T.A 1998. Fusarium Diseases of Cucurbits. Department of Plant Pathology, Cornell University. (http://www2.dpi.qld.gov.au/horticulture/11645.html)

Zitter, T.A., Hopkins, D.L. and Thomas, C.E. 1996. Compendium of Cucurbit Diseases. The America Phytopatholigical Society. Minnesota, USA. 87 pp.

ภาคผนวก

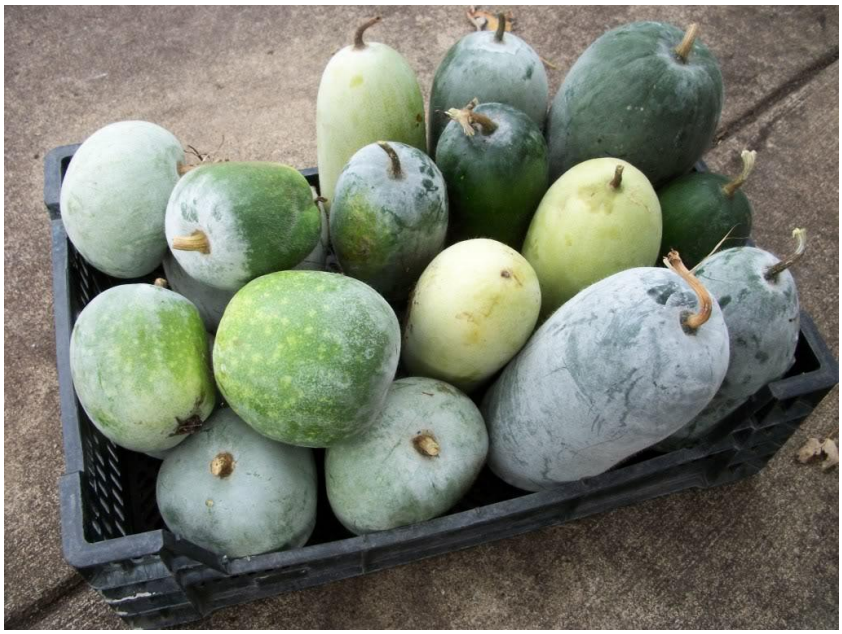
ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลบัญชีรายชื่อโรค เชื้อสาเหตุโรคที่ตรวจจากเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ

เมล็ดพันธุ์นำเข้าจากประเทศ	เชื้อโรคพืชที่พบบนเมล็ดพันธุ์
เมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควอชนำเข้า	
ไต้หวัน	*Alternaria tenuis*
	Chaetomium sp.
	Cladosporium sp.
	Macrophomina sp.
เครือรัฐออสเตรเลีย	*Chaetomium* sp.
ประเทศอินเดีย	*Chaetomium* sp.
	Curvularia pallescens
	Dreshlera halodes
ประเทศอินโดนีเซีย	*Fusarium solani*
	Macrophomina sp.
	Phoma sp.
ประเทศญี่ปุ่น	*C. lunata*
	C. pallescens
	Fusarium semitectum
	F. solani
	Ghaphium sp.
เมล็ดพันธุ์แว๊กกราวด์	
ประเทศฟิลิปปินส์	*C. pallescens*
ไต้หวัน	*C. lunata*
	Macrophomina sp.

ตารางที่ 2 แสดงข้อมูลบัญชีรายชื่อโรค เชื้อสาเหตุโรคและบริเวณที่พบโรค จากแปลงปลูกของเกษตรกรที่นำเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควอช นำเข้าจากต่างประเทศ

ลำดับ	ชื่อโรค	เชื้อสาเหตุ	บริเวณที่พบเชื้อ
อาการโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อรา			
1	โรคราน้ำค้าง	*Pseudoperonospora cubensis*	ใบ
2	โรคราแป้ง	*Oidium* sp.	ใบ
3	โรคใบจุด	*Cercospora citrullina*	ใบ
4	โรคใบแห้ง	*Corynespora melonis*	ใบ
5	โรคใบจุดแบคทีเรีย	*Xanthomonas* sp.	ใบ
6	โรคผลเน่า	*Choanephora cucurbitarum*	ผล
7	โรคเหี่ยว	*Fusarium semitectum* และ *Fusarium oxysporum*	โค่นต้น

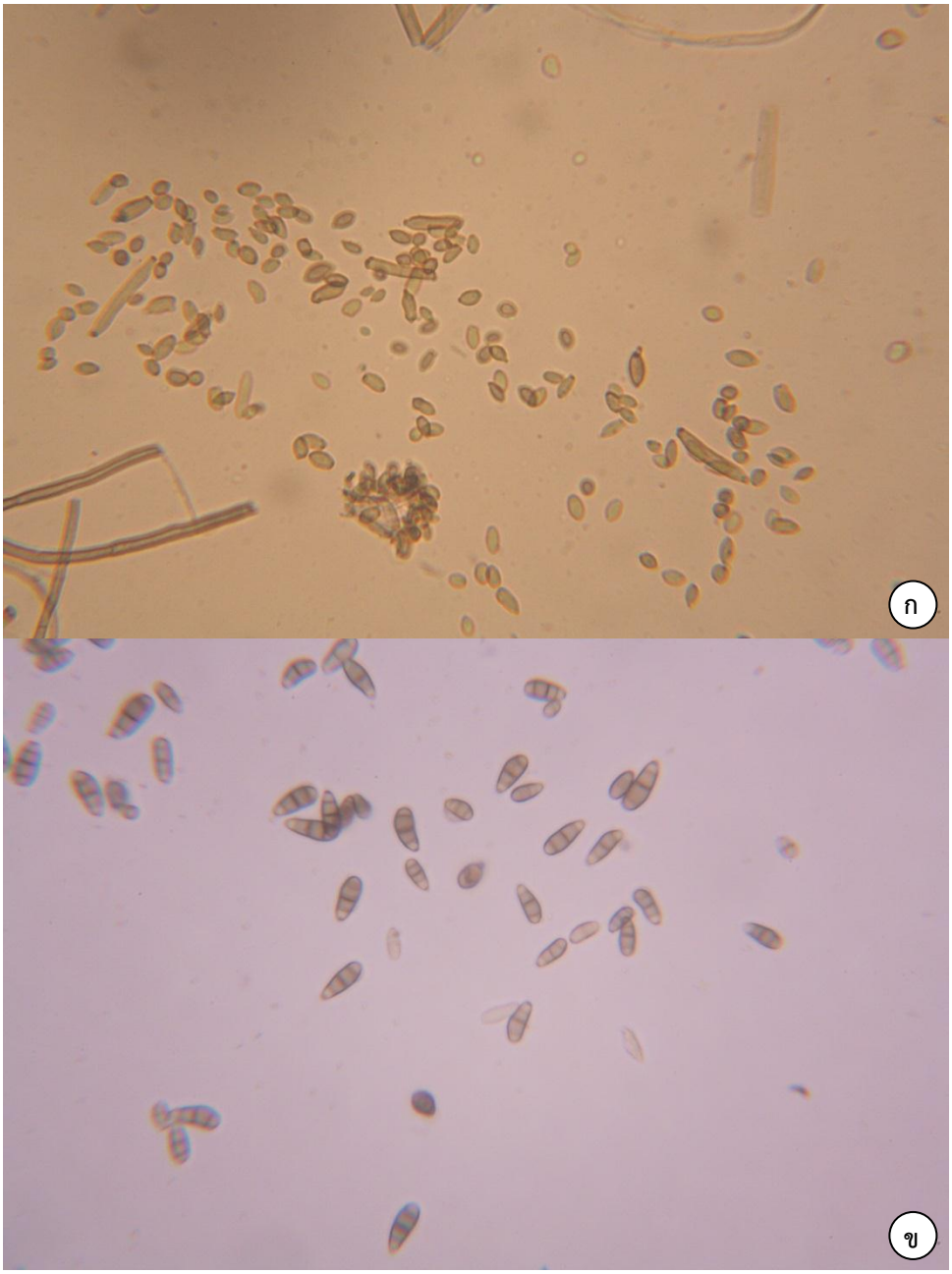
รูปที่ 1 ลักษณะของผลฟักทองหรือสควอชชื่อวิทยาศาสตร์ *Cucurbita* spp.



รูปที่ 2 ลักษณะของผลฟัก (waxgourd) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Benincasa hispida*

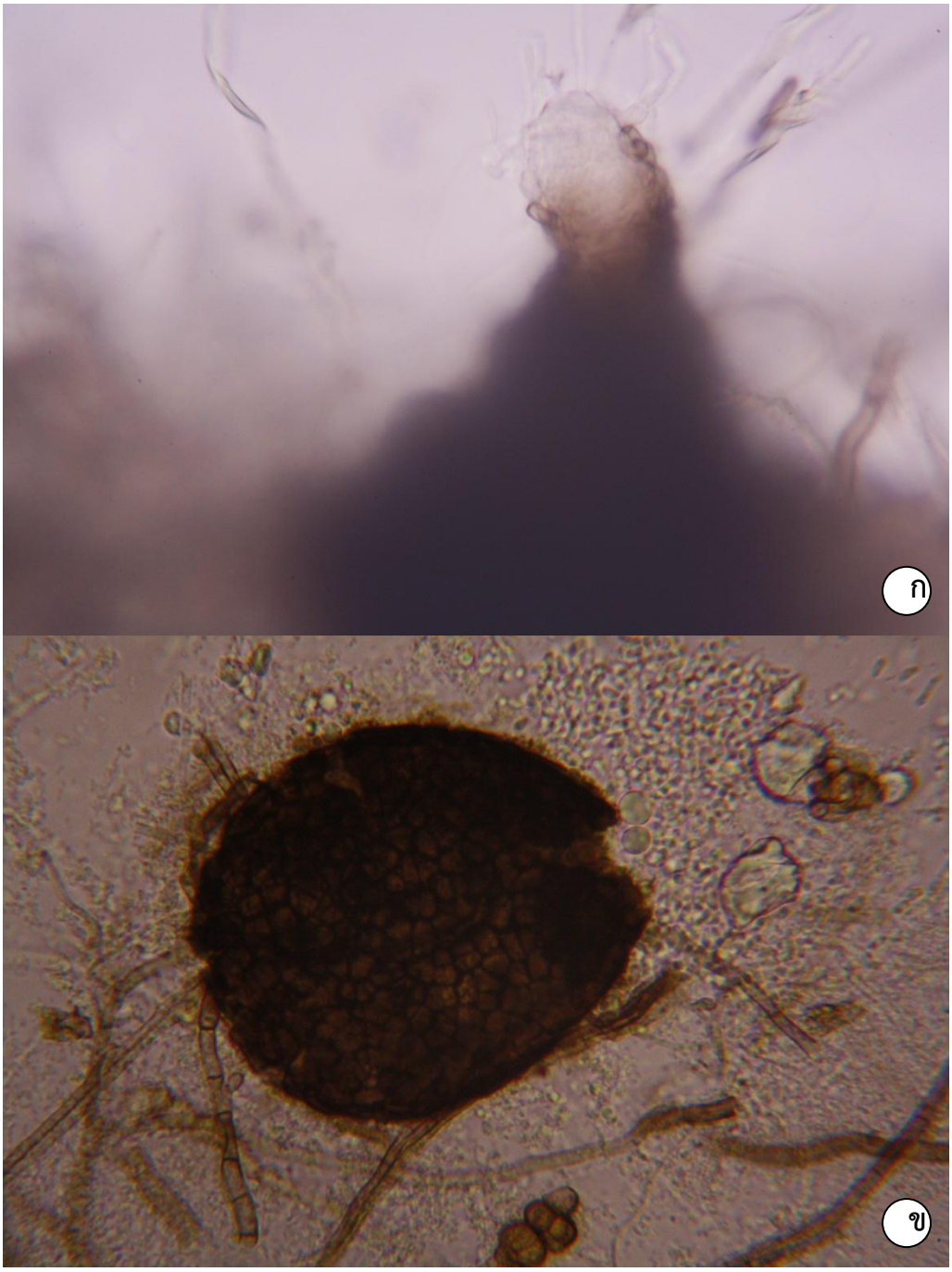
รูปที่ 3 ลักษณะเมล็ดพันธุ์และบรรจุภัณฑ์ของเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควอช ที่นำเข้าจากประเทศ
ก) เมล็ดพันธุ์ฟักทองนำเข้าจากประเทศเกาหลี ข) เมล็ดพันธุ์ฟักทองนำเข้าจากประเทศชิลี
ค) เมล็ดพันธุ์สควอชนำเข้าจากประเทศญี่ปุ่น ง) เมล็ดพันธุ์สควอชนำเข้าจากประเทศบราซิล

รูปที่ 4 ลักษณะเชื้อราที่พบบนเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควอชที่นำเข้าจากต่างประเทศ
ก) ลักษณะของเชื้อรา *Alternaria tenuis* กำลังขยาย 400 เท่า
ข) ลักษณะของเชื้อรา *Chaetomium* sp. กำลังขยาย 25 เท่า

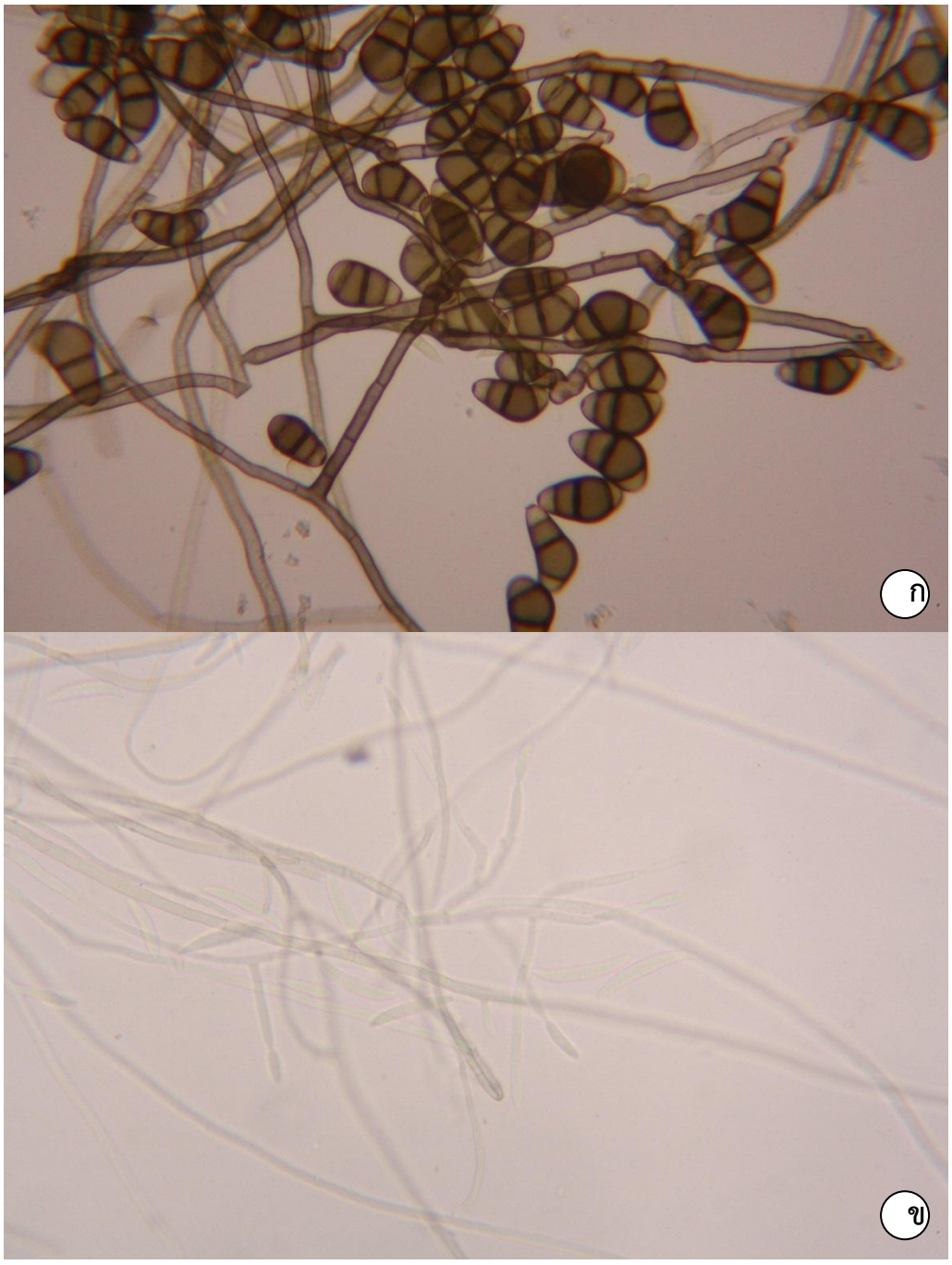


รูปที่ 5 ลักษณะเชื้อราที่พบบนเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควัอชที่นำเข้าจากต่างประเทศ
ก) ลักษณะของเชื้อรา *Cladosporium* sp. กำลังขยาย 400 เท่า
ข) ลักษณะของเชื้อรา *Curvularia pallescens* กำลังขยาย 100 เท่า

รูปที่ 6 ลักษณะเชื้อราที่พบบนเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควอชที่นำเข้าจากต่างประเทศ
ก) ลักษณะของเชื้อรา *Drechlera halodes* กำลังขยาย 400 เท่า
ข) ลักษณะของเชื้อรา *Fusarium solani* กำลังขยาย 400 เท่า



รูปที่ 7 ลักษณะเชื้อราที่พบบนเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควัอชที่นำเข้าจากต่างประเทศ
ก) ลักษณะเชื้อรา *Macrophomina* sp. กำลังขยาย 400 เท่า
ข) ลักษณะเชื้อรา *Phoma* sp. กำลังขยาย 400 เท่า



รูปที่ 8 ลักษณะเชื้อราที่พบบนเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควัอชที่นำเข้าจากต่างประเทศ
ค) ลักษณะเชื้อรา *Curvularia lunata* กำลังขยาย 400 เท่า
ง) ลักษณะเชื้อรา *Fusarium semitectum* กำลังขยาย 400 เท่า

รูปที่ 9 ลักษณะเชื้อรา *Ghaphium* sp. กำลังขยาย 400 เท่า ที่พบบนเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควัอชที่นำเข้าจากต่างประเทศ

รูปที่ 10 ลักษณะต้นฟักทองและสควัอช ที่ปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือนกักกันพืช (Seedling symptom)

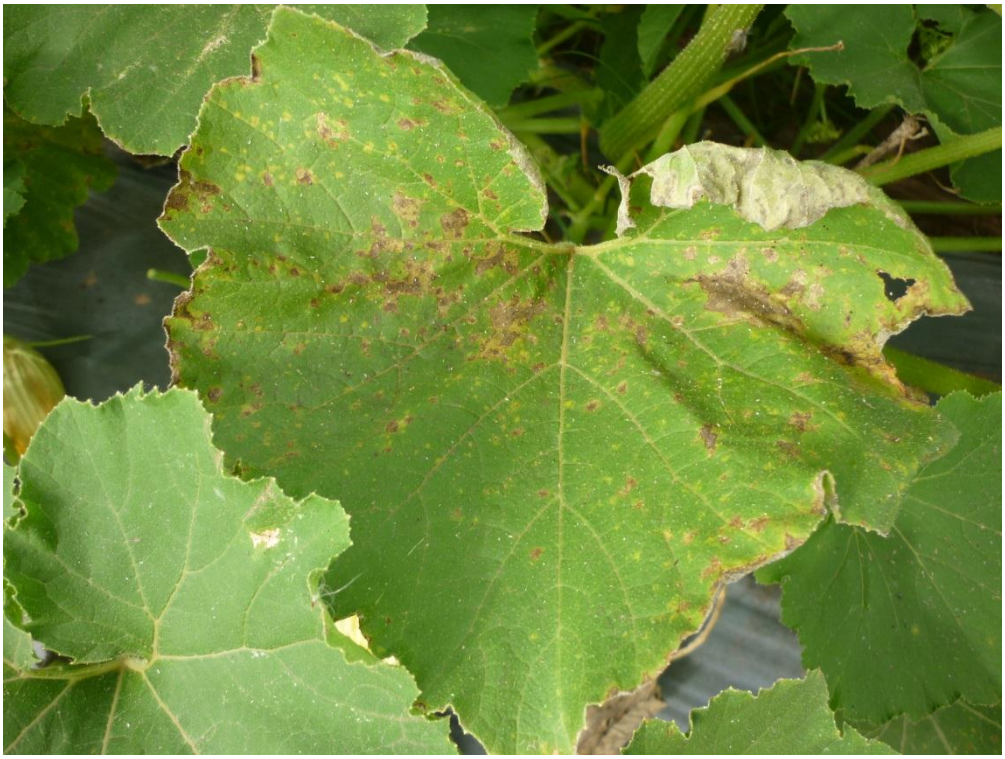
รูปที่ 11 ลักษณะต้นแว๊กกราวด์ ที่ปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือนกักกันพืช (Seedling symptom)

รูปที่ 12 ลักษณะอาการโรคราน้ำค้าง เชื้อสาเหตุ *Pseudoperonospora cubensis* บนใบฟักทองและสควัอช ในแปลงปลูกของเกษตรกร

ก) ลักษณะอาการโรคราน้ำค้างบนใบฟักทองและสควัอช

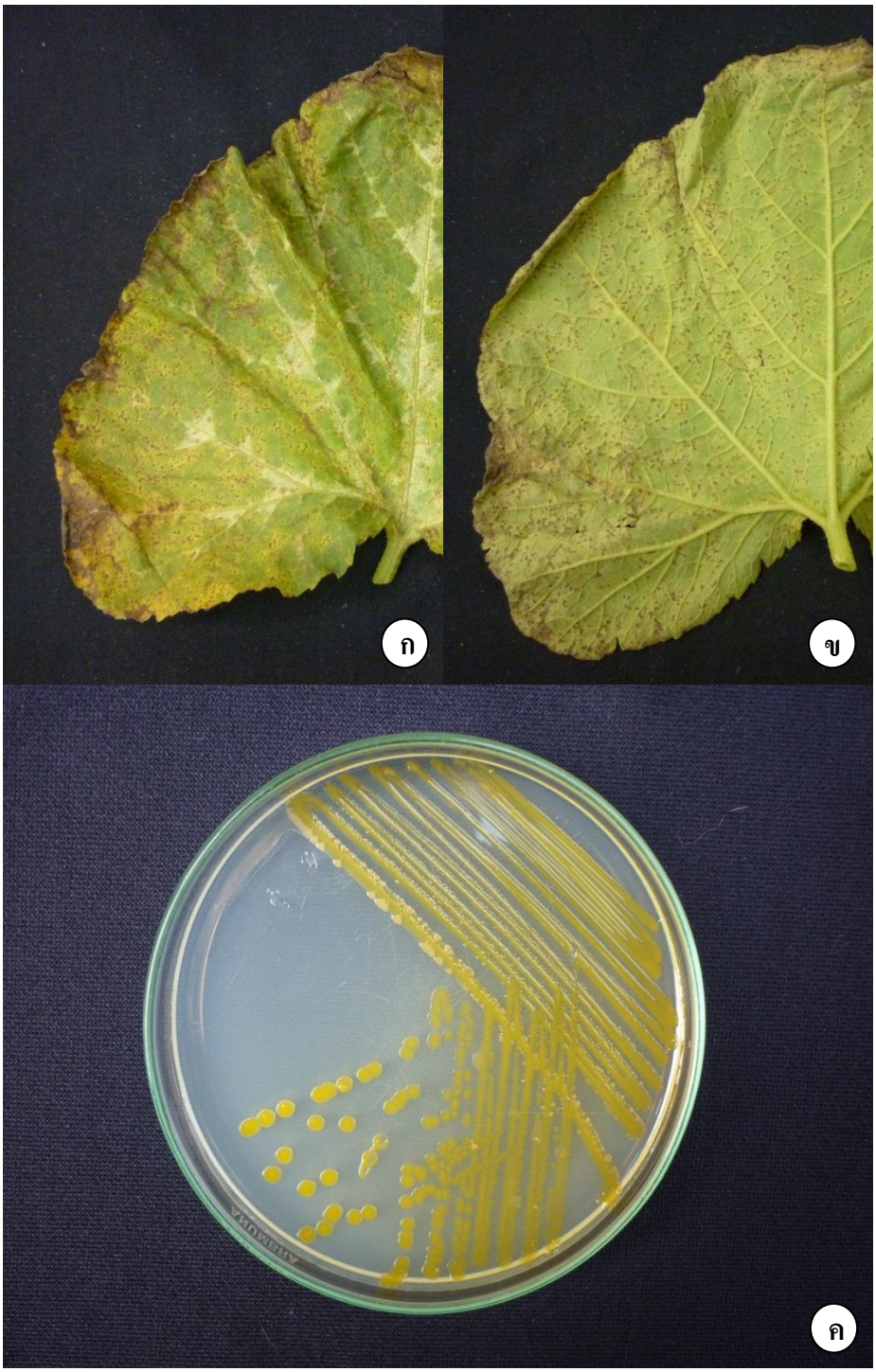
ก) ลักษณะโคโลนีและก้านชูสปอร์ของเชื้อสาเหตุ กำลังขยาย 400 เท่า

รูปที่ 13 ลักษณะอาการโรคราแป้ง เชื้อสาเหตุ *Oidium* sp. บนใบฟักทองและสควัอช ในแปลงปลูกของเกษตรกร



รูปที่ 14 ลักษณะอาการโรคใบจุด เชื้อสาเหตุ *Cercospora* sp. บนใบฟักทองและสควัอชในแปลงปลูกของเกษตรกร

รูปที่ 15 ลักษณะอาการโรคใบแห้ง เชื้อสาเหตุ *Corynespora melonis* บนใบฟักทองและสควอช



รูปที่ 16 ลักษณะอาการโรคใบจุดแบคทีเรีย เชื้อสาเหตุ *Xanthomonas* sp. บนใบของฟักทองและสควัอชในแปลงปลูกของเกษตรกร

ก) ลักษณะอาการโรคใบจุดแบคทีเรียด้านบนใบ

ข) ลักษณะอาการโรคใบจุดแบคทีเรียด้านใต้ใบ

ค) ลักษณะและสีของโคโลนีเชื้อ *Xanthomonas* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA)

รูปที่ 17 ลักษณะอาการโรคผลเน่า เชื้อสาเหตุ *Choanephora cucurbitarum* sp.

รูปที่ 18 ลักษณะอาการโรคโค่นเน่า เชื้อสาเหตุ *Fusarium semitectum* และ *Fusarium oxysporum* บริเวณโค่นต้นของฟักทองและสควัอชในแปลงปลูกของเกษตรกร

การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่นำเข้าจากต่างประเทศ

Study on Quarantine Pests Associated with Imported Sunflower Seeds

ศรีวิเศษ เกษสังข์ วันเพ็ญ ศรีชาติ ชลธิชา รักใคร่
วานิช คำพานิช
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ทานตะวัน (*Helianthus annuus* L.) มีศัตรูพืชที่เข้าทำลายส่วนต่างๆ ของทานตะวันมีศัตรูพืชทั้งสิ้น 250 ชนิด คือ จัดเป็นแมลง 120 ชนิด ไรและแมงมุม 2 ชนิด ไส้เดือนฝอย 12 ชนิด เชื้อรา 40 ชนิด แบคทีเรีย 11 ชนิด ไวรัส 5 ชนิด วัชพืช 58 ชนิด และหอยทาก 1 ชนิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์ทานตะวันในห้องปฏิบัติการ โดยการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน ที่นำเข้าระหว่างเดือน ตุลาคม 2554 – กันยายน 2556 จาก 9 ประเทศได้แก่ อาร์เยนตินา ออสเตรเลีย อินเดีย สาธารณรัฐประชาชนจีน ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา สเปน และเยอรมัน รวม 69 ตัวอย่างมาทำการตรวจสอบศัตรูพืช เบื้องต้นด้วยสายตา (Visual inspection) และภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเมล็ดทานตะวันที่นำเข้า ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือการปนเปื้อนของวัชพืช จากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์ทานตะวันในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี Blotter method ตรวจพบเชื้อรา *Alternaria tenuis*, *Alternaria raphani, Cladosporium* sp. *Ulocladium* sp. *Fusarium semitectum*, *Chaetomium* sp. *Curvularia pallescens* และ *Streptomyces* sp. และจากการนำเข้าเมล็ดทานตะวัน มาตรวจสอบด้วยวิธี Dilution method ไม่พบเชื้อแบคทีเรียเชื้อสาเหตุโรคพืชและเมื่อนำเมล็ดมาปลูกสังเกตอาการโรค (Seedling symptom test) ในโรงปลูกพืช ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นทานตะวัน ดังกล่าว และเมื่อติดตามตรวจสอบโรคและศัตรูพืชในท้องที่จังหวัด สระบุรี และลพบุรี ตรวจพบโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Alternaria tenuis* โรคราแป้งข้าว เกิดจากเชื้อรา *Oidium* sp. และโรคราสนิมที่เกิดจากเชื้อรา *Puccinia* sp.และในแปลงปลูกจังหวัดเชียงใหม่ ตรวจพบอาการต้นเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* และอาการใบด่าง ซึ่งศัตรูพืชที่พบในเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าและตรวจพบในแปลงปลูกไม่ใช่เชื้อโรคและศัตรูพืชที่สำคัญทางกักกันพืชของประเทศไทย

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-03-00-12-55

คำนำ

พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กำหนดให้เมล็ดพันธุ์ทานตะวัน สิ่งกำกัด (Restricted material) ในการนำเข้ามายังประเทศไทยต้องแจ้งการนำเข้า ณ ด่านตรวจพืชนำเข้า และมีใบรับรองสุขอนามัยพืช (Phytosanitary Certificate) จากประเทศต้นทางกำกับมาพร้อมกับหนังสือรับรองว่าไม่เป็นพืชติดต่อสารพันธุกรรม(Non – GMO_s Certificate) เมล็ดพันธุ์ที่นำเข้า โดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยกำหนดไว้แต่อย่างใด การนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศ มีโอกาสที่ศัตรูพืชหลายชนิดที่อาจเป็นศัตรูพืชกักกันที่ร้ายแรงหรือศัตรูพืชที่สำคัญที่ก่อความเสียหายกับผลิตผลทางการเกษตรติดเข้ามากับเมล็ดพืชด้วย โดยอาจเป็นศัตรูพืชร้ายแรงที่ไม่มีปรากฏในประเทศไทย โดยเฉพาะในกลุ่มของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่ติดมากับทานตะวันซึ่งมีการนำเข้ามาเพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์ในการส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกกระจายทั่วประเทศไทย โดยในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เหล่านี้ในปริมาณมาก ในปี พ.ศ. 2555และ 2556 มีการนำเข้าทั้งหมด 286.56 ตันและ116.34 ตัน ตามลำดับ หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวสามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศไทย จะก่อให้เกิดผลกระทบทำความเสียหายต่อการเกษตรในประเทศและกระทบต่อการส่งออกพืชผักผลไม้ไทยไปยังต่างประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการตรวจสอบศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับพืชนำเข้า เพื่อให้ทราบชนิด แหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืช มีประโยชน์ใช้อ้างอิงทางวิชาการ นำมาพิจารณาหามาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และกำหนดเป็นมาตรการทางด้านกฎหมายและทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้า หรือเปลี่ยนแปลงสถานภาพของพืชนำเข้าให้เป็นสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกำกัดตามพระราชบัญญัติกักพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน นำเข้าจากต่างประเทศ
2. กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope และ compound microscope
3. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
4. สารเคมีตรวจสอบเชื้อโรคพืช
5. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่าง
6. ชุดตรวจสอบศัตรูพืช (ELISA Kit)
7. หนังสือ และวารสารทั้งในประเทศและต่างประเทศที่เกี่ยวข้องกับเชื้อโรคและศัตรูพืช
8. Diagnostic protocols เช่น EPPO diagnostic protocols.
9. โรงเรือนปลูกเพื่อสังเกตุอาการผิดปกติ

วิธีการ

1.รวบรวมข้อมูลทั่วไปของทานตะวันและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเตอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของทานตะวันลักษณะทั่วไปของพืช สายพันธุ์ พื้นที่การเพาะปลูก รายชื่อของประเทศ

ที่ประเทศไทยมีการการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืชทั้งนอกประเทศและในประเทศ

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการกับเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่นำเข้าจากต่างประเทศ

ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่นำเข้าจากต่างประเทศมาทำการตรวจวินิจฉัยโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลง เมล็ดวัชพืช หรือลักษณะเมล็ดที่แสดงอาการผิดปกติที่อาจมีสาเหตุจากเชื้อโรค

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1999) และตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์นำเข้า

2.2.1 การตรวจสอบเชื้อรา

1) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะยังไม่งอก (Dry seed examination)

โดยตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์เชื้อราหรือศัตรูพืชอื่นๆ ซึ่งปะปนมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เช่นเมล็ดพันธุ์มีรูปร่างผิดปกติ หรืออาจติดมา ภายในเมล็ดพันธุ์โดยไม่แสดงอาการ รวมทั้งอาจติดมากับเศษพืชในลักษณะเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์เช่น Pycnidia เป็นต้น

2) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะเมล็ดงอก(Germinated seed examination)

สุ่มตัวอย่างเมล็ดตามวิธีการมาตรฐาน ในปริมาณที่เหมาะสมวิเคราะห์โดยสุ่มแยกตามสายพันธุ์ มาตรวจสอบด้วยวิธี Blotter method โดยวางเมล็ดลงบนกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จำนวน 3 แผ่นที่ชุ่มน้ำซึ่งวางอยู่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วางเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน 10 เมล็ดต่อจานเลี้ยงเชื้อ จำนวน 400 เมล็ด จากนั้นนำจานเพาะเมล็ดไปบ่มเชื้อ (incubate) ใต้แสง near ultraviolet (NUV) สลับกับความมืด 12/12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอไมโครสโคป (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope)

2.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

ในกรณีที่เชื้อติดมาในปริมาณมากจะสามารถแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรง หลังจากทำการแยกเชื้อด้วยวิธี Blotter method ได้ หรือทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate โดยสุ่มเมล็ดตามมาตรฐาน นำมาแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที ล้างตามด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายในตู้เขี่ยเชื้อ เมื่อได้เมื่อเมล็ดแห้งแล้วจึงนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบด แล้วนำผงของเมล็ดใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ (0.85% NaCl) หรือบัฟเฟอร์ จำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยวางบนเครื่องเขย่า จากนั้นนำมาทำให้เจือจางเป็น 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} และ 10^{-5} ตามลำดับ ใช้ไปเปตต์ดูด suspension แต่ละความเข้มข้น จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) แล้วใช้แท่งแก้วลนไฟฆ่าเชื้อ

spread ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งแสดงอาการผิดปกติ

โดยการเพาะเมล็ดในดินนึ่งฆ่าเชื้อ จำนวน 100 เมล็ดต่อถาดเพาะเมล็ด และเก็บถาดเพาะเมล็ดที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส รดน้ำเช้าเย็นในโรงเรือนสถานกักพืช ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช เมื่อต้นกล้าออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิดปกติของพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชุ่มชื้นเป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนใบ กิ่ง ลำต้น โค่นต้น และราก เก็บส่วนของพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

2.1) วิธี Dilution plate ตัดใบพืชตรงบริเวณรอยต่อส่วนที่เป็นโรคและปกติที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายในตู้เขี่ยเชื้อ จากนั้นบดชิ้นส่วนของพืชในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ และทำให้เจือจางเป็นลำดับจาก 10^{-1} ถึง 10^{-5} และดำเนินการเช่นเดียวกับ ขั้นตอนในข้อ (1)

2.2) วิธี Tissue transplanting ตัดใบพืชบริเวณรอยต่อส่วนที่เป็นโรคโรคและปกติ เป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 2x2 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายในตู้เขี่ยเชื้อแล้ววางชิ้นพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA หรืออาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง (semiselective media) นำจานเลี้ยงเชื้อไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จึงนำมาตรวจสอบหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรียเก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจนครบ 3-5 วัน เพื่อตรวจหาโคโลนีของแบคทีเรียชนิดอื่นจากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และนำไปศึกษาคุณลักษณะเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

1. ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงหรือกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

2. ทดสอบแกรม (Gram reaction) โดยใช้สารละลายโปรแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (3%KOH) ที่เตรียมใหม่ใช้ภายใน 2 สัปดาห์ หากตรวจพบเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) มีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) ก็จะนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3. ทดสอบ hypersensitivity reaction บนใบยาสูบ โดยการฉีดสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียอายุ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 10^{8} โคโลนีต่อมิลลิลิตร เข้าไปในใบยาสูบ *(Nicotiana tabacum* L.) บริเวณใต้ใบโดยฉีดเข้าเนื้อใบระหว่างเส้นใบ สังเกตลักษณะอาการเซลล์ตายตรงเนื้อใบหลังการฉีดเชื้อ 24-48 ชั่วโมง หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช

4. ทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical properties) เช่น การใช้ยูเรีย การย่อยเจลาติน การย่อยเอสคูลิน และแป้ง reduce ไนเตรต ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นต้น

5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัย (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^{8} โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่นปลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น หรือฉีด

พ่นกับใบเลี้ยงหรือเนื้อใบของต้นกล้าทานตะวัน ฉีดพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจลักษณะอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

2.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

1) ปลูกสังเกตลักษณะอาการโรคบนต้นกล้า (Seedling symptom test) โดยเพาะเมล็ดพันธุ์ในดินอบฆ่าเชื้อ ตัวอย่างละ 100 เมล็ด เก็บรักษาไว้ในโรงปลูกพืชกันแมลงเมื่อต้นพืชออกใบจริง 1-2 ใบ จึงตรวจสอบลักษณะอาการโรค ต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ สงสัยว่ามีสาเหตุจากเชื้อไวรัสจะนำใบอ่อนไปตรวจสอบด้วยวิธีการอื่นเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

2) ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) เตรียมน้ำคั้นพืชสำหรับทดสอบโดยบดใบพืชที่แสดงอาการผิดปกติในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ตรวจสอบเชื้อไวรัสใช้ 0.1 M phosphate buffer pH 7.0) โดยใช้ใบพืชหนัก 1 กรัมต่อบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร ในสภาพเย็น จากนั้นใช้สำลีหรือนิ้วที่สะอาดจุ่มน้ำคั้นพืชทาลงบนใบพืชทดสอบ ซึ่งโรยด้วยผงคาร์โบรันดัม (carborundum ขนาด 600 mesh) หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 5 นาที ล้างใบพืชและนำพืชทดสอบไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส สังเกตลักษณะอาการบนพืชทดสอบหลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 1-4 สัปดาห์ โดยพืชทดสอบจะแสดงอาการแผลเฉพาะแห่ง (local lesion) หรืออาการแบบกระจายทั่วลำต้น (systemic infection)

3) การตรวจสอบด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา (Serological techniques) การตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme – linked Immunosorbent Assay : ELISA เป็นวิธีตรวจสอบเชื้อไวรัสที่มีความไวสูง แม้จะมีเชื้อไวรัสปริมาณต่ำหรืออนุภาคแตกหักก็สามารถตรวจได้ ให้ผลรวดเร็ว แน่นอน และยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมาก วิธีการที่นำมาใช้เป็นแบบ Indirect ELISA ทำการบันทึกผล

3. การติดตามตรวจสอบโรคและศัตรูพืชในแปลงปลูกทานตะวันในท้องที่ภาคกลางและภาคเหนือ

ทำการติดตามตรวจสอบต้นพืชที่มีการนำเมล็ดพันธุ์นำเข้าไปเพาะปลูกในแปลงปลูกทานตะวันในท้องที่ภาคกลางและภาคเหนือ โดยสังเกตอาการผิดปกติของต้นพืชทั้ง โคนต้น ราก ลำต้น ใบและดอกของพืช และทำการเก็บตัวอย่างอาการดังกล่าว นำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง แยกเชื้อ จัดจำแนกชนิดของเชื้อ และทดสอบการเกิดโรคกับพืชในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวินิจฉัยเชื้อโรคศัตรูพืชอย่างละเอียด เช่นเดียวกับในขั้นตอนที่ 2

4. การบันทึกข้อมูลการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่นำเข้าจากต่างประเทศและการตรวจพบโรคและศัตรูพืชที่ตรวจพบในแปลงปลูก และสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

โดยการจัดทำรายชื่อโรคและศัตรูพืชที่ตรวจพบในห้องปฏิบัติการจากเมล็ดพันธุ์นำเข้าโรคและศัตรูพืชที่ตรวจพบในแปลงปลูกทานตะวันและสรุปผลทดลอง

เวลาและสถานที่

เวลา: เดือนตุลาคม 2554 – กันยายน 2556

สถานที่: ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร และแปลงปลูกทานตะวันในท้องที่ภาคเหนือและภาคกลาง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมข้อมูลทั่วไปของทานตะวันและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทานตะวัน (Sunflower) มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Helianthus annuus* L.

Kingdom : Plantae
Phylum : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Order : Asterales
Family : Asteraceae
Genus : Helianthus
Species : *Helianthus annuus*

แหล่งปลูกทานตะวันในประเทศไทย

1. ภาคเหนือ : เชียงใหม่ เชียงราย ตาก นครสวรรค์ เพชรบูรณ์ อุทัยธานี พะเยา
2. ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ : นครราชสีมา ศรีสะเกษ หนองบัวลำภู ขอนแก่น
3. ภาคกลาง : ลพบุรี สระบุรี
4. ภาคตะวันออก : สระแก้ว ปราจีนบุรี จันทบุรี
5. ภาคตะวันตก : กาญจนบุรี ราชบุรี

ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ทานตะวันจากต่างประเทศ ระหว่างเดือน ตุลาคม 2554 – กันยายน 2556 จาก 9 ประเทศได้แก่ อาร์เยนตินา ออสเตรเลีย อินเดีย สาธารณรัฐประชาชนจีน ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา สเปนและเยอรมัน รวมเป็นปริมาณทั้งหมด 345.08 ตันดำเนินการสุ่มตัวอย่างเพื่อตรวจสอบศัตรูพืชจำนวน 69 ตัวอย่าง

ศัตรูพืชที่พบเข้าทำลายทานตะวันการศึกษาเบื้องต้นในการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช พบว่า ขั้นตอนการจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest categorization) มีสิ่งมีชีวิตที่เป็นศัตรูพืชรวม 250 ชนิด คือ จัดเป็นแมลง 120 ชนิด ไรและแมงมุม 2 ชนิด ไส้เดือนฝอย 12 ชนิด เชื้อรา 40 ชนิด แบคทีเรีย 11 ชนิด ไวรัส 5 ชนิด วัชพืช 58 ชนิด และหอยทาก 1 ชนิด จากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเบื้องต้นสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ทานตะวันจากต่างประเทศเข้ามาในราชอาณาจักร พบศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทย และเป็นศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงสูงที่อาจติดเข้ามาและก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชผลในประเทศ ดังนั้นเพื่อเป็นการป้องกันการระบาดของศัตรูพืชดังกล่าว หรือศัตรูชนิดใหม่จึงทำการตรวจสอบโรคและศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์ทานตะวันเพื่อเป็นข้อมูลในการหามาตรการที่เหมาะสมกับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน จากต่างประเทศเข้ามาในราชอาณาจักรต่อไป

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการกับเมล็ดพันธุ์ทานตะวันนำเข้าจากต่างประเทศ

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากทุกประเทศในเบื้องต้น พบว่าเมล็ดพันธุ์สมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1999) และการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดเมล็ดพันธุ์นำเข้าในห้องปฏิบัติการและการปลูกทดสอบในโรงเรือน

เมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่นำเข้าจาก 9 ประเทศ ได้แก่ อาร์เจนตินา ออสเตรเลีย สาธารรัฐ-ประชาชนจีน เยอรมัน อินเดีย ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ สเปน และ สหรัฐอเมริกา จำนวน 69 ตัวอย่าง มาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ลักษณะเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืชและจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อ จำนวน 9 ชนิดได้แก่ *Alternaria tenuis, Alternaria raphani, , Cladosporium* sp., *Ulocladium* sp., *Fusarium semitectum*, *Chaetomium* sp. *Curvularia pallescens* และ *Streptomyces* sp. แต่จากการนำเมล็ดพันธุ์ทานตะวันมาตรวจด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และเมื่อปลูกสังเกตอาการของโรคบนต้นพืชในโรงเรือน (Seedling symptom test) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นทานตะวันลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ไม่แสดงอาการโรคพืช

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ทานตะวันในท้องที่ภาคกลางและภาคเหนือ

จากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ทานตะวันในท้องที่จังหวัด สระบุรี และลพบุรี ตรวจพบโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Alternaria tenuis* โรคราแป้งข้าว เกิดจากเชื้อรา *Oidium* sp. และโรคราสนิมที่เกิดจากเชื้อรา *Puccinia* sp. และในแปลงปลูกจังหวัดเชียงใหม่ ตรวจพบอาการต้นเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* และอาการใบด่าง

4. การบันทึกข้อมูลการตรวจวินิจฉัยโรคและศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์นำเข้าและการตรวจพบศัตรูพืชในแปลงปลูกและสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

การจัดทำรายชื่อโรคและศัตรูพืชที่ตรวจพบเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่นำเข้าจากต่างประเทศ และจากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกทานตะวัน

ตารางที่ 1 ผลการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่นำเข้าจากต่างประเทศ (ระหว่าง เดือน ตุลาคม 2554- กันยายน 2555)

ลำดับที่	ประเทศ	ปริมาณ (กก.)	จำนวนตัวอย่าง	ด่านตรวจพืช	เชื้อโรคศัตรูพืชที่ตรวจพบ
1	อาร์เยนตินา	80,040.00	7	ลาดกระบัง	*Alternaria tenuis* 1.21 % *Ulocladium* sp. 0.28 %
		10.35	6	สุวรรณภูมิ	-
2	ออสเตรเลีย	115,814.00	2	ท่าเรือกรุงเทพฯ	*Alternaria tenuis* 2.0 %
3	สาธารณรัฐประชาชนจีน	1,300.00	1	ท่าเรือกรุงเทพฯ	*Alternaria tenuis* 20.0 % *Chaetomium* sp. 2.5 % *Curvularia pallescens* 2.0% *Streptomyces* sp. 0.3%
4	เยอรมัน	1.353	1	ไปรษณีย์	-
5	อินเดีย	89,356.00	5	ท่าเรือกรุงเทพฯ	-
6	ญี่ปุ่น	0.4	4	ไปรษณีย์	*Alternaria tenuis* 6.0 %
7	สหรัฐอเมริกา	32.00	4	สุวรรณภูมิ	-
รวม 7 ประเทศ		**286,554.10**	**30**		

ตารางที่ 2 ผลการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่นำเข้าจากต่างประเทศ (ระหว่าง เดือน ตุลาคม 2555- กันยายน 2556)

ลำดับที่	ประเทศ	ปริมาณ (กก.)	จำนวนตัวอย่าง	ด่านตรวจพืช	เชื้อโรคศัตรูพืชที่ตรวจพบ
1		70,008.00	5	ลาดกระบัง	-
	อาร์เยนตินา	13.26	2	สุวรรณภูมิ	*Alternaria tenuis* 4.6 % *Alternaria raphani* 0.3 % *Cladosporium* sp. 3.3 % *Ulocladium* sp. 1.6 %
2	ออสเตรเลีย	27,921.00	8	ท่าเรือกรุงเทพฯ	*Alternaria tenuis* 4.6 % *Fusarium semitectum* 0.30 %
3	สาธารณรัฐประชาชนจีน	2,000.00	1	ท่าเรือกรุงเทพฯ	-
4	เยอรมัน	0.654	1	ไปรษณีย์	-
5	อินเดีย	8.00	1	สุวรรณภูมิ	-
		27,632.00	3	แหลมฉบัง	-
6	ญี่ปุ่น	30.774	10	ไปรษณีย์	*Alternaria tenuis* 16.0% *Ulocladium* sp. 17.0 %
7	เนเธอร์แลนด์	27.75	2	สุวรรณภูมิ	*Alternaria tenuis* 33.5 %
8	สเปน	10.00	2	สุวรรณภูมิ	-
9	สหรัฐอเมริกา	27.00	2	สุวรรณภูมิ	*Alternaria tenuis* 29.0 %
		9..071	2	ท่าเรือกรุงเทพฯ	*Alternaria tenuis* 2.0 %
รวม 9 ประเทศ		**116,339.509**	**39**		

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เมล็ดพันธุ์ทานตะวันที่นำเข้าจาก 9 ประเทศ ได้แก่ อาร์เจนตินา ออสเตรเลีย สาธารณรัฐ-ประชาชนจีน เยอรมัน อินเดีย ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ สเปน และ สหรัฐอเมริกา มาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ลักษณะเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อราจำนวน 9 ชนิดได้แก่ *Alternaria tenuis, Alternaria raphani, Cladosporium* sp., *Ulocladium* sp., *Fusarium semitectum*, *Chaetomium* sp. *Curvularia pallescens* และ *Streptomyces* sp. แต่จากการนำเมล็ดพันธุ์ทานตะวันมาตรวจด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคบนต้นพืชในโรงเรือน (Seedling symptom test) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นทานตะวันลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ไม่แสดงอาการโรคพืช และ จากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ทานตะวันในท้องที่จังหวัด สระบุรี และลพบุรี ตรวจพบโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Alternaria tenuis* โรคราแป้งข้าว เกิดจากเชื้อรา *Oidium* sp. และโรคราสนิมที่เกิดจากเชื้อรา *Puccinia* sp.และในแปลงปลูก

จังหวัดเชียงใหม่ ตรวจพบอาการต้นเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* และอาการใบด่าง ซึ่งเชื้อโรคและศัตรูพืชที่พบดังกล่าวไม่จัดเป็นศัตรูพืชกักกัน

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณชัยรัตน์ หมั่นการ คุณวิภา เกิดพิพัฒน์ คุณอรนุช นาคะโร คุณยุทธนา ประมาณ คุณวิชาญ สมาธิ คุณสุธรรม คงเอียด คุณจิรวัฒน์ ไกรนรา คุณชลิตา ดาหาญ และคุณอัญชลี ราศรี ตลอดจนเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ด่านตรวจพืชไปรษณีย์ ด่านตรวจพืชลาดกระบังและด่านตรวจพืชแหลมฉบัง สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตรและน้องๆ ในห้องปฏิบัติการที่ช่วยสนับสนุนในการทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

Anonymous, 1996 International Rules for Seed Testing. Seed Science and Technology 24 : 1-335.

Barnett, H.L. and Hunter, B.B., 1972, Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Burgess Publication Ltd. St. Paul. Minnesota, USA, P.241.

Chohan, J.S. and Jasmit K., 1975. Seed borne Mycoflara of Sunflower and Control of Seed borne Pathogens. Indian Journal of Mycology and Plant Pathology, 6 : 210-211.

Ellis, M.B. 1971. Dematacеous Hyphomycetes, Commonwealth Mycological Institute, Ferry Lane, kew, Surrey, U.K. p 680.

Jhamaria S.L., Sharma, K.B. and Gupta, R.B. 1975. Fungi Intercepted from Sunflower Seeds and Their Control. Indian Journal of Mycology and Plant Pathology, 5 : 212.

Khare, M.N., 1996. Methods to Test Seeds for Associated Fungi Indian Phytopathology, 49 : 319-328.

การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำเข้าจากต่างประเทศ

Study on Quarantine Pests Associated with Imported Sorghum Seeds

ศรีวิเศษ เกษสังข์ วันเพ็ญ ศรีชาติ วานิช คำวานิช
ชลธิชา รักใคร่
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ข้าวฟ่าง (*Sorghum bicolor* (l.) Moench) จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายส่วนต่างๆ ของข้าวฟ่างมีศัตรูพืชทั้งสิ้น 651 ชนิด เป็นแมลง 378 ชนิด ไรและแมงมุม 8 ชนิด ไส้เดือนฝอย 39 ชนิด โปรโตซัว 1 ชนิด เชื้อรา 100 ชนิด แบคทีเรีย 25 ชนิด ไวรัส 10 ชนิด วัชพืช 84 ชนิด และหอยทาก 1 ชนิด และจากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำ เข้าจาก 4 ประเทศ ได้แก่ อาร์เจนตินา ออสเตรเลีย อินเดีย และ สหรัฐอเมริการวม 18 ตัวอย่าง มาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ลักษณะเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis, Alternaria raphani, Cladosporium* sp., *Ulocladium* sp., *Curvularia pallescens* และ *Drechslera halodes* แต่จากการนำเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างมาตรวจด้วยวิธี Dilution plate ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างมาปลูกสังเกตอาการโรค(Seedling symptom test)ในโรงเรือน ปลูกพืชผลปรากฏว่าไม่พบอาการผิดปกติกับต้นข้าวฟ่างและเมื่อติดตามตรวจสอบโรคและศัตรูพืชในแปลงปลูกในท้องที่จังหวัดลพบุรี สระบุรีและเชียงใหม่ ตรวจพบโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Curvularia pallescens* อาการใบจุดพบเชื้อรา *Curvularia lunata* และ *Nigrospora* sp. ซึ่งโรคและศัตรูพืชที่ตรวจพบกับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำเข้าจากต่างประเทศและในแปลงปลูกดังกล่าวไม่นับเป็นโรคและศัตรูพืชที่สำคัญทางกักกันพืช.

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-03-00-13-56

คำนำ

พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กำหนดให้เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง (Sorghum) จัดเป็นสิ่งต้องห้าม (Prohibited material) แต่เนื่องจากในขณะนี้อยู่ในข้อยกเว้นตามบทเฉพาะกาล ดังนั้นการนำข้าเมล็ดพันธุ์พันธุ์ข้าวฟ่างจากแหล่งที่กำหนด จะต้องแจ้งการนำเข้า ณ ด่านตรวจพืชที่นำเข้าและมีใบรับรองสุขอนามัยพืช(Phytosanitary Certificate) และหนังสือรับรองว่าไม่เป็นพืชตัดต่อสารพันธุ์กรรม (Non - GMO_s Certificate) จากประเทศต้นทางกำกับมาด้วย การนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศโอกาสที่ศัตรูพืชหลายชนิดที่อาจเป็นศัตรูพืชที่ร้ายแรงหรือมีความสำคัญที่ก่อให้เกิดความเสียหายกับผลิตผลทางการเกษตรติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์พืชนั้นๆด้วย ซึ่งอาจเป็นศัตรูพืชที่ร้ายแรงที่ไม่มีรายงานในประเทศไทย โดยเฉพาะในกลุ่มของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่ติดมากับข้าวฟ่างซึ่งมีการนำเข้ามาเพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์ ในการส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกกระจายทั่วประเทศไทย โดยในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างเป็นปริมาณมาก ในปี 2556 มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากต่างประเทศจำนวน 228.40 ตัน หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวและสามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศไทย จะก่อให้เกิดผลกระทบทำความเสียหายต่อการเกษตรในประเทศและกระทบต่อการส่งออกไปยังต่างประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการศึกษาถึงชนิดของศัตรูพืชที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้า เพื่อให้ทราบชนิด แหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืช ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการใช้อ้างอิงทางวิชาการ นำมาพิจารณาหามาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และกำหนดเป็นมาตรการทางด้านกฎหมายและทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้าต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง นำเข้าจากต่างประเทศ
2. กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope และ compound microscope
3. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
4. สารเคมีตรวจสอบเชื้อโรคพืช
5. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่าง
6. ชุดตรวจสอบศัตรูพืช (ELISA Kit)
7. หนังสือ และวารสารทั้งในประเทศและต่างประเทศที่เกี่ยวข้องกับเชื้อโรคและศัตรูพืช
8. Diagnostic protocols เช่น EPPO diagnostic protocols.
9. โรงเรือนปลูกพืชเพื่อสังเกตอาการผิดปกติ

วิธีการ

1.รวบรวมข้อมูลทั่วไปของข้าวฟ่างและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเตอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของข้าวฟ่างลักษณะทั่วไปของพืช สายพันธุ์ พื้นที่การเพาะปลูก รายชื่อของประเทศที่

ประเทศไทยมีการการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืชทั้งนอกประเทศและในประเทศ

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการกับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างนำเข้าจากต่างประเทศ

ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำเข้าจากต่างประเทศมาทำการตรวจวินิจฉัยโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลง เมล็ดวัชพืช หรือลักษณะเมล็ดที่แสดงอาการผิดปกติ ที่มีสาเหตุจากเชื้อโรค

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1999) และตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห่องปฏิบัติการกับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำเข้า

2.2.1 การตรวจสอบเชื้อรา

1) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะยังไม่งอก (Dry seed examination)

โดยตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์เชื้อราหรือศัตรูพืชอื่นๆ ซึ่งปะปนมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เช่นเมล็ดพันธุ์มีรูปร่างผิดปกติ หรืออาจติดมา ภายในเมล็ดพันธุ์โดยไม่แสดงอาการ รวมทั้งอาจติดมากับเศษพืชในลักษณะเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์เช่น Pycnidia เป็นต้น

2) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะเมล็ดงอก (Germinated seed examination)

สุ่มตัวอย่างเมล็ดตามวิธีการมาตรฐาน ในปริมาณที่เหมาะสมวิเคราะห์โดยสุ่มแยกตามสายพันธุ์ มาทดสอบด้วยวิธี Blotter method โดยวางเมล็ดลงบนกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จำนวน 3 แผ่นที่ชุ่มน้ำซึ่งวางอยู่ในจานเลี้ยงเชื้อ วางเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง 25 เมล็ดต่อจานเลี้ยงเชื้อ จำนวน 400 เมล็ด จากนั้นนำจานเพาะเมล็ดไปบ่มเชื้อ (incubate) ใต้แสง near ultraviolet (NUV) สลับกับความมืด 12/12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอไมโครสโคป (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope) ต่อไป

2.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

ในกรณีที่เชื้อติดมาในปริมาณมากจะสามารถแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรงหลังจากทำการแยกเชื้อด้วยวิธี Blotter method ได้ หรือทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate โดยสุ่มเมล็ดตามมาตรฐาน นำมาแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายในตู้เขี่ยเชื้อ เมื่อเมล็ดแห้งแล้วจึงนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบด แล้วเทใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ (0.85% NaCl) หรือบัฟเฟอร์ จำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยวางบนเครื่องเขย่า จากนั้นนำมาทำให้เจือจางให้มีความเจือจางเป็น 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} และ 10^{-5} ตามลำดับ ใช้ไปเปตต์ดูด suspension แต่ละความเข้มข้น

จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) แล้วใช้แท่งแก้วลนไฟฆ่าเชื้อ spread ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งแสดงอาการผิดปกติ

โดยการเพาะเมล็ดในดินนึ่งฆ่าเชื้อ จำนวน 100 เมล็ดต่อถาดเพาะเมล็ด และนำถาดเพาะเมล็ดเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส รดน้ำเช้าเย็นในโรงเรือนปลูกพืช ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช เมื่อต้นกล้าออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิดปกติของพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชุ่มชื้นเป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนใบ กิ่ง ลำต้น โค่นต้น และราก เก็บส่วนของพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

2.1) วิธี Dilution plate ตัดใบพืชตัดบริเวณรอยต่อส่วนที่เป็นโรคและปกติ ที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายในตู้เขี่ยเชื้อ จากนั้นบดชิ้นส่วนของพืชในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาทำให้เจือจางเป็นลำดับจาก 10^{-1} ถึง 10^{-5} และดำเนินการเช่นเดียวกับ ขั้นตอนในข้อ (1)

2.2) วิธี Tissue transplanting ตัดใบพืชเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 2x2 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายในตู้เขี่ยเชื้อแล้ววางชิ้นพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA หรืออาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง (semiselective media) นำจานเลี้ยงเชื้อไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จึงนำมาตรวจสอบหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรียเก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจนครบ 3-5 วัน เพื่อตรวจหาโคโลนีของแบคทีเรียชนิดอื่นจากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และนำไปศึกษาคุณลักษณะเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

1. ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงหรือกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

2. ทดสอบแกรม (Gram reaction) โดยใช้สารละลายโปรแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (3%KOH) ที่เตรียมใหม่ใช้ภายใน 2 สัปดาห์ หากตรวจพบเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) มีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) และแกรมบวก (Gram positive) รูปร่างแบบ Coryneform rod ก็จะนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3. ทดสอบ hypersensitivity reaction บนยาสูบ โดยการฉีดสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียอายุ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 10^{8} โคโลนีต่อมิลลิลิตร เข้าไปในใบยาสูบ *(Nicotiana tabacum* L.) บริเวณใต้ใบโดยฉีดเข้าเนื้อใบระหว่างเส้นใบ สังเกตลักษณะอาการเซลล์ตายตรงเนื้อใบหลังการฉีดเชื้อ 24-48 ชั่วโมง หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช

4. ทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical properties) เช่น การใช้ยูเรีย การย่อยเจลาติน การย่อยเอสคูลิน และแป้ง reduce ไนเตรต ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นต้น

5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัย (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^{8} โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่นปลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ฉีดพ่นน้ำ

ให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจลักษณะอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

2.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

1) ปลูกสังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้นกล้า (Seedling symptom test) โดยเพาะเมล็ดพันธุ์ในดินอบฆ่าเชื้อ ตัวอย่าง 100 เมล็ด เก็บรักษาไว้ในโรงปลูกพืชกันแมลงเมื่อต้นพืชออกใบจริง 1-2 ใบ จึงตรวจสอบลักษณะอาการโรค ต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ สงสัยว่ามีสาเหตุจากเชื้อไวรัสจะนำใบอ่อนไปตรวจสอบด้วยวิธีการอื่นเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

2) ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) เตรียมน้ำคั้นพืชสำหรับทดสอบโดยบดใบพืชที่แสดงอาการผิดปกติในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ตรวจสอบเชื้อไวรัสใช้ 0.1 M phosphate buffer pH 7.0) โดยใช้ใบพืชหนัก 1 กรัมต่อบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร ในสภาพเย็น จากนั้นใช้สำลีหรือนิ้วที่สะอาดจุ่มน้ำคั้นพืชทาลงบนใบพืชทดสอบ ซึ่งโรยด้วยผงคาร์โบรันดัม (carborundum ขนาด 600 mesh) หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 5 นาที ล้างใบพืชและนำพืชทดสอบไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส สังเกตลักษณะอาการบนพืชทดสอบหลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 1-4 สัปดาห์ โดยพืชทดสอบจะแสดงอาการแผลเฉพาะแห่ง (local lesion) หรืออาการแบบกระจายทั่วลำต้น (systemic infection)

3) การตรวจสอบด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา (Serological techniques) การตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme – linked Immunosorbent Assay : ELISA เป็นวิธีตรวจสอบเชื้อไวรัสที่มีความไวสูง แม้จะมีเชื้อไวรัสปริมาณต่ำหรืออนุภาคแตกหักก็สามารถตรวจได้ ให้ผลรวดเร็ว แน่นอน และยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมาก วิธีการที่นำมาใช้เป็นแบบ Indirect ELISA ทำการบันทึกผล

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกข้าวฟ่างในท้องที่ภาคกลางและภาคเหนือ

ทำการติดตามตรวจสอบต้นพืชที่มีการนำเมล็ดพันธุ์นำเข้าไปเพาะปลูกในแปลงปลูกข้าวฟ่างในภาคกลางและภาคเหนือ โดยสังเกตอาการปกติของต้นพืชทั้ง โคนต้น ราก ลำต้น ใบและเมล็ดพืช และทำการเก็บตัวอย่างอาการดังกล่าว นำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง แยกเชื้อ จัดจำแนกชนิดของเชื้อ และทดสอบการเกิดโรคกับพืชในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวินิจฉัยเชื้อโรคศัตรูพืชอย่างละเอียด เช่นเดียวกับในขั้นตอนที่ 2

4. การบันทึกข้อมูลเชื้อโรคและศัตรูพืชที่ตรวจพบในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและศัตรูพืชที่ตรวจพบในแปลงปลูก และสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

โดยการจัดทำข้อมูลเชื้อโรคและศัตรูพืชที่ตรวจพบในห้องปฏิบัติการทั้งจากเมล็ดพันธุ์นำเข้าและศัตรูพืชตรวจพบในแปลงปลูกข้าวฟ่างและสรุปการทดสอบ

เวลาและสถานที่

เวลา: เดือนตุลาคม 2555 – กันยายน 2556

สถานที่: ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตรและแปลงปลูกข้าวฟ่างในท้องที่ภาคกลางและภาคเหนือ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมข้อมูลทั่วไปของข้าวฟ่าง และข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ข้าวฟ่าง (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)

Kingdom : Viridiplantae
Phylum : Spermatophyta
Class : Monocotyledonae
Order : Cyperales
Family : Poaceae
Genus : Sorghum
Species : *Sorghum bicolor*

แหล่งปลูกข้าวฟ่างในประเทศไทย

1. ภาคเหนือ : นครสวรรค์ เพชรบูรณ์
2. ภาคกลาง : ลพบุรี สระบุรี สุพรรณบุรี

ปริมาณการนำเข้า

ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากต่างประเทศระหว่างเดือน ตุลาคม 2555 – กันยายน 2556 ปริมาณนำเข้า 228,402.50 กิโลกรัม มูลค่าการนำเข้า 13,463,213.42 บาท โดยนำเข้าจาก อาร์เยนตินา ออสเตเลีย อินเดีย และสหรัฐอเมริกา และให้ดำเนินการสุ่มตัวอย่าง เมื่อตรวจสอบศัตรูพืชจำนวน 18 ตัวอย่าง

ศัตรูพืชที่พบเข้าทำลายข้าวฟ่างการศึกษาเบื้องต้นในการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช พบว่า ขั้นตอนการจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest categorization) มีสิ่งมีชีวิตที่เป็นศัตรูพืช 651 ชนิด เป็นแมลง 378 ชนิด ไรและแมงมุม 8 ชนิด ไส้เดือนฝอย 39 ชนิด โปรโตซัว 1 ชนิด เชื้อรา 100 ชนิด แบคทีเรีย 25 ชนิด ไวรัส 10 ชนิด วัชพืช 84 ชนิด และหอยทาก 1 ชนิด จากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเบื้องต้นสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากต่างประเทศเข้ามาในราชอาณาจักร พบศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทย และเป็นศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงสูงที่อาจติดเข้ามาและก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชผลในประเทศ ดังนั้นเพื่อเป็นการป้องกันการระบาดของศัตรูพืชดังกล่าว หรือศัตรูชนิดใหม่จึงทำการตรวจสอบหาศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างเป็นข้อมูลในการหามาตรการที่เหมาะสมกับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง จากต่างประเทศเข้ามาในราชอาณาจักรต่อไป

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างนำเข้าจากต่างประเทศในห้องปฏิบัติการ

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากทุกประเทศในเบื้องต้น พบว่าลักษณะของเมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1999) และการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดเมล็ดพันธุ์นำเข้าในห้องปฏิบัติการและการปลูกทดสอบในโรงเรือน

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำเข้าจาก 4 ประเทศ ได้แก่ อาร์เจนตินา ออสเตรเลีย อินเดีย และ สหรัฐอเมริกา มาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าลักษณะเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืชและจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อราจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis, Alternaria raphani, Cladosporium* sp., *Ulocladium* sp., *Curvularia pallescens* และ *Drechslera halodes* แต่จากการนำเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างมาตรวจด้วยวิธี Dilution plate ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคบนต้นพืชในโรงเรือน (Seedling symptom test) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นข้าวฟ่างลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ไม่แสดงอาการโรค

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างในแปลงปลูกในท้องที่ภาคกลางและภาคเหนือ

จากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างในแปลงปลูกในท้องที่จังหวัดลพบุรี สระบุรีและเชียงใหม่ ตรวจพบโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Curvularia pallescens* อาการใบจุดพบเชื้อรา *Curvularia lunata* และ *Nigrospora* sp. ซึ่งโรคและศัตรูพืชที่ตรวจพบกับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำเข้าและในแปลงปลูกไม่นับเป็นโรคและศัตรูพืชที่สำคัญทางกักกันพืช

4. การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและศัตรูพืชที่ติดตามตรวจสอบในแปลงปลูก และสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำเข้าจากต่างประเทศ ที่ตรวจพบพบศัตรูพืช และจากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำเข้าจากต่างประเทศ

ตารางที่ 1 ผลการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำเข้าจากต่างประเทศ (ระหว่าง เดือนตุลาคม 2555- กันยายน 2556)

ลำดับที่	ประเทศ	ปริมาณ (กก.)	จำนวนตัวอย่าง	ด่านตรวจพืช	เชื้อโรคศัตรูพืชที่ตรวจพบ
1.	อาร์เยนตินา	2.50	12	สุวรรณภูมิ	*Alternaria raphani* 0.3 % *Drechslera halodes* 0.25 % *Ulocladium* sp. 1.6 %
2.	ออสเตรเลีย	18,000.00	2	สุวรรณภูมิ	-
3.	อินเดีย	10,400.00	2	ลาดกระบัง	*Alternaria tenuis* 3.5 % *Cladosporium* sp. 0.5 % *Curvularia pallescens* sp. 1.5%
4.	สหรัฐอเมริกา	200,000.00	2	สุวรรณภูมิ	*Alternaria tenuis* 28.50 %
รวม 4 ประเทศ		228,402.50	18		

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำเข้าจาก 4 ประเทศ ได้แก่ อาร์เจนตินา ออสเตรเลีย อินเดีย และ สหรัฐอเมริกา มาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ลักษณะเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืช หรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืชและจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดที่มากับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis, Alternaria raphani, Cladosporium* sp., *Ulocladium* sp., *Curvularia pallescens* และ *Drechslera halodes* แต่จากการนำเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างมาตรวจด้วยวิธี Dilution plate ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคบนต้นพืชในโรงเรือน (Seedling symptom test) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นข้าวฟ่างลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ไม่แสดงอาการโรค

จากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างนำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งศัตรูพืชที่พบทั้งในเมล็ดพันธุ์และตรวจสอบโรคในแปลงปลูก ไม่ใช่ศัตรูพืชด้านกักกันพืชของประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณชัยรัตน์ หมั่นการ คุณวิภา เกิดพิพัฒน์ คุณอรนุช นาคะโร คุณยุทธนา ประมาณ คุณวิชาญ สมาธิ คุณสุธรรม คงเอียด คุณจิรวัฒน์ ไกรนรา คุณชลิตา ดาหาญ และคุณอัญชลี ราศรี ตลอดจนด่านตรวจพืชท่าเรือ ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ด่านตรวจพืชไปรษณีย์ ด่านตรวจพืชลาดกระบังและด่านตรวจพืชแหลมฉบัง สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตรและน้องๆ ในห้องปฏิบัติการที่ช่วยสนับสนุนในการทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

Ellis, M.B. 1976. More Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England.

Tarr, S.A.J. 1962. Diseases of Sorghum, Sadan. Grese and Broom corn. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England.

Nelson, P.E. Toussoun, T.A. and Marasas, W.F.O. 1983. Fusarium Species: An Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania State University Press. University Park.

การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าจากต่างประเทศ
Interception of Quarantine Pest in Imported Tomato Seeds Consignments

ชลธิชา รักใคร่ ศรีวิเศษ เกษสังข์ วันเพ็ญ ศรีชาติ วานิช คำพานิช โสภา มีอำนาจ
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

มะเขือเทศ (Tomato) มีข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายส่วนต่างๆ ของมะเขือเทศ ทั้งสิ้น 490 ชนิด คือเชื้อรา 96 ชนิด แบคทีเรีย 30 ชนิด ไวรัส 46 ชนิด ไส้เดือนฝอย 40 ชนิด โปรโตรซัว 2 ชนิด แมลง 212 ชนิด ไร 10 ชนิด หอย 1 ชนิด และวัชพืช 53 ชนิด จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าจากต่างประเทศจำนวน 19 ประเทศ ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา ชิลี ฝรั่งเศส เม็กซิโก อิตาลี อินเดีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ แอฟริกาใต้ สาธารณรัฐประชาชนจีน เนเธอร์แลนด์ อิสรเอลแอฟริกาใต้ สเปน เปรู ลาว พม่า และ ไต้หวัน มาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ลักษณะเมล็ดมะเขือเทศ มีลักษณะเมล็ดสมบูรณ์สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา จำนวน 12 ชนิด ได้แก่ *Alternaria raphini, Alternaria tenuis, Cladosporium* sp., *Chaetomium* sp., *Curvularia lunata, Curvularia pallescens, Dreshlera halodes, Fusarium semitectum, Fusarium solani*, *Ulocladium* sp., *Macrophomina* sp. และ *Phoma* sp.ไม่พบเชื้อสาเหตุโรคพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการผิดปกติของโรคบนต้นพืชในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติบนพืชทดสอบ

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-03-00-14-56

คำนำ

ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 ภายใต้พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2 507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กำหนดให้มะเขือเทศจัดเป็นสิ่งต้องห้าม (Prohibited material) การนำเข้าต้องแจ้งการนำเข้า และมีใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทางกำกับมาพร้อมกับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้า โดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยกำหนดไว้แต่อย่างใด การนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศจึง มีโอกาสที่ศัตรูพืชหลายชนิดที่อาจเป็นศัตรูพืชกักกันที่ร้ายแรงหรือศัตรูพืชที่สำคัญที่ก่อความเสียหายกับผลิตผลทางการเกษตรติดเข้ามากับเมล็ดพืชด้วย โดยอาจเป็นศัตรูพืชร้ายแรงที่ไม่มีปรากฏในประเทศไทย โดยเฉพาะในกลุ่มของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่ติดมากับมะเขือเทศ ซึ่งมีการนำเข้ามาเพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์หรือเป็นต้นพันธุ์ในการส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกกระจายทั่วประเทศไทย โดยในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เหล่านี้ในปริมาณมาก หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวสามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศไทย จะก่อให้เกิดผลกระทบทำความเสียหายต่อการเกษตรในประเทศและกระทบต่อการส่งออกพืชผักผลไม้ไทยไปยังต่างประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการตรวจสอบศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับพืชนำเข้า เพื่อให้ทราบชนิด แหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืช มีประโยชน์ใช้อ้างอิงทางวิชาการ นำมาพิจารณาหามาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และกำหนดเป็นมาตรการทางด้านกฎหมายและทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้า ตามพระราชบัญญัติกักพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ นำเข้าจากต่างประเทศ
2. กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope และ compound microscope
3. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
4. สารเคมีตรวจสอบเชื้อโรคพืช
5. ภาชนะเก็บตัวอย่างพืช
6. ชุดตรวจสอบศัตรูพืช (ELISA Kit)
7. หนังสือ และวารสารทั้งในประเทศและต่างประเทศ

วิธีการ

1.รวบรวมข้อมูลทั่วไปของมะเขือเทศ และข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเตอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของมะเขือเทศ ลักษณะทั่วไปของพืช สายพันธุ์ พื้นที่การเพาะปลูก รายชื่อของประเทศที่ประเทศไทยมีการการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืชทั้งนอกประเทศและในประเทศ

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ นำเข้าในห้องปฏิบัติการ

ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์**มะเขือเทศ** ที่นำเข้าจากต่างประเทศมาทำการตรวจวินิจฉัยโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลง เมล็ดวัชพืช หรือลักษณะเมล็ดด่าง มีสีดำ บิดงอ ขนาดเล็ก ที่มีสาเหตุจากเชื้อโรค

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 2007) และตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ นำเข้า

2.2.1 การตรวจสอบเชื้อรา

1) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะยังไม่งอก (Dry seed examination)

โดยตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์เชื้อราหรือศัตรูพืชอื่นๆ ซึ่งปะปนมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เช่นเมล็ดพันธุ์มีรูปร่างผิดปกติ หรืออาจติดมา ภายในเมล็ดพันธุ์โดยไม่แสดงอาการ รวมทั้งอาจติดมากับเศษพืชในลักษณะเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์เช่น Pycnidia เป็นต้น

2) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะเมล็ดงอก

สุ่มตัวอย่างเมล็ดตามวิธีการมาตรฐาน ในปริมาณที่เหมาะสมวิเคราะห์โดยสุ่มแยกตามสายพันธุ์ มาทดสอบด้วยวิธี Blotter method โดยวางเมล็ดลงบนกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จำนวน 3 แผ่นที่ชุ่มน้ำซึ่งวางอยู่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วางเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ 10 เมล็ดต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวน 200 เมล็ด จากนั้นนำจานเพาะเมล็ดไปบ่มเชื้อ (incubate) ใต้แสง near ultraviolet (NUV) สลับกับความมืด 12/12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอไมโครสโคป (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope)

2.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

ในกรณีที่เชื้อติดมาในปริมาณมากจะสามารถแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรงหลังจากทำการแยกเชื้อด้วยวิธี Blotter method ได้ หรือทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate โดยสุ่มเมล็ดตามมาตรฐาน นำมาแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที ล้างตามด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ เมื่อได้เมล็ดพันธุ์จึงนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบด แล้วนำผงของเมล็ดใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ (0.85% NaCl) หรือบัฟเฟอร์ จำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยวางบนเครื่องเขย่า จากนั้นนำมาทำให้เจือจางในอาหารเหลว Nutrient broth ให้มีความเจือจางเป็น 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} และ 10^{-5} ตามลำดับ ใช้ไปเปตต์ดูด suspension แต่ละความเข้มข้น จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) แล้วใช้แท่งแก้วลนไฟฆ่าเชื้อ spread ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ดผิดปกติ

โดยการเพาะเมล็ดในดินนึ่งฆ่าเชื้อ โดยเพาะ 25-50 เมล็ดต่อถุง และเก็บถุงเพาะที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส รดน้ำเช้าเย็นในโรงเรือนกักกันพืช ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช เมื่อต้นกล้าออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชุ่มชื้นเป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนใบ กิ่ง ลำต้น โค่นต้น และราก เก็บส่วนของพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

2.1) วิธี Dilution plate ตัดใบพืชที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ แล้วบดชิ้นส่วนในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาทำให้เจือจางเป็นลำดับจาก 10^{-1} ถึง 10^{-5} และดำเนินการเช่นเดียวกับขั้นตอนในข้อ (1)

2.2) วิธี Tissue transplanting ตัดใบพืชเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 2x2 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อแล้ววางชิ้นพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA หรืออาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง (semiselective media) นำจานเลี้ยงเชื้อไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จึงนำมาตรวจสอบหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรียเก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจนครบ 3-5 วัน เพื่อตรวจหาโคโลนีของแบคทีเรียชนิดอื่นจากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และนำไปศึกษาคุณลักษณะเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

1. ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

2. ทดสอบแกรม (Gram reaction) โดยใช้สารละลายโปรแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (3%KOH) ที่เตรียมใหม่ใช้ภายใน 2 สัปดาห์ หากตรวจพบเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) มีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) และแกรมบวก (Gram positive) รูปร่างแบบ Coryneform rod ก็จะนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3. ทดสอบ hypersensitivity reaction บนยาสูบ โดยการฉีดสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียอายุ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 10^{8} โคโลนีต่อมิลลิลิตร เข้าไปในใบยาสูบ *(Nicotiana tabacum* L.) บริเวณใต้ใบโดยฉีดเข้าเนื้อใบระหว่างเส้นใบ สังเกตลักษณะอาการเซลล์ตายตรงเนื้อใบหลังการฉีดเชื้อ 24-48 ชั่วโมง หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช

4. ทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical properties) เช่น การใช้ยูเรีย การย่อยเจลาติน การย่อยเอสคูลิน และแป้ง reduce ไนเตรต ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นต้น

5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัย (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^{8} โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่นปลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยง หรือเนื้อใบของต้นมะเขือเทศ อายุ 2-3 สัปดาห์ ฉีดพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจลักษณะอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็น

โรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

2.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

1) ปลูกสังเกตลักษณะอาการโรคบนต้นกล้า (Seedling symptom test) โดยเพาะเมล็ดพันธุ์ในดินอบฆ่าเชื้อ ตัวอย่าง 50-200 เมล็ด เก็บรักษาไว้ในโรงปลูกพืชกันแมลงเมื่อต้นพืชออกใบจริง 1-2 ใบ จึงตรวจสอบลักษณะอาการโรค ต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ สงสัยว่ามีสาเหตุจากเชื้อไวรัสจะนำใบอ่อนไปตรวจสอบด้วยวิธีการอื่นเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

2) ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) เตรียมน้ำคั้นพืชสำหรับทดสอบโดยบดใบพืชที่แสดงอาการผิดปกติในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ตรวจสอบเชื้อไวรัสใช้ 0.1 M phosphate buffer pH 7.0) โดยใช้ใบพืชหนัก 1 กรัมต่อบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร ในสภาพเย็น จากนั้นใช้สำลีหรือนิ้วที่สะอาดจุ่มน้ำคั้นพืชทาลงบนใบพืชทดสอบ ซึ่งโรยด้วยผงคาร์โบรันดัม (carborundum ขนาด 600 mesh) หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 5 นาที ล้างใบพืชและนำพืชทดสอบไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส สังเกตลักษณะอาการบนพืชทดสอบหลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 1-4 สัปดาห์ โดยพืชทดสอบจะแสดงอาการแผลเฉพาะแห่ง (local lesion) หรืออาการแบบกระจายทั่วลำต้น (systemic infection)

3) การตรวจสอบด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา (Serological techniques) การตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme – linked Immunosorbent Assay : ELISA เป็นวิธีตรวจสอบเชื้อไวรัสที่มีความไวสูง แม้จะมีเชื้อไวรัสปริมาณต่ำหรืออนุภาคแตกหักก็สามารถตรวจได้ ให้ผลรวดเร็ว แน่นอน และยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมาก วิธีการที่นำมาใช้เป็นแบบ Indirect ELISA ทำการบันทึกผล

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์นำเข้าในพื้นที่ของเกษตรกร

ทำการติดตามตรวจสอบต้นพืชที่มีการนำเมล็ดพันธุ์นำเข้าไปเพาะปลูกในแปลงปลูกของเกษตรกรตามภาคต่างๆ โดยสังเกตอาการความผิดปกติของต้นพืชทั้ง โคนต้น ราก ลำต้น ใบและผลของพืช และทำการสุ่มเก็บตัวอย่างอาการดังกล่าว นำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง แยกเชื้อ จัดจำแนกชนิดของเชื้อ และทดสอบการเกิดโรคกับพืชในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวินิจฉัยเชื้อโรคศัตรูพืชอย่างละเอียด เช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 2

เวลาและสถานที่

เวลา: เดือนตุลาคม 2555 – กันยายน 2556

สถานที่: ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช ด่านตรวจพืช และและแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. มะเขือเทศ จัดเป็นพืชผักที่อยู่ในกลุ่มพืช (Solannaceae) ซึ่งได้แก่ พริก มะเขือเทศ มันฝรั่ง และยาสูบ ฯลฯ **แหล่งปลูกมะเขือเทศที่นำเข้า ที่สำคัญได้แก่** สกลนคร, ขอนแก่น, อุดรธานี และกาฬสินธุ์ ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากต่างประเทศ ในปี 2555 จำนวน 17,842.61 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่าการนำเข้า 963,213.42 บาท

ศัตรูพืชที่พบเข้าทำลาย มีสิ่งมีชีวิตที่เป็นศัตรูพืชรวม ทั้งสิ้น 490 ชนิด คือเชื้อรา 96 ชนิด แบคทีเรีย 30 ชนิด ไวรัส 46 ชนิด ไส้เดือนฝอย 40 ชนิด โปรโตรซัว 2 ชนิด แมลง 212 ชนิด ไร 10 ชนิด หอย 1 ชนิด และวัชพืช 53 ชนิด

2.การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ นำเข้าจากต่างประเทศในห้องปฏิบัติการ

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากทุกประเทศในเบื้องต้น พบว่าลักษณะของเมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด ซึ่งจากการตรวจเอกสารและการสังเกตเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากบางประเทศ มีการคลุกสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์พืชที่นำเข้ามาด้วย

2.2 ได้สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าจากต่างประเทศจำนวน 19 ประเทศ ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา ชิลี ฝรั่งเศส เม็กซิโก อิตาลี อินเดีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ แอฟริกาใต้ สาธารณรัฐประชาชนจีน เนเธอร์แลนด์ อิสราเอล แอฟริกาใต้ สเปน เปรู ลาว พม่า และไต้หวัน ผลการตรวจพบเชื้อราที่ติดกับมะเขือเทศ ที่นำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *Alternaria raphini, Alternaria tenuis, Cladosporium* sp., *Chaetomium* sp จากอินเดีย พบเชื้อรา จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Dreshlera halodes, Fusarium semitectum, Fusarium solani*, *Ulocladium* sp., *Macrophomina* sp. และ *Phoma* sp เมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากอินโดนีเซีย พบ เชื้อรา จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Curvularia lunata, Curvularia pallescen* ไม่พบเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับพืชที่ปลูกสังเกตอาการ

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์นำเข้าในพื้นที่ของเกษตรกร

จากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากต่างประเทศ ในภาคเหนือ 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดสกลนคร อุดรธานี และขอนแก่น พบอาการโรคบนใบของมะเขือเทศ ได้แก่ จำนวน 3 โรค ได้แก่ โรค เหี่ยวเขียว จากเชื้อ *Pseudomonas solanacearum* โรคใบจุดจากเชื้อสาเหตุ *Xanthomonas camprestis* pv. *vesicatoria* และโรคใบด่าง เชื้อสาเหตุ *Cucumber mosaic* virus ซึ่งศัตรูพืชที่พบทั้งในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและตรวจสอบโรคในแปลงปลูก ไม่ใช่ศัตรูพืชด้านกักกันพืชของประเทศไทย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากต่างประเทศ ในปี 2555 จำนวน 17,842.61 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่าการนำเข้า 963,213.42 บาท

ศัตรูพืชที่พบเข้าทำลาย มีสิ่งมีชีวิตที่เป็นศัตรูพืชรวม ทั้งสิ้น ทั้งสิ้น 490 ชนิด คือเชื้อรา 96 ชนิด แบคทีเรีย 30 ชนิด ไวรัส 46 ชนิด ไส้เดือนฝอย 40 ชนิด โปรโตรซัว 2 ชนิด แมลง 212 ชนิด ไร 10 ชนิด หอย 1 ชนิด และวัชพืช 53 ชนิด ผลการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ พบว่าลักษณะของเมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด ซึ่งจากการตรวจเอกสารและการสังเกตเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากบางประเทศ มีการคลุกสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์พืชที่นำเข้ามาด้วย

ได้สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าจากต่างประเทศจำนวน 19 ประเทศ ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา ชิลี ฝรั่งเศส เม็กซิโก อิตาลี อินเดีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ แอฟริกาใต้ สาธารณรัฐประชาชนจีน เนเธอร์แลนด์ อิสราเอล แอฟริกาใต้ สเปน เปรู ลาว พม่า และ ไต้หวัน ผลการตรวจพบเชื้อราที่ติดกับมะเขือเทศ ที่นำเข้าจากสาธารณรัฐ-ประชาชนจีน จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *Alternaria raphini, Alternaria tenuis, Cladosporium* sp., *Chaetomium* sp จาก**อินเดีย** พบเชื้อรา จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Dreshlera halodes, Fusarium semitectum, Fusarium solani*, *Ulocladium* sp., *Macrophomina* sp. และ *Phoma* sp เมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากอินโดนีเซีย พบเชื้อรา จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Curvularia lunata, Curvularia pallescens,*. ไม่พบเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับพืชที่ปลูกสังเกตอาการ

จากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากต่างประเทศ ในภาคเหนือ 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดสกลนคร อุดรธานี และขอนแก่น พบอาการโรคบนใบของมะเขือเทศ ได้แก่ จำนวน 3 โรค ได้แก่ โรค เหี่ยวเขียว จากเชื้อ *Pseudomonas solannacearum* โรคใบจุดจากเชื้อสาเหตุ *Xanthomonas camprestis* pv. *vesicatoria* และโรคใบด่าง เชื้อสาเหตุ *Cucumber mosaic* virus ซึ่งศัตรูพืชที่พบทั้งในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและตรวจสอบโรคในแปลงปลูก ไม่ใช่ศัตรูพืชด้านกักกันพืชของประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณศรีวิเศษ เกษสังข์ คุณนงพร มาอยู่ดี ที่ช่วยแนะนำแนวทางการวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณ คุณวันเพ็ญ ศรีชาติ คุณยุทธนา ประมาณ คุณวิชาญ สมาธิ คุณวิภา เกิดพิพัฒน์ คุณอรนุช นาคะโร คุณสุธรรม คงเอียด คุณจิรวัฒน์ ไกรนรา และ และน้องๆ ในห้องปฏิบัติการที่ช่วยสนับสนุนในการทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ศักดิ์ สุนทรสิงห์. 2537. โรคของผักและการป้องกันกำจัด. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ 198 น.

Bradbury, J.F. 1986. Guide to plant pathogenic bacteria. CAB International, Wallingford,

Crop Protection Compendium. 2007. ed. Wallingford, UK: CPC. (http://www.cabicompendium.org/cpc)

Denis, P. 1994. Diseases of vegetable crops. Department of Primary Industries. Australia 164 pp.

FAO . 2004. Pest Risk Analysis for Quarantine Pests Including Analysis of Environmental Risks Pest risk Analysis for Quarantine Pests. ISPM No. 11, Rome.

Fatmi, M. and N.W. Schaad. 1988. Semi selective agar medium for isolation of *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* from tomato seed. Phytopathology 78; 121-126.

การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่นำเข้าจากต่างประเทศ

Interception of Quarantine Pest in Imported Corn Seeds Consignments

ชลธิชา รักใคร่ นงพร มาอยู่ดี ศรีวิเศษ เกษสังข์
วันเพ็ญ ศรีชาติ วานิช คำพานิช โสภา มีอำนาจ
กลุ่มวิจัยการักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ข้าวโพด (Corn) มีศัตรูพืชที่เข้าทำลายส่วนต่างๆ ของข้าวโพด จำนวนทั้งหมดรวม 597 ชนิด เป็นไร 12 ชนิด แมลง 212 ชนิด รา 127 ชนิด แบคทีเรีย 23 ชนิด ไวรัส 15 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 58 ชนิด สัตว์ 4 ชนิด หอย/ทาก 1 ชนิด วัชพืช 144 ชนิด จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจาก10 ประเทศ ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา อาร์เจนตินา บราซิล ออสเตรเลีย อินเดีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ เวียดนาม และ ไต้หวัน มาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ลักษณะเมล็ดข้าวโพดมีสีเหลือง เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ *Acremonium sp, Cephaosporium acremonium.*, *Drechslera turcicum*, *Drechslera sorghicola, Drechslera maydis, Curvularia lunata, Curvularia lpallescens, Fusarium moniliforme, Fusarium solani*, และ *Fusarium semitectum* จากการนำเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดมาตรวจด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่สำคัญด้านกักกันพืช และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคบนต้นพืชในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นข้าวโพด จากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากต่างประเทศ ในภาคเหนือ 4 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดตาก ลำปาง เชียงใหม่และเชียงราย และในภาคตะวันออกเฉียงเหนือจำนวน 3 จังหวัดได้แก่ อุดรธานี ชัยภูมิ และขอนแก่น พบอาการผิดปกติในข้าวโพดที่ จังหวัดตาก เชียงใหม่และเชียงราย และในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ที่จังหวัด ชัยภูมิ และขอนแก่น พบเชื้อโรคบนใบของข้าวโพดจำนวน 5 โรค ได้แก่ *Drechslera turcicum ,Drechslera maydis*, *Fusarium moniliforme Cephaosporium acremonium.,และ Drechslera sorghicola,* ซึ่งศัตรูพืชที่พบทั้งในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและตรวจสอบโรคในแปลงปลูก ไม่ใช่ศัตรูพืชด้านกักกันพืชของประเทศไทย

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-03-00-15-56

คำนำ

ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 ภายใต้พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กำหนดให้เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจัดเป็นสิ่งต้องห้าม (Prohibited material) การนำเข้ามายังประเทศไทยต้องแจ้งการนำเข้า และมีใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทางกำกับมาพร้อมกับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้า โดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยกำหนดไว้แต่อย่างใด ในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดสินค้าเกษตรจากต่างประเทศจึง มีโอกาสที่ศัตรูพืชหลายชนิดที่อาจเป็นศัตรูพืชกักกันที่ร้ายแรงหรือศัตรูพืชที่สำคัญที่ก่อความเสียหายกับผลิตผลทางการเกษตรติดเข้ามากับเมล็ดพืชด้วย โดยอาจเป็นศัตรูพืชร้ายแรงที่ไม่มีปรากฏในประเทศไทย โดยเฉพาะในกลุ่มของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดพืช ซึ่งมีการนำเข้ามาเพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์ในการส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกกระจายทั่วประเทศไทย โดยในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เหล่านี้ในปริมาณมาก หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวสามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศไทย จะก่อให้เกิดผลกระทบทำความเสียหายต่อการเกษตรในประเทศและกระทบต่อการส่งออกไปยังต่างประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการตรวจสอบศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับพืชนำเข้า เพื่อให้ทราบชนิด แหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืช มีประโยชน์ใช้อ้างอิงทางวิชาการ นำมาพิจารณาหามาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และกำหนดเป็นมาตรการทางด้านกฎหมายและทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้า ตามพระราชบัญญัติกักพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากต่างประเทศ
2. กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope และ compound microscope
3. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
4. สารเคมีตรวจสอบเชื้อโรคพืช
5. ภาชนะเก็บตัวอย่างพืช
6. ชุดตรวจสอบศัตรูพืช (ELISA Kit)
7. หนังสือ และวารสารทั้งในประเทศและต่างประเทศ

วิธีการ

1.รวบรวมข้อมูลทั่วไปของข้าวโพดและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเตอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของข้าวโพด ลักษณะทั่วไปของพืช สายพันธุ์ พื้นที่การเพาะปลูก รายชื่อของประเทศที่ประเทศไทยมีการการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืชทั้งนอกประเทศและในประเทศ

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าในห้องปฏิบัติการ

ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์**ข้าวโพด**ที่นำเข้าจากต่างประเทศมาทำการตรวจวินิจฉัยโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลง เมล็ดวัชพืช หรือลักษณะเมล็ดด่าง มีสีดำ บิดงอ ขนาดเล็ก ที่มีสาเหตุจากเชื้อโรค

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 2007) และตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์นำเข้า

2.2.1 การตรวจสอบเชื้อรา

1) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะยังไม่งอก (Dry seed examination)

โดยตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์เชื้อราหรือศัตรูพืชอื่นๆ ซึ่งปะปนมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เช่นเมล็ดพันธุ์มีรูปร่างผิดปกติ หรืออาจติดมา ภายในเมล็ดพันธุ์โดยไม่แสดงอาการ รวมทั้งอาจติดมากับเศษพืชในลักษณะเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์เช่น Pycnidia เป็นต้น

2) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะเมล็ดงอก

สุ่มตัวอย่างเมล็ดตามวิธีการมาตรฐาน ในปริมาณที่เหมาะสมวิเคราะห์โดยสุ่มแยกตามสายพันธุ์ มาทดสอบด้วยวิธี Blotter method โดยวางเมล็ดลงบนกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จำนวน 3 แผ่นที่ชุ่มน้ำซึ่งวางอยู่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วางเมล็ดพันธุ์ฟักทอง สควัอชและแว๊กกราวด์ 10 เมล็ดต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวน 200 เมล็ด จากนั้นนำจานเพาะเมล็ดไปบ่มเชื้อ (incubate) ใต้แสง near ultraviolet (NUV) สลับกับความมืด 12/12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอไมโครสโคป (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope)

2.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

ในกรณีที่เชื้อติดมาในปริมาณมากจะสามารถแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรงหลังจากทำการแยกเชื้อด้วยวิธี Blotter method ได้ หรือทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate โดยสุ่มเมล็ดตามมาตรฐาน นำมาแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที ล้างตามด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ เมื่อได้ เมล็ดพันธุ์จึงนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบด แล้วนำผงของเมล็ดใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ (0.85% NaCl) หรือบัฟเฟอร์ จำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยวางบนเครื่องเขย่า จากนั้นนำมาทำให้เจือจางในอาหารเหลว Nutrient broth ให้มีความเจือจางเป็น 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} และ 10^{-5} ตามลำดับ ใช้ไปเปตต์ดูด suspension แต่ละความเข้มข้น จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) แล้วใช้แท่งแก้วลนไฟฆ่าเชื้อ spread ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ดผิดปกติ

โดยการเพาะเมล็ดในดินนึ่งฆ่าเชื้อ โดยเพาะ 25-50 เมล็ดต่อถุง และเก็บถุงเพาะที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส รดน้ำเช้าเย็นในโรงเรือนกักกันพืช ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช เมื่อต้นกล้าออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชุ่มชื้นเป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนใบ กิ่ง ลำต้น โค่นต้น และราก เก็บส่วนของพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

2.1) วิธี Dilution plate ตัดใบพืชที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ แล้วบดชิ้นส่วนในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาทำให้เจือจางเป็นลำดับจาก 10^{-1} ถึง 10^{-5} และดำเนินการเช่นเดียวกับขั้นตอนในข้อ (1)

2.2) วิธี Tissue transplanting ตัดใบพืชเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 2x2 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อแล้ววางชิ้นพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA หรืออาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง (semiselective media) นำจานเลี้ยงเชื้อไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จึงนำมาตรวจสอบหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรียเก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจนครบ 3-5 วัน เพื่อตรวจหาโคโลนีของแบคทีเรียชนิดอื่นจากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และนำไปศึกษาคุณลักษณะเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

1. ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

2. ทดสอบแกรม (Gram reaction) โดยใช้สารละลายโปรแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (3%KOH) ที่เตรียมใหม่ใช้ภายใน 2 สัปดาห์ หากตรวจพบเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) มีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) และแกรมบวก (Gram positive) รูปร่างแบบ Coryneform rod ก็จะนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3. ทดสอบ hypersensitivity reaction บนยาสูบ โดยการฉีดสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียอายุ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 10^{8} โคโลนีต่อมิลลิลิตร เข้าไปในใบยาสูบ *(Nicotiana tabacum* L.) บริเวณใต้ใบโดยฉีดเข้าเนื้อใบระหว่างเส้นใบ สังเกตลักษณะอาการเซลล์ตายตรงเนื้อใบหลังการฉีดเชื้อ 24-48 ชั่วโมง หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช

4. ทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical properties) เช่น การใช้ยูเรีย การย่อยเจลาติน การย่อยเอสคูลิน และแป้ง reduce ไนเตรต ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นต้น

5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัย (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^{8} โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่นปลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยง หรือเนื้อใบของต้นข้าวโพด อายุ 2-3 สัปดาห์ ฉีดพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจลักษณะอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็นโรค

มาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบที่สั่งนำเข้าจากต่างประเทศโดย นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

2.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

1) ปลูกสังเกตลักษณะอาการโรคบนต้นกล้า (Seedling symptom test) โดยเพาะ เมล็ดพันธุ์ในดินอบฆ่าเชื้อ ตัวอย่าง 50-200 เมล็ด เก็บรักษาไว้ในโรงปลูกพืชกันแมลงเมื่อต้นพืชออกใบจริง 1-2 ใบ จึงตรวจสอบลักษณะอาการโรค ต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ สงสัยว่ามีสาเหตุจากเชื้อไวรัสจะนำใบอ่อนไปตรวจสอบด้วยวิธีการอื่นเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

2) ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) เตรียมน้ำคั้นพืชสำหรับทดสอบโดยบดใบพืชที่แสดงอาการผิดปกติในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ตรวจสอบเชื้อไวรัสใช้ 0.1 M phosphate buffer pH 7.0) โดยใช้ใบพืชหนัก 1 กรัมต่อบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร ในสภาพเย็น จากนั้นใช้สำลีหรือนิ้วที่สะอาดจุ่มน้ำคั้นพืชทาลงบนใบพืชทดสอบ ซึ่งโรยด้วยผงคาร์โบรันดัม (carborundum ขนาด 600 mesh) หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 5 นาที ล้างใบพืชและนำพืชทดสอบไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส สังเกตลักษณะอาการบนพืชทดสอบหลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 1-4 สัปดาห์ โดยพืชทดสอบจะแสดงอาการแผลเฉพาะแห่ง (local lesion) หรืออาการแบบกระจายทั่วลำต้น (systemic infection)

3) การตรวจสอบด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา (Serological techniques) การตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme – linked Immunosorbent Assay : ELISA เป็นวิธีตรวจสอบเชื้อไวรัสที่มีความไวสูง แม้จะมีเชื้อไวรัสปริมาณต่ำหรืออนุภาคแตกหักก็สามารถตรวจได้ ให้ผลรวดเร็ว แน่นอน และยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมาก วิธีการที่นำมาใช้เป็นแบบ Indirect ELISA ทำการบันทึกผล

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์นำเข้าในพื้นที่ของเกษตรกร

ทำการติดตามตรวจสอบต้นพืชที่มีการนำเมล็ดพันธุ์นำเข้าไปเพาะปลูกในแปลงปลูกของเกษตรกรตามภาคต่างๆ โดยสังเกตอาการความผิดปกติของต้นพืชทั้ง โคนต้น ราก ลำต้น ใบและผลของพืช และทำการสุ่มเก็บตัวอย่างอาการดังกล่าว นำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง แยกเชื้อ จัดจำแนกชนิดของเชื้อ และทดสอบการเกิดโรคกับพืชในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวินิจฉัยเชื้อโรคศัตรูพืชอย่างละเอียด เช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 2

เวลาและสถานที่

เวลา: เดือนตุลาคม 2555 – กันยายน 2556

สถานที่: ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช ด่านตรวจพืช และและแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ประเทศไทยมีการนำเข้าข้าวโพดเพื่อการบริโภค การอุตสาหกรรม หรือใช้เป็นอาหารสัตว์ โดยนำเข้าจาก10 ประเทศ ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา อาร์เจนตินา บราซิล ออสเตรเลีย อินเดีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ เวียดนาม และ ไต้หวัน และประเทศไทยยังเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์

ข้าวโพดลูกผสม(Hybrid corn)ที่ใหญ่แห่งหนึ่งในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้แหล่งปลูกข้าวโพดของประเทศจะอยู่เขตภาคกลางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในปี 2554/2555 ประเทศไทย มีพื้นที่เพาะปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ประมาณ 8.87 ล้านไร่ ให้ผลผลิต 5.45 ล้านตัน ส่งออก 1.28 ล้านตันไปยังประเทศเวียดนาม มาเลเซีย อินโดนีเซีย สิงคโปร์ ฯลฯ มูลค่าประมาณ 4,315 ล้านบาท ข้าวโพดมีศัตรูพืชจำนวนทั้งหมดรวม 597 ชนิด เป็นไร 12 ชนิด แมลง 212 ชนิด รา 127 ชนิด แบคทีเรีย 23 ชนิด ไวรัส 15 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 58 ชนิด สัตว์ 4 ชนิด หอย/ทาก 1 ชนิด วัชพืช 144 ชนิด

2.การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากต่างประเทศในห้องปฏิบัติการ

2.1 **การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ**

จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากทุกประเทศในเบื้องต้น พบว่าลักษณะของเมล็ดมีสีเหลือง เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด

2.2 จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด นำเข้าจาก 10 ประเทศ ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา อาร์เจนตินา บราซิล ออสเตรเลีย อินเดีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ เวียดนาม และ ไต้หวัน และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดในห้องปฏิบัติการ ผลการตรวจพบเชื้อรา จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ *Acremonium sp, Cephaosporium acremonium.*, *Drechslera turcicum*., *Drechslera sorghicola, Drechslera maydis, Curvularia lunata, Curvularia lpallescens , Fusarium moniliforme, Fusarium solani*, และ *Fusarium semitectum* ไม่พบศัตรูพืชเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส และวัชพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคบนต้นพืชในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นข้าวโพด

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์นำเข้าในพื้นที่ของเกษตรกร

จากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากต่างประเทศ ในภาคเหนือ 4 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดตาก ลำปาง เชียงใหม่และเชียงราย และในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 3 จังหวัดได้แก่ อุดรธานี ชัยภูมิ และขอนแก่น พบอาการผิดปกติในข้าวโพดที่ จังหวัดตาก เชียงใหม่และเชียงราย และในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ที่จังหวัด ชัยภูมิ และขอนแก่น พบเชื้อโรคบนใบของข้าวโพดจำนวน 5 โรค ได้แก่ *Drechslera turcicum ,Drechslera maydis*, *Fusarium moniliforme Cephaosporium acremonium.,และ Drechslera sorghicola,* ซึ่งศัตรูพืชที่พบทั้งในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและตรวจสอบโรคในแปลงปลูก ไม่ใช่ศัตรูพืชด้านกักกันพืชของประเทศไทย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ข้าวโพด มีศัตรูพืชที่เข้าทำลายส่วนต่างๆ ของข้าวโพด จำนวนทั้งหมดรวม 597 ชนิด เป็นไร 12 ชนิด แมลง 212 ชนิด รา 127 ชนิด แบคทีเรีย 23 ชนิด ไวรัส 15 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 58 ชนิด สัตว์ 4 ชนิด หอย/ทาก 1 ชนิด วัชพืช 144 ชนิดได้สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่นำเข้าจากต่างประเทศจำนวน 10 ประเทศ ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา อาร์เจนตินา บราซิล ออสเตรเลีย อินเดีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ เวียดนาม และ ไต้หวัน มาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วย ตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ลักษณะเมล็ดข้าวโพดมีสีเหลือง เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่

ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดในห้องปฏิบัติการพบเชื้อรา จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ *Acremonium sp, Cephaosporium acremonium.*, *Drechslera turcicum*., *Drechslera sorghicola, Drechslera maydis, Curvularia lunata, Curvularia lpallescens , Fusarium moniliforme, Fusarium solani*, และ *Fusarium semitectum* ผลการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดข้าวโพดเข้าจากต่างประเทศ ในภาคเหนือ 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดตาก เชียงใหม่และเชียงราย และในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 2 จังหวัดได้แก่ ชัยภูมิ และขอนแก่น พบเชื้อราสาเหตุโรคพืชบนใบของข้าวโพดจำนวน 5 โรค ได้แก่ *Drechslera turcicum ,Drechslera maydis, Fusarium moniliforme Cephaosporium acremonium.,และ Drechslera sorghicola,* ซึ่งศัตรูพืชที่พบทั้งในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและตรวจสอบโรคในแปลงปลูก ไม่ใช่ศัตรูพืชที่สำคัญด้านด้านกักกันพืชของประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณศรีวิเศษ เกษสังข์ คุณนงพร มาอยู่ดี ที่ช่วยแนะนำแนวทางการวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณ วันเพ็ญ ศรีชาติ คุณยุทธนา ประมาณ คุณวิชาญ สมาธิ คุณวิภา เกิดพิพัฒน์ ช่วยสนับสนุนและเตรียมงานในห้องปฏิบัติการ และน้องๆ ในห้องปฏิบัติการที่ช่วยสนับสนุนในการทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2547. เอกสารวิชาการ ศัตรูพืชกักกันที่สำคัญของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ

ดารา เจตนะจิตร, นงรัตน์ นิลพานิชย์, พากเพียร อรัญนารถ, วิชิต ศิริสันธนะ, วิชชุดา รัตนกาญจน์, รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์, เยาวภา ตันติวานิช, วันชัย โรจนหัสดิน และจรรยา อารยาพันธ์. 2545. คู่มือโรคข้าว. กลุ่มงานวิจัยโรคข้าวและธัญพืชเมืองหนาว. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 40 หน้า.

เตือนใจ บุญ-หลง, ประดิษฐ์ โกวิทเทวาวงศ์, ดิลก อัญชลิสังกาศ และสำอางค์ วงศ์แก้ว. 2539. เชื้อสาเหตุ ลักษณะอาการ และการแพร่ระบาดของโรคใบจุดข้าวโพดที่พบใหม่ในประเทศไทย. บทคัดย่อการประชุมวิชาการข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ ครั้งที่ 27. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. หน้า 34.

Anonymous. 2007. International rules for seed testing. Seed Science and Technology. Rules, Vol. 21 supplement. 287 pp.

Crop Protection Compendium. 2007. ed. Wallingford, UK: CPC. (http://www.cabicompendium.org/cpc)

Mc Gee, D.C. 1988. Maize Disease. APS Press, St. Paul Minnesota. 150 pp.

Schaad, N.W. 1988. Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria, 2nd, APS Press, St. Paul, Minnesota.

MAF BIOSECURITY NEW ZEALAND. 2005. Maize pest. Available source:
http://www.biosecurity.govt.nz/pest/search
MAF BIOSECURITY NEW ZEALAND. 2009. Maize pest. Available source:
http://www.biosecurity.govt.nz/regs/exports/plants/icpr/kr/see-gra-sow-maize

การศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์แกลดิโอลัสนำเข้าจากต่างประเทศ
Study on Quarantine Pest Associated with Imported Gladiolus Corms

วานิช คำพานิช[1/] นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด[2/] ชลธิชา รักใคร่[1/]
กฤษณะ หาญพิพัฒน์[3/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สถาบันพืชสวน

บทคัดย่อ

แกลดิโอลัส (*Gladiolus* spp.) จัดเป็นพืชในวงศ์ Iridaceae มีศัตรูพืชรวมทั้งสิ้น 172 ชนิด จัดเป็นแมลง 31 ชนิด ไร 6 ชนิด วัชพืช 56 ชนิด เชื้อรา 36 ชนิด แบคทีเรีย 7 ชนิด ไวรัส 21 ชนิด และไส้เดือนฝอย 15 ชนิด จากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับหัวพันธุ์แกลดิโอลัสนำเข้าในห้องปฏิบัติการ โดยสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์แกลดิโอลัสนำเข้าจากประเทศเนเธอร์แลนด์ จำนวน 5 ตัวอย่าง ณ ด่านตรวจพืชฯ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ระหว่างเดือนตุลาคม 2555-กันยายน 2556 ผลการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการ ตรวจพบ เชื้อรา 3 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Aspergillus niger*, *Cladosporium* sp. และเชื้อรา *Fusarium oxysporum* และจากการติดตามตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้หัวพันธุ์แกลดิโอลัสนำเข้าในเขตพื้นที่ภาคกลางและภาคเหนือ จำนวน 14 แปลง ตรวจพบศัตรูพืช 9 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยอ่อน *Myzus persicae*, ไรแดง *Tetranychus kanzawai*, เชื้อรา *Curvularia eragrostidis*, *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum*, *Streptomyces* sp. แบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli*, Bean yellow mosaic virus และไส้เดือนฝอย *Helicotylenchus pseudorobustus* ระหว่างทำการศึกษาไม่พบศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางกักกันพืช

ข้อมูลเบื้องต้นนี้จะนำไปใช้ประโยชน์ในการสร้างฐานข้อมูลศัตรูพืชจากต่างประเทศ จัดทำคู่มือการวินิจฉัยศัตรูพืชเบื้องต้น รวมทั้งเตรียมความพร้อมในการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช การติดตามเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกันเป้าหมายของแกลดิโอลัส ณ จุดนำเข้าอย่างต่อเนื่อง ตลอดจนเป็นภารกิจสำคัญด้านกักกันพืชและอารักขาพืชเพื่อป้องกันศัตรูพืชแปลกใหม่รุกรานเข้ามาในประเทศไทย

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-03-00-16-56

คำนำ

แกลดิโอลัส (Gladiolus, *Gladiolus* spp.) จัดเป็นสิ่งกำกัดตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ประเทศไทยได้มีการนำเข้าหัวพันธุ์แกลดิโอลัสเป็นปริมาณมากเพื่อปลูกประดับความสวยงาม และเพื่อขยายพันธุ์ และภายใต้ข้อตกลงที่ว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on Application of Sanitary and Phytosanitary Measures หรือ SPS Agreement) ซึ่งเป็นมาตรการในการป้องกันมิให้ศัตรูพืชติดมากับพืชและผลิตผลพืชเข้ามาเป็นอันตรายหรือก่อให้เกิดความเสียหายต่อสุขภาพมนุษย์ สัตว์ พืช และสิ่งแวดล้อม ประเทศไทยจะต้องเปิดเสรีในฐานะที่เป็นประเทศสมาชิกองค์การการค้าโลก และจะต้องปฏิบัติตามกฎเกณฑ์เกี่ยวกับการค้าสินค้าเกษตร วิธีการปฏิบัติคือประเทศผู้นำเข้าสินค้าเกษตรต้องมีการตรวจสอบและวินิจฉัยศัตรูพืช โดยทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis: PRA) ซึ่งอาจจะเป็นโรคพืช แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชและวัชพืช ชนิดใดชนิดหนึ่ง ซึ่งอาจจะติดมากับสินค้าเกษตร หรือแม้แต่หัวพันธุ์แกลดิโอลัสที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ ส่วนปัญหาการนำเข้านอกจากจะมีวัสดุปลูกติดมากับหัวพันธุ์แกลดิโอลัส แล้วยังมีเชื้อโรคพืช ได้แก่ เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส และแมลง รวมทั้งอาจจะมีศัตรูพืชชนิดอื่นติดมากับหัวพันธุ์แกลดิโอลัส โดยเฉพาะอย่างยิ่งศัตรูพืชบางชนิดที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทย และเป็นศัตรูพืชกักกันเช่น Tobacco streak virus, *Ditylenchus dipsaci* (Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007; EPPO, 2006) อาจจะมีศัตรูพืชชนิดอื่นอีก ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์แกลดิโอลัสนำเข้าจากต่างประเทศ วัตถุประสงค์ เพื่อตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์แกลดิโอลัสที่นำเข้าจากต่างประเทศ เพื่อกำหนดมาตรการในการควบคุมการนำเข้าหัวพันธุ์แกลดิโอลัส และลดความเสี่ยงศัตรูพืชอันเนื่องมาจากศัตรูพืชซึ่งอาจจะเข้ามาระบาดในประเทศไทยได้ รวมทั้งติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้หัวพันธุ์แกลดิโอลัสนำเข้า ตลอดจนจัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างหัวพันธุ์แกลดิโอลัส และพืชทดสอบ เช่นยาสูบ
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก ยางรัด ปากกา
3. อุปกรณ์การเตรียมตัวอย่างหัวพันธุ์แกลดิโอลัส ได้แก่ มีด กรรไกร เครื่องปั่น (blender)
4. อุปกรณ์ในการทำสไลด์ และกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และแบบ compound
5. อุปกรณ์แยกไส้เดือนฝอย ได้แก่ เครื่องชั่ง ตะแกรง (sieve) ขนาด 60 200 และ 325 mesh กรวยแก้ว (funnel) พร้อมสายยาง คลิ๊ปหนีบสายยาง ถังกะละมัง เครื่องพ่นหมอก (mist chamber) และ เครื่อง Ultrasonic
6. อุปกรณ์ในการแยกเชื้อสาเหตุโรคพืช และตู้ปลอดเชื้อ
7. วัสดุวิทยาศาสตร์ และสารเคมีต่าง ๆ ที่ใช้ในการตรวจสอบศัตรูพืช
8. วัสดุการเกษตรต่าง ๆ
9. ชุดตรวจสอบศัตรูพืช

10. หนังสือ และเอกสารทางวิชาการที่เกี่ยวข้องกับเชื้อโรค และศัตรูพืช

11. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมทั้งการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม (ISPM No. 11: Pest risk analysis for quarantine pest including analysis of environmental risk)

12. คู่มือจำแนกชนิดศัตรูพืช

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลของแกลดิโอลัสและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศและต่างประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลของแกลดิโอลัสและข้อมูลศัตรูพืช เช่นลักษณะทางชีววิทยา พืชอาศัย และการควบคุมศัตรูพืชจากฐานข้อมูล ตำราวิชาการ วารสารทางวิชาการ ประกาศกรมวิชาการเกษตร รายชื่อศัตรูพืชกักกัน และจากกฎระเบียบด้านกักกันพืชสำหรับการนำเข้า และส่งออกของต่างประเทศ จาก Crop protection compendium 2007 (CPC, 2007) และจากข้อมูลทางอิเลคโทรนิค เว็บไซท์ต่างๆ

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับหัวพันธุ์แกลดิโอลัสนำเข้าในห้องปฏิบัติการ

ทำการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดกับหัวพันธุ์แกลดิโอลัสที่นำเข้าจากต่างประเทศทางด่านตรวจพืชฯ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร เจ้าหน้าที่จะทำการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มาทำการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ หรือกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo เพื่อตรวจหาเส้นใย และส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อรา อาการฉ่ำน้ำของแบคทีเรีย อาการจากไวรัส อาการรากปม และ cyst จากไส้เดือนฝอย อาการจากไฟโตพลาสมา ร่องรอยการทำลายของแมลงและไรศัตรูพืช ตัวอ่อน ไข่ ดักแด้ หนอน ตลอดจนเมล็ดวัชพืช

2.2 สุ่มตัวอย่างประมาณ 2 % จากปริมาณตัวอย่างทั้งหมด หรือ 20-30 หัวพันธุ์ ต่อตัวอย่าง และตรวจวินิจฉัยชนิดของเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

2.2.1 ตรวจวินิจฉัยชนิดของเชื้อราในขั้นละเอียด

หากพืชแสดงอาการผิดปกติหรือถูกทำลายด้วยเชื้อรา ให้นำส่วนที่แสดงอาการมาตรวจสอบโดยวิธี moist chamber หรือวิธี tissue transplanting ซึ่งทำได้โดยการตัดใบพืชเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 2x2 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อแล้ววางพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) (Dhingra and Sinclair, 1985) และวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง (semi selective media) หลังจากนั้นบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน นำไปทำให้บริสุทธิ์แล้วเก็บเชื้อรา เพื่อตรวจวินิจฉัยชนิดของเชื้อราต่อไป

2.2.2 ตรวจวินิจฉัยชนิดของแบคทีเรียในขั้นละเอียด มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

2. ทดสอบแกรม (Gram reaction) โดยใช้สารละลายโปรแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (3%KOH) ที่เตรียมใหม่ใช้ภายใน 2 สัปดาห์ หากตรวจพบเป็นเชื้อ

แบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) มีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) และแกรมบวก (Gram positive) รูปร่างแบบ Coryneform rod ก็จะนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3. ทดสอบ Hypersensitivity reaction บนยาสูบ โดยการฉีดสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียอายุ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เข้าไปในใบยาสูบ *(Nicotiana tabacum* L.) บริเวณใต้ใบโดยฉีดเข้าเนื้อใบระหว่างเส้นใบ สังเกตลักษณะอาการเซลล์ตายตรงเนื้อใบหลังการฉีดเชื้อ 24-48 ชั่วโมง หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช

4. ทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical properties) เช่น การใช้ยูเรีย การย่อยเจลาติน การย่อยเอสคูลิน การย่อยแป้ง และความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นต้น (Bradbury and Sadler, 1997; Schaad *et al.,* 2001) ต่อไป

5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัย (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่นปลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยง ตรวจลักษณะอาการของโรค ภายหลังการปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

2.2.3 การตรวจวินิจฉัยชนิดของไวรัสด้วยวิธีที่เหมาะสม เช่นการนำหัวพันธุ์ ลำต้นและใบของแกลดิโอลัสที่สงสัย หรือแสดงอาการผิดปกติ มาตรวจสอบและวินิจฉัยด้วยวิธีการเซรุ่มวิทยา (Serology) เช่นการใช้ชุดตรวจสอบศัตรูพืช (ELISA Kit) และชุดตรวจสอบของ Agdia

2.2.4 การตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืชขั้นละเอียด สามารถทำได้โดยนำหัวพันธุ์มาทำตามขั้นตอนดังนี้

วิธีการของ Cobb's sieving & Baermann funnel (นุชนารถ, 2546; Zuckerman *et al.,* 1990) มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. นำตัวอย่างหัวพันธุ์ หรือวัสดุปลูกประมาณ 300 กรัม นำไปหั่นเป็นชิ้นๆ หรือปั่น และนำมาใส่ในภาชนะพลาสติกเทน้ำลงไปปริมาณที่เท่ากัน ทิ้งไว้ประมาณ 30 วินาที เพื่อให้นอนก้น แล้วเทน้ำลงในตะแกรงขนาด 60 mesh (ความยาว 1 นิ้วมี 60 ช่อง) โดยมีภาชนะรองรับเศษพืช เศษไม้ จะติดอยู่บนตะแกรง

2. นำน้ำที่ผ่านตะแกรงแรกมาเทลงในตะแกรงขนาด 200 mesh โดยมีภาชนะรองรับไส้เดือนฝอยที่มีขนาดเล็กจะผ่านตะแกรงลงสู่ภาชนะที่รองรับอยู่ด้านล่าง จะมีไส้เดือนฝอยบางชนิด ที่มีขนาดใหญ่ค้างอยู่บนตะแกรง เอาน้ำฉีดบนตะแกรงจนน้ำใส แล้วใช้น้ำฉีดด้านหลังตะแกรง โดยมีภาชนะรองรับไส้เดือนฝอย

3. นำน้ำที่ผ่านตะแกรงขนาด 200 mesh เทลงในตะแกรงขนาด 325 mesh โดยไม่ต้องมีภาชนะรองรับ เนื่องจากไส้เดือนฝอยเกือบทุกชนิดจะติดอยู่บนตะแกรงนี้ ใช้ฝอยน้ำฉีดเบาๆให้ทั่วตะแกรงเพื่อให้ตะกอนหลุดลงมา หลังจากนั้นเก็บน้ำจากตะแกรงนี้ไว้เพื่อกรองต่อไป

4. นำน้ำที่กรองจากตะแกรงขนาด 325 mesh เทลงบนตะแกรงลวดที่มีกระดาษกรองวางอยู่ด้านบน (ใช้กระดาษกรองไส้เดือนฝอย หรือกระดาษเช็ดหน้า 2 ชั้น) แล้วนำตะแกรงลวดวางบนกรวยที่มีท่อยางสวมไว้ ในกรวยบรรจุน้ำปลายท่อยางมีคลิ๊ปหนีบสายยางกันน้ำรั่ว ทิ้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยจะว่ายน้ำไชผ่านกระดาษกรองมาอยู่ที่ปลายก้านกรวย

5. เมื่อครบ 24 ชั่วโมง ไขน้ำจากกรวยตัวอย่างทั้งหมดไปตรวจวินิจฉัยและจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และแบบ compound ในห้องปฏิบัติการ โดยเทียบจากคู่มือการจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยทั้งที่มีรายงานในประเทศไทย (สืบศักดิ์, 2538; 2541) และต่างประเทศ (Anon, 2005; Bell, 2004; Hunt, 1993; Nickle, 1991; Siddiqi, 2000)

วิธีพ่นหมอก (mist chamber) (นุชนารถ และวานิช, 2551) เป็นวิธีแยกไส้เดือนฝอยออกจากหัวพันธุ์และรากพืชด้วยการพ่นน้ำเป็นฝอยลงบนหัวพันธุ์และรากพืช ความชื้นของละอองน้ำทำให้ไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกจากหัวพันธุ์และรากพืชลงสู่ปลายกรวย วิธีพ่นหมอก มีขั้นตอนดังต่อไปนี้ ทำการเตรียมตัวอย่างหัวพันธุ์แกลดิโอลัสโดยการตัดราก กลีบหัว และย่อยให้เป็นชิ้นเล็กๆ นำไปใส่ในถุงผ้ากรองชนิดเนื้อผ้าละเอียด น้ำหนักรากประมาณ 10 กรัม ต่อ 1 ตัวอย่าง ต่อ 1 ถุง ไปใส่กรวยแยก ที่เตรียมไว้ นำกรวยแก้วต่อสายยางที่ก้านกรวยและใช้คลิ๊ปหนีบสายยาง เทน้ำสะอาดใส่ลงไปในกรวย นำไปตั้งวางในเครื่อง mist chamber จากนั้นนำตัวอย่างรากที่อยู่ในถุงผ้าวางบนตะแกรงลวดที่อยู่บนกรวยพลาสติก นำไปซ้อนบนกรวยแก้ว เปิดเครื่อง mist chamber ปล่อยน้ำตามท่อสายยางผ่านหัวพ่นฝอย ที่ติดตั้งไว้ด้านบนของกรวย เปิดเครื่อง mist chamber ตลอด 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นไขน้ำจากปลายสายยางกรวยแก้ว ใส่ภาชนะแก้วใสหรือบีกเกอร์ ในปริมาตรน้ำ 50 มิลลิลิตร นำไปตรวจวินิจฉัยและจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และแบบ compound ในห้องปฏิบัติการ โดยเทียบจากคู่มือการจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยทั้งที่มีรายงานในประเทศไทย และต่างประเทศ

วิธีการใช้คลื่นเสียง (Ultasonic) เป็นการแยกไส้เดือนฝอยให้ออกจากรากและหัวพันธุ์แกลดิโอลัส โดยใช้คลื่นความถี่เหนือเสียง ชนิด Ultasonic ที่มีความถี่อย่างน้อย 50 กิโลเฮิร์ท (kHz.) เป็นตัวผลักดันให้ไส้เดือนฝอยที่อยู่ในรากและหัวพันธุ์เคลื่อนที่ออกมาโดยมีน้ำเป็นตัวกลางส่งคลื่นความถี่สู่รากและหัวพันธุ์ มีผลทำให้โมเลกุลของของเหลวเกิดการบีบอัดและคลายตัวเป็นจังหวะ ส่งผลให้เกิดฟองอากาศขนาดเล็กๆ จำนวนมากที่มีพลังแฝง ซึ่งสามารถเข้าซอกซอนในระบบราก และหัวพันธุ์ รวมทั้งรบกวนหรือขับไล่ให้ไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกมาสู่น้ำ หลังจากนั้นนำน้ำที่ได้จากการทำ Ultrasonic ปริมาตรน้ำ 50 มิลลิลิตร นำไปตรวจวินิจฉัยชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และแบบ compound ในห้องปฏิบัติการ โดยเทียบจากคู่มือการจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยทั้งที่มีรายงานในประเทศไทย และต่างประเทศ

3. ปลูกเพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้นในสถานกักพืช

ทำการปลูกแกลดิโอลัสเพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้น และใบโดยนำหัวพันธุ์แกลดิโอลัสไปปลูกในดินอบฆ่าเชื้อ และเก็บรักษาไว้ในสถานกักพืช ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช เมื่อต้นพืชออกใบจริง 1-2 ใบ จึงเริ่มตรวจวินิจฉัย และสังเกตลักษณะอาการ นำต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติหรือสงสัยว่ามีโรค และศัตรูพืช ไปตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดต่อไป

4. ติดตามตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้หัวพันธุ์แกลดิโอลัสนำเข้า

ทำการติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้หัวพันธุ์แกลดิโอลัสนำเข้าในเขตพื้นที่ภาคกลาง จำนวน 7 แปลง ได้แก่ จังหวัดนนทบุรี 4 แปลง และจังหวัดสุพรรณบุรี 3 แปลง และในเขตพื้นที่ภาคเหนือ จำนวน 7 แปลง ได้แก่ จังหวัดเชียงราย 5 แปลง และจังหวัดตาก 2 แปลง โดยทำการเก็บตัวอย่างส่วนต่างๆ เช่น ใบ ลำต้น ราก และหัวพันธุ์ ของแกลดิโอลัสที่พบลักษณะอาการผิดปกติ หรือน่าสงสัย ตลอดจนสุ่มเก็บตัวอย่างดิน เพื่อนำตัวอย่างที่ได้มาตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืช ตามขั้นตอนข้อที่ 2

5. จัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบและสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

เวลาและสถานที่

เวลา: เดือนตุลาคม 2555 – กันยายน 2556

สถานที่: กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ด่านตรวจพืชฯ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร และแหล่งปลูกที่ใช้หัวพันธุ์แกลดิโอลัสนำเข้า

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูลของแกลดิโอลัสและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศ และต่างประเทศ

การสืบค้นข้อมูลแกลดิโอลัส จากเอกสารทางวิชาการ วารสาร การประชุมสัมมนา ทั้งในและต่างประเทศ รวมทั้งข้อมูลอิเลคโทนิค เวบไซท์ต่างๆ ได้ข้อมูลดังต่อไปนี้ แกลดิโอลัส มีชื่อวิทยาศาตร์ *Gladiolus* spp.) ชื่อของ Gladiolus มาจากคำว่า Gladius ในภาษากรีกแปลว่า ดาบ แกลดิโอลัสมีมากกว่า 150 ชนิด มีทั้งกลิ่นหอมและไม่มีกลิ่น ปัจจุบันมีพันธุ์ที่ปลูกเป็นการค้าเกือบ 3,000 พันธุ์ เช่น มีสีมากมายหลายหลากสีด้วยกัน และในแต่ละสีมีพันธุ์ต่างๆ หลายพันธุ์ แกลดิโอลัสเป็นพืชหัว (Corm) คือส่วนโคนของลำต้นที่พองออกใต้ดินสำหรับสะสมอาหาร มีลักษณะกลมแบน หัวจะถูกห่อหุ้มด้วยโคนใบแห้ง 4-5 ใบ เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำ เมื่อแกะใบออกจะเห็นตา 1 ตา อยู่โคนใบแต่ละใบ ตาบนจะใหญ่ที่สุดและเจริญก่อน ปัจจุบันแกลดิโอลัส มีอนุกรมวิธาน ดังนี้ Phylum Spermatophyta, Subphylum Angiospemae, Class Monocotyledonae, Order Liliales และอยู่ใน Family Iridaceae แกลดิโอลัส มีแหล่งกำเนิดอยู่แถวแอฟริกาเขตร้อน เอเชียตะวันตก และประเทศแถบเมดิเตอร์เรเนียน นิยมปลูกเป็นไม้ตัดดอกและไม้กระถางกันอย่างกว้างขวางทั่วโลก เจริญเติบโตได้ดีในเขตกึ่งร้อนและเขตร้อน ประเทศที่ปลูกมาก ได้แก่ประเทศเนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา สาธารณรัฐประชาชนจีน ญี่ปุ่น เป็นต้น และจากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชของแกลดิโอลัส พบว่าแกลดิโอลัสมีศัตรูพืชรวมทั้งสิ้น 172 ชนิด จัดเป็นแมลง 31 ชนิด ไร 6 ชนิด วัชพืช 56 ชนิด เชื้อรา 36 ชนิด แบคทีเรีย 7 ชนิด ไวรัส 21 ชนิด และไส้เดือนฝอย 15 ชนิด เป็นศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศไทย 93 ชนิด เป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืชพ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) และ (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 จำนวน 17 ชนิด และเป็นศัตรูพืชที่เฝ้าระวัง (ดังตารางที่ 1)

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับหัวพันธุ์แกลดิโอลัสนำเข้าในห้องปฏิบัติการ

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

จากการตรวจสอบหัวพันธุ์ที่นำเข้าจากประเทศเนเธอร์แลนด์ ในเบื้องต้นโดยการสังเกตด้วยตาเปล่า และตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ หรือกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo ตรวจ

พบอาการหัวเน่า เป็นแผล จุด มีเส้นใยของเชื้อราปกคลุมบางหัวพันธุ์ และไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลง และไรศัตรูพืช หรือการปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืช

2.2 การสุ่มตัวอย่างและการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดนำเข้าในห้องปฏิบัติการ

จากการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์แกลดิโอลัส ที่นำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ จำนวน 5 ตัวอย่าง ผลการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชและศัตรูพืชกับหัวพันธุ์แกลดิโอลัสในห้องปฏิบัติการ ตรวจพบเชื้อรา 3 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Aspergillus niger*, *Cladosporium* sp. และเชื้อรา *Fusarium oxysporum*

3. ปลูกเพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้นในสถานกักพืช

จากการนำหัวพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการผิดปกติในสถานกักพืช ประมาณ 15 วัน ตรวจพบอาการ ใบเหลือง ต้นเหี่ยว และหัวเน่า เนื่องจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ศัตรูพืชที่ตรวจพบไม่ใช่ศัตรูพืชสำคัญทางกักกันพืช

4. ติดตามตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้หัวพันธุ์แกลดิโอลัสนำเข้า

การติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้หัวพันธุ์แกลดิโอลัสนำเข้าในแหล่งปลูกดังนี้ เขตพื้นที่ภาคกลาง (จังหวัดนนทบุรี และจังหวัดสุพรรณบุรี) และภาคเหนือ (จังหวัดเชียงราย และจังหวัดตาก) จำนวนทั้งสิ้น 14 แปลง ตรวจพบศัตรูพืช 9 ชนิด (ดังตารางที่ 2) ศัตรูพืชที่ตรวจพบไม่ใช่ศัตรูพืชสำคัญทางกักกันพืช

5. จัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบและสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

จากรายชื่อชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์แกลดิโอลัสนำเข้า ณ ด่านตรวพืช และมีการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการนั้น เมื่อนำมาจัดทำรายชื่อศัตรูพืช ประกอบไปด้วย ศัตรูพืช 1 ชนิด จัดเป็นเชื้อรา 3 ชนิด ส่วนรายชื่อศัตรูพืชที่ได้ทำการติดตามตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้หัวพันธุ์แกลดิโอลัสนำเข้านั้น ประกอบไปด้วย ศัตรูพืช 9 ชนิด จัดเป็นแมลง 1 ชนิด ไร 1 ชนิด เชื้อรา 4 ชนิด เชื้อแบคทีเรีย 1 ชนิด ไวรัส 1 ชนิด และไส้เดือนฝอย 1 ชนิด ศัตรูพืชที่ตรวจพบทั้งหมดนั้นไม่ใช่ศัตรูพืชสำคัญทางกักกันพืช เนื่องจากเป็นศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศไทย แต่อย่างไรก็ตามยังมีความจำเป็นที่ต้องตรวจวินิจฉัย ณ จุดนำเข้า เช่น ด่านตรวจพืชต่อไป รวมทั้งมีการติดตามตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้า ในทุกๆ แหล่งมีการผลิตและขยายหัวพันธุ์แกลดิโอลัส เพื่อป้องกันมิให้ศัตรูพืชชนิดที่ร้ายแรงติดมากับหัวพันธุ์นำเข้า ซึ่งอาจจะมาแพร่ระบาดทำความเสียหายต่อการผลิตแกลดิโอลัสในประเทศไทย ซึ่งจำเป็นต้องใช้มาตรการทางกฎหมายตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 มาควบคุมกำกับดูแลเพื่อลดความเสี่ยงศัตรูพืชซึ่งอาจจะติดเข้ามาในประเทศไทยได้

สรุปผลการทดลองและคำเสนอแนะ

1. จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืช พบว่าแกลดิโอลัสมีศัตรูพืชรวมทั้งสิ้น 172 ชนิด จัดเป็นเชื้อรา 36 ชนิด แบคทีเรีย 7 ชนิด ไวรัส 21 ชนิด ไส้เดือนฝอย 15 ชนิด แมลง 31 ชนิด ไร 6 ชนิด และวัชพืช 56 ชนิด เป็นศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศไทย 93 ชนิด เป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืชพ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) และ (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 จำนวน 17 ชนิด

2. จากการสุ่มตัวอย่างและตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชและศัตรูพืชกับหัวพันธุ์แกลดิโอลัส นำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ ทั้งหมด 5 ตัวอย่าง ผลการตรวจพบศัตรูพืช 3 ชนิด และจากการปลูกสังเกตอาการในสถานกักพืช ตรวจพบศัตรูพืช 1 ชนิด

3. จากการติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้หัวพันธุ์แกลดิโอลัสนำเข้าในพื้นที่ภาคกลาง และภาคเหนือ จำนวน แปลง ตรวจพบ 14ศัตรูพืช 9 ชนิด

4. ข้อมูลเบื้องต้นนี้จะนำไปใช้ประโยชน์ในการสร้างฐานข้อมูลศัตรูพืชจากต่างประเทศ จัดทำคู่มือการวินิจฉัยศัตรูพืชเบื้องต้น รวมทั้งเตรียมความพร้อมในการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช การติดตามเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกันเป้าหมายของแกลดิโอลัส ณ จุดนำเข้าอย่างต่อเนื่อง ตลอดจนเป็นภารกิจสำคัญด้านกักกันพืชและอารักขาพืชเพื่อป้องกันศัตรูพืชแปลกใหม่รุกรานเข้ามาในประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณข้าราชการ พนักงานราชการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ และด่านตรวจพืชลาดกระบัง สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในด้านการเก็บตัวอย่าง และเอื้ออำนวยในเรื่องสถานที่

เอกสารอ้างอิง

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2546. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช. กลุ่มงานไส้เดือนฝอย. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 39 หน้า.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และ วานิช คำพานิช. 2551. การพัฒนาเครื่องมือและเทคนิคการแยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้าและส่งออก. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 26 น.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน. 2538. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในประเทศไทย. วี.บี. บุ๊คเซ็นเตอร์, กรุงเทพฯ. 275 น.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน. 2541. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช: โรคและการจัดการ. วี.บี. บุ๊คเซ็นเตอร์, กรุงเทพฯ. 204 น.

Anon. 2005. Interactive diagnostic key to plant parasitic, free living and predaceous nematodes. University of Nebraska – Lincoln Nematology Laboratory. U.S.A.

Bell, M. 2004. Plant parasitic nematodes: Lucid key to 30 genera of plant parasitic nematodes. http://www.lucidcentral.com/keys/nematodes/.

Biosecurity Australia. 2000. Draft IRA Report, Non-Routine Import Risk Analysis (IRA) on ornamental Bulbs from The Netherlands, the United kingdom, Israel and New Zealand, Draft IRA Report.

Bradbury J.F. and G.S. Sadler. 1997. Guide to Plant Pathogenic Bacteria, 2nd edition, CAB International Mycological Institute, Surrey, U.K.

CPC. 2007. Crop Protection Compendium, 2007. Wallingford, UK: CAB International [CD-ROM].

Dhingra, O.D. and J.B. Sinclair. 1985. Basic Plant Pathology Methods. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. U.S.A.

EPPO. 2006. PQR database (version 4.5). Paris, France: European and Mediterranean Plant Protection Organization. www.eppo.org.

Hunt, D.J. 1993. Aphelenchida, Longidoridae and Trichodoridae : their systematics and bionomics. CAB International, Wallingford, UK.

Nickle, W.R. 1991. Manual of agricultural nematology. New York, U.S.A.

Schaad N.W., J.B. Jones and W.Chun. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria, 3rd edition, APS Press, St Paul, Minnesota, USA.

Siddiqi, M.R. 2000. Tylenchida: parasites of plants and insects. CABI Publications, Wallingford, UK.

Zuckerman, B. M., W. F. Mai and L R. Krusberg. 1990. Plant Nematode Laboratory Manual. The University of Massachusetts Agricultural Experiment Station Amherts. Massachusetts, U.S.A.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 รายชื่อศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางกักกันพืชของแกลดิโอลัสที่เฝ้าระวัง

ศัตรูพืชกักกัน	ประเทศ
1. *Thrips simplex*	ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา สาธารณรัฐประชาชนจีน ออสเตรเลีย
2. *Petrobia lateens*	เกาหลีใต้ เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย สาธารณรัฐประชาชนจีน
3. *Rhizoglyphus setosus*	สาธารณรัฐประชาชนจีน
4. *Senecio vulgaris*	ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา สาธารณรัฐประชาชนจีน ออสเตรเลีย
5. *Phytophthora cryptogea*	เกาหลีใต้ ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย สาธารณรัฐประชาชนจีน
6. Arabis mosaic virus	ญี่ปุ่น
7. Tobacco rattle virus	ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย
8. Tobacco streak virus	ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา สาธารณรัฐประชาชนจีน ออสเตรเลีย
9. Tomato black ring virus	ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ สาธารณรัฐประชาชนจีน
10. Tomato ringspot virus	ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย
11. Tulip breaking virus	ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย
12. *Ditylenchus destructor*	เนเธอร์แลนด์ ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ สหรัฐอเมริกา สาธารณรัฐประชาชนจีน ออสเตรเลีย
13. *Ditylenchus dipsaci*	เนเธอร์แลนด์ ไต้หวัน ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ สหรัฐอเมริกา สาธารณรัฐประชาชนจีน ออสเตรเลีย
14. *Globodera pallida*	เนเธอร์แลนด์ ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย
15. *Globodera rostochiensis*	เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา
16. *Meloidogyne chitwoodi*	เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา
17. *Xiphinema diversicaudatum*	เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา

ตารางที่ 2 รายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบภายหลังการติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้หัวพันธุ์แกลดิโอลัสนำเข้า ระหว่างเดือนตุลาคม 2555 - กันยายน 2556

แหล่งปลูกหัวพันธุ์นำเข้า	แปลง	ชนิดศัตรูพืช
1. จังหวัดนนทบุรี	4	*Tetranychus kanzawai* , *Curvularia eragrostidis*, *Fusarium oxysporum*
2. จังหวัดสุพรรณบุรี	3	*Myzus persicae*, *Curvularia lunata*, *Curvularia eragrostidis*, *Streptomyces* sp., *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli*
3. จังหวัดเชียงราย	5	*Tetranychus kanzawai*, *Curvularia eragrostidis*, *Fusarium* oxysporum, Bean yellow mosaic virus, *Helicotylenchus pseudorobustus*
4. จังหวัดตาก	2	*Tetranychus kanzawai* , *Curvularia lunata*, *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli*

การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่นำเข้าจากต่างประเทศ
Interception of Quarantine Pest in Imported Soybean Seed Consignments

นงพร มาอยู่ดี[1/] ชลธิชา รักใคร่[1/] ชาญชัย แสงหิรัญ[2/]
จินตนา สุมขุนทด[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ด่านตรวจพืชลาดกระบัง สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

รายงานความก้าวหน้า

ถั่วเหลือง (Soybean : *Glycine max* (L.) Mers.) เป็นพืชที่จัดอยู่ในวงศ์ถั่ว (Leguminosae) ปริมาณนำเข้าจากต่างประเทศในปี 2555-2556 ประมาณ 79,562 กิโลกรัม มูลค่า 13,463,213 บาท (กลุ่มควบคุมพันธุ์พืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร) ข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายส่วนต่างๆ ของถั่วเหลือง มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 507 ชนิด คือแมลง 249 ชนิด เชื้อรา 78 ชนิด แบคทีเรีย 18 ชนิด ไวรัส 32 ชนิด ไส้เดือนฝอย 29 ชนิด ไร 9 ชนิด ทาก 2 ชนิด และวัชพืช 90 ชนิด และจากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ที่นำเข้าจาก 2 ประเทศ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา และสาธารรัฐประชาชนจีน มาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าลักษณะเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง มีสีขาว เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืช หรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis, Chaetomium* sp, *Cladosporium* sp., *Curvularia lunata, Colletotrichum dematium, Fusarium semitectum, Fusarium solani*, และ *Nigrospora* sp., แต่จากการนำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง มาตรวจด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคบนต้นพืชในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นถั่วเหลือง ลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ไม่แสดงอาการโรคพืช ซึ่งจากการตรวจเอกสารและการสังเกตเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากบางประเทศ มีการคลุกสารเคมีฆ่าเชื้อรา ได้แก่ Thiram หรือ Captan หรือ คลุกสารเคมีทั้ง 2 ชนิดกับเมล็ดพันธุ์นำเข้า

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-03-00-17-56

คำนำ

ถั่วเหลือง (Soybean: *Glycine max* (L) จัดอยู่ในวงศ์ถั่ว(Leguminosae) สถิติในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ปี 2555 ปริมาณ 78,000 กิโลกรัม มูลค่า 9,513892 บาท (กลุ่มควบคุมพันธุ์พืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร)ถั่วเหลืองเป็นพืชล้มลุกอายุฤดูเดียว มีระบบรากแก้ว ลำต้นแบบเป็นพุ่มขึ้นตรงและเลื้อยพันค้างมีการแตกกิ่ง ความสูงและจำนวนข้อขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของดินและสภาพแวดล้อมในแต่ละฤดูปลูก ใบเกิดแบบสลับบนต้นยกเว้นใบเลี้ยง(Cotyledon)และใบจริงคู่แรก(primary leaf ของต้นอ่อน ใบที่เกิดต่อๆมาเป็นใบรวมมีใบย่อย 3 ใบ(Trifoliate)แต่บางพันธุ์อาจจะมีจำนวนใบย่อย 4-7ก้านใบมีก้านใบรวม (Petiole ยาว 5-10ซ.ม)รูปร่างของใบสามารถแบ่งได้เป็น 3ชนิดได้แก่ ใบแคบเรียวยาว(lanceotate)ใบค่อนข้างแคบ(triangular)และใบกว้าง(Ovate) ดอกถั่วเหลืองออกดอกเป็นช่อ(inflorescence)แบบดอกสมบูรณ์มีช่อดอกแบบกระจะ(raceme)ดอกมีสีขาวหรือม่วงเมื่อดอกบานเต็มที่จะมีขนาดประมา 3-8 ลิตร ช่อดอกหนึ่งๆมีดอกตั้งแต่ 3-15 ดอกช่อดอกที่เกิดบนยอดของลำต้นมักจะมีจำนวนดอกในช่อมากกว่าช่อดอกที่เกิดตามมุมใบแขนงเมล็ดเกิดในฝักฝักเกิดเป็นตุ่มๆละ 2-10 ฝักมีขนสีเทาหรือน้ำตาลปกคลุมทั่วไปฝักยาวประมาณ 2-7 เซนติเมตรแต่ละฝักมีเมล็ด 1-4 เมล็ดแต่สวนมากแต่มีส่วน 2-3 เซนติเมตร เมื่อฝักแก่จะมีสีน้ำตาลอ่อน น้ำตาลเข้ม สีเทา และดำลักษณมีรูปร่างแตกต่างกันไกตั้งแต่ กลมและแบนและยาวสีของเมล็ดที่พบได้แก่ สีเขียว สีน้ำตาล สีน้ำตาลอมแดง สีเทา สีดำ หรือเมล็ดมีสองสี ถั่วเหลืองพันธุ์อายุสั้นเก็บเกี่ยว 75-85วันพันธุ์อายุปานกลางอายุเก็บเกี่ยว 86-112 วันแหล่งปลูกที่สำคัญได้แก่ภาคเหนือ และภาคกลาง เช่น เชียงใหม่ สุโขทัย พิจิตร พิษณุโลก แพร่ ลำปาง ตาก กำแพงเพชร ลพบุรี สระบุรี ชัยนาท สิงห์บุรี อ่างทอง กาญจนบุรี ฉะเชิงเทรา ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ เลย นครราชสีมา ขอนแก่น อุดรธาณี อุบลราชธานี มหาสารคาม หนองคาย

พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กำหนดให้เมล็ดพันธุ์พืชผักต่าง ๆ ไม้ดอกหรือไม้ประดับหลายชนิดจัดเป็นสิ่งต้องห้าม (Prohibited material) สิ่งกำกัด (Restricted material) และสิ่งไม่ต้องห้าม (unprohibited materials) ในการนำเข้ามายังประเทศไทยต้องแจ้งการนำเข้าและมีใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทางกำกับมาพร้อมกับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้า โดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยกำหนดไว้แต่อย่างใด การนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศ มีโอกาสที่ศัตรูพืชหลายชนิดที่อาจเป็นศัตรูพืชกักกันที่ร้ายแรงหรือศัตรูพืชที่สำคัญที่ก่อความเสียหายกับผลิตผลทางการเกษตรติดเข้ามากับเมล็ดพืชด้วย โดยอาจเป็นศัตรูพืชร้ายแรงที่ไม่มีปรากฏในประเทศไทย โดยเฉพาะในกลุ่มของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่ติดมากับถั่วเหลือง ซึ่งมีการนำเข้ามาเพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์หรือเป็นต้นพันธุ์ในการส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกกระจายทั่วประเทศไทย โดยในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เหล่านี้ในปริมาณมาก หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวสามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศไทย จะก่อให้เกิดผลกระทบทำความเสียหายต่อการเกษตรในประเทศและกระทบต่อการส่งออกพืชผักผลไม้ไทยไปยังต่างประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการตรวจสอบศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับพืชนำเข้าเพื่อให้ทราบชนิด แหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืช มีประโยชน์ใช้อ้างอิงทางวิชาการ นำมาพิจารณาหามาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และกำหนดเป็นมาตรการทางด้าน

กฎหมายและทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้า หรือเปลี่ยนแปลงสถานภาพของพืชตามพระราชบัญญัติกักพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองนำเข้าจากต่างประเทศ
2. กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope และ compound microscope
3. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
4. สารเคมีตรวจสอบเชื้อโรคพืช
5. ภาชนะเก็บตัวอย่างพืช
6. ชุดตรวจสอบศัตรูพืช (ELISA Kit)
7. หนังสือ และวารสารทั้งในประเทศและต่างประเทศ

วิธีการ

1.รวบรวมข้อมูลทั่วไปของถั่วเหลือง และข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเตอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของถั่วเหลือง ลักษณะทั่วไปของพืช สายพันธุ์ พื้นที่การเพาะปลูก รายชื่อของประเทศที่ประเทศไทยมีการการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืชทั้งนอกประเทศและในประเทศ

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง นำเข้าในห้องปฏิบัติการ

ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ที่นำเข้าจากต่างประเทศมาทำการตรวจวินิจฉัยโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลง เมล็ดวัชพืช หรือลักษณะเมล็ดด่าง มีสีดำ บิดงอ ขนาดเล็ก ที่มีสาเหตุจากเชื้อโรค

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1999) และตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์นำเข้า

2.2.1 การตรวจสอบเชื้อรา

1) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะยังไม่งอก (Dry seed examination)

โดยตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์เชื้อราหรือศัตรูพืชอื่นๆ ซึ่งปะปนมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เช่นเมล็ดพันธุ์มีรูปร่างผิดปกติ หรืออาจติดมา ภายในเมล็ดพันธุ์โดยไม่แสดงอาการ รวมทั้งอาจติดมากับเศษพืชในลักษณะเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์เช่น Pycnidia เป็นต้น

2) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะเมล็ดงอก

สุ่มตัวอย่างเมล็ดตามวิธีการมาตรฐาน ในปริมาณที่เหมาะสมวิเคราะห์โดยสุ่มแยกตามสายพันธุ์ มาทดสอบด้วยวิธี Blotter method โดยวางเมล็ดลงบนกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จำนวน 3 แผ่นที่ชุ่มน้ำซึ่งวางอยู่ในจาน

อาหารเลี้ยงเชื้อ วางเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 10 เมล็ดต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวน 200 เมล็ด จากนั้นนำจานเพาะเมล็ดไปบ่มเชื้อ (incubate) ใต้แสง near ultraviolet (NUV) สลับกับความมืด 12/12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอไมโครสโคป (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope)

2.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

ในกรณีที่เชื้อติดมาในปริมาณมากจะสามารถแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรงหลังจากทำการแยกเชื้อด้วยวิธี Blotter method ได้ หรือทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate โดยสุ่มเมล็ดตามมาตรฐาน นำมาแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที ล้างตามด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ เมื่อได้เมล็ดพันธุ์จึงนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบด แล้วนำผงของเมล็ดใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ (0.85% NaCl) หรือบัฟเฟอร์ จำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยวางบนเครื่องเขย่า จากนั้นนำมาทำให้เจือจางในอาหารเหลว Nutrient broth ให้มีความเจือจางเป็น 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} และ 10^{-5} ตามลำดับ ใช้ไปเปตต์ดูด suspension แต่ละความเข้มข้น จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) แล้วใช้แท่งแก้วลนไฟฆ่าเชื้อ spread ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ดผิดปกติ

โดยการเพาะเมล็ดในดินนึ่งฆ่าเชื้อ โดยเพาะ 25-50 เมล็ดต่อถุง และเก็บถุงเพาะที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส รดน้ำเช้าเย็นในโรงเรือนกักกันพืช ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช เมื่อต้นกล้าออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชุ่มชื้นเป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนใบ กิ่ง ลำต้น โค่นต้น และราก เก็บส่วนของพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

2.1) วิธี Dilution plate ตัดใบพืชที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ แล้วบดชิ้นส่วนในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาทำให้เจือจางเป็นลำดับจาก 10^{-1} ถึง 10^{-5} และดำเนินการเช่นเดียวกับขั้นตอนในข้อ (1)

2.2) วิธี Tissue transplanting ตัดใบพืชเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 2x2 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อแล้ววางชิ้นพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA หรืออาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง (semiselective media) นำจานเลี้ยงเชื้อไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จึงนำมาตรวจสอบหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรียเก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจนครบ 3-5 วัน เพื่อตรวจหาโคโลนีของแบคทีเรียชนิดอื่นจากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และนำไปศึกษาคุณลักษณะเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

1. ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

2. ทดสอบแกรม (Gram reaction) โดยใช้สารละลายโปรแตสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (3%KOH) ที่เตรียมใหม่ใช้ภายใน 2 สัปดาห์ หากตรวจพบเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) มีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) และแกรมบวก (Gram positive) รูปร่างแบบ Coryneform rod ก็จะนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3. ทดสอบ hypersensitivity reaction บนยาสูบ โดยการฉีดสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียอายุ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เข้าไปในใบยาสูบ (*Nicotiana tabacum* L.) บริเวณใต้ใบโดยฉีดเข้าเนื้อใบระหว่างเส้นใบ สังเกตลักษณะอาการเซลล์ตายตรงเนื้อใบหลังการฉีดเชื้อ 24-48 ชั่วโมง หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช

4. ทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical properties) เช่น การใช้ยูเรีย การย่อยเจลาติน การย่อยเอสคูลิน และแป้ง reduce ไนเตรต ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นต้น

5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัย (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่นปลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยง หรือเนื้อใบของต้นฟักทอง สควอชและแว๊กกราวด์ อายุ 2-3 สัปดาห์ ฉีดพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจลักษณะอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

2.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

1) ปลูกสังเกตลักษณะอาการโรคบนต้นกล้า (Seedling symptom test) โดยเพาะ เมล็ดพันธุ์ในดินอบฆ่าเชื้อ ตัวอย่าง 50-200 เมล็ด เก็บรักษาไว้ในโรงปลูกพืชกันแมลงเมื่อต้นพืชออกใบจริง 1-2 ใบ จึงตรวจสอบลักษณะอาการโรค ต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ สงสัยว่ามีสาเหตุจากเชื้อไวรัสจะนำใบอ่อนไปตรวจสอบด้วยวิธีการอื่นเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

2) ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) เตรียมน้ำคั้นพืชสำหรับทดสอบโดยบดใบพืชที่แสดงอาการผิดปกติในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ตรวจสอบเชื้อไวรัสใช้ 0.1 M phosphate buffer pH 7.0) โดยใช้ใบพืชหนัก 1 กรัมต่อบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร ในสภาพเย็น จากนั้นใช้สำลีหรือนิ้วที่สะอาดจุ่มน้ำคั้นพืชทาลงบนใบพืชทดสอบ ซึ่งโรยด้วยผงคาร์โบรันดัม (carborundum ขนาด 600 mesh) หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 5 นาที ล้างใบพืชและนำพืชทดสอบไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส สังเกตลักษณะอาการบนพืชทดสอบหลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 1-4 สัปดาห์ โดยพืชทดสอบจะแสดงอาการแผลเฉพาะแห่ง (local lesion) หรืออาการแบบกระจายทั่วลำต้น (systemic infection)

3) การตรวจสอบด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา (Serological techniques) การตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme – linked Immunosorbent Assay : ELISA เป็นวิธีตรวจสอบเชื้อไวรัสที่มีความไวสูง แม้จะมีเชื้อไวรัสปริมาณต่ำหรืออนุภาคแตกหักก็สามารถตรวจได้ ให้ผลรวดเร็ว แน่นอน และยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมาก วิธีการที่นำมาใช้เป็นแบบ Indirect ELISA ทำการบันทึกผล

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์นำเข้าในพื้นที่ของเกษตรกร

ทำการติดตามตรวจสอบต้นพืชที่มีการนำเมล็ดพันธุ์นำเข้าไปเพาะปลูกในแปลงปลูกของเกษตรกรตามภาคต่างๆ โดยสังเกตอาการความผิดปกติของต้นพืชทั้ง โคนต้น ราก ลำต้น ใบและผลของพืช และทำการสุ่มเก็บตัวอย่างอาการดังกล่าว นำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง แยกเชื้อ จัดจำแนกชนิดของเชื้อ และทดสอบการเกิดโรคกับพืชในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวินิจฉัยเชื้อโรคศัตรูพืชอย่างละเอียด เช่นเดียวกับในขั้นตอนที่ 2

เวลาและสถานที่

เวลา: เดือนตุลาคม 2555 – กันยายน 2556

สถานที่: ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช ด่านตรวจพืช และแปลงปลูกในจังหวัดภาคเหนือ ภาคตะวันตก ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมข้อมูลทั่วไปของถั่วเหลืองและข้อมูลศัตรูพืชที่มีระบบงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ถั่วเหลือง (Soybean : *Glycine max* (L.) Mers.) เป็นพืชที่จัดอยู่ในวงศ์ถั่ว ปริมาณนำเข้าจากต่างประเทศในปี 2555-2556 ประมาณ 79,562 กิโลกรัม มูลค่า 13,463,213 บาท (กลุ่มควบคุมพันธุ์พืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร) ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ถั่วเหลืองเป็นพืชฤดูเดียว มีระบบรากแก้ว ลำต้นแบบเป็นพุ่มขึ้นตรงและเลื้อยพันค้าง ใบเกิดแบบสลับบนต้น รูปร่างของใบแบ่งได้ 3 ชนิด ได้แก่ ใบแคบเรียวยาว (Laneeolate) ใบค่อนข้างแคบ (Triangular) และใบกว้าง (Ovate) ดอกถั่วเหลืองออกดอกเป็นช่อ (Infloreseence) แบบดอกสมบูรณ์ (Perfee flower) มีช่อดอกกระจาย(Raceme) ดอกมีสีขาวหรือสีม่วง ช่อดอกหนึ่งๆมีดอกตั้งแต่ 3-15 ดอก เมล็ดเกิดในฝัก ฝักเป็นกลุ่มๆละ 2-10 ฝัก ฝักยาว 2-7 เซนติเมตร ฝักแก่มีสีน้ำตาลอ่อน สีน้ำตาลเข้ม สีเทา และสีดำ เมล็ดมีรูปร่างกลมแบน ค่อนข้างกลมและยาว สีเขียว สีน้ำตาล สีน้ำตาลอมแดง สีเทาหรือมีสองสี ถั่วเหลืองพันธุ์อายุสั้น อายุเก็บเกี่ยว 75-85 วัน พันธุ์อายุปานกลาง อายุเก็บเกี่ยว 80-112 วัน แหล่งปลูกที่สำคัญได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ สุโขทัย เพชรบูรณ์ พิจิตร พิษณุโลก แพร่ ลำปาง ตาก กำแพงเพชร ลพบุรี สระบุรี ชัยนาท สิงห์บุรี อ่างทอง กาญจนบุรี ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา ขอนแก่น อุดรธานี หนองคาย อุบลราชธานี มหาสารคาม

ข้อมูลศัตรูพืชที่พบเข้าทำลายถั่วเหลือง การศึกษาเบื้องต้นในการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช พบว่า ขั้นตอนการจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest categorization) ถั่วเหลือง มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 507 ชนิด คือแมลง 249 ชนิด เชื้อรา 78 ชนิด แบคทีเรีย 18 ชนิด ไวรัส 32 ชนิด ไส้เดือนฝอย 29 ชนิด ไร 9 ชนิด ทาก 2 ชนิด และวัชพืช 90 ชนิดจากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเบื้องต้นสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง จากต่างประเทศเข้ามาในราชอาณาจักร พบศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทย และเป็นศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงสูงที่อาจติดเข้ามาและก่อให้เกิดความเสียหาย

กับพืชผลในประเทศ ดังนั้นเพื่อเป็นการป้องกันการระบาดของศัตรูพืชดังกล่าว หรือศัตรูชนิดใหม่จึงทำการตรวจสอบหาศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์เป็นข้อมูลในการหามาตรการที่เหมาะสมกับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง จากต่างประเทศเข้ามาในราชอาณาจักร

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง นำเข้าจากต่างประเทศในห้องปฏิบัติการ

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากทุกประเทศในเบื้องต้น พบว่าลักษณะของเมล็ดมีสีขาว เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด ซึ่งจากการตรวจเอกสารและการสังเกตเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากบางประเทศ มีการคลุกสารเคมีฆ่าเชื้อรา ได้แก่ Thiram หรือ Captan หรือคลุกสารเคมีทั้ง 2 ชนิดกับเมล็ดพันธุ์นำเข้า

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1999) และการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดเมล็ดพันธุ์นำเข้าในห้องปฏิบัติการและการปลูกทดสอบในโรงเรือน

เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่นำเข้าจาก 2 ประเทศ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา และสาธารรัฐประชาชนจีน มาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ลักษณะเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง มีสีขาว เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis, Chaetomium* sp, *Cladosporium* sp., *Curvularia lunata, Colletotrichum dematium, Fusarium semitectum, Fusarium solani*, และ Nigrospora sp., แต่จากการนำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง มาตรวจด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคบนต้นพืชในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นถั่วเหลือง ลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ไม่แสดงอาการโรคพืช ซึ่งจากการตรวจเอกสารและการสังเกตเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากบางประเทศ มีการคลุกสารเคมีฆ่าเชื้อรา ได้แก่ Thiram หรือ Captan หรือ คลุกสารเคมีทั้ง 2 ชนิดกับเมล็ดพันธุ์นำเข้า

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองนำเข้าจากต่างประเทศ

ได้ติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง จำนวน 6 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน เพชรบูรณ์ อุดรธานี ชัยภูมิ และ ขอนแก่น พบอาการโรคบนใบของถั่วเหลือง ได้แก่ เชื้อราสนิม แอนแทรกโนส และวัชพืช ได้แก่ กระชับ หญ้านกสีชมพู โทงเทง หญ้าปล้องละมาน ลูกใต้ใบ สาบม่วง หญ้ายาง หญ้าปากควาย หญ้าขจรจบ และ หญ้าดอกแดง ซึ่งศัตรูพืชที่พบในแปลงปลูกไม่ใช่ศัตรูพืชด้านกักกันพืชของประเทศไทย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ถั่วเหลือง (Soybean : *Glycine max* (L.) Mers.) เป็นพืชที่จัดอยู่ในวงศ์ถั่ว ปริมาณนำเข้าจากต่างประเทศในปี 2555-2556 ประมาณ 79,562 กิโลกรัม มูลค่า 13,463,213 บาท (กลุ่มควบคุมพันธุ์พืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร) ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ถั่วเหลืองเป็นพืชฤดูเดียว มีระบบ

รากแก้ว ลำต้นแบบเป็นพุ่มขึ้นตรงและเลื้อยพันค้าง ใบเกิดแบบสลับบนต้น รูปร่างของใบแบ่งได้ 3 ชนิด ได้แก่ ใบแคบเรียวยาว (Laneeolate) ใบค่อนข้างแคบ (Triangular) และใบกว้าง (Ovate) ดอกถั่วเหลืองออกดอกเป็นช่อ (Infloreseence) แบบดอกสมบูรณ์ (Perfee flower) มีช่อดอกกระจาย (Raceme) ดอกมีสีขาวหรือสีม่วง ช่อดอกหนึ่งๆมีดอกตั้งแต่ 3-15 ดอก เมล็ดเกิดในฝัก ฝักเป็นกลุ่มๆ ละ 2-10 ฝัก ฝักยาว 2-7 เซนติเมตร ฝักแก่มีสีน้ำตาลอ่อน สีน้ำตาลเข้ม สีเทา และสีดำ เมล็ดมีรูปร่างกลมแบน ค่อนข้างกลมและยาว สีเขียว สีน้ำตาล สีน้ำตาลอมแดง สีเทาหรือมีสองสี ถั่วเหลืองพันธุ์อายุสั้น อายุเก็บเกี่ยว 75-85 วัน พันธุ์อายุปานกลาง อายุเก็บเกี่ยว 80-112 วัน แหล่งปลูกที่สำคัญใน 6 จังหวัด ได้แก่ จังหวัด เชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน เพชรบูรณ์ อุดรธานี ชัยภูมิ และ ขอนแก่น

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ที่นำเข้าจาก 2 ประเทศ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา และสาธารณรัฐประชาชนจีน มาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ลักษณะเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง มีสีขาว เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis, Chaetomium* sp, *Cladosporium* sp., *Curvularia lunata, Colletotrichum dematium, Fusarium semitectum, Fusarium solani*, และ *Nigrospora* sp., แต่จากการนำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง มาตรวจด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคบนต้นพืชในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นถั่วเหลือง ลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ไม่แสดงอาการโรคพืช ซึ่งจากการตรวจเอกสารและการสังเกตเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากบางประเทศ มีการคลุกสารเคมีฆ่าเชื้อรา ได้แก่ Thiram หรือ Captan หรือ คลุกสารเคมีทั้ง 2 ชนิดกับเมล็ดพันธุ์นำเข้าอัตราการใช้

ได้ติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง จำนวน 6 จังหวัด ได้แก่ จังหวัด เชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน เพชรบูรณ์ อุดรธานี ชัยภูมิ และ ขอนแก่น พบอาการโรคบนใบของถั่วเหลือง ได้แก่ เชื้อราสนิม แอนแทรกโนนส และวัชพืช ได้แก่ กระชับ หญ้านกสีชมพู โทงเทง หญ้าปล้องละมาน ลูกใต้ใบ สาบม่วง หญ้ายาง หญ้าปากควาย หญ้าขจรจบ และ หญ้าดอกแดง ซึ่งศัตรูพืชที่พบในแปลงปลูกไม่ใช่ศัตรูพืชด้านกักกันพืชของประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณวิชาญ สมาธิ คุณวิภา เกิดพิพัฒน์ คุณอรนุช นาคะโร ช่วยสนับสนุนและเตรียมตัวอย่างพืชและเตรียมงานในห้องปฏิบัติการ และน้องๆ ในห้องปฏิบัติการที่ช่วยสนับสนุนในการทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ และ วันเพ็ญ ศรีทองชัย. 2545. โรคไวรัสที่สำคัญองพืชผักและพืชน้ำมัน. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ. 88 หน้า.

เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. 2550. ฐานข้อมูลโรคพืชที่สำคัญในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อการส่งออก : โรคพืชวงศ์แตง.ศูนย์พันธุกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. 81 หน้า.

CAB INTERNATIONAL (2007). Crop Protection Compendium. CAB INTERNATIONAL, Wallingford, UK.

CABI. 2005. Crop Protection Compendium [CD-ROM]. CAB International. Wallingford, UK.

Denis, P. 1994. Diseases of vegetable crops. Department of Primary Industries. Australia 164 pp.

http.// www.doa.go.th/fcri/images/files/Soybean/chapter,2,3,4 pdf.

การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี ที่นำเข้าจากต่างประเทศ

Interception of Quarantine Pest in Imported Chinese mustard Seed Consignments

นงพร มาอยู่[1/] ชลธิชา รักใคร่[1/] ทัศนีย์ ศรีโสภา[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มควบคุมพันธุ์พืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

รายงานความก้าวหน้า

ผักกาดเขียวปลี (Chinese mustard : *Brassica juneca* var. rugosa L.) เป็นพืชผักอยู่ในวงศ์กะหล่ำ (Brassicaceae) มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบประเทศจีน สถิติการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ปี 2555 ปริมาณ 157,909 กิโลกรัม มูลค่า 8,194,557 บาท (กลุ่มควบคุมพันธุ์พืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร)ผักกาดเขียวปลีมีอายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 55-75 วัน มีแหล่งปลูกที่สำคัญได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน ลำปาง เพชรบูรณ์ กาญจนบุรี ตาก และ น่าน

ข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายส่วนต่างๆ ของผักกาดเขียวปลี มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 32 ชนิด คือเชื้อรา 5 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด ไวรัส 2 ชนิด ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด แมลง 18 ชนิด และวัชพืช 3 ชนิด และจากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี ที่นำเข้าจาก 5 ประเทศ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน อินโดนีเซีย อิตาลี เม็กซิโก และ นิวซีแลนด์ มาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ลักษณะเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี มีสีขาว เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาดปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis, Alternaria brassicicola, Alternaria raphini, Cladosporium* sp., และ *Ulocladium* sp., แต่จากการนำเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี มาตรวจด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่สำคัญด้านกักกันพืช และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคบนต้นพืชในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นผักกาดเขียวปลี ลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ไม่แสดงอาการโรคพืช ผลการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี นำเข้าจากต่างประเทศ ใน 6 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ ลำพูน เชียงราย อุดรธานี หนองคาย และเพชรบูรณ์ ไม่พบ เชื้อสาเหตุโรคพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช แต่พบวัชพืชในแปลงปลูกได้แก่ แห้วหมู หญ้านกสีชมพู เทียนนา กระชับ กะเม็ง โทงเทง ลูกใต้ใบ ผักเบี้ยใหญ่ และ ผักเสี้ยนผี ซึ่งศัตรูพืชที่พบทั้งในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและตรวจสอบโรคในแปลงปลูก ไม่ใช่ศัตรูพืชด้านกักกันพืชของประเทศไทย

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-03-00-18-56

คำนำ

ผักกาดเขียวปลี(Chinese mustard: *Brassica juncea* var.rugosa L.เป็นพืชผักที่อยู่ในวงศ์กระกล่ำ (Brassicaceae)มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศจีน สถิติการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ปี 2555 ปริมาณ 157909 กิโลกรัม มูลค่า 8,194,557บาท(กลุ่มควบคุมพันธุ์พืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ผักกาดเขียวปลีเป็นผักประเภทอายุปีเดียว ใบเลี้ยงคู่มี ใบไม่มีขน ใบยาวประมาณ 15-50 ระบบราก แก้ว ซ ม กว้าง 5-40 ซม.ใบที่อยู่ด้านบน มีขนาดใหญ่ส่วนใบที่อยู่ถัดเข้าไปจะค่อยๆเล็กลง ลำต้นตรง ทรงพุ่มแคบต้นและใบสีเขียว อ่อน โคนก้านยึดติดกับราก และพื้น ดิน สีเขียวอ่อนมีใบหุ้มอยู่โดยรอบ ช่อดอกแบบกระจะ (raceame)ดอกเกิดที่ยอด ประกอบด้วย กลีบรองดอกสีเขียวอมเหลือง หรือเขียวอ่อน ผลสามารถแตกเองได้เมื่อฝักแก่โดยจะแตกเป็นสองแฉกแยกจากข้างล่างขึ้นข้างบน เมล็ดกลมสีน้ำตาลและสีดำ มีอายุเก็บเกี่ยวประมาณ 55-75 วันสามารถปลูกได้ตลอดปี แหล่งปลูกที่สำคัญทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แถบจังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง ตาก น่าน แพร่ นครราชสีมา มหาสารคาม เขตตะวันตก กาญจนบุรี การปลูกผักกาดเขียวปลีสามารถขึ้นได้ในดินแทบทุกชนิด แต่ที่เหมาะสมคือดินร่วนซุย สภาพเป็นกลาง อุณหภูมิ 15-20 องศาเซลเซียส

พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กำหนดให้เมล็ดพันธุ์พืชผักต่าง ๆ ไม้ดอกหรือไม้ประดับหลายชนิดจัดเป็นสิ่งต้องห้าม (Prohibited material) สิ่งกำกัด (Restricted material) และสิ่งไม่ต้องห้าม (unprohibited materials) ในการนำเข้ามายังประเทศไทยต้องแจ้งการนำเข้าและมีใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทางกำกับมาพร้อมกับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้า โดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยกำหนดไว้แต่อย่างใด การนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศ มีโอกาสที่ศัตรูพืชหลายชนิดที่อาจเป็นศัตรูพืชกักกันที่ร้ายแรงหรือศัตรูพืชที่สำคัญที่ก่อความเสียหายกับผลิตผลทางการเกษตรติดเข้ามากับเมล็ดพืชด้วย โดยอาจเป็นศัตรูพืชร้ายแรงที่ไม่มีปรากฏในประเทศไทย โดยเฉพาะในกลุ่มของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่ติดมากับผักกาดเขียวปลี ซึ่งมีการนำเข้ามาเพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์หรือเป็นต้นพันธุ์ในการส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกกระจายทั่วประเทศไทย โดยในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เหล่านี้ในปริมาณมาก หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวสามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศไทย จะก่อให้เกิดผลกระทบทำความเสียหายต่อการเกษตรในประเทศและกระทบต่อการส่งออกพืชผักผลไม้ไทยไปยังต่างประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการตรวจสอบศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับพืชนำเข้า เพื่อให้ทราบชนิด แหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืช มีประโยชน์ใช้อ้างอิงทางวิชาการนำมาพิจารณาหามาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และกำหนดเป็นมาตรการทางด้านกฎหมายและทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้า หรือเปลี่ยนแปลงสถานภาพของพืชตามพระราชบัญญัติกักพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี นำเข้าจากต่างประเทศ
2. กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope และ compound microscope
3. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

4. สารเคมีตรวจสอบเชื้อโรคพืช
5. ภาชนะเก็บตัวอย่างพืช
6. ชุดตรวจสอบศัตรูพืช (ELISA Kit)
7. หนังสือ และวารสารทั้งในประเทศและต่างประเทศ

วิธีการ

1.รวบรวมข้อมูลทั่วไปของผักกาดเขียวปลี และข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเตอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของผักกาดเขียวปลี ลักษณะทั่วไปของพืช สายพันธุ์ พื้นที่การเพาะปลูก รายชื่อของประเทศที่ประเทศไทยมีการการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืชทั้งนอกประเทศและในประเทศ

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี นำเข้าในห้องปฏิบัติการ

ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี ที่นำเข้าจากต่างประเทศมาทำการตรวจวินิจฉัยโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลง เมล็ดวัชพืช หรือลักษณะเมล็ดด่าง มีสีดำ บิดงอ ขนาดเล็ก ที่มีสาเหตุจากเชื้อโรค

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1999) และตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์นำเข้า

2.2.1 การตรวจสอบเชื้อรา

1) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะยังไม่งอก (Dry seed examination)

โดยตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์เชื้อราหรือศัตรูพืชอื่นๆ ซึ่งปะปนมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เช่นเมล็ดพันธุ์มีรูปร่างผิดปกติ หรืออาจติดมา ภายในเมล็ดพันธุ์โดยไม่แสดงอาการ รวมทั้งอาจติดมากับเศษพืชในลักษณะเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์เช่น Pycnidia เป็นต้น

2) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะเมล็ดงอก

สุ่มตัวอย่างเมล็ดตามวิธีการมาตรฐาน ในปริมาณที่เหมาะสมวิเคราะห์โดยสุ่มแยกตามสายพันธุ์ มาทดสอบด้วยวิธี Blotter method โดยวางเมล็ดลงบนกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จำนวน 3 แผ่นที่ชุ่มน้ำซึ่งวางอยู่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วางเมล็ดพันธุ์ ผักกาดเขียวปลี 25 เมล็ดต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวน 200 เมล็ด จากนั้นนำจานเพาะเมล็ดไปบ่มเชื้อ (incubate) ใต้แสง near ultraviolet (NUV) สลับกับความมืด 12/12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอไมโครสโคป (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope)

2.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

ในกรณีที่เชื้อติดมาในปริมาณมากจะสามารถแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรง หลังจากทำการแยกเชื้อด้วยวิธี Blotter method ได้ หรือทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate โดยสุ่มเมล็ดตามมาตรฐาน นำมาแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที ล้างตามด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ เมื่อได้เมล็ดพันธุ์จึงนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบด แล้วนำผงของเมล็ดใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ (0.85% NaCl) หรือบัฟเฟอร์ จำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยวางบนเครื่องเขย่า จากนั้นนำมาทำให้เจือจางในอาหารเหลว Nutrient broth ให้มีความเจือจางเป็น 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} และ 10^{-5} ตามลำดับ ใช้ไปเปตต์ดูด suspension แต่ละความเข้มข้น จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) แล้วใช้แท่งแก้วลนไฟฆ่าเชื้อ spread ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ดผิดปกติ

โดยการเพาะเมล็ดในดินนึ่งฆ่าเชื้อ โดยเพาะ 25-50 เมล็ดต่อถุง และเก็บถุงเพาะที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส รดน้ำเช้าเย็นในโรงเรือนกักกันพืช ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช เมื่อต้นกล้าออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชุ่มชื้นเป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนใบ กิ่ง ลำต้น โค่นต้น และราก เก็บส่วนของพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

2.1) วิธี Dilution plate ตัดใบพืชที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ แล้วบดชิ้นส่วนในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาทำให้เจือจางเป็นลำดับจาก 10^{-1} ถึง 10^{-5} และดำเนินการเช่นเดียวกับขั้นตอนในข้อ (1)

2.2) วิธี Tissue transplanting ตัดใบพืชเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 2x2 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อแล้ววางชิ้นพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA หรืออาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง (semiselective media) นำจานเลี้ยงเชื้อไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จึงนำมาตรวจสอบหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรียเก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจนครบ 3-5 วัน เพื่อตรวจหาโคโลนีของแบคทีเรียชนิดอื่นจากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และนำไปศึกษาคุณลักษณะเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

1. ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

2. ทดสอบแกรม (Gram reaction) โดยใช้สารละลายโปรแตสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (3%KOH) ที่เตรียมใหม่ใช้ภายใน 2 สัปดาห์ หากตรวจพบเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) มีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) และแกรมบวก (Gram positive) รูปร่างแบบ Coryneform rod ก็จะนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3. ทดสอบ hypersensitivity reaction บนยาสูบ โดยการฉีดสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียอายุ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เข้าไปในใบยาสูบ *(Nicotiana tabacum* L.) บริเวณใต้ใบโดยฉีดเข้าเนื้อใบระหว่างเส้นใบ สังเกตลักษณะอาการเซลล์ตายตรงเนื้อใบหลังการฉีดเชื้อ 24-48 ชั่วโมง หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช

4. ทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical properties) เช่น การใช้ยูเรีย การย่อยเจลาติน การย่อยเอสคูลิน และแป้ง reduce ไนเตรต ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นต้น

5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัย (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่นปลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยง หรือเนื้อใบของต้นฟักทอง สควัอชและแว๊กกราวด์ อายุ 2-3 สัปดาห์ ฉีดพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจลักษณะอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

2.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

1) ปลูกสังเกตลักษณะอาการโรคบนต้นกล้า (Seedling symptom test) โดยเพาะ เมล็ดพันธุ์ในดินอบฆ่าเชื้อ ตัวอย่าง 50-200 เมล็ด เก็บรักษาไว้ในโรงปลูกพืชกันแมลงเมื่อต้นพืชออกใบจริง 1-2 ใบ จึงตรวจสอบลักษณะอาการโรค ต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ สงสัยว่ามีสาเหตุจากเชื้อไวรัสจะนำใบอ่อนไปตรวจสอบด้วยวิธีการอื่นเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

2) ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) เตรียมน้ำคั้นพืชสำหรับทดสอบโดยบดใบพืชที่แสดงอาการผิดปกติในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ตรวจสอบเชื้อไวรัสใช้ 0.1 M phosphate buffer pH 7.0) โดยใช้ใบพืชหนัก 1 กรัมต่อบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร ในสภาพเย็น จากนั้นใช้สำลีหรือนิ้วที่สะอาดจุ่มน้ำคั้นพืชทาลงบนใบพืชทดสอบ ซึ่งโรยด้วยผงคาร์โบรันดัม (carborundum ขนาด 600 mesh) หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 5 นาที ล้างใบพืชและนำพืชทดสอบไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส สังเกตลักษณะอาการบนพืชทดสอบหลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 1-4 สัปดาห์ โดยพืชทดสอบจะแสดงอาการแผลเฉพาะแห่ง (local lesion) หรืออาการแบบกระจายทั่วลำต้น (systemic infection)

3) การตรวจสอบด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา (Serological techniques) การตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme – linked Immunosorbent Assay : ELISA เป็นวิธีตรวจสอบเชื้อไวรัสที่มีความไวสูง แม้จะมีเชื้อไวรัสปริมาณต่ำหรืออนุภาคแตกหักก็สามารถตรวจได้ ให้ผลรวดเร็ว แน่นอน และยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมาก วิธีการที่นำมาใช้เป็นแบบ Indirect ELISA ทำการบันทึกผล

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์นำเข้าในพื้นที่ของเกษตรกร

ทำการติดตามตรวจสอบต้นพืชที่มีการนำเมล็ดพันธุ์นำเข้าไปเพาะปลูกในแปลงปลูกของเกษตรกรตามภาคต่างๆ โดยสังเกตอาการความผิดปกติของต้นพืชทั้ง โคนต้น ราก ลำต้น ใบและผล

ของพืช และทำการสุ่มเก็บตัวอย่างอาการดังกล่าว นำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง แยกเชื้อ จัดจำแนกชนิดของเชื้อ และทดสอบการเกิดโรคกับพืชในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวินิจฉัยเชื้อโรคศัตรูพืชอย่างละเอียด เช่นเดียวกับในขั้นตอนที่ 2

เวลาและสถานที่

เวลา: เดือนตุลาคม 2555 – กันยายน 2556

สถานที่: ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช ด่านตรวจพืช และแปลงปลูกของเกษตรกรในภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การรวบรวมข้อมูลทั่วไปของผักกาดเขียวปลีและข้อมูลศัตรูพืชที่มีระบบงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ ผักกาดเขียวปลี (Chinese mustard : *Brassica juneca* var. rugosa L.) เป็นพืชผักอยู่ในวงศ์กะหล่ำ (Brassicaceae) มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบประเทศจีน สถิติการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ปี 2555 ปริมาณ 157,909 กิโลกรัม มูลค่า 8,194,557 บาท (กลุ่มควบคุมพันธุ์พืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร)ผักกาดเขียวปลีมีอายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 55-75 วัน มีแหล่งปลูกที่สำคัญได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน ลำปาง เพชรบูรณ์ กาญจนบุรี ตาก และ น่าน ข้อมูลศัตรูพืชที่พบเข้าทำลายผักกาดเขียวปลี การศึกษาเบื้องต้นในการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช พบว่า ขั้นตอนการจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest categorization) มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 32 ชนิด คือ เชื้อรา 5 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด ไวรัส 2 ชนิด ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด แมลง 18 ชนิด และวัชพืช 3 ชนิด

ผลการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี นำเข้าจากต่างประเทศในห้องปฏิบัติการ ผลการตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากทุกประเทศในเบื้องต้น พบว่าลักษณะของเมล็ดมีสีขาว เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืชเมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด ซึ่งจากการตรวจเอกสารและการสังเกตเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากบางประเทศ มีการคลุกสารเคมีฆ่าเชื้อรา ได้แก่ Thiram หรือ Captan หรือ คลุกสารเคมีทั้ง 2 ชนิดกับเมล็ดพันธุ์นำเข้า **การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1999) และการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดเมล็ดพันธุ์นำเข้าในห้องปฏิบัติการและการปลูกทดสอบในโรงเรือน เมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี** ที่นำเข้าจาก 5 ประเทศ ได้แก่ สาธารรัฐประชาชนจีน อินโดนีเซีย อิตาลี เม็กซิโก และ นิวซีแลนด์ มาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ลักษณะเมล็ดพันธุ์**ถั่วเหลือง** มีสีขาว เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบ เชื้อรา จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis, Alternaria brassicicola, Alternaria raphini, Cladosporium* sp., และ *Ulocladium* sp., แต่จากการนำเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี มาตรวจด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่สำคัญด้านกักกันพืช และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคบนต้นพืชในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นผักกาด

เขียวปลี ลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ไม่แสดงอาการโรคพืช และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคบนต้นพืชในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นผักกาดเขียวปลี ลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ไม่แสดงอาการโรคพืช

ได้การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกผักกาดเขียวปลีนำเข้าจากต่างประเทศ ในจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน ลำปาง เพชรบูรณ์ และ กาญจนบุรี ไม่พบเชื้อสาเหตุโรคพืชในแปลงปลูก แต่พบวัชพืชได้แก่ แห้วหมู หญ้านกสีชมพู เทียนนา กระชับ กะเม็ง โทงเทง ลุกใต้ใบ ผักเบี้ยใหญ่ และผักเสี้ยนผี ซึ่งไม่ใช่ศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผักกาดเขียวปลี (Chinese mustard : *Brassica juneca* var. rugosa L สถิติการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ปี 2555 ปริมาณ 157,909 กิโลกรัม มูลค่า 8,194,557 ข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายส่วนต่างๆ ของผักกาดเขียวปลี มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 32 ชนิด คือเชื้อรา 5 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด ไวรัส 2 ชนิด ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด แมลง 18 ชนิด และวัชพืช 3 ชนิด และจากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี ที่นำเข้าจาก 5 ประเทศ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน อินโดนีเซีย อิตาลี เม็กซิโก และนิวซีแลนด์ มาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ลักษณะเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี มีสีขาว เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืช หรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis, Alternaria brassicicola, Alternaria raphini, Cladosporium* sp., และ *Ulocladium* sp., แต่จากการนำเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี มาตรวจด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่สำคัญด้านกักกันพืช และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคบนต้นพืชในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นผักกาดเขียวปลี ลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ไม่แสดงอาการโรคพืช ได้การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกผักกาดเขียวปลีนำเข้าจากต่างประเทศ ในจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน ลำปาง เพชรบูรณ์ และ กาญจนบุรี ไม่พบเชื้อสาเหตุโรคพืชในแปลงปลูก แต่พบวัชพืชได้แก่ แห้วหมู หญ้านดสีชมพู เทียนนา กระชับ กะเม็ง โทงเทง ลุกใต้ใบ ผักเบี้ยใหญ่ และ ผักเสี้ยนผี ซึ่งไม่ใช่ศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณวิชาญ สมาธิ คุณวิภา เกิดพิพัฒน์ คุณอรนุช นาคะโร ช่วยสนับสนุนและเตรียมตัวอย่างพืชและเตรียมงานในห้องปฏิบัติการ และน้องๆ ในห้องปฏิบัติการที่ช่วยสนับสนุนในการทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ และ วันเพ็ญ ศรีทองชัย. 2545. โรคไวรัสที่สำคัญองพืชผักและพืชน้ำมัน. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ. 88 หน้า.

เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. 2550. ฐานข้อมูลโรคพืชที่สำคัญในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อการส่งออก : โรคพืชวงศ์แตง.ศูนย์พันธุกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. 81 หน้า.

CAB INTERNATIONAL (2007). Crop Protection Compendium. CAB INTERNATIONAL, Wallingford, UK.

CABI. 2005. Crop Protection Compendium [CD-ROM]. CAB International. Wallingford, UK.

การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตา ที่นำเข้าจากต่างประเทศ

Study on Quarantine pest of Imported *Pisum sativum*

โสภา พิศวงปราการ ศรีวิเศษ เกษสังข์ วันเพ็ญ ศรีชาติ
ปรียพรรณ พงศาพิชณ์ ชลธิชา รักใคร่
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ถั่วลันเตา (*Pisum sativum,* Pea garden pea) จากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายถั่วลันเตา มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 304 ชนิด จัดเป็นแมลง 107 ชนิด ไร 4 ชนิด วัชพืช 52 ชนิด ไส้เดือนฝอย 30 ชนิด เชื้อรา 69 ชนิด แบคทีเรีย 14 ชนิด และไวรัส 28 ชนิด เป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืชพ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) และ (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 ทั้งสิ้น 35 ชนิด จัดเป็นแมลง 1 ชนิด วัชพืช 18 ชนิด ไส้เดือนฝอย 8 ชนิด เชื้อรา 5 ชนิด และไวรัส 3 ชนิด จากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตานำเข้า ในห้องปฏิบัติการ โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตานำเข้าจาก 6 ประเทศ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน ประเทศบัลแกเรีย ไต้หวัน อินเดีย สหรัฐอเมริกา และออสเตรเลีย จำนวน 7 ตัวอย่าง น้ำหนัก 19,113.607 กิโลกรัม ทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตานำเข้ามีเมล็ดที่สมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตาในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method และ Dilution technique ไม่พบเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และจากการนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นถั่วลันเตา ลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ และจากการติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกในเขตพื้นที่ภาคเหนือ จังหวัดตาก และจังหวัดน่าน จำนวน 8 แปลง ตรวจพบศัตรูพืช 2 ชนิด เป็นเชื้อรา 1 ชนิด แมลง 1 ชนิด ระหว่างทำการศึกษาไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-03-00-19-56

คำนำ

พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กำหนดให้เมล็ดพันธุ์พืชผักต่าง ๆ ดอกไม้หรือไม้ประดับหลายชนิดจัดเป็นสิ่งกำกัด (Restricted material) และสิ่งไม่ต้องห้าม (unprohibited materials) ในการนำเข้ามายังประเทศไทยต้องแจ้งการนำเข้า และมีใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทางกำกับมาด้วยพร้อมกับเมล็ดพันธุ์นำเข้า โดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยกำหนดไว้แต่อย่างใด การนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศ มีโอกาสที่ศัตรูพืชหลายชนิดที่อาจเป็นศัตรูพืชกักกันที่ร้ายแรงหรือศัตรูพืชที่สำคัญที่ก่อความเสียหายกับผลิตผลทางการเกษตรติดเข้ามากับเมล็ดพืชด้วย โดยอาจเป็นศัตรูพืชร้ายแรงที่ไม่มีปรากฏในประเทศไทย ในกลุ่มของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตา ซึ่งมีการนำเข้ามาเพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์ในการส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกกระจายทั่วประเทศไทย โดยในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เหล่านี้ในปริมาณมาก หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวสามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศไทย จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อการเกษตรในประเทศและกระทบต่อการส่งออกพืชผักผลไม้ไทยไปยังต่างประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการตรวจสอบศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับพืชนำเข้า เพื่อทราบชนิดแหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืช มีประโยชน์ใช้อ้างอิงทางวิชาการ นำมาพิจารณาหามาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และกำหนดเป็นมาตรการทางด้านกฎหมายและทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้า หรือเปลี่ยนแปลงสถานภาพของพืชนำเข้าให้เป็นสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกำกัดตามพระราชบัญญัติกักพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตา
2. กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope และ compound microscope
3. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
4. สารเคมีตรวจสอบเชื้อโรคพืช
5. ภาชนะเก็บตัวอย่างพืช
6. ชุดตรวจสอบศัตรูพืช (ELISA Kit)
7. หนังสือ และวารสารทั้งในประเทศและต่างประเทศ
8. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมทั้งการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม” (ISPM No. 11 : Pest risk analysis for quarantine pest including analysis of environmental risk)
9. พื้นที่แปลงปลูกถั่วลันเตาของเกษตรกร

วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของถั่วลันเตาและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเตอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของถั่วลันเตา ลักษณะทั่วไปของพืช สายพันธุ์ พื้นที่การเพาะปลูก รายชื่อของประเทศที่ประเทศไทยมีการการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืชทั้งนอกประเทศและในประเทศ

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตานำเข้าในห้องปฏิบัติการ

การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดบนเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตาที่นำเข้าจากต่างประเทศทางด่านตรวจพืช เจ้าหน้าที่จะทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพืชมาทำการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลงหรือเมล็ดวัชพืช

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1999) และตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียด เมล็ดพันธุ์นำเข้า

2.2.1 การตรวจสอบเชื้อรา

1) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะยังไม่งอก (Dry seed examination)

โดยตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์เชื้อราหรือศัตรูพืชอื่นๆ ซึ่งปะปนมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เช่นเมล็ดพันธุ์มีรูปร่างผิดปกติ หรืออาจติดมา ภายในเมล็ดพันธุ์โดยไม่แสดงอาการ รวมทั้งอาจติดมากับเศษพืชในลักษณะเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์เช่น Pycnidia เป็นต้น

2) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะเมล็ดงอก

สุ่มตัวอย่างเมล็ดตามวิธีการมาตรฐาน ในปริมาณที่เหมาะสมวิเคราะห์โดยสุ่มแยกตามสายพันธุ์ มาทดสอบด้วยวิธี Blotter method โดยวางเมล็ดลงบนกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จำนวน 3 แผ่นที่ชุ่มน้ำซึ่งวางอยู่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วางเมล็ดพันธุ์เมลอน 25 เมล็ดต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำจานเพาะเมล็ดไปบ่มเชื้อ (incubate) ใต้แสง near ultraviolet (NUV) สลับกับความมืด 12/12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สเตอริโอ-ไมโครสโคป (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope)

2.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

ในกรณีที่เชื้อติดมาในปริมาณมากจะสามารถแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรงหลังจากทำการแยกเชื้อด้วยวิธี Blotter method ได้ หรือทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate โดยสุ่มเมล็ดตามมาตรฐาน นำมาแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที ล้างตามด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ เมื่อได้เมล็ดพันธุ์จึงนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบด แล้วนำผงของเมล็ดใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ (0.85% NaCl) หรือบัฟเฟอร์ จำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยวางบนเครื่องเขย่า จากนั้นนำมาทำให้เจือจางในอาหารเหลว Nutrient broth ให้มีความเจือจางเป็น 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} และ 10^{-5}

ตามลำดับ ใช้ไปเปตต์ดูด suspension แต่ละความเข้มข้น จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) แล้วใช้แท่งแก้ว spread ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ดผิดปกติบนใบพืชหรือต้นพืช

โดยการเพาะเมล็ดในดินนึ่งฆ่าเชื้อที่มีอยู่จริง โดยเพาะ 25-50 เมล็ดต่อถุง และเก็บถุงเพาะที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เมื่อต้นกล้าออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชุ่มชื้นเป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนใบพืช เก็บใบพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

2.1) วิธี Dilution plate ตัดใบพืชที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ แล้วบดชิ้นส่วนในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาทำให้ เจือจางเป็นลำดับจาก 10^{-1} ถึง 10^{-5} และดำเนินการเช่นเดียวกับขั้นตอนในข้อ (1)

2.2) วิธี Tissue transplanting ตัดใบพืชเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 2x2 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อแล้ววางพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA หรืออาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง (semiselective media) นำจานเลี้ยงเชื้อไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จึงนำมาตรวจสอบหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรียเก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจนครบ 3-5 วัน เพื่อตรวจหาโคโลนีของแบคทีเรียชนิดอื่นจากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และนำไปศึกษาคุณลักษณะเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

1. ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

2. ทดสอบแกรม (Gram reaction) โดยใช้สารละลายโปรแตสเซียม- ไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (3%KOH) ที่เตรียมใหม่ใช้ภายใน 2 สัปดาห์ หากตรวจพบเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) มีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) และแกรมบวก (Gram positive) รูปร่างแบบ Coryneform rod ก็จะนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3. ทดสอบ hypersensitivity reaction บนยาสูบ โดยการฉีดสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียอายุ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 10^{8} โคโลนีต่อมิลลิลิตร เข้าไปใน ใบยาสูบ *(Nicotiana tabacum* L.) บริเวณใต้ใบโดยฉีดเข้าเนื้อใบระหว่างเส้นใบ สังเกตลักษณะอาการเซลล์ตายตรงเนื้อใบหลังการฉีดเชื้อ 24-48 ชั่วโมง หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช

4. ทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical properties) เช่น การใช้ยูเรีย การย่อยเจลาติน การย่อยเอสคูลิน และแป้ง reduce ไนเตรต ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นต้น

5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัย (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^{8} โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่นปลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยง

หรือเนื้อใบของต้นถั่วลันเตาอายุ 2-3 สัปดาห์ ฉีดพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจลักษณะอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

2.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

1) ปลูกสังเกตลักษณะอาการโรคบนต้นกล้า (Seedling symptom test) โดยเพาะเมล็ดพันธุ์ในดินอบฆ่าเชื้อ ตัวอย่าง 50-200 เมล็ด เก็บรักษาไว้ในโรงปลูกพืชกันแมลงเมื่อต้นพืชออกใบจริง 1-2 ใบ จึงตรวจสอบลักษณะอาการโรค ต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ สงสัยว่ามีสาเหตุจากเชื้อไวรัสจะนำใบอ่อนไปตรวจสอบด้วยวิธีการอื่นเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

2) ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) เตรียมน้ำคั้นพืชสำหรับทดสอบโดยบดใบพืชที่แสดงอาการผิดปกติในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ตรวจสอบเชื้อไวรัสใช้ 0.1 M phosphate buffer pH 7.0) โดยใช้ใบพืชหนัก 1 กรัมต่อบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร ในสภาพเย็น จากนั้นใช้สำลีหรือนิ้วที่สะอาดจุ่มน้ำคั้นพืชทาลงบนใบพืชทดสอบ ซึ่งโรยด้วยผงคาร์โบรันดัม (carborundum ขนาด 600 mesh) หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 5 นาที ล้างใบพืชและนำพืชทดสอบไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส สังเกตลักษณะอาการบนพืชทดสอบหลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 1-4 สัปดาห์ โดยพืชทดสอบจะแสดงอาการแผลเฉพาะแห่ง (local lesion) หรืออาการแบบกระจายทั่วลำต้น (systemic infection)

3) การตรวจสอบด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา (Serological techniques) การตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme – linked Immunosorbent Assay : ELISA เป็นวิธีตรวจสอบเชื้อไวรัสที่มีความไวสูง แม้จะมีเชื้อไวรัสปริมาณต่ำหรืออนุภาคแตกหักก็สามารถตรวจได้ ให้ผลรวดเร็ว แน่นอน และยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมาก วิธีการที่นำมาใช้เป็นแบบ Indirect ELISA ทำการบันทึกผล

3. ติดตามตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตานำเข้า

ทำการติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตานำเข้าในเขตพื้นที่ภาคเหนือ จำนวน 8 แปลง ได้แก่ จังหวัดตาก 3 แปลง และจังหวัดน่าน 5 แปลง โดยทำการเก็บตัวอย่างส่วนต่างๆ เช่น ใบ ฝักถั่วลันเตา และลำต้นของถั่วลันเตาที่พบลักษณะอาการผิดปกติหรือน่าสงสัย เพื่อนำตัวอย่างที่ได้มาตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชตามขั้นตอนข้อที่2

เวลาและสถานที่

เวลา: เดือนตุลาคม 2555 – กันยายน 2556

สถานที่: ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช ด่านตรวจพืช และแปลงปลูกเกษตรกรในเขตจังหวัดน่านและจังหวัดตาก

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมข้อมูลทั่วไปของถั่วลันเตาและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

การจำแนกพืช

Domain: Eukaryota
Kingdom: Viridiplantae
Phylum: Spermatophyta
Subphylum: Angiospermae
Class: Dicotyledonae
Order: Fabales
Family: Fabaceae

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Pisum sativum* L.

ชื่ออื่น ๆ **ถั่วลันเตา** garden pea, sugar pea

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ถั่วลันเตาเขียว ถั่วลันเตา เป็นพืชผักที่มีเถาเลื้อย สูงได้ถึง ๒ เมตร เป็นพืชที่ชอบอากาศเย็นจึงปลูกได้ดีในช่วงฤดูหนาวถั่วลันเตาสามารถขึ้นได้ในดินแทบทุกชนิดโดยเฉพาะดินร่วนปนเหนียว ควรเป็นดินที่ค่อนข้างมีความเป็นกรดเล็กน้อย ผลเป็นฝักแบบถั่ว แต่ละฝักจะมีเมล็ด ๓–๑๐ เมล็ดขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด อายุการเก็บเกี่ยวแต่ละพันธุ์ไม่เหมือนกัน โดยทั่วไปจะเก็บเกี่ยวหลังการปลูก ๖๐ - ๙๐ วัน

แหล่งปลูก

ในประเทศไทยนั้นพื้นที่ที่มีการปลูกถั่วลันเตามาก ส่วนใหญ่อยู่ในภาคเหนือ

ปริมาณการนำเข้า

ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศ 6 ประเทศ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน ประเทศบัลแกเรีย ไต้หวัน อินเดีย สหรัฐอเมริกา และออสเตรเลีย จำนวน 7 ตัวอย่าง น้ำหนัก 19,113.607 กิโลกรัม (กลุ่มวิจัยการกักกันพืช, 2556)

ศัตรูพืชที่พบเข้าทำลายถั่วลันเตา

จากการสืบค้นข้อมูล พบว่า ศัตรูพืชที่ทำลายทุกส่วนของถั่วลันเตา เช่น ใบ ผล ลำต้น ราก และเมล็ด เป็นต้น มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 304 ชนิด จัดเป็นแมลง 107 ชนิด ไร 4 ชนิด วัชพืช 52 ชนิด ไส้เดือนฝอย 30 ชนิด เชื้อรา 69 ชนิด แบคทีเรีย 14 ชนิด และไวรัส 28 ชนิด (กิตติพงษ์, 2531) (นิรนาม, 2502) (ประไพศรี และคณะ, 2527) (วิรัช และคณะ, 2525) (สมศิริ, 2532) (สุดฤดี และกิตติ, 2528) (สุรภี และดวงใจ, 2525) (อนงค์, 2528) (CPC, 2007) (Chandrasrikul, 1968) เป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) และ (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 ทั้งสิ้น 35 ชนิด จัดเป็นแมลง 1 ชนิด วัชพืช 18 ชนิด ไส้เดือนฝอย 8 ชนิด เชื้อรา 5 ชนิด และไวรัส 3 ชนิด ได้แก่ แมลง 1 ชนิด คือ *Liriomyza bryoniae* วัชพืช 18 ชนิด ได้แก่ *Amaranthus blitoides, Asphodelus tenuifolius, Avena fatua, Capsella bursa pastoris, Cirsium arvense, Cirsium vulgare, Lolium temulentum, Orobanche aegyptiaca, Orobanche crenata, Orobanche ramose, Phalaris minor,*

Polygonum aviculare, Polygonum convolvulus, Senecio vulgaris, Spergula arvensis, Stellaria media, Thlaspi arvense และ *Vicia sativa* ไส้เดือนฝอย 8 ชนิด ได้แก่ *Belonolaimus longicaudatus, Heterodera glycines, Ditylenchus dipsaci, Hoplolaimus indicus, Pratylenchus loosi, Trichodorus viruliferus* และ *Xiphinema diversicaudatum* เชื้อรา 5 ชนิด ได้แก่ *Chalara elegans, Fusarium graminearum, Phomopsis longicolla, Phytophthora cryptogea* และ *Verticillium dahliae* เชื้อไวรัส 3 ชนิด ได้แก่ Alfalfa mosaic virus , Tomato streak virus และ Tomato spotted wilt virus (CPC, 2007)

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตานำเข้าในห้องปฏิบัติการ

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

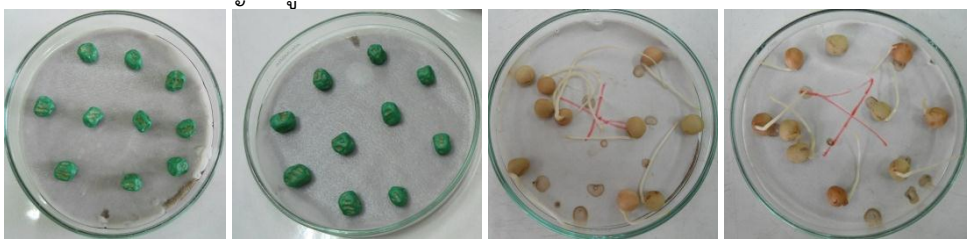
จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากทุกประเทศในเบื้องต้น พบว่าลักษณะของเมล็ดปกติ เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด(รูปที่1)

รูปที่ 1 ลักษณะเมล็ดพันธุ์และบรรจุภัณฑ์ของเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตานำเข้าจากต่างประเทศ

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1999) และการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดเมล็ดพันธุ์นำเข้าในห้องปฏิบัติการ

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวที่นำเข้าจากประเทศญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ และอินเดีย จำนวน 13 ตัวอย่าง ซึ่งจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตาในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method และ Dilution technique ไม่พบเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว(รูปที่ 2 และ3 ตามลำดับ) และจากการนำเมล็ด

พันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) (รูปที่ 4) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นถั่วลันเตา ต้นเจริญสมบูรณ์



รูปที่ 2 ขั้นตอนการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตาในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method

รูปที่ 3 ขั้นตอนการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตาในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Dilution technique

รูปที่ 4 ขั้นตอนการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตาในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Seedling Symptom Test

3. การติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตานำเข้า

ทำการติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตานำเข้าในเขตพื้นที่ภาคเหนือ จำนวน 8 แปลง ได้แก่ จังหวัดตาก 3 แปลง และจังหวัดน่าน 5 แปลง (รูปที่5) ตรวจพบศัตรูพืช 2 ชนิด เป็นเชื้อรา 1 ชนิด แมลง 1ชนิด (รูปที่ 6) ระหว่างทำการศึกษาไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย

รูปที่ 5 แปลงปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตาในเขตพื้นที่ภาคเหนือ

รูปที่ 6 ศัตรูพืชที่ตรวจพบในแปลงปลูกถั่วลันเตาในเขตพื้นที่ภาคเหนือ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ถั่วลันเตา (*Pisum sativum,* Pea garden pea) จากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายถั่วลันเตา มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 304 ชนิด จัดเป็นแมลง 107 ชนิด ไร 4 ชนิด วัชพืช 52 ชนิด ไส้เดือนฝอย 30 ชนิด เชื้อรา 69 ชนิด แบคทีเรีย 14 ชนิด และไวรัส 28 ชนิด เป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืชพ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) และ (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 ทั้งสิ้น 35 ชนิด จัดเป็นแมลง 1 ชนิด วัชพืช 18 ชนิด ไส้เดือนฝอย 8 ชนิด เชื้อรา 5 ชนิด และไวรัส 3 ชนิด จากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตานำเข้า ในห้องปฏิบัติการ โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตานำเข้าจาก 6 ประเทศ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน ประเทศบัลแกเรีย ไต้หวัน อินเดีย สหรัฐอเมริกา และออสเตรเลีย จำนวน 7 ตัวอย่าง น้ำหนัก 19,113.607 กิโลกรัม ทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตานำเข้ามีเมล็ดที่สมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตาใน

ห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method และ Dilution technique ไม่พบเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และจากการนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นถั่วลันเตา ลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ และจากการติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกในเขตพื้นที่ภาคเหนือ จังหวัดตาก และจังหวัดน่าน จำนวน 8 แปลง ตรวจพบศัตรูพืช 2 ชนิด เป็นเชื้อรา 1 ชนิด แมลง 1 ชนิด ระหว่างทำการศึกษาไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย ข้อมูลเบื้องต้นนี้จะนำไปใช้ประโยชน์ในการสร้างฐานข้อมูลศัตรูพืชจากต่างประเทศ จัดทำคู่มือการวินิจฉัยศัตรูพืชเบื้องต้น รวมทั้งเตรียมความพร้อมในการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช การติดตามเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกันเป้าหมายของถั่วลันเตา ตลอดจนเป็นภารกิจสำคัญด้านกักกันพืชและอารักขาพืชเพื่อป้องกันศัตรูพืชแปลกใหม่รุกรานเข้ามาในประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ผู้เชี่ยวชาญ อุดร อุณหวุฒิ คุณศรีวิเศษ เกษสังข์ คุณชลธิชา รักใคร่ คุณปรียพรรณ พงศาพิชณ์ ที่ช่วยแนะนำแนวทางการวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณ คุณวานิช คำพานิช และคุณวันเพ็ญ ศรีชาติ คุณชัยรัตน์ หมั่นการ คุณยุทธนา ประมาณ คุณวิชาญ สมาธิ คุณวิภา เกิดพิพัฒน์ คุณอรนุช นาคะโร คุณสุธรรม คงเอียด คุณจิรวัฒน์ ไกรนรา และคุณอัญชลี ราศี และน้องๆ ในห้องปฏิบัติการที่ช่วยสนับสนุนในการทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กิตติพงษ์ ศิริวานิชกุล. 2531. การสำรวจโรคของถั่วลันเตาและการศึกษาโรคใบจุดของถั่วลันเตาที่เกิดจาก *Ascochyta pinnodes* Jones. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ 189 น.

นิรนาม. 2502. การตรวจโรคพืชให้แก่ประชาชนและหน่วยราชการ. หน้า 208-215. ใน รายงานประจำปีแผนกโรคพืช.กองพืชพันธุ์.กรมกสิกรรม.

ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน, ศิริพงษ์ คุ้มภัยวิรัช ชูบำรุง และพัฒนา สนธิรัตน.2527. ศึกษาเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคกับถั่วใช้รับประทานฝักสด, น.39-49. ใน รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2527 เล่มที่3.กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร.

วิรัช ชูบำรุง, ประไพรศรี พิทักไพรวัน, พัฒนา สนธิรัตน และปิยเกียรติก้อง. 2525. การศึกษาเชื้อราในตระกูลราแป้ง ERYSIPHACRAE, ไม่มีเลขหน้า. ใน รายงานผลการทดลอง พ.ศ.2525 เล่มที่ 1. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร.

สมศิริ แสงโชติ. 2532. โรคพืชเศรษฐกิจ พืชผัก. บริษัทประชาชนจำกัด. 74 น.

สุดฤดี ประเทืองวงศ์ และ กิตติ ศิริวานิชกุล.2528. โรคของถั่วลันเตาในท้องที่ภาคเหนือของประเทศไทย หน้า 386-402. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 23 สาขาพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

สุรภี กีรติยะอังกูร และ ดวงใจ ชูปัญญา. 2525. โรคใบจุดวงแหวนของมะละกอในประเทศไทย. วารสารโรคพืช 2(2): 17-21.

อนงค์ จันทร์ศรีกุล. 2528. โรคและศัตรูบางชนิดของผักและการป้องกันกำจัด. สำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช จำกัด กรุงเทพฯ. 141 น.

Chandrasrikul,A. 1968. A supplementary host list of plant diseases in Thailand. Tech. Bull. No. 9, Dept. of Agr., Bangkok. 14 p.

Crop Protection Compendium. 2007. ed. Wallingford, UK: CPC. (http://www.cabicompendium.org/cpc)

การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว ที่นำเข้าจากต่างประเทศ

Study on Quarantine pest of Imported *Abelmoschus esculentum*

โสภา พิศวงปราการ ศรีวิเศษ เกษสังข์ วันเพ็ญ ศรีชาติ
ปรียพรรณ พงศาพิชณ์ ชลธิชา รักใคร่
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

กระเจี๊ยบเขียว (*Abelmoschus esculentum,* Okra) จากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายกระเจี๊ยบเขียว มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 163 ชนิด จัดเป็นแมลง 87 ชนิด ไร 11 ชนิด วัชพืช 5 ชนิด ไส้เดือนฝอย 16 ชนิด เชื้อรา 32 ชนิด แบคทีเรีย 5 ชนิด ไวรัส 6 ชนิด และหนู 1 ชนิด เป็นศัตรูกักกันของกระเจี๊ยบเขียวทั้งสิ้น 14 ชนิด จัดเป็นแมลง 1 ชนิด วัชพืช 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 5 ชนิด เชื้อรา 3 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด และไวรัส 1 ชนิด จากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้า ในห้องปฏิบัติการ โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าจาก 3 ประเทศ ได้แก่ ประเทศฟิลิปปินส์ อินเดีย และญี่ปุ่น จำนวน 13 ตัวอย่าง ทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เมล็ดพันธุ์กรเจี๊ยบเขียวนำเข้ามีเมล็ดที่สมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา 4 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Fusarium solani, Fusarium semitectum, Chetomium sp.* และ *Alternaria sp.* การตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และจากการนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นกระเจี๊ยบเขียว ลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ และจากการติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ จำนวน 9 แปลง ตรวจพบศัตรูพืช 9 ชนิด เป็นเชื้อรา 4 ชนิด แมลง 5 ชนิด ระหว่างทำการศึกษาไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-03-00-20-56

คำนำ

พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กำหนดให้เมล็ดพันธุ์พืชผักต่าง ๆ ดอกไม้หรือไม้ประดับหลายชนิดจัดเป็นสิ่งกำกัด (Restricted material) และสิ่งไม่ต้องห้าม (unprohibited materials) ในการนำเข้ามายังประเทศไทยต้องแจ้งการนำเข้า และมีใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทางกำกับมาด้วยพร้อมกับเมล็ดพันธุ์นำเข้า โดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยกำหนดไว้แต่อย่างใด การนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศ มีโอกาสที่ศัตรูพืชหลายชนิดที่อาจเป็นศัตรูพืชกักกันที่ร้ายแรงหรือศัตรูพืชที่สำคัญที่ก่อความเสียหายกับผลิตผลทางการเกษตรติดเข้ามากับเมล็ดพืชด้วย โดยอาจเป็นศัตรูพืชร้ายแรงที่ไม่มีปรากฏในประเทศไทย ในกลุ่มของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว ซึ่งมีการนำเข้ามาเพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์ในการส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกกระจายทั่วประเทศไทย โดยในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เหล่านี้ในปริมาณมาก หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวสามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศไทย จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อการเกษตรในประเทศและกระทบต่อการส่งออกพืชผักผลไม้ไทยไปยังต่างประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการตรวจสอบศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับพืชนำเข้า เพื่อทราบชนิดแหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืชมีประโยชน์ใช้อ้างอิงทางวิชาการ นำมาพิจารณาหามาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และกำหนดเป็นมาตรการทางด้านกฎหมายและทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้า หรือเปลี่ยนแปลงสถานภาพของพืชนำเข้าให้เป็นสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกำกัดตามพระราชบัญญัติกักพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว
2. กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope และ compound microscope
3. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
4. สารเคมีตรวจสอบเชื้อโรคพืช
5. ภาชนะเก็บตัวอย่างพืช
6. ชุดตรวจสอบศัตรูพืช (ELISA Kit)
7. หนังสือ และวารสารทั้งในประเทศและต่างประเทศ
8. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมทั้งการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม” (ISPM No. 11 : Pest risk analysis for quarantine pest including analysis of environmental risk)
9. พื้นที่แปลงปลูกกระเจี๊ยบเขียวของเกษตรกร

วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของกระเจี๊ยบเขียวและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเตอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของกระเจี๊ยบเขียว ลักษณะทั่วไปของพืช สายพันธุ์ พื้นที่การเพาะปลูก รายชื่อของประเทศที่ประเทศไทยมีการการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืชทั้งนอกประเทศและในประเทศ

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าในห้องปฏิบัติการ

การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดบนเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวที่นำเข้าจากต่างประเทศทางด่านตรวจพืช เจ้าหน้าที่จะทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพืชมาทำการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลงหรือเมล็ดวัชพืช

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1999) และตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียด เมล็ดพันธุ์นำเข้า

2.2.1 การตรวจสอบเชื้อรา

1) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะยังไม่งอก (Dry seed examination)

โดยตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์เชื้อราหรือศัตรูพืชอื่นๆ ซึ่งปะปนมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เช่นเมล็ดพันธุ์มีรูปร่างผิดปกติ หรืออาจติดมา ภายในเมล็ดพันธุ์โดยไม่แสดงอาการ รวมทั้งอาจติดมากับเศษพืชในลักษณะเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์เช่น Pycnidia เป็นต้น

2) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะเมล็ดงอก

สุ่มตัวอย่างเมล็ดตามวิธีการมาตรฐาน ในปริมาณที่เหมาะสมวิเคราะห์โดยสุ่มแยกตามสายพันธุ์ มาทดสอบด้วยวิธี Blotter method โดยวางเมล็ดลงบนกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จำนวน 3 แผ่นที่ชุ่มน้ำซึ่งวางอยู่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วางเมล็ดพันธุ์เมลอน 25 เมล็ดต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำจานเพาะเมล็ดไปบ่มเชื้อ (incubate) ใต้แสง near ultraviolet (NUV) สลับกับความมืด 12/12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สเตอริโอ-ไมโครสโคป (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope)

2.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

ในกรณีที่เชื้อติดมาในปริมาณมากจะสามารถแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรงหลังจากทำการแยกเชื้อด้วยวิธี Blotter method ได้ หรือทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate โดยสุ่มเมล็ดตามมาตรฐาน นำมาแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที ล้างตามด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ เมื่อได้เมล็ดพันธุ์จึงนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบด แล้วนำผงของเมล็ดใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ (0.85% NaCl) หรือบัฟเฟอร์ จำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยวางบนเครื่องเขย่า จากนั้นนำมาทำให้เจือจางในอาหารเหลว Nutrient broth ให้มีความเจือจางเป็น 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} และ 10^{-5}

ตามลำดับ ใช้ไปเปตต์ดูด suspension แต่ละความเข้มข้น จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) แล้วใช้แท่งแก้ว spread ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ดผิดปกติบนใบพืชหรือต้นพืช

โดยการเพาะเมล็ดในดินนึ่งฆ่าเชื้อที่มีอยู่จริง โดยเพาะ 25-50 เมล็ดต่อถุง และเก็บถุงเพาะที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เมื่อต้นกล้าออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชุ่มชื้นเป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนใบพืช เก็บใบพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

2.1) วิธี Dilution plate ตัดใบพืชที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ แล้วบดชิ้นส่วนในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาทำให้ เจือจางเป็นลำดับจาก 10^{-1} ถึง 10^{-5} และดำเนินการเช่นเดียวกับขั้นตอนในข้อ (1)

2.2) วิธี Tissue transplanting ตัดใบพืชเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 2x2 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อแล้ววางพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA หรืออาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง (semiselective media) นำจานเลี้ยงเชื้อไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จึงนำมาตรวจสอบหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรียเก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจนครบ 3-5 วัน เพื่อตรวจหาโคโลนีของแบคทีเรียชนิดอื่นจากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และนำไปศึกษาคุณลักษณะเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

1. ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

2. ทดสอบแกรม (Gram reaction) โดยใช้สารละลายโปรแตสเซียม- ไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (3%KOH) ที่เตรียมใหม่ใช้ภายใน 2 สัปดาห์ หากตรวจพบเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) มีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) และแกรมบวก (Gram positive) รูปร่างแบบ Coryneform rod ก็จะนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3. ทดสอบ hypersensitivity reaction บนยาสูบ โดยการฉีดสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียอายุ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 10^{8} โคโลนีต่อมิลลิลิตร เข้าไปใน ใบยาสูบ *(Nicotiana tabacum* L.) บริเวณใต้ใบโดยฉีดเข้าเนื้อใบระหว่างเส้นใบ สังเกตลักษณะอาการเซลล์ตายตรงเนื้อใบหลังการฉีดเชื้อ 24-48 ชั่วโมง หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช

4. ทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical properties) เช่น การใช้ยูเรีย การย่อยเจลาติน การย่อยเอสคูลิน และแป้ง reduce ไนเตรต ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นต้น

5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัย (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^{8} โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่นปลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยง

หรือเนื้อใบของต้นกระเจี๊ยบเขียวอายุ 2-3 สัปดาห์ ฉีดพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจลักษณะอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

2.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

1) ปลูกสังเกตลักษณะอาการโรคบนต้นกล้า (Seedling symptom test) โดยเพาะเมล็ดพันธุ์ในดินอบฆ่าเชื้อ ตัวอย่าง 50-200 เมล็ด เก็บรักษาไว้ในโรงปลูกพืชกันแมลงเมื่อต้นพืชออกใบจริง 1-2 ใบ จึงตรวจสอบลักษณะอาการโรค ต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ สงสัยว่ามีสาเหตุจากเชื้อไวรัสจะนำใบอ่อนไปตรวจสอบด้วยวิธีการอื่นเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

2) ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) เตรียมน้ำคั้นพืชสำหรับทดสอบโดยบดใบพืชที่แสดงอาการผิดปกติในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ตรวจสอบเชื้อไวรัสใช้ 0.1 M phosphate buffer pH 7.0) โดยใช้ใบพืชหนัก 1 กรัมต่อบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร ในสภาพเย็น จากนั้นใช้สำลีหรือนิ้วที่สะอาดจุ่มน้ำคั้นพืชทาลงบนใบพืชทดสอบ ซึ่งโรยด้วยผงคาร์โบรันดัม (carborundum ขนาด 600 mesh) หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 5 นาที ล้างใบพืชและนำพืชทดสอบไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส สังเกตลักษณะอาการบนพืชทดสอบหลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 1-4 สัปดาห์ โดยพืชทดสอบจะแสดงอาการแผลเฉพาะแห่ง (local lesion) หรืออาการแบบกระจายทั่วลำต้น (systemic infection)

3) การตรวจสอบด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา (Serological techniques) การตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme – linked Immunosorbent Assay : ELISA เป็นวิธีตรวจสอบเชื้อไวรัสที่มีความไวสูง แม้จะมีเชื้อไวรัสปริมาณต่ำหรืออนุภาคแตกหักก็สามารถตรวจได้ ให้ผลรวดเร็ว แน่นอน และยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมาก วิธีการที่นำมาใช้เป็นแบบ Indirect ELISA ทำการบันทึกผล

3. ติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้า

ทำการติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าในเขตพื้นที่ภาคอีสาน ได้แก่ จังหวัดอุดรธานี 3 แปลง และจังหวัดอุบลราชธานี 2 แปลง และในเขตพื้นที่ภาคเหนือ จำนวน 4 แปลง ได้แก่ จังหวัดลำพูน 2 แปลง และจังหวัดตาก 2 แปลง โดยทำการเก็บตัวอย่างส่วนต่างๆ เช่น ใบ ฟักกระเจี๊ยบเขียว และลำต้นของกระเจี๊ยบเขียวที่พบลักษณะอาการผิดปกติ หรือน่าสงสัย เพื่อนำตัวอย่างที่ได้มาตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชตามขั้นตอนข้อที่2

เวลาและสถานที่

เวลา: เดือนตุลาคม 2555 – กันยายน 2556

สถานที่: ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช ด่านตรวจพืช และแปลงปลูกเกษตรกร ในจังหวัดอุดรธานี จังหวัดอุบลราชธานี จังหวัดลำพูน จังหวัดตาก

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมข้อมูลทั่วไปของกระเจี๊ยบเขียวและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

การจำแนกพืช

Domain: Eukaryota
Kingdom: Viridiplantae
Phylum: Spermatophyta
Subphylum: Angiospermae
Class: Dicotyledonae
Order: Malvales
Family: Malvaceae

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Abelmoschus esculentus* L. *Moench*

ชื่ออื่น ๆ **กระเจี๊ยบเขียว** Okra, Gumbo, Lady's finger, Quimbamto (อัฟริกา)

ชื่อท้องถิ่น กระเจี๊ยบเขียว กระต้าด (แถบจังหวัดสมุทรสาคร, สมุทรปราการ), มะเขือมอญ (ภาคกลาง), มะเขือมื่น (ภาคเหนือ), ถั่วเละ (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

กระเจี๊ยบเขียวเขียว เป็นพืชผักยืนต้น อายุประมาณ 1 ปี มีความสูง 40 เซนติเมตร ถึง 2 เมตร ลำต้น มีขนสั้น ๆ มีหลายสี แตกต่างตามพันธุ์ ใบกระเจี๊ยบเขียวเขียว มีลักษณะกว้างเป็นแฉกคล้ายใบละหุ่ง แต่ก้านใบจะสั้นกว่า ดอกมีสีเหลือง โคนดอกด้านในสีม่วง เมื่อบานคล้ายดอกผ้าย มีเกสรตัวผู้ตัวเมียอยู่ในดอกเดียวกันฝักกระเจี๊ยบเขียวเขียวมีรูปเรียวยาว ปลายฝักแหลม มีทั้งชนิด ฝักกลมและฝักเหลี่ยม ซึ่งมีเหลี่ยม 5-10 เหลี่ยม ขึ้นกับพันธุ์ในแต่ละฝักมีเมล็ด 80-200 เมล็ด เมล็ดมีลักษณะกลมรี ขนาดเดียว กับถั่วเขียว เมล็ดอ่อนมีสีขาว เมื่อแก่มีสีเทา ฝักแก่สีฝักจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และจะแตกออกตามแนวรอยสัน เหลี่ยมทำให้เห็น เมล็ดที่อยู่ข้างใน

พันธุ์และแหล่งพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว

กระเจี๊ยบเขียว มีพันธุ์ต่าง ๆ มากมายซึ่งมีความแตกต่างกันทั้งความสูงของต้น ความยาวของฝักและสีฝัก พันธุ์พื้นเมืองเดิมจะมีเหลี่ยมบนฝักมากประมาณ 7-10 เหลี่ยม พันธุ์กระเจี๊ยบเขียวที่ใช้ปลูกเพื่อการส่งออกฝักสด และแช่แข็ง จะต้องเป็นพันธุ์ที่มีฝัก 5เหลี่ยม สีฝักเขียวเข้ม มีเส้นใยน้อย ลำต้นเตี้ย ผิวฝักมีขนละเอียด ฝักดกให้ผลผลิตสูง ซึ่งพันธุ์ที่ใช้ปัจจุบันได้แก่

1. พันธุ์ของประเทศไทยปรับปรุงโดยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ลักษณะฝักมีสีเขียวปานกลาง ฝักเมื่อตัดตามขวางเป็นรูปห้าเหลี่ยม ต้นแข็งแรง ผลผลิตสูง ราคาเมล็ดพันธุ์ 50-80 บาทต่อกิโลกรัม พันธุ์เหล่านี้ผู้ส่งออกและแปรรูปสามารถนำไปทดสอบตลาดได้ โดยเฉพาะตลาดยุโรป หรืออื่น ๆ

2. พันธุ์ลูกผสมชั่วที่หนึ่ง จากประเทศญี่ปุ่น เป็นพันธุ์ที่มีคุณสมบัติฝักอ่อนที่ตลาดญี่ปุ่นนิยมมาก ลักษณะฝักสีเขียวเข้มมาก ปลายฝักไม่มีจงอยยาว เมื่อตัดตามขวางของฝักเป็นรูป 5 เหลี่ยม ซึ่งมีเหลี่ยมเห็นได้ชัดเจน ต้นแข็งแรง ผลผลิตสูง ราคาเมล็ดพันธุ์แพงมากประมาณ 2,000-5,000 บาทต่อกิโลกรัม

3. พันธุ์ผสมเปิดจากต่างประเทศ ได้แก่ เคลมสัน สปายน์เลส ซึ่งฝักกลมป้อมและ

พันธุ์ดวอร์ฟกรีน สปายน์เลส ซึ่งมีฝักเรียวยาว เป็นพันธุ์ที่มี 8 เหลี่ยม สีเขียวปานกลางใช้ในการแปรรูปบรรจุกระป๋อง

4. พันธุ์ที่เกษตรกรเก็บพันธุ์เอง ซึ่งต้องทำอย่างถูกวิธีจะมีผลต่อคุณภาพฝักมาก อย่างไรก็ตามพันธุ์ที่จะใช้ขึ้นอยู่กับผู้ซื้อกำหนดเป็นประการสำคัญ ซึ่งผู้ปลูกต้องทำการตกลงกับผู้ซื้อก่อนปลูก

แหล่งปลูก

ในประเทศไทยนั้นพื้นที่ที่มีการปลูกกระเจี๊ยบเขียวมาก ส่วนใหญ่อยู่ในภาคกลาง ได้แก่ นครปฐม ปทุมธานี นนทบุรี สุพรรณบุรี สมุทรสาคร พิจิตร กาญจนบุรี ราชบุรี ระยอง และนครนายก

ปริมาณการนำเข้า

ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศ ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ และอินเดีย ปี 2556 ปริมาณ 6,467 กิโลกรัม (กลุ่มวิจัยการกักกันพืช, 2556)

ศัตรูพืชที่พบเข้าทำลายกระเจี๊ยบเขียว

จากการสืบค้นข้อมูล พบว่า ศัตรูพืชที่ทำลายทุกส่วนของกระเจี๊ยบเขียว เช่น ใบ ผล ลำต้น ราก และเมล็ด เป็นต้น มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 163 ชนิด จัดเป็นแมลง 87 ชนิด ไร 11 ชนิด วัชพืช 5 ชนิด ไส้เดือนฝอย 16 ชนิด เชื้อรา 32 ชนิด แบคทีเรีย 5 ชนิด ไวรัส 6 ชนิด และหนู 1 ชนิด (พัฒนา และคณะ, 2542) (นิยมรัฐ และลักษณา, 2533) (วสันณ์ และมานะ, 2532) (นิยมรัฐ และคณะ, 2531) (พิพัฒน์ เชี่ยงหลิว, 2528)(Chadrasrikul, 1962) (CPC, 2007))

เป็นศัตรูกักกันของกระเจี๊ยบเขียวทั้งสิ้น 14 ชนิด จัดเป็นแมลง 1 ชนิด วัชพืช 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 5 ชนิด เชื้อรา 3 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด และไวรัส 1 ชนิด ดังนี้ แมลง 1 ชนิด คือ *Sacadodes pyralis* วัชพืช 1 ชนิด คือ *Parthenium hysterophorus* ไส้เดือนฝอย 5 ชนิด ได้แก่ *Belonolaimus longicaudatus, Hoplolaimus indicus, Paratrichodorus porosus, Pratylenchus loosi* และ *Scutellonema bradys* เชื้อรา 3 ชนิด ได้แก่ *Phomopsis longicolla, Phymatotrichopsis omnivore* และ *Verticillium dahliae* แบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *Pantoea agglomerans, Pseudomonas cichorii* และ *Pseudomonas corrugate* และไวรัส 1 ชนิด คือ Cotton anthocyanosis virus (CPC, 2007)

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบนำเข้าในห้องปฏิบัติการ

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากทุกประเทศในเบื้องต้น พบว่าลักษณะของเมล็ดปกติ เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด (รูปที่1)

รูปที่ 1 ลักษณะเมล็ดพันธุ์และบรรจุภัณฑ์ของเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าจากต่างประเทศ

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1999) และการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดเมล็ดพันธุ์นำเข้าในห้องปฏิบัติการ

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวที่นำเข้าจากประเทศญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ และอินเดีย จำนวน 13 ตัวอย่าง ซึ่งจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method (รูปที่ 2) และ Dilution technique พบเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์ 4 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Fusarium solani, Fusarium semitectum, Chetomium sp.* และ *Alternaria sp.* ไม่พบแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และจากการนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) (รูปที่ 3) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นกระเจี๊ยบเขียว ต้นเจริญสมบูรณ์

รูปที่ 2 ขั้นตอนการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method

รูปที่ 3 ขั้นตอนการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Seedling Symptom Test

3. การติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้า

ทำการติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดอุดรธานี 3 แปลง และจังหวัดอุบลราชธานี 2 แปลง (รูปที่ 4) และในเขตพื้นที่ภาคเหนือ จำนวน 4 แปลง ได้แก่ จังหวัดลำพูน 2 แปลง และจังหวัดตาก 2 แปลง ตรวจพบศัตรูพืช 9 ชนิด เป็นเชื้อรา 4 ชนิด แมลง 5 ชนิด (รูปที่ 5) ระหว่างทำการศึกษาไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย

รูปที่ 4 แปลงปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

รูปที่ 5 ศัตรูพืชที่ตรวจพบในแปลงปลูกกระเจี๊ยบเขียว

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

กระเจี๊ยบเขียว (*Abelmoschus esculentum,* Okra) จากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายกระเจี๊ยบเขียว มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 163 ชนิด จัดเป็นแมลง 87 ชนิด ไร 11 ชนิด วัชพืช 5 ชนิด ไส้เดือนฝอย 16 ชนิด เชื้อรา 32 ชนิด แบคทีเรีย 5 ชนิด ไวรัส 6 ชนิด และหนู 1 ชนิด เป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) และ (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 ทั้งสิ้น 14 ชนิด จัดเป็นแมลง 1 ชนิด วัชพืช 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 5 ชนิด เชื้อรา 3 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด และไวรัส 1 ชนิด จากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้า ในห้องปฏิบัติการ โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าจาก 3 ประเทศ ได้แก่ ประเทศฟิลิปปินส์ อินเดีย และญี่ปุ่น จำนวน 13 ตัวอย่าง ทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเมล็ดพันธุ์กรเจี๊ยบนำเข้ามีเมล็ดที่สมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา 4 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Fusarium solani, Fusarium semitectum, Chetomium sp.* และ *Alternaria sp.* การตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และจากการนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นกระเจี๊ยบเขียว ลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ และจากการติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ จำนวน 9 แปลง ตรวจพบศัตรูพืช 9 ชนิด เป็นเชื้อรา 4 ชนิด แมลง 5 ชนิด ระหว่างทำการศึกษาไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย ข้อมูลเบื้องต้นนี้จะนำไปใช้ประโยชน์ในการสร้างฐานข้อมูลศัตรูพืชจากต่างประเทศ จัดทำคู่มือการวินิจฉัยศัตรูพืชเบื้องต้น รวมทั้งเตรียมความพร้อมในการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช การติดตามเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกันเป้าหมายของกระเจี๊ยบเขียว ตลอดจนเป็นภารกิจสำคัญด้านกักกันพืชและอารักขาพืชเพื่อป้องกันศัตรูพืชแปลกใหม่รุกรานเข้ามาในประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ผู้เชี่ยวชาญ อุดร อุณหวุฒิ คุณศรีวิเศษ เกษสังข์ คุณชลธิชา รักใคร่ คุณปรียพรรณ พงศาพิชญ์ ที่ช่วยแนะนำแนวทางการวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณ คุณวานิช คำพานิช และคุณวันเพ็ญ ศรีชาติ คุณชัยรัตน์ หมั่นการ คุณยุทธนา ประมาณ คุณวิชาญ สมาธิ คุณวิภา เกิดพิพัฒน์ คุณอรนุช นาคะโร คุณสุธรรม คงเอียด คุณจิรวัฒน์ ไกรนรา และคุณอัญชลี ราศี และน้องๆ ในห้องปฏิบัติการที่ช่วยสนับสนุนในการทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

พัฒนา สนธิรัตน, ประไพศรี พิทักไพรวัน, ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์, วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2542. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานโรคพืช กองป้องกันและกำจัดศัตรูพืช กรมส่งเสริมการเกษตร.

นิยมรัฐ ไตรศรี และ ลักษณา วรรณภีร์. 2533 โรคที่สำคัญของกระเจี๊ยบเขียวเพื่อการส่งออก, น. 53-56. ในเอกสารประกอบการสัมมนาปัญหาโรคพืช. สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

นิยมรัฐ ไตรศรี, ลักษณา วรรณภีร์,สิริลักษณ์ โล่ห์สวัสดิ์ และ พัฒนา สนธิรัตน. 2531. ประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคใบจุดกระเจี๊ยบเขียว, น. 112-116. ใน รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2531. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผักไม้ดอกและไม้ประดับ. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา.กรมวิชาการเกษตร.

พิพัฒน์ เซี่ยงหลิว. 2528. โรคราแป้งขาว. วารสารโรคพืช 5(3) : 71-94.

วสันณ์ เพชรรัตน์ และ มานะ กาญจณนเสถียร. 2532. เชื้อรา *Cercospora* สาเหตุโรคพืชในภาคใต้ของประเทศไทย. วารสารโรคพืช 9 (1) : 15-22.

Chadrasrikul, A. 1962. A preliminary host of plant diseases in Thailand. Tech. Bull. No. 9, Dept. of Agr., Bangkok. 14p.

Crop Protection Compendium. 2007. ed. Wallingford, UK: CPC. (http://www.cabicompendium.org/cpc)

Puckdeedindan, P.1966. A supplementary host list of plant diseases in Thailand. Tech. Bull. No. 7, Dept. of Agr., Bangkok.24 p.

การผลิตแอนติซีรัมของเชื้อไวรัส *Potato virus* A
Antiserum Production of *Potato virus* A

สิทธิศักดิ์ แสไพศาล[1/] ชลธิชา รักใคร่[1/] ศรีเมฆ ชาวโพงพาง[2/]
[1/] กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/] มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

บทคัดย่อ

การผลิตแอนติซีรัมของเชื้อไวรัส *potato virus* A (PVA) ทำการสังเคราะห์ดีเอ็นเอในส่วน coat protein gene (CP) ของ *Potato virus* A ขนาด 789 คู่เบส (bp) และต่อเชื่อม (ligation) PCR product เข้าสู่พลาสมิดพาหะ (plasmid vector) โดยนำดีเอ็นเอสังเคราะห์ผสมกับเวคเตอร์ pET 101/D-TOPO® (Invitrogen) และทำการคัดเลือกเฉพาะโคลนที่มีชิ้นดีเอ็นเอส่วนของ CP gene ที่ใส่เข้าไปใน vector นำมาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี miniprep และส่งไปตรวจสอบหาลำดับเบส พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ 789 bp หลังจากนั้น subclone ยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของไวรัส PVA-CP เข้าสู่ protein expression vector (pET 200/D-TOPO) และ transform เข้า *E. coli* Top 10 และขณะนี้กำลังดำเนินการคัดเลือกโคลนที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้ในเซลล์ของ *E. coli* BL21 ในอาหาร 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร และชักนำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีนด้วย Isopropyl-β-D thiogalactopyranoside (IPTG)

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-04-00-10-54

คำนำ

จากการที่ประเทศไทยได้เปิดเขตการค้าเสรีกับหลายประเทศภายใต้หลักเกณฑ์ขององค์การการค้าโลก (World Trade Organization: WTO) ในการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร ประเทศไทยจำเป็นต้องยึดหลักการตามความตกลงว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures: SPS Agreement) มาตรการ SPS Agreement นี้ยึดหลักการทางวิทยาศาสตร์ และการประเมินความเสี่ยงเพื่อปกป้องสินค้าเกษตรจากศัตรูพืชที่ไม่เคยมีมาก่อน ซึ่งประเทศไทยมีการนำเข้าพืชจำนวนมากจากทั่วโลกในแต่ละปีและปัจจุบันประเทศไทยได้มีข้อตกลงเปิดการค้าเสรีกับหลายประเทศ มีการวางข้อกำหนดด้านคุณภาพของสินค้า ความปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมมาเป็นข้อกำหนดการนำเข้าสินค้า ดังนั้นแต่ละประเทศจำเป็นต้องมีข้อมูลด้านวิชาการที่ชัดเจนเพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนการเจรจาตกลงในเรื่องข้อกำหนดในแต่ละเรื่อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้อมูลด้านศัตรูพืชและการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืช ที่จะถูกหยิบยกขึ้นมาเป็นเรื่องการกีดกันทางการนำเข้าได้เป็นอย่างดี ในระยะเวลาที่ผ่านมาประเทศไทยได้มีการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งมากกว่าปีละ 8,000-12,000 ตัน จากหลายประเทศ ทั้งจากประเทศออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา สก๊อตแลนด์ เป็นต้น เนื่องจากประเทศไทยไม่สามารถผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งให้เพียงพอต่อความต้องการของผู้ปลูก แต่จากการนำเข้าหัวพันธุ์จากต่างประเทศมีปัญหาการติดเชื้อไวรัสเข้ามา โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคของไวรัสที่ไม่เคยพบว่ามีรายงานในประเทศไทยมาก่อน จากที่มีการสั่งหัวพันธุ์เข้ามาเป็นจำนวนมากทำให้งานการตรวจจึงมีปริมาณมาก ทำให้การตรวจมีปัญหา ล่าช้า ซึ่งเกิดจากปริมาณตัวอย่างมีมาก และความล่าช้าจากการที่มันฝรั่งพักตัวนานจึงไม่มีหน่ออ่อนไปตรวจ และควรพัฒนาวิธีการตรวจสอบที่สามารถตรวจไวรัสจากหัวพันธุ์โดยตรง รวมทั้งจากต้นที่ปลูกอยู่ในแปลงของเกษตรกร และเพื่อพัฒนาวิธีการตรวจที่แม่นยำ สะดวกและรวดเร็ว จึงมีส่วนสำคัญมาก เพื่อเป็นการป้องกันการนำเข้าเชื้อไวรัสจากต่างประเทศเข้ามาภายในประเทศไทย ดังนั้นการตรวจสอบเชื้อไวรัสจึง จัดว่ามีความจำเป็นเพื่อป้องกันการระบาด และเพื่อสนับสนุนการตรวจวินิจฉัยโรค การจำแนกเชื้อสาเหตุอาจใช้วิธีการทางสรีรวิทยา สัญฐานวิทยา ซึ่งต้องใช้เวลาในการตรวจสอบ

สุรภีและคณะ(2533) ใช้วิธีและขั้นตอนการศึกษาจำแนกชนิดของเชื้อไวรัสของกล้วยไม้และทำการแยกให้ได้ไวรัสที่บริสุทธิ์ นำไปผลิตแอนติซีรัมที่มีคุณภาพที่ดีแล้วทดลองนำวิธีการตรวจสอบแบบ NCM ELISA มาปรับใช้ในการตรวจสอบเชื้อไวรัสที่รวดเร็ว Gray *et.al.* (2003) สำรวจและเก็บตัวอย่างอาการใบด่างจากต้นมันฝรั่ง จำนวน 1,330 ต้น จาก 90 ฟาร์ม 300 ตัวอย่าง เก็บจากต้นมีอาการด่างอย่างชัดเจน และ 1,030 ตัวอย่าง สุ่มจากต้นทั่วๆ ไป และทำการตรวจทางเซรุ่มวิทยากับแอนติซีรัมของไวรัส 6 ชนิด ได้แก่ PVA, PVS, PVX, PVY, PVM และ PLRV ซึ่งในโปรแกรมการผลิตหัวพันธุ์รับรองได้ทำการตรวจสอบไวรัสทั้ง 6 ชนิด เพราะไวรัสทั้ง 6 ชนิดนี้ เป็นเชื้อไวรัสที่พบเสมอในแหล่งปลูกมันฝรั่งในสหรัฐอเมริกา ผลจากการสำรวจพบว่ามีการเข้าทำลายของเชื้อ PVY สูงที่สุดมีการเข้าทำลายถึง 68% และ PVS 61% ส่วน PVX มีเพียง 10 % ส่วนไวรัสอื่นๆ มีน้อยกว่า 1% Salim Khan *at al.* (2003) ได้พัฒนาวิธีจำแนกไวรัสที่รวดเร็ว ในห้องทดลองกับมันฝรั่ง 6 พันธุ์คือ Cardinal, Diamant, Dhera, Multa, Cilena and Sieglinde โดยการปลูกเชื้อไวรัส PVA, PVY, PVV, PVM, PVS, PVX และ PLRV บนต้นมันฝรั่ง แล้วจำแนกด้วยวิธี DAS-ELISA เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ปลูกเชื้อ Tsuda *at al.*(1993) ได้พัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อไวรัสหลายๆชนิดด้วยวิธีรวดเร็ว

(multi RIPA) และตรวจสอบอย่างรวดเร็วเพียง 2 ขั้นตอน บนแผ่นรองรับ แบบ Lateral flow test Hochleitner and Kraus (2002) ได้พัฒนาวิธี Lateral flow test ใช้ Colloidal Gold เป็นวัสดุแสดงปฏิกิริยาในการทำ dipstick ตรวจสอบไวรัสโดยใช้หลักการทางเซรุ่มวิทยา

เพราะฉะนั้นวิธีการทางเซรุ่มวิทยาจึงเป็นวิธีที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะการผลิตแอนติซีรัมที่มีความจำเพาะเจาะจงสูงกับเชื้อ จึงเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง เพื่อนำไปใช้ในการตรวจสอบเชื้อสาเหตุได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวดเร็ว ถูกต้องและแม่นยำ และสามารถนำไปพัฒนาเป็นชุดตรวจไวรัสต่อเชื้อนั้นๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมถึงหัวพันธุ์มันฝรั่งเพื่อให้ได้ต้นพันธุ์หรือหัวพันธุ์ที่มีคุณภาพและปลอดโรค และเพื่อเป็นการพัฒนาคุณภาพการผลิตในประเทศไทยให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- ยีนสังเคราะห์ ในส่วน coat protein gene (CP) ของ Potato virus A
- พลาสมิดพาหะ (cloning และ expression vectors)
- อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในขั้นตอนของการโคลนยีน
- กระต่าย อุปกรณ์และสารเคมีในการผลิตแอนติซีรัม
- อุปกรณ์และสารเคมีในการตรวจสอบเชื้อ โดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา

วิธีการ

1. การโคลนยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส (coat protein gene, CP)

1.1 สังเคราะห์ดีเอ็นเอและต่อเชื่อม (ligation) PCR product เข้าสู่ พลาสมิดพาหะ (plasmid vector)

ดำเนินการสังเคราะห์ดีเอ็นเอในส่วนของ coat protein gene (CP) ของ Potato virus A ขนาด 789 คู่เบส (bp) และทำการต่อเชื่อม (ligation) PCR product เข้าสู่พลาสมิดพาหะ (plasmid vector) โดยนำดีเอ็นเอสังเคราะห์ผสมกับเวคเตอร์ pET 101/D-TOPO® (Invitrogen) 1 ไมโครลิตร และ salt solution 1 ไมโครลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที จากนั้นเติม competent cell 50 ไมโครลิตร (*E. coli*, DH5α) แช่ในน้ำแข็ง นาน 30 นาที แล้วทำการ heat shock cell โดยการแช่หลอดในน้ำที่มีอุณหภูมิ 42 °ซ นาน 90 วินาที ก่อนย้ายไปแช่บนน้ำแข็งทันที อีก 5 นาที เติมอาหาร 2XYT ปริมาตร 200 ไมโครลิตร นำไปเขย่าที่ 37 °ซ นาน 60 นาที ดูดมา 5 ไมโครลิตร และเทแผ่ (spread) ลงบนอาหารแข็ง 2XYT Agar (ที่มี ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร) บ่มที่ 37 °ซ ข้ามคืน

1.2 การสกัดโคลนของพลาสมิด

คัดเลือกโคโลนีสีขาวบนอาหารแข็ง 2XYT โดยใช้ไม้จิ้มฟันที่ปราศจากเชื้อ แล้วนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว 2XYT (มี ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร ผสมอยู่) เขย่าด้วยความเร็ว 170 รอบต่อนาที ที่ 37 °ซ ข้ามคืน นำเชื้อที่อยู่ในอาหารเหลว 1 มิลลิลิตร มาหมุนเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที เก็บตะกอนที่ได้มาละลายใน Solution I (25 mM Tris HCl pH 8.0, 50 mM glucose และ 10 mM EDTA) 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วเติม Solution II (0.2 N NaOH, 1% SDS) 400 ไมโครลิตร เขย่าหลอดก่อนที่จะเติม Solution III (3 M potassium acetate pH 5.2) 3000 ไมโครลิตร และ chloroform : isoamyl alcohol (24:1) 200 ไมโครลิตร เขย่าและแช่บนน้ำแข็ง 10

นาที แล้วนาไปหมุนเหวี่ยง ที่ 14,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที นำส่วนของน้ำใสมาเติมด้วยหนึ่งเท่าโดยปริมาตรของ isopropanol และนาไปหมุนเหวี่ยง ที่ 14,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ล้างตะกอนที่ได้ด้วย 70% ethanol และหมุนเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็วรอบและเวลาเท่าเดิม แล้วละลายตะกอนพลาสมิดด้วยน้ำ (มี RNase 2% ผสมอยู่) 50 ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่ 37 °ซ นาน 30 นาที แล้วจึงนำพลาสมิดที่สกัดได้ส่งตรวจเพื่อหาลาดับนิวคลีโอไทด์ โดยใช้ไพรเมอร์ T7F และ T7R เพื่อตรวจสอบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์มีการกลับทิศหรือไม่ จากนั้น transform เข้า competent cell ของ *E. coli* BL21 (DES 3) โดยใช้ $CaCl_2$ ที่ 42 °ซ นาน 90 วินาที และแช่บนน้ำแข็งทันที นาน 3 นาที คัดเลือกโคโลนีของพลาสมิดบนอาหาร 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร เพื่อนำไปสังเคราะห์โปรตีนในขั้นตอนต่อไป

2. การวิเคราะห์ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการชักนาการสังเคราะห์ recombinant proteinในเซลล์แบคทีเรีย

เลี้ยงแบคทีเรีย *E. coli* BL21 (DES 3) ที่มีพลาสมิดสายผสม pET 101/D-TOPO®-*cp* ในอาหารเหลว 2XYT 100 มิลลิลิตร ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร เขย่า 170 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง เพื่อใช้เป็น starter จากนั้นแบ่งใส่ในอาหารเหลว 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร ในอัตราส่วนของเชื้อ 10% ของอาหารเขย่าต่ออีก 2 ชั่วโมง จากนั้นเติม Isopropyl-β-D thiogalactopyranoside (IPTG) ในอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1 มิลลิโมลาร์ เลี้ยงเชื้อต่อโดยการเขย่าบนเครื่อง shaker และเก็บตัวอย่างเซลล์หลังการเติม IPTG ที่ 2 4 6 8 และ 24 ชั่วโมง ครั้งละ 1 มิลลิลิตร นามาปั่นตกตะกอน ที่ 10,000 รอบ/นาที นาน 2 นาที ละลายตะกอนเซลล์ด้วยน้าที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 50 ไมโครลิตร และเก็บไว้ที่ -20 °ซ จากนั้นแล้วเติม 2xSDS-PAGE sample buffer (0.125 Tris-HCl pH 6.8, 20% glycerol, 4% SDS, 0.02% bromophenol blue R250, 5% β-Mercaptoethanol) 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน และนำไปต้มในน้ำเดือด นาน 10 นาที แล้วนำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์โปรตีนด้วยเทคนิค SDS-PAGE (Laemmli, 1970)

3. การแยกโปรตีนของเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วย Ni-NTA column

นำแบคทีเรีย *E. coli* BL21 (DES 3) ที่มีพลาสมิดสายผสม pET160/GW/D-TOPO®-*cp* หลังจากเลี้ยงในอาหารเหลว 2XYT ที่เวลาอันเหมาะสมในการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีน มาปั่นตกตะกอนที่ 8,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที (4 °ซ) นำตะกอนมาผสมกับน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (ตะกอน 1 กรัม/น้ำ 10 มิลลิลิตร) จากนั้นเติม lysozyme เพียงเล็กน้อยประมาณเท่าหัวไม้ขีดไฟ (ต่ออาหารเหลว 1 ลิตร) และกวนให้เข้ากันจนเหนียว เก็บที่ -20 °ซ ข้ามคืน จากนั้นนำมาเติมด้วย lysis buffer (Buffer B:50 mM NaH2PO4·H2O, 10 mM Tris-HCl (MW=121.1) และ 8 M Urea, pH 8.0) ในอัตรา 50 มิลลิลิตร/อาหารเหลว 1 ลิตร และนำมาทาให้เซลล์แตกด้วยเครื่อง sonicator แบบ probe (power 45-50, cycle 50%) ครั้งละ 5 นาที จนกว่าเซลล์จะหายหนืดและใส แล้วนำไปปั่นที่ 10,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที (4 °ซ) เก็บน้ำใสไปแยกโปรตีนให้บริสุทธิ์ด้วย Ni-NTA column (อัตรา 2 มิลลิลิตร/อาหารเหลว 1 ลิตร) เริ่มจากการล้าง column หลังแพ็คแล้ว ด้วย buffer B จากนั้นเทส่วนน้ำใสให้ผ่าน column และล้าง column ด้วย buffer C (pH 6.3) และ

buffer D (pH 5.9) ก่อนที่จะใส่ buffer E (pH 3.9) เพื่อแยกโปรตีนออกจากเจลใน column เก็บเป็น fraction หลอดละ 500 ไมโครลิตร เพื่อนาไปตรวจสอบขนาดของโปรตีนว่าอยู่ใน fraction ใด โดยเทคนิค SDS-PAGE และคำนวณปริมาณโปรตีนที่ผ่าน column โดยใช้สูตรของ Bradford's

4. การผลิตแอนติซีรัมในสัตว์ทดลอง

ผสมโปรตีนของเชื้อที่บริสุทธิ์ (1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) กับ complete Freund's adjuvant ในอัตรา 1:1 ให้เข้ากันเป็น emulsion สำหรับการฉีดกระต่ายครั้งแรก และใช้ incomplete Freund's adjuvant ในอัตรา 1:1 สำหรับการฉีดครั้งต่อๆ ไปอีก 4 ครั้ง การฉีดทุกครั้งเป็นการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง (subcutaneous) บริเวณคอ ประมาณ 4-5 จุดต่อการฉีดแต่ละครั้ง ทำการฉีดทุก 2 สัปดาห์ เริ่มทำการเจาะเลือดที่เส้นเลือดบริเวณใบหู หลังจากการฉีดครั้งที่ 2 และดำเนินการเจาะเลือดทุก 1 สัปดาห์อีก 6 ครั้ง น้ำเลือดที่เจาะได้มาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง ก่อนนำไปเก็บที่ 4 °ซ อีก 24 ชั่วโมง รินส่วนน้ำใสมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 8000 g นาน 10 นาที เก็บน้ำใสที่เป็นส่วนของแอนติบอดีไว้ที่ -80 °ซ จากนั้นทำการทดสอบและหาค่าไทเทอร์ (titer) ของแอนติซีรัม โดยวิธี Indirect ELISA เริ่มจากการหยอดแอนติเจน (recombinant protein 10 นาโนกรัม/ไมโครลิตร) หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37 °ซ นาน 1 ชั่วโมง แล้วล้างด้วย PBS-T buffer (PBS + 0.05% Tween 20) 3 ครั้ง แล้วนำมาเติมด้วย Blocking buffer (1% BSA ใน PBS-T) หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37 °ซ นาน 1 ชั่วโมง แล้วล้างอีก 3 ครั้ง ใส่แอนติบอดีที่ได้จากการเจาะเลือดกระต่าย 6 ครั้ง โดยทำการเจือจางจาก 1:10 ถึง 1:1,000,000 หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37 °ซ นาน 1 ชั่วโมง ล้างเพลทอีก 3 ครั้งก่อนนำมาหยอดด้วย Goat anti-rabbit IgG ที่ติดฉลากด้วย alkaline phosphatase เจือจาง 1:2000 หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37 °ซ นาน 1 ชั่วโมง ล้างเพลทอีก 3 ครั้งก่อนนำมาซับสเตรท p-nitrophenyl phosphstase หลุมละ 100 ไมโครลิตร อ่านผลด้วยเครื่องอ่าน ELISA ที่ค่าความดูดกลืนแสง 405 นาโนเมตร

5. การทดสอบประสิทธิภาพของแอนติซีรัมที่ผลิตได้

การตรวจสอบโรค *Potato virus* A โดยวิธี Indirect ELISA เริ่มจากนำ positive ของ PVA มาบดใน coating buffer ในอัตรา 1 กรัม : 5, 10, 15 มิลลิลิตร แล้วหยอดลงในหลุมของไมโครเพลท (microplate) 100 ไมโครลิตร/หลุม บ่มที่ 37 °ซ นาน 1-2 ชั่วโมง แล้วนำไมโครเพลทมาล้างด้วย phosphate buffer saline ที่มี tween 20 ผสมอยู่ (PBS-Tween 20) 3 ครั้งๆละ 3 นาที หยอดแอนติซีรัมจากการเลือดครั้งที่ 5 ที่เจือจางใน conjugate buffer 1:100 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร/หลุม บ่มที่ 37 °ซ นาน 1 ชั่วโมง ล้างไมโครเพลทด้วย PBS-Tween 20 จานวน 3 ครั้งๆละ 3 นาที แล้วหยอด Goat-Anti Rabbit อัตรา 1: 2,000 ใน conjugate buffer 100 ไมโครลิตร/หลุม บ่มที่ 37 °ซ นาน 1 ชั่วโมง นำเพลทมาล้างอีก 3 ครั้งใน PBS-Tween 20 แล้วหยอด p-nitrophenyl phosphatase substrate (5 มิลลิกรัม/ substrate buffer 10 มิลลิลิตร) หลุมละ 100 ไมโครลิตร และอ่านผลด้วยเครื่องอ่านอิไลซา (ELISA Reader) โดยใช้เพลทชนิด polysorp microplate ของ Nunc

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2556 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2558
สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การโคลนยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส (coat protein gene, CP)

สังเคราะห์ดีเอ็นเอในส่วนของ coat protein gene (CP) ของ Potato virus A ได้ดีเอ็นเอสังเคราะห์ ขนาด 789 คู่เบส (bp) และทำการต่อเชื่อม (ligation) PCR product เข้าสู่ พลาสมิดพาหะ (plasmid vector) โดยนำดีเอ็นเอสังเคราะห์ผสมกับเวคเตอร์ pET 101/D-TOPO® (Invitrogen) 1 ไมโครลิตร ทำการตรวจสอบโคลนต่างๆ ของพลาสมิด pET 101/D-TOPO® (Invitrogen ขนาด 5753 bp) หลังต่อเชื่อมกับ PCR product (789 bp) โดยการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นดีเอ็นเอสังเคราะห์ของเชื้อไวรัส PVA ด้วยเครื่อง Sequencer พบว่าเป็นลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของไวรัส PVA-CP

2. การวิเคราะห์ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการชักนาการสังเคราะห์ recombinant protein ในเซลล์แบคทีเรีย

หลังจากการเติมสาร IPTG เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการแสดงออกของยีน จากนั้นทำการเก็บเซลล์ที่ 2 4 6 8 และ 24 ชั่วโมง เมื่อนำมาตรวจหาระยะเวลาที่เริ่มมีการสังเคราะห์โปรตีนตั้งแต่ 4 ชั่วโมง และพบมากที่สุดที่ 8 ชั่วโมง โดยใช้เทคนิค SDS-PAGE พบ band ที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 25 กิโลดาลตัน

3. การแยกโปรตีนของเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วย Ni-NTA column

จากการตรวจปริมาณโปรตีนหลังการแยกให้บริสุทธิ์ด้วย Ni-NTA column ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ปรากฏว่า เริ่มพบ band ขนาด 25 กิโลดาลตัน ตั้งแต่ fraction ที่ 2-13 (F2-F13) แต่มีปริมาณโปรตีนสูงตั้งแต่ F3-F6 และจากการคำนวณหาปริมาณโปรตีนที่สังเคราะห์ได้ พบว่ามีปริมาณ 1.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งนำไปผสมกับ Freund's adjuvant ครั้งละ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การผลิตแอนติซีรัมเพื่อใช้ในการตรวจสอบเชื้อไวรัส *potato virus* A (PVA) โดยทำการสังเคราะห์ดีเอ็นเอในส่วน coat protein gene (CP) ของ *Potato virus* A ขนาด 789 คู่เบส (bp) และทำการต่อเชื่อม (ligation) PCR product เข้าสู่พลาสมิดพาหะ (plasmid vector) โดยนำดีเอ็นเอสังเคราะห์ผสมกับเวคเตอร์ pET 101/D-TOPO® (Invitrogen) และทำการคัดเลือกเฉพาะโคลนที่มีชิ้นดีเอ็นเอส่วนของ CP gene ที่ใส่เข้าไปใน vector นำมาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี miniprep และส่งไปตรวจสอบลำดับเบส พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ 789 bp หลังจากนั้น subclone ยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของไวรัส PVA-CP เข้าสู่ protein expression vector (pET 200/D-TOPO) และ transform เข้า E. coli Top 10 และขณะนี้กำลังดำเนินการคัดเลือกโคลนที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้ในเซลล์ของ E.

coli BL21 ในอาหาร 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร โดยทำการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีนด้วย Isopropyl-β-D thiogalactopyranoside (IPTG)

เอกสารอ้างอิง

สุรภี กีรติยะอังกูร กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร นวลจันทร์ ดีมา. 2533. การผลิตแอนติซีรัมและการตรวจสอบโรค Cymbidium mosaic virus ของหวายลูกผสมและสาวน้อยเต้นระบำ. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2532. กองโรคพืชและ จุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า 115-122.

Gray, S., K. Perry and P. Baldauf. 2003. Report of 2003 Research activities funded by the Maine Potato Board. Hochleitner,K. and Kraus, H. (2002) Introductory Workshop on Rapid Diagnostic Tests. BGM Company. Bangkok Thailand. 180 pp.

Salim Khan M., M. I. Hoque, R. H. Sarker and H.-P. Muehlbach. 2003. Detection of Important Plant Viruses in In vitro Regenerated Potato Plants by Double Antibody Sandwich Method of ELISA. Plant Tissue Cult. 13(1) : 21-29, 2003.

Tsuda,S.,Kameya-Iwaki,M.,Hanada,K.,Fujisawa,I. And Tomaru,K. 1993. Simultaneous Diagnosis for Plant Infected with Multiple Viruses Employing Rapid Immunofilter Paper Assay (RIPA) with two step Method; Multi RIPA. Annaul Phytopathology

การพัฒนาเทคนิคการตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* ด้วยวิธี PCR-ELISA

Development of PCR-ELISA for detecting *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*

วันเพ็ญ ศรีชาติ[1/] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[2/] ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์[2/]
กาญจนา วาระวิชะนี[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ในการตรวจสอบเชื้อ *A.avenae* subsp. *citrulli* ได้รับเชื้อจำนวน 2 ไอโซเลท ที่แยกได้จากผลแตงโม โดยไพรเมอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบมี จำนวน 2 คู่ ได้แก่ WFB1 (F) 5'-GAC CAG CCA CAC TGG GAC-3'/WEB2 (R) 5'-CTG CCG TAC TCC AGC GAT-3' และ WFBA (F) 5'-CGA CCA GCC ACA CTG GGA -3'/ WFBA (R) 5'- CCT CTG CCG TAC TCC AGC G-3' ส่วน Probe จำนวน 1 เส้น คือ 5'-BIO-CCG TAA GAA TAA GCA CCG GC-3' และจากการตรวจสอบประสิทธิภาพของลำดับเบสของไพรเมอร์ (primer) ไพรเมอร์ทั้ง 2 คู่ สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอของเชื้อ *A.avenae* subsp. *citrulli* ที่ความเข้มข้น 10^7 cfu/ml ได้ชัดเจน โดยเฉพาะ ไพรเมอร์คู่ WFBA (F)/WFBA (R) สามารถตรวจพบแถบดีเอ็นเอได้ชัดเจนกว่าไพรเมอร์คู่ WFB1 (F) / WEB2 (R) ในส่วนของการติดฉลากด้วยสาร digoxigenin (DIG) กับไพรเมอร์และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* และชุดควบคุม ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ พบว่า ได้ PCR product ของสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 9 ตัวอย่าง ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 1, 10, 10^2, 10^3, 10^4, 10^5, 10^6, 10^7 และ 10^8 cfu/ml และชุดควบคุม จำนวน 2 ตัวอย่าง คือ positive control และ negative control

---

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-04-00-02-56

คำนำ

โรคผลเน่า (Bacterial fruit blotch) ของพืชสกุลแตง สาเหตุเกิดจากเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Aac.) เดิมคือเชื้อ *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* ซึ่งเชื้อนี้สามารถถ่ายทอดโรคทางเมล็ดพันธุ์ได้ ในประเทศไทยมีรายงานพบโรคนี้ครั้งแรกในปี พ.ศ. 2534 ในพื้นที่ปลูกแตงโมในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ที่สำคัญเพื่อส่งออกไปจำหน่ายยังหลายประเทศ ในการส่งออกต้องมีการรับรองการปลอดเชื้อโรคศัตรูพืชที่สำคัญตามเงื่อนไขของประเทศปลายทาง โรคนี้เป็นปัญหาสำคัญในการผลิตและส่งออกเมล็ดพันธุ์ของพืชสกุลแตงไปยังต่างประเทศ จากการศึกษาวิธีการตรวจสอบเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* ในเมล็ดพันธุ์แตงโมด้วยวิธี Immunomagnetic separation และ PCR โดยการสังเคราะห์ไพรเมอร์จากยีน 16S rRNA ซึ่งเทคนิคการตรวจสอบด้วยวิธีนี้สามารถตรวจจากน้ำล้างเมล็ดแตงโมที่มีความเข้มข้นของเชื้อ 10 cfu/ml และตรวจสอบกับเมล็ดที่มีการปนเปื้อนเชื้อ 0.1% ได้ (Walcott, et al, 2000) ซึ่งการตรวจสอบเชื้อสาเหตุเพื่อให้มั่นใจและสามารถตรวจกับตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนของเชื้อในปริมาณที่น้อย เช่น การปนเปื้อนในเมล็ดพันธุ์ การใช้เทคนิค PCR ร่วมกับ ELISA เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพและความสามารถในการตรวจสอบเชื้อสาเหตุโรคผลเน่าเพื่อเป็นการยืนยันการรับรองเมล็ดพันธุ์เพื่อการส่งออกได้ อีกทั้งสามารถ นำเทคนิคการตรวจสอบดังกล่าวไปปรับใช้กับการตรวจสอบเชื้อโรคที่เป็นศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์อื่นๆ ได้อย่างมีประสิทธภาพต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ชุดสารเคมี พีซีอาร์ อิไลซ่า ดิกเลเบลลิ่ง
2. สารเคมีที่ใช้ในการทำพีซีอาร์ ไพรเมอร์ โพรบ
3. ตัวอย่างเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*
4. อาหารเลี้ยงเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*
5. วัสดุและเครื่องมือวิทยาศาสตร์ เช่น เครื่องแก้ว ไปเปรตดูดสาร อีไลซ่ารีดเดอร์ เป็นต้น
6. ชุด ELISA Kit สำหรับตรวจเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* ของ Agdia
7. ชุดตรวจสอบของ**สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ**

วิธีการ

1. การเตรียมเชื้อ *A.avenae* subsp. *citrulli*

1.1 ไอโซเลทเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli*

ทำการขอความอนุเคราะห์เชื้อ *A.avenae* subsp. *citrulli* จากคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และจากกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เพื่อใช้เป็นเชื้อทดสอบต่อไป

1.2 การเพิ่มปริมาณเชื้อ และการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อ *A.avenae* subsp. *citrulli*

ทำการเพิ่มปริมาณ เชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* โดยทำการเกลี่ยขยายเชื้อบนอาหาร Nutrient agar แล้วทำการบ่มเชื้อในอุณหภูมิห้อง นาน 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ รวบรวมสารแขวนลอยแบคทีเรียใส่ในบีกเกอร์ฆ่าเชื้อแล้ว ดูดสารแขวนลอยแบคทีเรียปริมาตร 100 µl ใส่ในจานหลุมอิไลซ่าแล้วนำไปตรวจด้วยเครื่อง

อ่านอิไลซ่า ที่ความยาวคลื่น 600 (OD_{600}) ให้ได้ค่า 0.6 ซึ่งจะได้ความเข้มข้นของสารแขวนลอยแบคทีเรียเท่ากับ 10^8 cfu/ml หลังจากนั้น ดูดสารแขวนลอยแบคทีเรียใส่ในหลอด ปริมาตร 1 ml แล้วจึงนำหลอดที่ได้ใส่ใน Digestion heat block อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 10 นาทีแล้วนำหลอดแช่ในน้ำแข็งทันที นาน 10 นาที หลังจากนั้นเก็บหลอดสารแขวนลอยแบคทีเรียในตู้เย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำสารเขวนลอยแบคทีเรียใช้เป็น DNA template ทดสอบ ไพรเมอร์ต่อไป

2. การออกแบบและสังเคราะห์ลำดับเบสของไพรเมอร์ (primer) และการหาลำดับดีเอ็นเอตัวตรวจ (probe) ที่ใช้ในการตรวจสอบเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* ด้วยเทคนิค PCR-ELISA

2.1 การคัดเลือกลำดับเบสของไพรเมอร์ (primer) และลำดับเบสดีเอ็นเอตัวตรวจ (probe)

ทำการสืบค้นข้อมูลลำดับเบสของไพรเมอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบเชื้อ *A.avenae* subsp. *citrulli* แล้วนำไปทำการ Blast ใน เว็ปไซท์ (http://ncbi.nlm.nih.gov.) เพื่อหาลำดับเบสในตำแหน่ง PCR Product แล้วทำการเลือกลำดับเบสตรงกลางของ PCR Product เพื่อนำไปออกแบบ ดีเอ็นเอตัวตรวจ (probe) สำหรับใช้ตรวจสอบในขั้นตอน ELISA และทำการสั่งสังเคราะห์ไพรเมอร์และดีเอ็นเอ ตัวตรวจกับบริษัท

2.2 การตรวจสอบประสิทธิภาพของลำดับเบสของไพรเมอร์ (primer)

ทำการเตรียม PCR Mixer จำนวน 1 reaction (10x Taq buffer ปริมาตร 2.5 µl , 2 mM dNTP mix ปริมาตร 2.5 µl, 25mM $MgCl_2$ ปริมาตร 1.5 µl, 10 µM forward primer ปริมาตร 0.63 µl, 10 µM reverse primer ปริมาตร 0.63 µl, nuclease-free water ปริมาตร 16.04 µl, Taq DNA polymerase 5u/µl ปริมาตร 0.2 µl, DNA template ปริมาตร 1 µl (ตัวอย่างของเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* จำนวน 2 ความเข้มข้น คือ 10^7 และ 10^8 cfu/ml) total volume 25 µl) ทำปฏิกิริยา PCR ตามขั้นตอนดังนี้

ปฏิกิริยา	อุณหภูมิ	เวลา
1. แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบเริ่มต้น (initial denaturing)	95 °C	5 นาที
2. แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบ (denaturing)	95 °C	30 วินาที
3. ดีเอ็นเอเริ่มต้นจับคู่กับดีเอ็นเอแม่แบบ (annealing)	65 °C	30 วินาที
4. สังเคราะห์ดีเอ็นเอต่อจากดีเอ็นเอเริ่มต้น (extension)	72 °C	30 วินาที
5. สังเคราะห์ดีเอ็นเอรอบสุดท้าย (final extension)	72 °C	5 นาที

โดยทำปฏิกิริยาขั้นตอนที่ 2-4 เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ทั้งหมด 30 รอบ หยุดปฏิกิริยาที่ 4 องศาเซลเซียส ทำการตรวจวิเคราะห์ขนาดดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณ หลังจากทำปฏิกิริยาพีซีอาร์แล้ว นำ PCR product มาแยกขนาดด้วยวิธีอิเล็กโตโฟรซีสบน agarose gel ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ใช้ดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 100 bp. เป็นตัวเปรียบเทียบ ทำการ run ภายใต้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ (V) นาน 40 นาที แล้วจึงตรวจสอบแผ่นเจล โดยนำไปส่องดูภายใต้เครื่อง UV transilluminators ที่ความยาวคลื่น 312 นาโนเมตร พร้อมทำการบันทึกภาพ

3. การตรวจสอบเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* ด้วยเทคนิค PCR-ELISA

3.1 การเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli*

ทำการเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 9 ความเข้มข้น ได้แก่ 1, 10, 10^2, 10^3, 10^4, 10^5, 10^6, 10^7 และ 10^8 cfu/ml โดยเตรียมหลอดละ 1 มิลลิลิตร แล้วจึงนำหลอดของสารแขวนลอยแบคทีเรียที่ได้ใส่ใน Digestion heat block อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วย้ายหลอดแช่ในน้ำแข็งทันที นาน 10 นาที หลังจากนั้นเก็บหลอดสารแขวนลอยแบคทีเรียในตู้เย็น อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็น DNA template ทดสอบต่อไป

3.2 การติดฉลากด้วยสาร digoxigenin (DIG) กับไพรเมอร์และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* และชุดควบคุม ด้วยเทคนิคพีซีอาร์

3.2.1 การติดฉลากด้วยสาร digoxigenin (DIG) กับไพรเมอร์และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* ด้วยเทคนิคพีซีอาร์

ทำการเตรียมสารเคมีที่ได้จากชุดตรวจสอบ ซึ่งมีการเติมสาร DIG ร่วมกับสารละลายที่ใช้ในกระบวนการพีซีอาร์ และนำหลอดสารละลายเข้าเครื่องพีซีอาร์ เพื่อเพิ่มปริมาณลำดับเบสเป้าหมาย โดยการเตรียม PCR Mixer จำนวน 1 reaction (10x PCR reaction buffer without $MgCl_2$ ปริมาตร 10 µl, 25 mM $MgCl_2$ ปริมาตร 6 µl, 2mM PCR DIG labeling mix ปริมาตร 10 µl, 10 µM forward primer ปริมาตร 2.5 µl, 10 µM reverse primer ปริมาตร 2.5 µl, nuclease-free water ปริมาตร 64.5 µl, Taq polymerase 5 u/µl ปริมาตร 0.5 µl, DNA template ปริมาตร 4 µl (ส่วนหลอดที่เป็น Negative control ให้เติม nuclease-free water แทน DNA template ปริมาตร 4 µl) total volume 100 µl) ทำปฏิกิริยา PCR ตามขั้นตอนดังนี้

ปฏิกิริยา	อุณหภูมิ	เวลา
1. แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบเริ่มต้น (initial denaturing)	95 °C	5 นาที
2. แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบ (denaturing)	95 °C	30 วินาที
3. ดีเอ็นเอเริ่มต้นจับคู่กับดีเอ็นเอแม่แบบ (annealing)	65 °C	30 วินาที
4. สังเคราะห์ดีเอ็นเอต่อจากดีเอ็นเอเริ่มต้น (extension)	72 °C	30 วินาที
5. สังเคราะห์ดีเอ็นเอรอบสุดท้าย (final extension)	72 °C	5 นาที

โดยทำปฏิกิริยาขั้นตอนที่ 2-4 เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ทั้งหมด 30 รอบ หยุดปฏิกิริยาที่ 4 องศาเซลเซียส

3.2.2 การติดฉลากด้วยสาร digoxigenin (DIG) กับไพรเมอร์และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอชุดควบคุม ด้วยเทคนิคพีซีอาร์

ทำการเตรียมสารเคมีที่ได้จากชุดตรวจสอบ ซึ่งมีการเติมสาร DIG ร่วมกับสารละลายที่ใช้ในกระบวนการพีซีอาร์ และนำหลอดสารละลายเข้าเครื่องพีซีอาร์ เพื่อเพิ่มปริมาณลำดับเบสเป้าหมาย โดยการเตรียม PCR Mixer จำนวน 1 reaction (10x PCR reaction buffer without $MgCl_2$ ปริมาตร 10 µl, 25 mM $MgCl_2$ ปริมาตร 4 µl, 2mM PCR DIG labeling mix ปริมาตร 10 µl, 125 pmol Control primer ปริมาตร 10 µl, nuclease-free water ปริมาตร 55.5 µl, Taq polymerase 5 u/µl ปริมาตร 0.5 µl, Human control DNA 3 ng/ µl ปริมาตร 10 µl (ส่วนหลอดที่เป็น Negative control ให้เติม nuclease-free water แทน DNA template ปริมาตร 10 µl) total volume 100 µl) ทำปฏิกิริยา PCR ตามขั้นตอนดังนี้

ปฏิกิริยา	อุณหภูมิ	เวลา
1. แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบเริ่มต้น (initial denaturing)	95 °C	5 นาที
2. แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบ (denaturing)	95 °C	45 วินาที
3. ดีเอ็นเอเริ่มต้นจับคู่กับดีเอ็นเอแม่แบบ (annealing)	60 °C	1 นาที
4. สังเคราะห์ดีเอ็นเอต่อจากดีเอ็นเอเริ่มต้น (extension)	72 °C	2 นาที
5. สังเคราะห์ดีเอ็นเอรอบสุดท้าย (final extension)	72 °C	10 นาที

โดยทำปฏิกิริยาขั้นตอนที่ 2-4 เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ทั้งหมด 30 รอบ หยุดปฏิกิริยาที่ 4 องศาเซลเซียส

3.3 การตรวจสอบ PCR product ของเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* และชุดควบคุมด้วยเทคนิค ELISA

ทำการตรวจสอบการติดฉลากของ DIG ใน PCR product ของเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* และชุดควบคุม โดยนำ PCR product ที่ได้จากข้อ 3.2.1 และ 3.2.2 นำมาตรวจสอบกับจานหลุม ELISA ที่มีการเคลือบสาร streptavidin แล้วทำ hybridization เชื่อมต่อ probe ที่ติดด้วยสารไบโอติน โดยทดสอบตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

3.3.1 เตรียมหลอด PCR product ได้แก่ ชุดควบคุม เชื้อทดสอบ และ Negative Control ดูดสารละลายจากหลอด PCR ตัวอย่างละ 5 µl ใส่ลงในหลอดขนาด 1.5 ml. แล้วเติมสาร Denaturation solution หลอดละ 20 µl และทำการผสมสารละลายให้เข้ากัน แล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงพอให้สารละลายผสมกัน หลังจากนั้นนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 10-25 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

3.3.2 เติมสาร Hybridization solution ในหลอดข้อที่ 3.3.1 หลอดละ 225 µl แล้วทำการผสมสารละลายด้วยเครื่อง vortex

3.3.3 ทำการดูดสารละลายที่เตรียมไว้แต่ละหลอดลงในจานหลุม ELISA (MTP strip) หลุมละ 200 µl ปิดปากจานหลุมด้วยเทปกาว แล้วนำไปบ่มไว้ใน water bath shaker อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่ความเร็ว 70 รอบต่อนาที นาน 3 ชั่วโมง

3.3.4 ทำการเตรียมสาร Anti-DIG-POD working solution : Conjugate dilution buffer เท่ากับ 1 vol : 99 vol. โดยเก็บไว้ที่มืด

3.3.5 เทสารละลายในข้อ 3.3.3 ทิ้งในอ่างล้าง และทำการล้างหลุม MTP strip ด้วย washing solution 3-5 ครั้ง ครั้งละ 250 µl ต่อหลุม ครั้งสุดท้ายของการล้างให้ตบจานหลุมให้แห้งบนกระดาษ

3.3.6 เติมสารละลายในข้อ 3.3.4 ที่เตรียมไว้ หลุมละ 200 µl และปิดปากจานหลุมด้วยเทปกาว แล้วห่อจานหลุมด้วยฟอยด์ และบ่มไว้ที่ water bath shaker อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว 70 รอบต่อนาที นาน 30 นาที

3.3.7 เตรียมสารละลาย ABTS substrate solution ใช้ 1 เม็ด ของ ABTS ต่อ substrate buffer ปริมาตร 5 ml. โดยเก็บสารละลายไว้ในที่มืด

3.3.8 ล้างจานหลุมเหมือนในข้อ 3.3.5

3.3.9 เติมสารละลาย ABTS ใส่ในหลุมหลุมละ 200 µl ปิดปากจานหลุมด้วยเทปกาว และห่อด้วยฟอยด์ บ่มไว้ที่ water bath shaker อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว 70 รอบต่อนาที นาน 30 นาที

3.3.10 นำจานหลุม วัดค่าด้วยเครื่อง ELISA reader ที่ค่าความยาวคลื่น 405 nm. ทำการบันทึกผล

4. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการตรวจสอบ เชื้อ *A.avenae subsp. citrulli* ด้วยเทคนิคอื่นๆ ที่ระดับความเจือจางต่างๆ

ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการตรวจสอบเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* ด้วยเทคนิคอื่นๆ ที่ระดับความเจือจางต่างๆ ดังต่อไปนี้

4.1 การตรวจสอบเชื้อ *A.avenae* subsp. *citrulli* ด้วยเทคนิค direct-PCR

ทำการเตรียม PCR Mixer จำนวน 1 reaction (10x Taq buffer ปริมาตร 2.5 µl, 2mMdNTP mix ปริมาตร 2.5 µl, 25mM $MgCl_2$ ปริมาตร 1.5 µl, 10 µM forward primer ปริมาตร 0.63 µl, 10 µM reverse primerปริมาตร 0.63 µl, nuclease-free water ปริมาตร 16.04 µl, Taq DNA polymerase 5u/µl ปริมาตร 0.2 µl, DNA template ปริมาตร 1 µl (ตัวอย่างของเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* จำนวน 9 ความเข้มข้น) total volume 25 µl) ทำปฏิกิริยา PCR ตามขั้นตอนดังนี้

ปฏิกิริยา	อุณหภูมิ	เวลา
1. แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบเริ่มต้น (initial denaturing)	95 °C	5 นาที
2. แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบ (denaturing)	95 °C	30 วินาที
3. ดีเอ็นเอเริ่มต้นจับคู่กับดีเอ็นเอแม่แบบ (annealing)	65 °C	30 วินาที
4. สังเคราะห์ดีเอ็นเอต่อจากดีเอ็นเอเริ่มต้น (extension)	72 °C	30 วินาที
5. สังเคราะห์ดีเอ็นเอรอบสุดท้าย (final extension)	72 °C	5 นาที

โดยทำปฏิกิริยาขั้นตอนที่ 2-4 เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ทั้งหมด 30 รอบ หยุดปฏิกิริยาที่ 4 องศาเซลเซียส และทำการตรวจวิเคราะห์ขนาดดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณ หลังจากทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ด้วยวิธีอิเล็กโตโฟรซีสบน agarose gel ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ ใช้ดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 1 kb เป็นตัวเปรียบเทียบ ทำการ run ภายใต้กระแสไฟฟ้า 100V นาน 40 นาที แล้วจึงตรวจสอบแผ่นเจล โดยนำไปส่องดูภายใต้เครื่อง UV transilluminators ที่ความยาวคลื่น 312 นาโนเมตร พร้อมทำการบันทึกภาพ

4.2 การตรวจสอบเชื้อ *A.avenae* subsp. *citrulli* ด้วยชุดตรวจวินิจฉัยโรคผลเน่าแบคทีเรีย ของสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ โดยมีขั้นตอนดังนี้

4.2.1 ทำการเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 9 ความเข้มข้น ได้แก่ 1, 10, 10^2, 10^3, 10^4, 10^5, 10^6, 10^7 และ 10^8 cfu/ml โดยเตรียมหลอดละ 1 มิลลิลิตร

4.2.2 นำชุดตรวจ จุ่มลงในสารแขวนลอยแบคทีเรียแช่ทิ้งไว้ 5-10 นาที และอ่านผล

4.2.3 ทำการอ่านผลหากเกิดแถบสีทั้ง test line และ control line แสดงว่ามีเชื้อ Aac หรือถ้าเกิดแถบสีที่ control line อย่างเดียว แสดงว่าไม่มีเชื้อ Aac. ในตัวอย่าง ทำการบันทึกผล

4.3 การตรวจสอบเชื้อ *A.avenae* subsp. *citrulli* ด้วยเทคนิค DAS-ELISA (ชุดตรวจสอบของบริษัท Agdia) โดยมีขั้นตอน ดังนี้

4.3.1 ทำการเตรียม capture antibody เจือจางด้วย carbonate coating อัตรา 1:200 โดยหยอด capture antibody ในหลุม ELISA ปริมาตร 100 µl ต่อหลุม

4.3.2 บ่มจานหลุมในกล่องชื้นที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง หรือ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืน

4.3.3 ทำการล้างจานหลุมด้วย 1x PBST 2 ครั้ง ในครั้งสุดท้ายให้เคาะจานหลุมกับกระดาษให้แห้ง

4.3.4 ทำการหยอดเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* ที่ความเข้มข้นต่างๆ รวมถึง negative control (น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ) ลงในแต่ละหลุม แล้วบ่มจานหลุมในกล่องชื้นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

4.3.5 ทำการล้างจานหลุมด้วย 1x PBST มากกว่า 2 ครั้ง ในครั้งสุดท้ายให้เคาะจานหลุมกับกระดาษให้แห้ง

4.3.6 ทำการเตรียมสาร alkaline phosphatase enzyme conjugate เจือจางด้วย RUB3 buffer อัตรา 1:200 โดยหยอดหลุมละ 100 µl (ควรเตรียม 10 นาที ก่อนใช้งาน) แล้วบ่มจานหลุมในกล่องชื้นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืน

4.3.7 ทำการล้างจานหลุมด้วย 1x PBST 7 ครั้ง ในครั้งสุดท้ายให้เคาะจานหลุมกับกระดาษให้แห้ง

4.3.8 ทำการเตรียมสาร PNP tablet จำนวน 1 เม็ด เจือจางด้วย PNP buffer ปริมาตร 5 ml. โดยเก็บสารละลายไว้ในที่มืด แล้วจึงหยอดสาร PNP solution หลุมละ 100 µl แล้วบ่มจานหลุมในอุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปวัดเครื่องอ่านอิไลซ่า ที่ความยาวคลื่น 405 (OD_{405}) และทำการบันทึกผล

เวลาและสถานที่

เวลา: เดือนตุลาคม 2555 – กันยายน 2556

สถานที่: ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเตรียมเชื้อ *A.avenae subsp. citrulli*

ทำการขอความอนุเคราะห์เชื้อ *A.avenae* subsp. *citrulli* จำนวน 2 ไอโซเลท คือ เชื้อที่ได้จากคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จำนวน 1 ไอโซเลท ที่แยกได้จากผลเมลอน (Aac001) และจากกลุ่มงานแบคทีเรีย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จำนวน 1 ไอโซเลท ที่แยกได้จากผลแตงโม (PSA1228)

2. การออกแบบและสังเคราะห์ลำดับเบสของไพรเมอร์ (primer) และการหาลำดับดีเอ็นเอ ตัวตรวจ (probe) ที่ใช้ในการตรวจสอบเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* ด้วยเทคนิค PCR-ELISA

2.1 การคัดเลือกลำดับเบสของไพรเมอร์ (primer) และลำดับเบสดีเอ็นเอตัวตรวจ (probe)

- ไพรเมอร์ (primer) ที่ได้จากการสืบค้นข้อมูลลำดับเบสของไพรเมอร์จำนวน 2 คู่ ได้แก่

คู่ที่ 1 สืบค้นจากรายงานของ Walcott and Gitaitis (2000)

WFB1 (F) 5'-GAC CAG CCA CAC TGG GAC-3'

WEB2 (R) 5'-CTG CCG TAC TCC AGC GAT-3'

PCR product size มีค่าเท่ากับ 360 bp

คู่ที่ 2 ได้จากการปรับไพรเมอร์ของ Walcott and Gitaitis (2000) หลังจากนำไป Blast ใน เว็ปไซท์ (http://ncbi.nlm.nih.gov.) เพื่อหาลำดับเบสในตำแหน่ง PCR Product

WFBA (F) 5'-CGA CCA GCC ACA CTG GGA -3'

WFBA (R) 5'- CCT CTG CCG TAC TCC AGC G-3'

PCR product size มีค่าเท่ากับ 364 bp

- ลำดับเบสดีเอ็นเอตัวตรวจ (probe)

Probe 5'-BIO-CCG TAA GAA TAA GCA CCG GC-3'

2.2 การตรวจสอบประสิทธิภาพของลำดับเบสของไพรเมอร์ (primer)

ทำการตรวจสอบเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ Aac001 และ PSA1228 ไอโซเลทละ 2 ความเข้มข้น ได้แก่ 10^7 และ 10^8 cfu/ml โดยใช้ไพรเมอร์ จำนวน 2 คู่ ได้แก่ WFB1 (F)/WEB2 (R) และ WFBA (F)/WFBA (R) ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ พบว่าไพรเมอร์คู่ **WFB1 (F)/WEB2 (R)** สามารถเห็นแถบดีเอ็นเอของเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลท ที่ความเข้มข้น 10^7 cfu/ml ได้อย่างชัดเจน แต่ที่ความเข้มข้น 10^8 cfu/ml เห็นแถบดีเอ็นเอของไอโซเลท Aac001 บางๆ ส่วน ไอโซเลท PSA1228 ที่ความเข้มข้นนี้ ไม่เห็นแถบดีเอ็นเอเกิดขึ้น

ส่วนไพรเมอร์คู่ **WFBA (F)/WFBA (R)** ให้ผลเช่นเดียวกับกับไพรเมอร์คู่ WFB1 (F)/WEB2 (R) แต่ชัดเจนกว่า แต่ที่ความเข้มข้น 10^8 cfu/ml เห็นแถบดีเอ็นเอของไอโซเลท Aac001 ชัดเจน ส่วน ไอโซเลท PSA1228 สามารถเห็นได้บางๆ (รูปที่ 1)

3. การตรวจสอบเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* ด้วยเทคนิค PCR-ELISA

3.2 การติดฉลากด้วยสาร digoxigenin (DIG) กับไพรเมอร์และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* และชุดควบคุม ด้วยเทคนิคพีซีอาร์

3.2.1 การติดฉลากด้วยสาร digoxigenin (DIG) กับไพรเมอร์และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* ด้วยเทคนิคพีซีอาร์

ได้ PCR product ของสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 9 ความเข้มข้น ได้แก่ 1, 10, 10^2, 10^3, 10^4, 10^5, 10^6, 10^7 และ 10^8 cfu/ml จำนวน 9 ตัวอย่าง

3.2.2 การติดฉลากด้วยสาร digoxigenin (DIG) กับไพรเมอร์และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอชองชุดควบคุม ด้วยเทคนิคพีซีอาร์

ได้ PCR product ของชุดควบคุม จำนวน 2 ตัวอย่าง คือ positive control และ negative control

3.3 การตรวจสอบ PCR product ของเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* และชุดควบคุมด้วยเทคนิค ELISA

กำลังดำเนินการทดสอบปีงบประมาณ 2557

4. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการตรวจสอบ เชื้อ *A.avenae subsp. citrulli* ด้วยเทคนิค PCR-ELISA กับเทคนิคอื่นๆ

กำลังดำเนินการทดสอบในปีงบประมาณ 2557

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ได้รับการอนุเคราะห์เชื้อทดสอบ *A. avenae* subsp. *citrulli* จำนวน 1 ไอโซเลทที่แยกได้จากผลแตงโม (PSA1228) และได้ไพรเมอร์ จำนวน 2 คู่ ได้แก่ คู่ที่ 1 ไพรเมอร์จากรายงานของ Walcott and Gitaitis (2000) ได้แก่ WFB1 (F) / WEB2 (R) มีขนาด PCR product size เท่ากับ 360 bp และ คู่ที่ 2 ไพรเมอร์ที่มีการปรับจากรายงานของ Walcott and Gitaitis (2000) ได้แก่ WFBA (F)/WFBA (R) มีขนาด PCR product size เท่ากับ 364 bp ส่วนลำดับเบสดีเอ็นเอตัวตรวจ (probe) จำนวน 1 สาย และจากการตรวจสอบประสิทธิภาพของลำดับเบสของไพรเมอร์ (primer) พบว่า ไพรเมอร์ทั้ง 2 คู่ สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอของเชื้อ *A.avenae* subsp. *citrulli* ที่ความเข้มข้น 10^7 cfu/ml ได้ชัดเจน โดยเฉพาะ คู่ไพรเมอร์ WFBA (F)/WFBA (R) สามารถตรวจพบแถบดีเอ็นเอได้ดีกว่าชัดเจนกว่าไพรเมอร์คู่ WFB1 (F) / WEB2 (R) ในส่วนของการติดฉลากด้วยสาร digoxigenin (DIG) กับไพรเมอร์และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* และชุดควบคุมด้วยเทคนิคพีซีอาร์ ได้ PCR product ของสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 9 ตัวอย่าง ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 1, 10, 10^2, 10^3, 10^4, 10^5, 10^6, 10^7 และ 10^8 cfu/ml และชุดควบคุม จำนวน 2 ตัวอย่าง คือ positive control และ negative control

เอกสารอ้างอิง

ประภาษ กาวิชา เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล และ พิศาล ศิริธร . 2545. ความหลากหลายของเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* ในเขตผลิตแตงของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ . หน้า 415-430. *ใน* การสัมมนาวิชาการเกษตร ประจำปี 2545, วันที่ 28-29 มกราคม 2545 ณ ห้องประชุมกวี จุติกุล, คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พยอม พินยพงศ์. 2537. รายงานครั้งแรกของโรคผลเน่า (Bacterial fruit blotch) ของแตงโมในประเทศไทย. แก่นเกษตร 22 : 55-57.

เพชรรัตน์ ศิริวงศ์ และประภาษ กาวิชา . 2541. โรคผลเน่าแตงโมของพืชวงศ์แตงในประเทศไทย . รายงานการสัมมนาวิชาการเกษตร ประจำปี 2543, หน้า 34-45. วันที่ 24-25 มกราคม 2543 ณ ห้องประชุมกวีจุติกุล คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น .

Babadoost, M., and Pataky, N. 2002. First Report of Bacterial Fruit of Watermelon Caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in Illinois. Plant Dis. 86:443.

Evans, T.A., and R. P. Mulrooney. 1991. First report of watermelon fruit blotch in Delaware. Plant Dis. 73: 1074.

Feng, J.J., Li, J.Q., Walcott, R.R., Zhang, G.M., Luo, L.X., Kang, L., Zheng, Y. and Schaad, N.W. 2013. Advances in detection of *Acidovorax citrulli*, the causal agent of bacterial fruit blotch of cucurbits. Seed Sci. & Technol., 41, 1-15.

Frankle, W.G., D.L. Hopkins and R.E. Stall. 1993. Ingress of the watermelon fruit blotch bacterium into fruit. Plant Dis. 77: 1090-1092.

Isakeit, T., M.C. Black, L.W. Barnes and J.B. Jones. 1997. First report of infection of honeydew with *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Plant Dis. 81: 694.

Oya, H., Nakagawa, H., Saito, N., Uematsu, H and Ohara, T. 2008. Detection of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* from seed using LAMP method. Jpn. J. Phytopathol. 74: 304–310.

Pinyapong, P.S. 1994. Etiology and factors affecting the development of fruit blotch of watermelon (*Citrullus lanatus* (Thumb.) Matsum&Nakai) in Northeastern Thailand. M.S. Thesis. University of the Philippines at Los Banos. 99.

Rane, K.K. and R.X. Latin 1992. Bacterial fruit blotch of watermelon : association of the pathogen with seed. Plant Dis. 76: 509-512.

Somodi, G.C., J.B. Jones, D.L. Hopkins, R.E. Stall, T.A. Kucharek, N.C. Hodge and J.C. Watterson.1991. Occurrence of bacterial watermelon fruit blotch in Florida. Plant Dis. 75: 1053-1056.

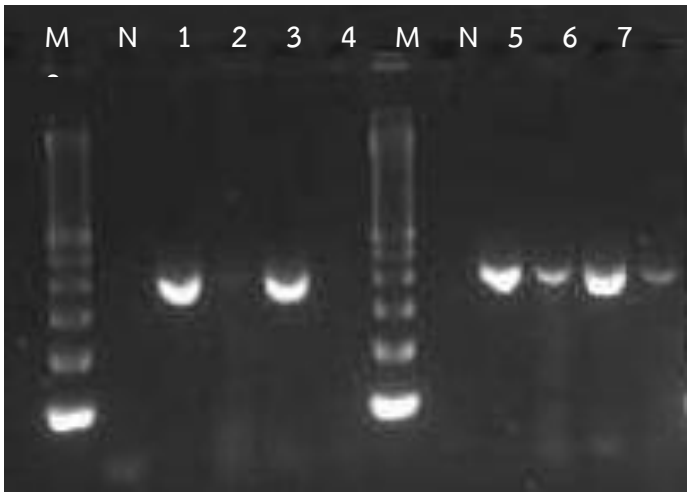
Walcott, R. R., and Gitaitis, R. D. 2000. Detection of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in watermelon seed using immunomagnetic separation and the polymerase chain reaction. Plant Dis. 84:470-474.

Walcott, R.R. and Gitaitis, R.D. (2000). Detection of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in watermelon seed using immunomagnetic separation and the polymerase chain reaction. Plant Disease, 84, 470-474.

Walcott, R.R., Castro, A.C., Fessehaie, A.C. and Ling, K. (2006).Progress towards a commercial PCR-based seed assay for *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Seed Science and Technology, 34, 101-106.

Zitter, T.A., Hopkins, D.L, and Thomas, C.E. 1996. Bacterial fruit blotch in Compendium of Cucurbit Disease. The America Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota . 34-35 p.

ภาคผนวก



M = Marker 100 bp ladder

N = Negative

1 = เชื้อ Aac001 เข้มข้น 10^7 CFU/ml ใช้ไพรเมอร์ WFB1 (F) / WEB2 (R)

2 = เชื้อ Aac001 เข้มข้น 10^8 CFU/ml ใช้ไพรเมอร์ WFB1 (F) / WEB2 (R)

3 = เชื้อ PSA1228 เข้มข้น 10^7 CFU/ml ใช้ไพรเมอร์ WFB1 (F) / WEB2 (R)

4 = เชื้อ PSA1228 เข้มข้น 10^8 CFU/ml ใช้ไพรเมอร์ WFB1 (F) / WEB2 (R)

5 = เชื้อ Aac001 เข้มข้น 10^7 CFU/ml ใช้ไพรเมอร์ WFBA (F)/WFBA (R)

6 = เชื้อ Aac001 เข้มข้น 10^8 CFU/ml ใช้ไพรเมอร์ WFBA (F)/WFBA (R)

7 = เชื้อ PSA1228 เข้มข้น 10^7 CFU/ml ใช้ไพรเมอร์ WFBA (F)/WFBA (R)

8 = เชื้อ PSA1228 เข้มข้น 10^8 CFU/ml ใช้ไพรเมอร์ WFBA (F)/WFBA (R)

รูปที่ 1 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอสำหรับตรวจสอบไพรเมอร์ 2 คู่กับเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* จำนวน 2 ไอโซเลท ไอโซเลทละ 2 ความเข้มข้น

วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันทอง ในผลแก้วมังกรเพื่อการส่งออก

Development of Quarantine Heat Treatment to Disinfest the Oriental Fruit Fly in Dragon Fruit for Export

ชุติมา อ้อมกิ่ง รัชฎา อินทรกำแหง สลักจิต พานคำ
ชัยณรัตน์ สนศิริ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาอัตราการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของแมลงวันทอง *Bactrocera dorsalis* Hendel ในผลแก้วมังกรในสภาพห้องปฏิบัติการ หนอนแมลงวันทองมีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด คือ 69 เปอร์เซ็นต์ และมีระยะการเจริญเติบโต คือ หนอนวัย 1 อายุ 1 - 2 วัน หนอนวัย 2 อายุ 2 - 3 วัน หนอนวัย 3 อายุ 3 - 7 วัน ตามลำดับ การเตรียมผลแก้วมังกรโดยวิธี forced infestation โดยบังคับให้แมลงวันทองวางไข่เฉพาะบริเวณที่เจาะรูจำนวน 5 รู แมลงวันทองสามารถรอดชีวิตและเจริญเติบโตในเนื้อแก้วมังกร จากการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมให้แมลงวันทองวางไข่ในผลแก้วมังกร คือ 40 นาที จะได้หนอนแมลงวันทองวัย 3 รอดชีวิตเฉลี่ยในผลแก้วมังกรสูงสุดประมาณ 116.9 ตัว

ศึกษาผลกระทบของกรรมวิธีลดความร้อน 2 วิธีการ คือวิธีการลดอุณหภูมิด้วยน้ำและวิธีการลดอุณหภูมิด้วยอากาศ ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่ากรรมวิธีลดอุณหภูมิด้วยน้ำมีแนวโน้มที่ทำให้แก้วมังกรสูญเสียน้ำหนักและเปลือกผล เกิดอาการเหี่ยวน้อยกว่ากรรมวิธีลดอุณหภูมิด้วยอากาศ ถึงแม้ว่าจำนวนผลที่เกิดแผลเน่ามีจำนวนมากกว่ากรรมวิธีลดอุณหภูมิด้วยอากาศ แต่ไม่ได้แตกต่างจากวิธีเปรียบเทียบ ดังนั้นวิธีการลดอุณหภูมิด้วยน้ำทำให้ผลแก้วมังกรมีคุณภาพดีกว่าวิธีการลดอุณหภูมิด้วยอากาศ

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-05-00-01-54

คำนำ

สินค้าเกษตรสำคัญของประเทศไทยหลายชนิดไม่สามารถส่งออกไปจำหน่ายยังประเทศที่เข้มงวดด้านกักกันพืช เนื่องจากประเทศไทยเป็นแหล่งแพร่ระบาดของโรคและศัตรูพืชสำคัญด้านกักกันพืช แมลงวันผลไม้ที่มีความสำคัญทางด้านกักกันพืชได้ แก่ แมลงกลุ่มแมลงวันทอง (*Bactrocera dorsalis complex*) และแมลงวันแตง (*Bactrocera cucurbitae*) แมลงวันผลไม้เหล่านี้ สามารถเข้าทำลายพืชอาศัยได้หลายชนิด เช่น มะม่วง ฝรั่ง ลำไย ลองกอง แก้วมังกร และ มะนาว เป็นต้น ประเทศที่มีความเข้มงวดทางด้านกักกันพืช เช่น สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย ญี่ปุ่น สาธารณรัฐเกาหลี และนิวซีแลนด์ ได้ห้ามการนำเข้าพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ในกลุ่มนี้ ดังนั้น การที่ประเทศไทยจะส่งสินค้าเกษตรซึ่งเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ไปจำหน่ายยังประเทศดังกล่าวข้างต้นได้ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องวิจัยและพัฒนาหาวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่มีประสิทธิภาพและได้มาตรฐานของวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Plant Quarantine Treatment) ที่สามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ที่มีความสำคัญด้านกักกันพืชในพืชก่อนการส่งออกได้อย่างหมดสิ้นโดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของพืช

แก้วมังกร (ชื่อวิทยาศาสตร์ *Hylocercus undatus* (Haw) Brit. & Rose ชื่อสามัญ (Dragon fruit, Pitaya) อยู่ในวงศ์ Cactaceae ซึ่งเป็นวงศ์เดียวกับตะบองเพชร มีพื้นเพดั้งเดิมอยู่ในอเมริกากลาง เข้ามาในเอเชียที่เวียดนามก่อน และนำเข้าจากเวียดนามมาในไทยเมื่อประมาณปี 2534 เป็นพันธุ์เนื้อขาว ส่วนพันธุ์เนื้อแดงที่ชื่อแดงสยามเป็นพันธุ์นำเข้ามาจากไต้หวัน แก้วมังกรเป็นพืชอีกชนิดหนึ่งที่มีศักย์ภาพสูงในการส่งออก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการส่งออกไปยังประเทศญี่ปุ่น เนื่องจากเป็นผลไม้ที่มีสารอาหารเป็นประโยชน์มากในกระแสที่อาหารสุขภาพกำลังได้รับความนิยม แต่อย่างไรก็ดีตามประกาศใช้กฎหมายกักกันพืช (Plant Protection Law Enforcement Regulation) ของประเทศญี่ปุ่น หรือประเทศอื่นที่มีความเข้มงวดทางด้านกักกันพืช เช่น สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย สาธารณรัฐเกาหลี กำหนดให้ แก้วมังกร จากประเทศไทยเป็นสิ่งต้องห้ามนำเข้า เนื่องจากเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ที่มีความสำคัญคือ *Bactrocera dorsalis* species complex สำหรับประเทศญี่ปุ่นการอนุญาตนำเข้าพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ ประเทศผู้ส่งออกจะต้องดำเนินการตามมาตรฐานขั้นตอนการยกเลิกห้ามการนำเข้าสิ่งต้องห้ามที่เป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ (Standard Procedure for Lifting Import Ban of Prohibited Host Plants of Fruit Flies) ของกระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่น (Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, MAFF) โดยมีขั้นตอนที่สำคัญ คือกำหนดให้การขออนุญาตนำเข้าสิ่งต้องห้ามที่เป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ ต้องยื่นเสนอแผนการศึกษาวิจัยวิธีการกำจัดแมลงวันผลไม้ก่อนการส่งออกให้กับกระทรวงเกษตรฯ ญี่ปุ่นพิจารณาตรวจสอบและให้ความเห็นชอบก่อน การวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ต้องเป็นไปตามมาตรฐานการวิจัยกำจัดแมลงศัตรูพืชด้านกักกันพืช

Unahawutti *et al*. (1986) ได้ประสบความสำเร็จในการวิจัยกรรมวิธีอบไอน้ำที่อุณหภูมิภายในสุดผลมะม่วงเท่ากับ 46.5 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที สามารถกำจัดแมลงวันทอง (*Bactrocera dorsalis*) แมลงวันแตง (Melon fly, *B. cucurbitae* Coquillett) ในผลมะม่วงพันธุ์หนังกลางวัน ได้อย่างมีประสิทธิภาพตามมาตรฐานกำหนดของวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช ต่อมาในปี พ.ศ. 2534 ได้มีการวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนกรรมวิธีใหม่ คือ วิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified vapor heat treatment, MVHT) ที่อุณหภูมิภายในสุดผล 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที มีประสิทธิภาพสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงครอบคลุม

ถึง 4 พันธ์ คือ หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพผลมะม่วง (Unahawutti *et al*., 1991) หลังจากนั้น ในปี 2546 ได้ประสบความสำเร็จในการวิจัยพัฒนาวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ที่อุณหภูมิภายในสุดผล 46 องศาเซลเซียส นาน 58 นาที สามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* species complex ในมังคุดได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Unahawutti *et al*., 1999) โดยกระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่นยอมรับ และอนุญาตให้นำเข้ามังคุดสดจากประเทศไทยตั้งแต่วันที่ 25 เมษายน 2546 เป็นต้นไป นอกจากนี้ Unahawutti *et al*. (2007) ทำการวิจัยวิธีการอบไอน้ำกำจัดแมลงวันผลไม้ในส้มโอพันธุ์ทองดีพบว่าวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิภายในสุดผลที่ 46 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที สามารถใช้เป็นวิธีการทางกักกันพืชเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ในส้มโอพันธ์ทองดีเพื่อส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น โดยที่กระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่น อนุญาตให้นำเข้าส้มโอพันธ์ทองดีตั้งแต่วันที่ 10 กุมภาพันธ์ 2555 เป็นต้นมา

ปัจจุบันยังไม่มีวิธีการใดที่มีประสิทธิภาพและเป็นที่ยอมรับสำหรับกำจัดแมลงวันทอง *B. dorsalis* ในผลแก้วมังกร ดังนี้จึงมีโอกาสความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาวิธีการอบไอน้ำเป็นวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชเพื่อกำจัดแมลงวันทองในแก้วมังกรเพื่อการส่งออก งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงวันทองด้วยความร้อนในผลแก้วมังกรให้ได้มาตรฐานตามวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (plant quarantine treatment) ในระดับสากล สามารถส่งรายงานผลการวิจัยให้ประเทศผู้นำเข้าที่มีความเข้มงวดทางด้านกักกันพืชพิจารณาอนุญาตนำเข้าแก้วมังกรจากประเทศไทย โดยมีเป้าหมายประเทศญี่ปุ่นเป็นอันดับแรก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องอบไอน้ำ
2. แมลงวันผลไม้
3. ตู้ลดอุณหภูมิผลไม้
4. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดของผลไม้
5. เครื่องวัดค่าความหวานของผลไม้
6. ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น
7. ห้องเย็นสำหรับเก็บผลไม้ที่ใช้ในการทดลอง
8. เครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์แบบต่อเนื่อง
9. แท่งวัดอุณหภูมิ
10. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
11. อุปกรณ์สำหรับเช็คผลการทดลอง ๆ ได้แก่ พู่กัน ปากคีบ เคาท์เตอร์ จานทดลองขนาดเล็กถาดใส่ผลไม้ ถุงผ้าตาข่าย ถุงมือ มีดปอกผลไม้ ถุงขยะดำ และอื่น ๆ

วิธีการ

1. ศึกษาอัตราการรอดชีวิตและระยะการเจริญเติบโตของแมลงวันทองภายในผลแก้วมังกรในสภาพห้องปฏิบัติการ ใช้แก้วมังกรเนื้อสีขาวขนาดน้ำหนัก 350 - 400 กรัม เตรียมผลแก้วมังกรที่มีแมลงวันทองโดยใช้กรอบพลาสติกสำหรับฟิมล์สไลด์วางทาบบนผลแก้วมังกรใช้มีดกรีดผลตามรอย

กรอบสไลด์รูปสี่เหลี่ยนผืนผ้าจำนวนเพียง 3 ด้าน จำนวน 1 รอยแผล ลงบนด้านใดด้านหนึ่งของผล กรีดเนื้อที่เปิดออกเป็นตารางสี่เหลี่ยมเล็กๆเพื่อช่วยให้หนอนแมลงวันทองกินเนื้อแก้วมังกรได้ดีขึ้นใส่ไข่แมลงวันทองจำนวน 100 ฟอง ต่อผล จากนั้นศึกษาระยะเวลาการเจริญเติบโตของแมลงวันทองจากระยะไข่ไปเป็นหนอนโดยตรวจนับจำนวนหนอนและเช็คระยะการเจริญเติบโตของหนอนในผลแก้วมังกรเริ่มเช็คผล 2 วันหลังจากเก็บไข่แมลงวันทองใส่ในผลแก้วมังกร ผ่าตรวจเช็คผลแก้วมังกรทุกวัน วันละ 2 ผล จนครบ 14 วัน

2. ศึกษาวิธีการเตรียมแก้วมังกรโดยให้แมลงวันทองวางไข่ในผลโดยตรง (Forced infestation) เตรียมกรงแมลงขนาดเล็ก (35.0 x 50.0 x 30 เซนติเมตร) โดยมีแมลงวันทองตัวเต็มวัยอายุประมาณ 2 สัปดาห์ขึ้นไป จำนวนประมาณ 2,000 ตัว ใช้แก้วมังกรเนื้อสีขาวขนาดน้ำหนัก 300 - 350 กรัม ห่อแก้วมังกรด้วยถุงพลาสติกให้แนบสนิทกับผิวติดด้วยเทปกาวให้แน่น เจาะรูจำนวน 5 รู ลงบนด้านใดด้านหนึ่งของผลแก้วมังกรด้วยเข็มปักแมลงเบอร์ 1 แมลงวันทองจะถูกบังคับให้วางไข่ได้เฉพาะบริเวณรูที่เจาะไว้เท่านั้น ใส่แก้วมังกรจำนวน 10 ผล ต่อกรง โดยให้ผลแก้วมังกรบริเวณที่เจาะรูอยู่ด้านบน ปล่อยให้แมลงวันทองวางไข่เป็นเวลา 20, 30, และ 40 นาที ตามลำดับ หลังเสร็จสิ้นเวลาที่แมลงวันทองวางไข่ นำผลแก้วมังกรแต่ละผลใส่ในถุงผ้ามัสลินปิดปากถุงด้วยหนังยางใส่ไว้ในกระบะพลาสติกคลุมด้วยผ้ามัสลินเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 - 27 องศาเซลเซียส ตรวจนับจำนวนหนอนที่รอดชีวิตในแก้วมังกร 7 วัน หลังจากที่ให้แมลงวันทองวางไข่ ทำการทดสอบ 2 ซ้ำ

3. ศึกษาการทดสอบเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของไข่อายุ 24 ชั่วโมง กับหนอนวัย 1 ในผลแก้วมังกรโดยทำการอบไอน้ำแก้วมังกรที่มีไข่และหนอนวัย 1 อยู่ในผล ทำการอบไอน้ำปรับความสัมพันธ์ (MVHT 55% RH) ที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส คงที่เป็นเวลา 10, 20, 30, 40, 50, 55 และ 60 นาที ดำเนินการทดลองโดยใช้เครื่องอบไอน้ำ “Sanshu” Vapor Heat Treatment System (Differential Pressure Type) (model : EHK-1000B, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan) แก้วมังกรที่ใช้ในการทดลองใช้แก้วมังกรขนาดกลางน้ำหนัก 350 - 400 กรัม ศึกษาประสิทธิภาพวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ MVHT เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ในระยะไข่ และหนอนวัย 1 โดยการเตรียมแก้วมังกรให้มีไข่ และหนอนวัยที่ 1 อยู่ภายในผล โดยใช้วิธีการใส่ไข่ และหนอนวัย1 ในผลแก้วมังกรจำนวน 100 ตัว/ผล อบไอน้ำแก้วมังกรด้วยวิธีการปรับความชื้นสัมพัทธ์ (55% RH) ที่อุณหภูมิ 46.0 °ซ คงที่เป็นเวลา 10, 20, 30, 40, 50, 55 และ 60 นาที ตามลำดับ การวัดอุณหภูมิผลแก้วมังกรที่ทดลองอาศัยการวัดจากแก้วมังกรกำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) ขึ้นถึงระดับอุณหภูมิที่กำหนดจำนวน 2 ใน 3 ผล และเริ่มนับเวลาตามระยะเวลาที่กำหนดอบไอน้ำแก้วมังกร ตรวจนับจำนวนหนอนที่รอดชีวิตในผลแก้วมังกรภายหลังอบไอน้ำ 7 และ 5 วัน ตามลำดับ โดยบันทึกจำนวนแมลงรอดชีวิต คำนวณอัตราการตายของแมลง ด้วยสูตรของ Abbott (Abbott, 1925)

4. ศึกษาเปรียบเทียบผลกระทบของกรรมวิธีลดอุณหภูมิภายหลังการอบไอน้ำแบบปรับความชื้นสัมพัทธ์ (Modify Vapor Heat Treatment, MVHT) ต่อคุณภาพผลแก้วมังกร เปรียบเทียบกรรมวิธีลดอุณหภูมิ 2 กรรมวิธีคือวิธีการลดอุณหภูมิด้วยน้ำ (Shower cooling) และกรรมวิธีลดอุณหภูมิด้วยอากาศ (Air cooling) มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้กรรมวิธีลดอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อแก้วมังกรมากที่สุด ใช้แก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีขาวเพิ่มความร้อนกับผลแก้วมังกรด้วยกรรมวิธี MVHT ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส และคงที่ไม่ต่ำกว่า 47 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 1, 2 ชั่วโมง ภายหลัง

เสร็จสิ้นกรรมวิธี MVHTลดความร้อนผลแก้วมังกรด้วยวิธีการลดอุณหภูมิด้วยน้ำเปรียบเทียบกับวิธีการลดอุณหภูมิด้วยอากาศ เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง ใช้ผลแก้วมังกรที่ไม่อบไอน้ำสำหรับเป็นตัวเปรียบเทียบ กับแก้วมังกรที่ผ่านการอบไอน้ำและลดอุณหภูมิในแต่ละวิธีการ หลังจากนั้นเก็บแก้วมังกรในตู้ที่ควบคุมที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ตรวจเช็คผลกระทบจากวิธีการลดความร้อนต่อคุณภาพแก้วมังกร ได้แก่ การสูญเสียน้ำหนัก (% weight loss) ปริมาณน้ำตาล ($^{\circ}$brix) ลักษณะภายนอก คือ การเกิดโรค และผ่าดูลักษณะเนื้อภายในที่เกิดอาการเสียหายภายหลังการอบไอน้ำ 7 วัน ทำการทดสอบจำนวน 2 ซ้ำ

เวลาและสถานที่

เวลา: เดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2556

สถานที่: กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จังหวัดนครนายก จังหวัดนครราชสีมา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาอัตราการรอดชีวิตและระยะการเจริญเติบโตของแมลงวันทองภายในผลแก้วมังกรในสภาพห้องปฏิบัติการ ร้อยละของจำนวนหนอนแมลงวันทองแต่ละการเจริญเติบโตที่รอดชีวิตในผลแก้วมังกร (% recovery) ภายหลังการใส่ไข่แมลงวันทองในผลแก้วมังกรเป็นเวลา 2 - 14 วัน แสดงใน Table 1 โดยในวันที่ 2 หลังจากใส่ไข่ในผลแก้วมังกร ตรวจพบหนอนวัย 1 รอดชีวิต 67 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 3 ตรวจพบหนอนวัย 2 รอดชีวิต 69 เปอร์เซ็นต์ แมลงวันทองเริ่มเข้าสู่วัย 3 ในวันที่ 4 โดยตรวจพบหนอนวัย 2 รอดชีวิต 18.5 เปอร์เซ็นต์ และ หนอนวัย 3 รอดชีวิต 51 เปอร์เซ็นต์ เมื่อตรวจเช็คครบ 8 วัน พบดักแด้แมลงวันทองจำนวน 2.5 เปอร์เซ็นต์ และหนอนวัย 3 รอดชีวิต 46.5 เปอร์เซ็นต์ ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของแมลงวันทองในแก้วมังกรใกล้เคียงกับรายงานของ Unahawutti *et al*. (1986) ที่ศึกษาการเจริญเติบโตของแมลงวันทองในอาหารเทียมสูตรข้าวโพด ดังนี้ไข่อายุ 30 - 40 ชั่วโมง หนอนวัย 1 อายุ 1 - 2 วัน หนอนวัย 2 อายุ 2 - 3 วัน หนอนวัย 3 อายุ 3 - 7 วัน ตามลำดับ

2. ศึกษาวิธีการเตรียมแก้วมังกรโดยให้แมลงวันทองวางไข่ในผลโดยตรง (Forced infestation)ผลการศึกษาแสดงใน Table 2 จากวิธีการเตรียมผลแก้วมังกรโดยบังคับให้แมลงวันทองวางไข่โดยตรงเฉพาะบริเวณที่เจาะรูจำนวน 5 รู แสดงให้เห็นว่าแมลงวันทองสามารถรอดชีวิตและเจริญเติบโตในเนื้อแก้วมังกรสีขาวได้โดยเมื่อให้แมลงวันทองวางไข่ในแก้วมังกรเนื้อสีขาว เป็นเวลา 20, 30 และ 40 นาที ผลการทดลองจาก 3 ซ้ำ พบว่ามีหนอนแมลงวันทองวัย 3 รอดชีวิตเฉลี่ยในผลแก้วมังกร เท่ากับ 98.7, 91.2, และ 116.9 ตัว ตามลำดับ สำหรับการทดลองด้านกำจัดแมลงวันทองต้องการให้มีแมลงรอดชีวิตเฉลี่ยในผลแก้วมังกรจำนวนไม่ต่ำกว่า 100 ตัวต่อผล ดังนั้นการเตรียมผลแก้วมังกรที่มีแมลงวันทองวางภายในผลสำหรับการศึกษาด้านการกำจัดแมลงทองในผลแก้วมังกร ด้วยวิธี Forced infestation ระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับให้แมลงวันทองวางไข่ในผลแก้วมังกร ควรจะอยู่ที่ 40 นาที

3. ศึกษาการทดสอบเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของไข่อายุ 24 ชั่วโมง กับหนอนวัย 1 ในผลแก้วมังกรโดยทำการอบไอน้ำแก้วมังกรที่มีไข่และหนอนวัย 1 อยู่ในผล ทำการอบไอน้ำปรับความสัมพันธ์ (MVHT 55% RH) ที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส คงที่เป็นเวลา 10, 20, 30, 40, 50, 55 และ 60 นาที อยู่ในขั้นตอนการดำเนินการทดลอง

4. ศึกษาเปรียบเทียบผลกระทบของกรรมวิธีลดอุณหภูมิภายหลังการอบไอน้ำแบบปรับความชื้นสัมพัทธ์ (Modify Vapor Heat Treatment, MVHT) ต่อคุณภาพผลแก้วมังกร Table 3 แสดงผลกระทบของกรรมวิธีลดความร้อน 2 วิธีการ คือวิธีการลดอุณหภูมิด้วยน้ำ และวิธีการลดอุณหภูมิด้วยอากาศ ต่อร้อยละของการสูญเสียน้ำหนักของแก้วมังกร จะเห็นได้ว่าแก้วมังกรที่ลดความร้อนด้วยกรรมวิธีลดความร้อนทั้ง 2 วิธีการ มีร้อยละของการสูญเสียน้ำหนักมากกว่าวิธีเปรียบเทียบ ส่วนวิธีการลดอุณหภูมิด้วยอากาศมีแนวโน้มต่อการสูญเสียน้ำหนักมากกว่าวิธีการลดอุณหภูมิด้วยน้ำ

Table 4 แสดงค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (ปริมาณน้ำตาล) ในผลแก้วมังกรภายหลังการอบไอน้ำแบบปรับความชื้นสัมพัทธ์หลังจากนั้นใช้กรรมวิธีลดความร้อน 2 วิธีการ คือวิธีการลดอุณหภูมิด้วยน้ำ และวิธีการลดอุณหภูมิด้วยอากาศ พบว่าปริมาณน้ำตาลในแก้วมังกรของวิธีเปรียบเทียบและกรรมวิธีลดความร้อนด้วยทั้ง 2 วิธีการ มีค่าแตกต่างกันเล็กน้อย ดังนั้นกรรมวิธีลดความร้อนจึงไม่มีผลกระทบต่อปริมาณน้ำตาลในผลแก้วมังกร

Table 5 แสดงผลกระทบของกรรมวิธีลดความร้อนต่อลักษณะภายนอกของผลแก้วมังกรคืออาการเกิดแผลเน่าที่ผลที่เกิดจากเชื้อโรคเข้าทำลาย ผลแก้วมังกรที่เกิดอาการดังกล่าวจากวิธีลดความร้อนด้วยน้ำมีแนวโน้มที่จะเกิดแผลเน่ามากกว่าวิธีลดความร้อนด้วยอากาศ แต่มีจำนวนผลเน่าแตกต่างกันไม่มากกับในวิธีเปรียบเทียบ

ลักษณะภายนอกของผลแก้วมังกรหลังผ่านการอบไอน้ำด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับความชื้นสัมพัทธ์และลดอุณหภูมิด้วยวิธีลดอุณหภูมิด้วยน้ำและวิธีการลดอุณหภูมิด้วยอากาศแสดงใน Figure 1 และ 2 ตามลำดับ การลดอุณหภูมิด้วยน้ำทำให้เปลือกแก้วมังกรเกิดอาการเหี่ยวน้อยกว่าแก้วมังกรที่ลดอุณหภูมิด้วยอากาศ กรรมวิธีลดอุณหภูมิด้วยน้ำมีแนวโน้มที่ทำให้แก้วมังกรสูญเสียน้ำหนักและเปลือกผล เกิดอาการเหี่ยวน้อยกว่ากรรมวิธีลดอุณหภูมิด้วยน้ำ ถึงแม้ว่าจำนวนผลที่เกิดแผลเน่ามีจำนวนมากกว่ากรรมวิธีลดอุณหภูมิด้วยอากาศ แต่ไม่ได้แตกต่างจากวิธีเปรียบเทียบ ดังนั้นวิธีการลดอุณหภูมิด้วยน้ำทำให้ผลแก้วมังกรมีคุณภาพดีกว่าวิธีการลดอุณหภูมิด้วยอากาศ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

แมลงวันทองสามารถวางไข่และเจริญเติบจนสามารถเข้าสู่ระยะดักแด้ได้ในผลแก้วมังกรแต่อัตราการรอดชีวิตของหนอนระยะที่ 3 มีจำนวนน้อยกว่า 50 % ทั้งนี้แก้วมังกรไม่ใช่พืชอาศัยที่ดีของแมลงวันทองและอาจเนื่องมาจากเมื่อเก็บแก้วมังกรในอุณหภูมิปกติทำให้ผลเน่าเสียง่ายหนอนจึงเน่าตายก่อนจะเจริญเติบโตเข้าวัยที่ 3

การศึกษาวิธีการเตรียมแก้วมังกรด้วยวิธีการ Forced Infestation โดยทำการห่อผลแก้วมังกรด้วยถุงพลาสติกและเจาะรูจำนวน 5 รู วางแก้วมังกรจำนวน 10 ผล ในกรงเลี้ยงแมลงวันทองตัวเต็มวัยเป็นเวลานาน 40 นาที จะได้แมลงวันทองวัย 3 รอดชีวิตในแก้วมังกรเฉลี่ย 116.9 ตัว เป็นจำนวนที่เหมาะสมสำหรับวิธีการเตรียมผลแก้วมังกรสำหรับงานทดลองด้านการกำจัดแมลงวันผลไม้ในแก้วมังกรต่อไปได้

กรรมวิธีลดอุณหภูมิผลภายหลังการอบไอน้ำมีผลกระทบต่อคุณภาพของผลแก้วมังกร วิธีการลดอุณหภูมิด้วยน้ำทำให้ผลแก้วมังกรมีคุณภาพดีกว่าวิธีการลดอุณหภูมิด้วยอากาศ ทำให้สามารถเลือกใช้วิธีการลดอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับแก้วมังกร คือวิธีการลดอุณหภูมิด้วยน้ำเพื่อนำทดสอบ

ประสิทธิภาพด้านกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุดในผลแก้วมังกร และมีผลกระทบต่อคุณภาพผลแก้วมังกรน้อยที่สุด

เอกสารอ้างอิง

Unahawutti, U., C. Chettanachitara, M. Poomthong, P. Komson, E. Smitasiri, C. Lapasathukool, W. Worawisitthumrong and R. Intarakumheng. 1986. Vapor heat treatment for 'Nang Klarngwum' mango, *Mangifera indica* Linn., infested with eggs and larvae of the oriental fruit fly, *Dacus dorsalis* Hendel and the melon fly, *D. cucurbitae* Coquillett (Diptera : Tephritidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on Thai mangoes to be exported to Japan. Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture, Bangkok. 108 p.

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

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

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

ภาคผนวก

Table 1 The development of *B. dorsalis* in dragon fruit after inoculation 2 - 12 days

Day after inoculation	% Recovery[1/]				Total % recovery
	1st instar	2nd instar	3rd instar	Pupa	
2	67.0	0.0	0.0	0.0	67.0
3	0.0	68.5	0.0	0.0	68.5
4	0.0	18.5	50.5	0.0	69.0
5	0.0	5.0	41.5	0.0	46.5
6	0.0	0.5	45.0	0.0	45.5
7	0.0	0.0	37.0	0.0	37.0
8	0.0	0.0	46.5	2.5	49.0
9	0.0	0.0	42.5	2.5	45.0
10	0.0	0.0	40.0	1.0	41.0
11	0.0	0.0	46.5	1.5	48.0
12	0.0	0.0	42.0	5.0	47.0

[1/] Mean from 2 fruits

Table 2 The survival of *B. dorsalis* in dragon fruit after exposure to fruit flies for oviposition at 20, 30, and 40 minutes and keep in room temperature 25-27 °C for 7 days

Oviposition Period (min.)	No. alive individuals/fruit [1/]			
	Trial 1	Trial 2	Trial 3	(mean ± SD)
20	102.2 ± 60.8	100.7 ± 19.4	93.2 ± 23.6	98.7 ± 34.6
30	78.9 ± 54.1	91.2 ± 25.7	103.5 ± 32.4	91.2 ± 37.4
40	121.0 ± 36.4	117.10 ± 24.3	112.5 ± 16.0	116.9 ± 25.6

[1/] Mean from 10 fruits

Table 3 Weight loss (%) of dragon fruit after treated with MVHT at 47 °C for various holding times followed by air and shower cooling and store at 10 ± 1 °C for 7 days

Trial	Cooling method	Weight loss (%)[1/]		
		0 h	1 h	2 h
1	Control	2.71		
	Air cooling	3.84	3.39	3.34
	Shower cooling	3.23	3.07	3.20
2	Control	1.15		
	Air cooling	2.80	2.91	2.75
	Shower cooling	2.84	2.47	2.31

[1/] Values are mean of 5 fruits in trail 1 and 10 fruits in trail 2

Table 4 The total soluble solid (° brix) of dragon fruit after treated with MVHT at 47 °C for various holding time followed by air and shower cooling and store at 10 ± 1°C for 7 days

Trial	Cooling method	Total soluble solid (° brix)[1/]		
		0 h	1 h	2 h
1	Control	16.08		
	Air cooling	15.46	15.10	14.80
	Shower cooling	14.90	14.46	15.64
2	Control	17.55		
	Air cooling	18.82	18.29	18.71
	Shower cooling	18.02	17.37	17.87

[1/] Values are mean of 5 fruits in trail 1 and 10 fruits in trail 2

Table 5 The occurrence of disease inflection (%) in dragon fruit after treated with MVHT at 47 °C for various holding time followed by air and shower cooling and store at 10 ± 1°C for 7 days

Trial	Cooling method	Disease inflection (%)		
		0 h	1 h	2 h
1	Control	60		
	Air cooling	20	20	60
	Shower cooling	60	60	60
2	Control	30		
	Air cooling	30	30	30
	Shower cooling	60	60	60

1/ Values are mean of 5 fruits in trail 1 and 10 fruits in trail 2

Figure 1 Dragon fruit after treated with MVHT at 47 °C for various holding time followed by water cooling and store at 10 ± 1°C for 7 days

A : Control B: 47 °C for 0 hr.

C: 47 °C for 1 hr. D: 47 °C for 2 hr.

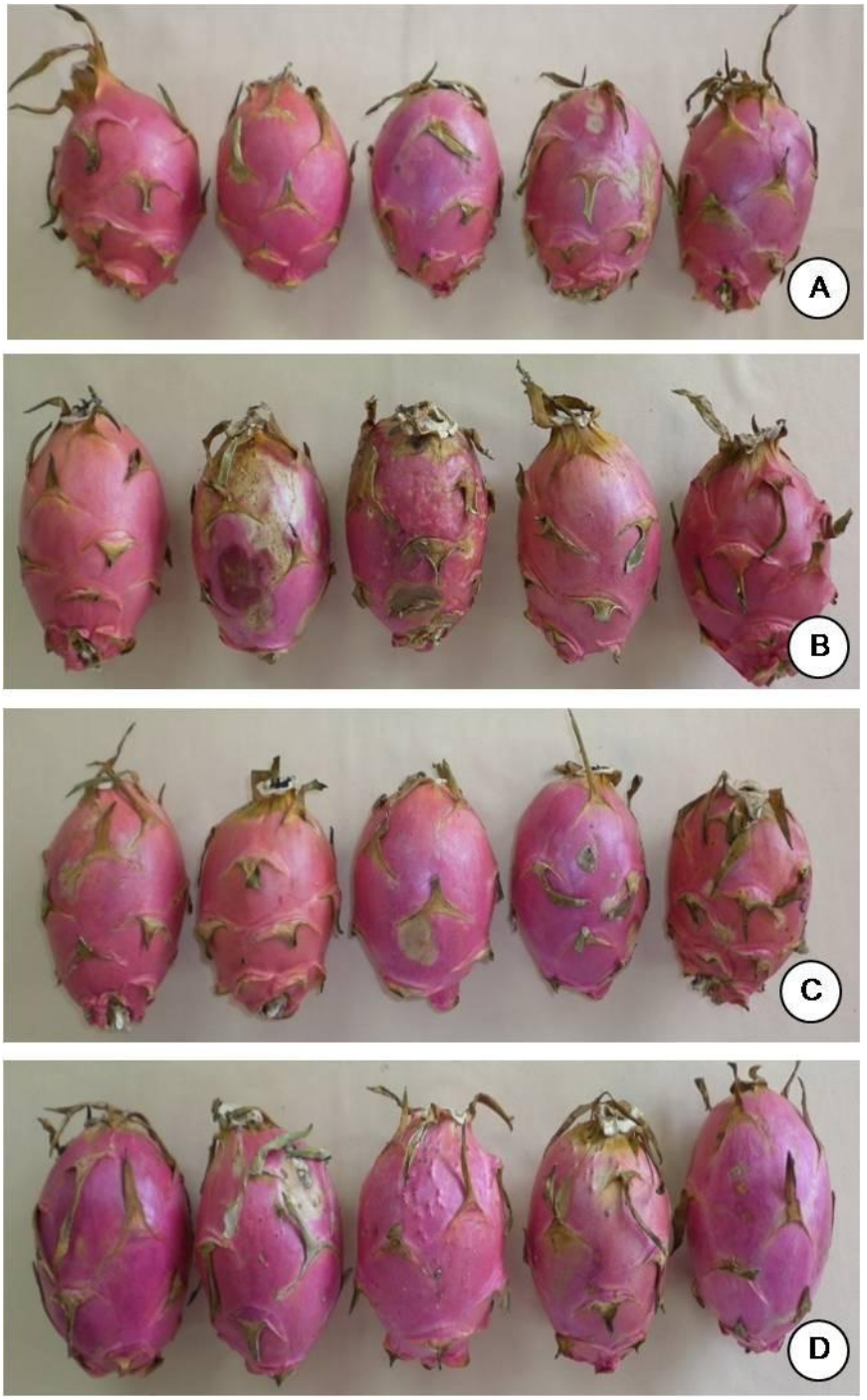


Figure 2 Dragon fruit after treated with MVHT at 47 °C for various holding time followed by air cooling and store at 10 ± 1°C for 7 days

A : Control B: 47 °C for 0 hr.

C: 47 °C for 1 hr. D: 47 °C for 2 hr.

วิจัยและพัฒนาสถานภาพการเป็นพืชอาศัยและวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน สำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลมะนาวเพื่อการส่งออก
Development of Quarantine Heat Treatment to Disinfest the Oriental Fruit Fly in Lime Fruit for Export

สลักจิต พานคำ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชัยณรัตน์ สนศิริ
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาการให้ความร้อนต่อคุณภาพผลมะนาว (*Citrus aurantifolia* Swing) โดยการอบมะนาวด้วยวิธีอบไอน้ำ โดยวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลขึ้นไปถึงระดับกำหนดอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาสั้น เปรียบเทียบกับวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลขึ้นไปแต่ละระดับอย่างช้าๆ โดยใช้ระยะเวลานาน เฉพาะในช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิผลมะนาวถึง 43°ซ.การอบมะนาวด้วยวิธีอบไอน้ำความชื้นสัมพัทธ์อยู่ที่ระดับ 95 เปอร์เซ็นต์ เพิ่มอุณหภูมิผลจากภายในสุดผลมะนาวถึง 46 และ 47 °ซ. เปรียบเทียบคุณภาพของมะนาวเมื่ออุณหภูมิภายในผลคงที่ 46 และ 47°ซ. นาน 1, 1:30 และ 2 ชั่วโมง

การสูญเสียน้ำหนัก ของมะนาวที่ผ่านความร้อนทั้งสองกรรมวิธีไม่แตกต่างทางสถิติกับมะนาวไม่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 46 °ซ. แต่ที่อุณหภูมิ 47 °ซ.การสูญเสียน้ำหนักแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ในส่วนของความเป็นกรดมะนาวที่ผ่านความร้อนทั้งสองกรรมวิธี พบว่าความเป็นกรดของมะนาวลดลง และแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ กับมะนาวไม่ผ่านความร้อน การอบไอน้ำมะนาวด้วยการให้ความร้อนทั้ง 2 วิธีไม่ทำให้เนื้อมะนาวเกิดความเสียหาย แต่การอบมะนาวโดยวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลขึ้นไปอย่างช้าๆ พบว่ามะนาวเสียหายจากความร้อนโดยรวมจากอาการสีผิวเปลือกมะนาวจากสีเขียวเปลี่ยนเป็นสีเหลืองบางส่วนจนกระทั่งทั่วทั้งผล แต่วิธีการให้ความร้อนอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิ 47 ° ซ. นาน 1:30 และ 2 ชั่วโมง มีแนวโน้มทำให้ผิวเปลือกมะนาวมีการขยายและหดตัวทำให้ผิวเปลือกเกิดรอยย่นยุบตัวลง รอยดังกล่าวจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลเข้มถึงเทาดำ ซึ่งพบอาการนี้บางผลแต่ไม่รุนแรง การอบโดยวิธีเพิ่มระยะเวลาช้าหรือเร็วเกินไปมีผลกระทบต่อคุณภาพผิวเปลือกมะนาว ช่วงระยะเวลาในระหว่างการเพิ่มอุณหภูมิผลจากอุณหภูมิห้องถึง 43°ซ.มีความสำคัญมากในกระบวนการอบมะนาวด้วยวิธีอบไอน้ำ ถ้ามะนาวอยู่ภายใต้สภาพอุณหภูมิใช้เวลานานพอเหมาะจะกระตุ้นให้มะนาวสร้างความทนทานต่อความร้อน สามารถลดความเสียหายของมะนาวจากความร้อนได้ โดยทั่วไปมะนาวผ่านความร้อนมีการสูญเสียน้ำหนักมากขึ้น เมื่อพิจารณาข้อมูลจากงานวิจัยนี้ วิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อนกรรมวิธีอบไอน้ำโดยวิธีเพิ่มระยะเวลาช้า มีศักยภาพและ

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-05-00-03-54

เหมาะสมกับมะนาวมากกว่าวิธีการเพิ่มอุณหภูมิผลขึ้นอย่างเร็ว แต่จะต้องปรับระยะเวลาช้าให้เร็วขึ้นกว่านี้เพื่อลดผลกระทบที่เกิดขึ้นจากอาการเปลือกเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ดังนั้นจึงควรเลือกวิจัยพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อนกรรมวิธีอบไอน้ำ เพื่อการยอมรับเป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในมะนาวก่อนส่งออกไปยังประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช

คำนำ

วิธีอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT) เป็นวิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อน ซึ่งได้รับการพัฒนาเป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (plant quarantine treatment) และยอมรับจากหน่วยงานกักกันพืชของประเทศญี่ปุ่น สำหรับใช้กำจัดไข่และหนอนของแมลงวันทอง oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) และแมลงวันแตง melon fly, *B. cucurbitae* (Coquillett) ในผลมะม่วง (*Mangifera indica* Linn.) พันธุ์หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด พิมเสนแดง ก่อนส่งออกไปจำหน่ายยังประเทศญี่ปุ่น (Unahawutti, 1991) นอกจากมะม่วงแล้ว มีรายงานว่าวิธีอบไอน้ำมีศักยภาพที่จะใช้กับการใช้วิธีอบไอน้ำมะละกอกำจัดแมลงวันผลไม้ โดยปรับกระบวนการให้ความร้อนกับมะละกอทำให้อุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นไปอย่างช้าๆ ถึง 43.3 °ซ. ใช้ระยะเวลานาน 8 ชั่วโมง เป็นการวางแผนการอบมะละกอเพื่อวัตถุประสงค์ลดความเสียหายของมะละกอจากความร้อนในช่วงหลัง ซึ่งต้องคงความร้อนในผลมะละกอที่อุณหภูมิ 43.3° ซ. เป็นเวลานาน 8 : 45 ชั่วโมง (Seo et al., 1974) แต่อย่างไรก็ดี ในงานศึกษาวิจัยเบื้องต้นด้านความเสียหายของมะนาวจากความร้อน (fruit injury test) พบว่า วิธีการดังกล่าวนี้ไม่ทำให้มะนาวเกิดความเสียหาย โดยลักษณะความเสียหายที่สำคัญมีหลายอาการได้แก่ ผิวเปลือกเกิดรอยย่นยุบตัวลงในบางผล และสีผิวเปลือกมะนาวจากสีเขียวเปลี่ยนเป็นสีเหลืองบางส่วนจนกระทั่งเหลืองทั่วทั้งผล รวมถึงเกิดการสูญเสียกลิ่นหอมของผิวเปลือกมะนาว มีการศึกษาวิจัยหาวิธีลดความเสียหายของผลไม้จากความร้อน ความเสียหายจากอาการเนื้อนิ่มผิดปกติ (abnormal softening) ของมะละกอ (*Carica papaya* Linn.) ทำให้ลดลงหรือป้องกันได้โดยก่อนที่จะนำมะละกอไปผ่านความร้อนกำจัดศัตรูพืช เก็บมะละกอที่กำลังจะสุกไว้ที่อุณหภูมิ 42 ° ซ. นาน 4 ชั่วโมง หรือที่อุณหภูมิที่สูงกว่า 35 ° ซ นาน 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 22 ° ซ. นาน 3 ชั่วโมง (Paull and Chen, 1990) Chan and Linse (1989 a,b) พบว่า ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลแตง (*Cucumis sativa* Linn. Var. Burpee hubrid II') ด้วยวิธีจุ่มผลแตงในน้ำร้อน หากปรับสภาพผลแตงก่อนจุ่มในน้ำร้อนด้วยวิธีเก็บผลแตงไว้ที่อุณหภูมิ 32.5° ซ. เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง จะกระตุ้นให้ผลแตงสร้างความทนทานต่อความร้อน ทำให้จุ่มผลแตงในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 46° ซ. เป็นเวลานานถึง 50 นาที ซึ่งนานพอที่จะกำจัดแมลงวันผลไม้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพ

เหตุผลของการเพิ่มอุณหภูมิผลขึ้นไปอย่างช้าๆ โดยใช้ระยะเวลานานถึง 8 ชั่วโมง นั้น เพื่อให้มะละกออยู่ภายใต้สภาพอุณหภูมิสูงเป็นช่วงระยะเวลานานเพียงพอที่มะละกอจะสร้างความทนทานต่อความร้อน Sinclair and Lindgren (1955) ศึกษาความเสียหายของผลส้ม (*Citrus* spp.) จากความร้อนวิธีอบไอน้ำ โดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีให้ความร้อน 2 กรรมวิธี คือ กรรมวิธีที่ 1 ให้ความร้อนกับผลไม้เพิ่มอุณหภูมิขึ้นไปอย่างช้าๆ จนกระทั่งถึง 43.3° ซ. โดยใช้ระยะเวลานาน 8 ชั่วโมง หลังจากนั้นควบคุมอุณหภูมิผลที่ระดับนี้เป็นเวลานาน 8 : 45 ชั่วโมง ส่วนกรรมวิธีที่ 2 อบผลไม้โดยหมุนเวียนอากาศร้อนที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำอุณหภูมิสูง 49 ° ซ. ทำให้ผลไม้อุณหภูมิเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว

จนกระทั่งอุณหภูมิภายในผลสูงถึง 48.5° ซ. ผลการทดลองพบว่า การอบไอน้ำโดยวิธีทำให้ผลไม้อุณหภูมิเพิ่มขึ้นไปถึงกำหนดอย่างรวดเร็ว มักจะทำให้ส้มวาเลนเซีย (Valencia) และส้มเกรฟฟรุท (grapefruit) เสียหายรุนแรงกว่าการอบไอน้ำโดยวิธีทำให้อุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ นอกจากนี้ Claypool and Vines (1956) รายงานผลการศึกษาวิจัยในลักษณะเดียวกันนี้ เมื่อทดลองอบไอน้ำกับผลไม้เขตหนาวหลายชนิด การอบไอน้ำโดยวิธีเพิ่มอุณหภูมิของผลไม้ขึ้นไปอย่างรวดเร็วทำให้ผลไม้เกิดความเสียหายจากความร้อนมากกว่ากรรมวิธีเพิ่มอุณหภูมิของผลไม้ขึ้นไปอย่างช้าๆ รายงานผลการศึกษาวิจัยนี้เป็นการศึกษาหาวิธีลดความเสียหายของมะนาวจากความร้อนวิธีอบไอน้ำ โดยวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือ เพื่อศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาการให้ความร้อน (heating duration) ของวิธีอบไอน้ำ ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลมะนาว

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตู้อบไอน้ำกำจัดแมลงขนาดเล็กสำหรับงานทดลองจำนวน 2 เครื่อง
2. ตู้ลดอุณหภูมิของผลไม้
3. เครื่องอ่างน้ำร้อน
4. เครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์แบบต่อเนื่อง
5. ห้องเย็นสำหรับเก็บผลไม้สำหรับเก็บผลไม้ทดลอง
6. แท่งวัดอุณหภูมิขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง
7. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดผลไม้
8. ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับเก็บผลไม้ทดลอง ขนาดเล็ก โดยใช้อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 75 เปอร์เซ็นต์
9. ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับเก็บผลไม้ทดลอง ขนาดเล็ก 3 ตู้
10. ผลมะนาวทดลอง
11. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่งสำหรับงานทดลอง
12. อุปกรณ์สำหรับใช้ในงานทดลอง ได้แก่ เครื่องแก้วต่างๆ จานทดลองขนาดเล็ก (plate) มีดปอกเปลือกผลไม้ หลอดดูดสารละลาย ถุงมือยาง ผ้าปิดปาก ถาดใส่ผลไม้ ถุงขยะดำ
13. อุปกรณ์ทำความสะอาดอื่นๆ

วิธีการ

ดำเนินการทดลองอบมะนาวโดยใช้เครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ “Sanshu” Vapor Heat Treatment System (Differential Pressure Type) (model: EHK-1000B, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan) จำนวน 2 เครื่อง มะนาวทดลองมีอายุหลังการเก็บเกี่ยว 3-4 วัน ผลขนาดเล็ก น้ำหนัก 35-45กรัม/ผล จากแหล่งปลูกในท้องที่จังหวัด สมุทรสาคร เก็บมะนาวทั้งหมดในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น (Thermo/humidity chamber) (model: STH-2, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan) อุณหภูมิ 27±1 °ซ. ความชื้นสัมพัทธ์ 75±1 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งนำมะนาวเข้าอบในเครื่องตู้อบความร้อน ดำเนินการอบมะนาวด้วยวิธีอบไอน้ำ ซึ่งมีกรรมวิธีการให้ความร้อนโดยเพิ่มอุณหภูมิผลมะนาวถึงระดับที่กำหนด 2 วิธี ดังรายละเอียดต่อไปนี้คือ วิธีที่ 1 อบมะนาวภายใต้สภาพอากาศที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิคงที่ (Constant temperature vapor

heat treatment, CONSTANT VHT) โดยอบมะนาวที่อุณหภูมิ 46 หรือ 47° ซ. จนกระทั่งอุณหภูมิภายในสูงสุดของผลมะนาว (Fruit center temperature) เพิ่มขึ้นถึง 46 หรือ 47° ซ. ตามลำดับ วิธีที่ 2 อบมะนาวภายใต้สภาพอากาศร้อนอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นแต่ละระดับภายในช่วงเวลาที่กำหนด (stepped temperature vapor heat treatment, STEPPED VHT) อบมะนาวโดยอุณหภูมิอากาศเพิ่มสูงขึ้นตามลำดับขั้นดังนี้ จาก 30 °ซ. ถึง 35 °ซ. ภายในเวลา 30 นาที จาก 35 °ซ. ถึง 43 °ซ. ภายในเวลา 30 นาที จาก 43 °ซ ถึง 46 หรือ 47 °ซ. ภายในเวลา 10 นาที และอุณหภูมิคงอยู่ที่ 46 หรือ 47 °ซ. จนกระทั้งอุณหภูมิภายในสุดผลเพิ่มขึ้นถึง 46 หรือ 47 °ซ. ตามลำดับ

ทำการอบมะนาวทั้ง 2 วิธี พร้อมกันโดยแยกอบมะนาวแต่ละวิธีด้วยเครื่องตู้อบความร้อนวิธีละเครื่อง เปรียบเทียบคุณภาพผลมะนาวเมื่ออุณหภูมิภายในสูงสุดตรงบริเวณกึ่งกลางผลคงอยู่ที่ 46 และ 47 °ซ. เป็นระยะเวลานาน 1, 1:30 และ 2 ชั่วโมง โดยแต่ละอุณหภูมิและระยะเวลากำหนดมีมะนาวผ่านความร้อนแต่ละกรรมวิธีจำนวน 20 ผล สำหรับมะนาวที่ใช้เปรียบเทียบ (control) มีจำนวน 20 ผล ไม่ต้องผ่านความร้อน ดำเนินการทดลองอบมะนาวเปรียบเทียบกันแต่ละอุณหภูมิจำนวน 3 ครั้ง

วิธีวัดอุณหภูมิผลมะนาว จะวัดอุณหภูมิจากมะนาวกำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) จำนวน 3 ผล น้ำหนัก 40±1 กรัม/ผล ซึ่งจะใช้เป็นตัวแทนที่จะแสดงอุณหภูมิผลมะนาวทั้งหมดภายในเครื่องตู้อบความร้อน โดยทำการวัดอุณหภูมิผลมะนาวตามรายละเอียดใน สลักจิตและคณะ (2555) เมื่อมะนาวกำหนดอุณหภูมิ 2 ผล เพิ่มขึ้นถึงอุณหภูมิกำหนด แสดงว่าขณะนั้นผลมะนาวทดลองทั้งหมดในเครื่องตู้อบความร้อนมีอุณหภูมิอยู่ในระดับเดียวกันกับมะนาวที่กำหนดอุณหภูมิ เมื่อมะนาวทดลองมีอุณหภูมิคงที่อยู่เป็นระยะเวลานานตามกำหนด นำมะนาวที่ระยะเวลานั้นออกจากเครื่องตู้อบความร้อนลดอุณหภูมิผลมะนาวทันทีหลังจากสิ้นสุดการให้ความร้อนโดยวิธีเป่าด้วยลมนาน 0:30 ชั่วโมง ในเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ “Sanshu” Shower Cooling System (Differential Pressure Type) (model: SHS-12, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kangoshima, Japan)

เก็บมะนาวทดลองทั้งหมดในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นนาน 7 วัน ที่อุณหภูมิ 27±1 °ซ. ความชื้นสัมพัทธ์ 75±5 เปอร์เซ็นต์ และตรวจผลการทดลองตามรายละเอียดใน สลักจิตและคณะ (2555) การประเมินคุณภาพมะนาวใช้หลักเกณฑ์พิจารณาในหัวข้อต่างๆ ดังนี้คือ การสูญเสียน้ำหนัก ความเป็นกรด และระดับความเสียหายของมะนาวจากความร้อน ได้แก่ อาการสีผิวเปลือกมะนาวจากสีเขียวเปลี่ยนเป็นสีเหลืองบางส่วนจนกระทั่งเหลืองทั่วทั้งผล และผิวเปลือกมีการขยายและหดตัวทำให้ผิวเปลือกเกิดรอยย่นยุบตัวลงในบางผล โดยทำการตรวจสอบอาการสีผิวเปลือกมะนาวจากนั้นมะนาวที่เหลือจึงจะตรวจความเสียหายจากอาการอื่นๆ บันทึกจำนวนมะนาวที่แสดงความเสียหายจากอาการต่างๆ นำข้อมูล การสูญเสียน้ำหนัก และความเป็นกรด วิเคราะห์ทางสถิติ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธีทดสอบแบบ T-test

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2555 ตุลาคม 2556

สถานที่ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
กรมวิชาการเกษตร ถ.งามวงศ์วาน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ตารางที่ 1 และ 2 แสดงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอากาศ และอุณหภูมิผลมะนาว ในระหว่างการทดลองอบมะนาวด้วยวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 เมื่ออบมะนาวให้อุณหภูมิผลเพิ่มขึ้น 46 และ 47 °ซ. ตามลำดับ ตารางที่ 1 แสดงระยะเวลาที่อากาศร้อนที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้นถึง 47 และ 48 °ซ. ในการอบมะนาวที่อุณหภูมิผล 46 และ 47 °ซ. ตามลำดับ รวมทั้งรายละเอียดอื่นๆ ในการอบมะนาวแต่ละครั้ง เมื่ออบมะนาวด้วยวิธีที่ 1 อากาศร้อนภายในห้องบรรจุผลไม้อุณหภูมิเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วถึง 47 และ 48 °ซ. ภายในระยะเวลา 15 นาที ในการทดลองทั้ง 3 ครั้ง (ตารางที่ 1) ส่วนวิธีที่ 2 อุณหภูมิอากาศจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ถึง 47 และ 48 ° ซ. ภายในระยะเวลา 2 และ 1 ชั่วโมง จากการทดลองทั้ง 3 ครั้ง (ตารางที่ 1) เมื่ออบมะนาวด้วยวิธีที่ 1 อุณหภูมิอากาศเพิ่มขึ้นถึง 47 และ 48° ซ. เร็วกว่าวิธีที่ 2 เป็นระยะเวลานานแตกต่างกันถึง 1:45 และ 45 นาที ตามลำดับ ในการทดลองทั้ง 3 ครั้ง

การอบมะนาวด้วยวิธีอบไอน้ำ ความร้อนจากอากาศจะถ่ายเทไปที่เปลือกมะนาว และจากเปลือกจึงถ่ายเทเข้าไปยังเนื้อถึงบริเวณที่อยู่ภายในสุด ดังนั้นถ้าอุณหภูมิบริเวณเปลือกนอกและเนื้อที่อยู่ในสุดแตกกันมากเท่าไร ความร้อนที่บริเวณเปลือกจะถ่ายเทเข้าไปในผลได้อย่างรวดเร็วยิ่งขึ้นเท่านั้น ตารางที่ 2 แสดงระยะเวลาการอบมะนาวให้อุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นถึง 46 และ 47 °ซ. เมื่ออบมะนาวด้วยวิธีที่ 1 อุณหภูมิผลมะนาวเพิ่มขึ้นถึง 46°ซ. ในเวลา 0.41, 0.47 และ 0.39 ชั่วโมง ในการทดลองครั้งที่ 1, 2 และครั้งที่ 3 ตามลำดับ ส่วนวิธีที่ 2 ใช้เวลานาน 2.25, 2.09 และ 2.05ชั่วโมง ในการทดลองครั้งที่ 1, 2 และครั้งที่ 3 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) สำหรับการอบมะนาวที่อุณหภูมิผล 47 °ซ. วิธีที่ 1 ใช้เวลา 0.42, 0.33 และ 0.40 ชั่วโมง เพิ่มอุณหภูมิผลถึงกำหนดจากการทดลองทั้ง 3 ครั้ง ตารางที่ 2 ส่วนวิธีที่ 2 ใช้เวลานาน 2.08, 2.07 และ 2.03 ชั่วโมง ในการทดลองครั้งที่ 1, 2 และครั้งที่ 3 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) การอบมะนาวด้วยวิธีที่ 1 อุณหภูมิอากาศร้อนรอบผลมะนาวเพิ่มขึ้นถึงระดับกำหนด 46 และ 47°ซ. อย่างรวดเร็ว อุณหภูมิที่บริเวณเปลือกนอกมะนาวและเนื้อที่อยู่ในสุดแตกต่างกันมาก ดังนั้นการอบมะนาววิธีที่ 1 จะทำให้อุณหภูมิภายในสุดผลมะนาวเพิ่มขึ้นถึงระดับกำหนด 46 และ 47 °ซ. รวดเร็วกว่าวิธีที่ 2 ดังจะเห็นได้จากผลการทดลองอบมะนาววิธีที่ 1 อุณหภูมิผลมะนาวเพิ่มขึ้นถึง 46°ซ. เร็วกว่าวิธีที่ 2 เป็นเวลา 1:44, 1.22 และ 1:26 ชั่วโมง ในการทดลองครั้งที่ 1, 2 และครั้งที่ 3 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาการอบมะนาวที่อุณหภูมิผล 47°ซ. วิธีที่ 1 จะเพิ่มอุณหภูมิผลมะนาวถึงกำหนดก่อนวิธีที่ 2 เป็นเวลานานถึง 1:26, 1.34 และ 1:23 ชั่วโมง ในการทดลองครั้งที่ 1, 2 และครั้งที่ 3 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

โดยทั่วไป มะนาวที่ผ่านความร้อนมีการสูญเสียน้ำหนักมากกว่ามะนาวไม่ผ่านความร้อน การสูญเสียน้ำหนักของมะนาวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อมะนาวได้รับความร้อนระยะเวลานานขึ้น อย่างไรก็ดี การอบมะนาวที่อุณหภูมิผล 46 °ซ. ด้วยวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 ไม่ทำให้การสูญเสียน้ำหนักของมะนาวแตกต่างทางสถิติกับมะนาวไม่ผ่านความร้อน แต่เมื่อเปรียบเทียบที่อุณหภูมิผล 47 °ซ. กับมะนาวไม่ผ่านความร้อน การสูญเสียน้ำหนักของมะนาวแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อใช้ระยะเวลานาน 1:30 และ 2 ชั่วโมง ในการทดลองครั้งที่ 2 และ 3 ตารางที่ 3 แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 พบว่าการสูญเสียน้ำหนักไม่แตกต่างกัน สำหรับคุณภาพในส่วนที่เกี่ยวกับความเป็นกรด ปรากฏผลในทำนองเดียวกัน ความเป็นกรดของมะนาวที่ผ่านความร้อนทั้งสองวิธีแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับมะนาวไม่ผ่านความร้อนทุกระยะเวลากำหนดที่อุณหภูมิผล 46 °ซ.

(ตารางที่ 5) และ 47 °ซ. ตารางที่ 6 เมื่อมะนาวผ่านความร้อนเป็นระยะเวลานานขึ้นยิ่งทำให้ค่าของความเป็นกรดลดลงเรื่อยๆ ซึ่งสอดคล้องกับระดับกลิ่นหอมของต่อมน้ำมันที่ผิวเปลือกมะนาว

การอบมะนาวด้วยวิธีอบไอน้ำ ทั้งวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 พบความเสียหายมะนาวจากอาการสีผิวเปลือกมะนาวจากสีเขียวเปลี่ยนเป็นสีเหลืองบางส่วนจนกระทั่งเหลืองทั่วทั้งผล แสดงไว้ใน ตารางที่ 7 และผิวเปลือกมีการขยายและหดตัวทำให้ผิวเปลือกเกิดรอยย่นยุบตัวลงในบางผล แสดงไว้ในตารางที่ 8 ระดับความเสียหายเมื่ออบมะนาวด้วยวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 เมื่ออบมะนาวที่อุณหภูมิผล 46°ซ. และ 47°ซ. การทดลองครั้งที่ 1 มะนาวเสียหายจากอาการสีผิวเปลือกมะนาวเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง พบว่ากรรมวิธีที่ 2 เสียหายมากกว่า กรรมวิธีที่ 1 ทั้ง 3 ระยะเวลา คือ 1, 1: 30 และ 2 ชั่วโมง ความเสียหายวิธีที่ 1 ที่ 31.25, 35.50 และ 40 เปอร์เซ็นต์ และความเสียหายวิธีที่ 2 ที่ 46.25, 50 และ 66.55 เปอร์เซ็นต์ และแตกต่างจากมะนาวที่ไม่ผ่านความร้อนอย่างชัดเจนที่ 32.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนมะนาวที่ผ่านความร้อนวิธีที่ 1 และ 2 แตกต่างกันมากโดยเฉพาะ เมื่ออบมะนาวใช้ระยะเวลานานถึง 2 ชั่วโมง ความเสียหายของมะนาวจากอาการดังกล่าวเปรียบเทียบระหว่างวิธีที่1และวิธีที่ 2 แตกต่างกันสูงถึง 26.55 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 46°ซ

การทดลองครั้งที่ 1 ที่อุณหภูมิ 47°ซ มะนาวเสียหายจากอาการสีผิวเปลือกมะนาวเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง พบว่ากรรมวิธีที่ 2 เสียหายมากกว่า กรรมวิธีที่ 1 ทั้ง 3 ระยะเวลา คือ1, 1: 30 และ 2 ชั่วโมง ความเสียหายวิธีที่ 1 ที่ 51.25, 50 และ 50 เปอร์เซ็นต์ และสำหรับความเสียหายในกรรมวิธีที่ 2 ดูเหมือนจะมีผลกระทบต่อความเสียหายจากอาการสีผิวเปลือกมะนาวเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง โดยวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลขึ้นอย่างช้าๆ ทำให้มะนาวเสียหายจากอาการเนื้อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลน้อยกว่าวิธีการเพิ่มอุณหภูมิผลขึ้นอย่างรวดเร็ว มะนาวเสียหายอยู่ที่ระดับ 72.50, 68.75 และ 77.55 เปอร์เซ็นต์ และแตกต่างจากมะนาวที่ไม่ผ่านความร้อนอย่างชัดเจนที่ 45 เปอร์เซ็นต์ ส่วนมะนาวที่ผ่านความร้อนทั้ง 2 วิธีแตกต่างกันมากโดยเฉพาะ เมื่ออบมะนาวใช้ระยะเวลานานถึง 2 ชั่วโมง ความเสียหายของมะนาวจากอาการดังกล่าวเปรียบเทียบระหว่างวิธีที่1และวิธีที่ 2 แตกต่างกันสูงถึง 27.50 เปอร์เซ็นต์

และการทดลองครั้งที่ 2 และ 3 มะนาวที่ผ่านความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำของทั้ง 2 การทดลอง และทั้ง 2 กรรมวิธีมีความเสียหายเป็นไปในทำนองเดียวกัน คือ เมื่ออบมะนาวทั้ง 3 ระยะเวลา คือ1, 1: 30 และ 2 ชั่วโมง พบว่าความเสียหายด้านการเปลี่ยนสีผิวเปลือกจากสีเขียวเป็นสีเหลือง (รูปที่1 และ 2) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่ออบมะนาวเป็นระยะเวลานานขึ้น และแตกต่างกันมาก กับมะนาวที่ไม่ผ่านความร้อน จากการเปลี่ยนของสีเปลือก โดยเฉพาะการอบมะนาวโดยใช้ระยะเวลานาน 1:30 และ 2 ชั่วโมง มะนาวที่ผ่านความร้อนทั้ง 2 วิธีไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อใช้เวลานานขึ้นทั้ง 2 วิธีมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางเดียวกันคือเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเพิ่มมากขึ้นมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์

ผลจากการทดลองจำนวน 3 ครั้ง สามารถสรุปได้ว่าความเสียหายในเรื่องการเปลี่ยนสีผิวเปลือกเป็นสีเหลืองไม่สัมพันธ์กันมากนัก ทั้งนี้อาจเกิดจากอายุการเก็บเกี่ยวผลมะนาวแตกต่างกัน ความอ่อนแก่ของผลมะนาวแตกต่างกัน เมื่อดูจากสภาพผิวเปลือกมะนาว พบว่าลักษณะของต่อมน้ำมันค่อนข้างแตกต่างกันในแต่ละผล ระยะความถี่ห่างของต่อมน้ำมัน ฐานต่อมน้ำมันอาจจะเล็กหรือใหญ่แตกต่างกันไป ซึ่งสภาพต่างๆดังที่กล่าวมานี้ มีผลกระทบโดยตรงกับมะนาวที่ผ่านความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำมาก เมื่อระยะห่างของต่อมน้ำมันมะนาวมีความถี่สูง แสดงว่าอายุมะนาวยังไม่แก่เต็มที่ โอกาสที่ผิวเปลือกมะนาวจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองมีน้อยกว่า ซึ่งนั่นก็หมายถึงหากมะนาวมีระยะความห่างของต่อมน้ำมันสูง อายุของผลมะนาวอาจแก่เต็มที่มะนาวมีแนวโน้มการเปลี่ยนสีผิวเปลือกจากสีเขียวเป็นสีเหลืองมากยิ่งขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นและใช้เวลานานขึ้น

ตารางที่ 8 แสดงระดับความเสียหายที่ผิวเปลือกมีการขยายและหดตัวทำให้ผิวเปลือกเกิดรอยย่นยุบตัวลงรอยยุบดังกล่าวมีการเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลจนถึงสีเทาดำในบางผล แผลมีขนาดตั้งแต่เป็นจุดเล็กจนถึงหัวเข็มหมุด ความเสียหายอย่างรุนแรงของมะนาวบางผลมีขนาดใหญ่กว้างประมาณ 1 ใน 4-ของผล (รูปที่2) เป็นลักษณะอาการที่เสดงให้เห็นบนผิวเปลือก ซึ่งจะแห้งแข็งเป็นแผ่นบางคล้ายกับเอาเปลือกมะนาวไปตากไว้ในขณะที่มีแสงแดดจัด ความเสียหายดังกล่าวจากความร้อนด้วยวิธีอบไอน้ำพบว่า เมื่ออบมะนาวด้วยวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 มีผลกระทบกับมะนาวที่ผ่านความร้อนสูงขึ้นและใช้เวลานานขึ้น อาการดังกล่าวจะแสดงให้เห็นได้ชัดเจนเฉพาะวิธีที่ 1 ที่อุณหภูมิผล 47°ซ. ระยะเวลานาน 1:30 และ 2 ชั่วโมง ในการทดลองครั้งที่ 1 พบความเสียหายจำนวน 5 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองครั้งที่ 2 พบความเสียหาย 5 และ10 เปอร์เซ็นต์ และการทดลองครั้งที่ 3 ความเสียหายที่เกิดขึ้น 10 และ10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ความเสียหายผิวเปลือกมีการขยายและหดตัวทำให้ผิวเปลือกเกิดรอยย่นยุบตัวลงรอยยุบดังกล่าวมีการเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลไปจนถึงสีเทาดำนั้น เกิดขึ้นจากการให้ความร้อนใช้ระยะเวลาที่สั้นเกินไป ทำให้ผิวเปลือกมะนาวขยายตัวอย่างรวดเร็ว ต่อมน้ำมันที่ผิวเปลือกบางส่วนขยายตัวเต็มที่และสุดท้ายต่อมน้ำมันแตกและสลายไปกับความร้อน ซึ่งผิวเปลือกไม่สามารถเก็บน้ำมันไว้ได้ทำให้ผิวแห้ง อาการดังกล่าวนี้เมื่อเก็บไว้ในระยะเวลาสั้นจะยังไม่แสดงออกทันทีทันได แต่เมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลานานถึง 1 สัปดาห์ จึงจะเห็นอาการนี้อย่างชัดเจน ในขณะที่การทดลองวิธีที่ 2 และการอบมะนาว ที่อุณหภูมิผล 46°ซ.ทั้ง 2 กรรมวิธี ไม่พบความเสียหายจากอาการนี้เลย

แบคทีเรีย พืช และสัตว์ เมื่ออยู่ภายใต้สภาพอุณหภูมิสูงช่วงระยะเวลาหนึ่งจะสร้างภูมิต้านทานต่อความร้อน (themotolerance) (Lindquist and Craig, 1988) ในขณะที่ความทนต่อความร้อนเริ่มพัฒนาขึ้นนั้น จะมีการสร้างสารโปรตีนกลุ่มหนึ่งที่มีลักษณะพิเศษเรียกว่า heat shock protein (HSP) ในการพัฒนาการใช้ความร้อนและความเย็นกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลไม้ ได้มีการคิดค้นวิธีการต่างๆ เพื่อลดความเสียหายของผลไม้จากความร้อน (heat injury) และความเย็น (chilling injury) วิธีการหนึ่งซึ่งให้ผลดีได้แก่ การปรับสภาพของผลไม้โดยให้ผลไม้อยู่ภายใต้สภาพอุณหภูมิสูงสุดในช่วงระยะเวลาหนึ่ง (pre-condition) ก่อนที่จะนำผลไม้ไปเก็บรักษาหรือผ่านกระบวนการกำจัดแมลงด้วยความร้อนหรือความเย็นตามขั้นตอนและวิธีการที่กำหนด (McDonald and Miller, 1994) การเก็บผลส้มเกรฟฟรุทไว้ในอุณหภูมิที่สูงกว่าอุณหภูมิปกติที่ใช้ในการเก็บรักษาภายในช่วงระยะเวลาหนึ่ง พบว่าสามารถลดความเสียหายจากความเย็นของส้มเกรฟฟรุทอย่างได้ผลเมื่อต้องนำผลส้มเกรฟฟรุทนั้นเก็บไว้ในห้องเย็นที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลานาน (Hatton and Cubbedge, 1993) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า ถ้าเก็บมะเขือเทศ (Lurie and Klein, 1991) และมะม่วง (McCollum, 1993) ที่อุณหภูมิสูงประมาณ 30-40 ° ซ. เป็นเวลานาน 2 หรือ 3 วันก่อนเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำจะช่วยป้องกันความเสียหายจากความเย็น การเก็บรักษาผลแตงไว้ที่อุณหภูมิ 32.5 °ซ. เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ทำให้จุ่มผลแตงในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 46 ° ซ. เป็นเวลานานถึง 50 นาที ซึ่งนานพอที่จะกำจัดแมลงวันผลไม้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพ (Chan and Linse, 1989 a, b) โดยที่อุณหภูมิ 32.5 ° ซ. ถึงแม้ว่าจำเป็นอุณหภูมิที่ต่ำกว่าอุณหภูมิปกติที่ใช้สำหรับการกระตุ้นให้เกิดการสร้าง HSP แต่ทว่าช่วงเวลา 24 ชั่วโมงอาจจะนานเพียงสำหรับกระตุ้นการสร้าง HSP

ความเสียหายจากความร้อนของมะนาวซึ่งแตกต่างกันระหว่างการอบมะนาวด้วยวิธีอบไอน้ำโดยวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 จึงอาจอธิบายได้ว่า เมื่ออบมะนาวด้วยวิธีที่ 1 ซึ่งมะนาวอุณหภูมิเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว มะนาวจึงอยู่ภายใต้สภาพอุณหภูมิสูงขึ้นในช่วงเพิ่มอุณหภูมิถึง 46.0 ° ซ. และ 47.0 ° ซ. เป็น

ระยะเวลานาน 2.42 และ 2.38 ชั่วโมง อาจจะเป็นช่วงเวลาสั้นมากเกินไปที่จะกระตุ้นให้มะนาวเกิดการพัฒนาความทนทานต่อความร้อน ในขณะที่วิธีที่ 2 มะนาวอยู่ภายใต้สภาพอุณหภูมิสูงเป็นเวลานาน 4.13 และ 4.06 ชั่วโมง ซึ่งอาจจะเป็นเวลาค่อนข้างนานเกินไปที่จะกระตุ้นให้เกิดการสร้างความทนทานต่อความร้อนได้ระดับหนึ่ง ทำให้มะนาวสามารถทนทานต่อความร้อนสูงได้ไม่ดีเท่าที่ควร ในช่วงแรกซึ่งมะนาวต้องอยู่ภายใต้สภาพอากาศร้อนที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำสภาพความชื้นสัมพัทธ์สูง ด้วยเหตุนี้ จึงจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาวิจัยในรายละเอียดเพิ่มขึ้น เพื่อหาช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมซึ่งนานเพียงพอที่มะนาวจะสร้างความทนทานต่อความร้อนได้สูงสุด

อุดร และคณะ (2539) ได้รายงานเกี่ยวกับความชื้นสัมพันธ์ของอากาศร้อนในช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิผลถึง 43 °ซ. มีอิทธิพลต่อความเสียหายของมะนาวจากความร้อนของวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพันธ์ โดยอากาศร้อนความชื้นสัมพันธ์ต่ำในช่วงระหว่าง 50-80 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดความเสียหายของมะนาวจากความร้อนได้ในระดับหนึ่งเช่นเดียวกัน จากผลงานวิจัยของ อุดร และพิทวัฒน์ (2539) และงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า ระยะเวลาในช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิมะนาวถึง 43 °ซ. มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งในกระบวนการอบมะนาวด้วยวิธีอบไอน้ำ หากสามารถกำหนดสภาพช่วงระยะเวลาการให้ความร้อนที่เหมาะสมได้ อาจจะยังผลให้สามารถพัฒนากระบวนการอบมะนาวด้วยวิธีอบไอน้ำ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ในมะนาวได้ตามมาตรฐานกำหนดด้านกักกันพืช โดยมะนาวไม่เกิดความเสียหายจากความร้อน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การอบมะนาวด้วยวิธีอบไอน้ำโดยวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลขึ้นไปอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาสั้นเปรียบเทียบกับวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นไปแต่ละระดับอย่างช้าๆ โดยใช้ระยะเวลานาน มีผลกระทบต่อมะนาวสรุปได้ดังนี้คือ

1. การอบมะนาวโดยวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลขึ้นไปอย่างรวดเร็ว และกับวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลขึ้นอย่างช้าๆ ไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของมะนาวในส่วนที่เกี่ยวกับ การสูญเสียน้ำหนัก ถึงแม้ว่าจะคงอุณหภูมิผลไว้ที่ 46 °ซ. เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิผลสูงขึ้นเป็น 47 °ซ.เป็นเวลานาน 1:30 และ 2 ชั่วโมง พบว่าในการทดลองครั้งที่ 2 และ 3 มีผลกระทบต่อคุณภาพของมะนาวในส่วนที่เกี่ยวกับการสูญเสียน้ำหนักเป็นอย่างมากซึ่งสอดคล้องกับความเป็นกรด

2. พบความเสียหายอย่างเด่นชัด คือ

2.1 มะนาวแสดงอาการสีผิวเปลือกมะนาวจากสีเขียวเปลี่ยนเป็นสีเหลืองบางส่วนจนกระทั่งเหลืองทั่วทั้งผล อาการนี้พบว่า วิธีการให้ความร้อนแบบที่2 คือค่อยๆเพิ่มความร้อนมีแนวโน้มก่อเกิดความเสียหายมากกว่าวิธีที่ 1

2.2 ความเสียหายที่ผิวเปลือกมีการขยายและหดตัวทำให้ผิวเปลือกเกิดรอยย่นยุบตัวลง รอยยุบดังกล่าวมีการเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลจนถึงสีเทาดำในบางผล ซึ่งพบอาการนี้บางผลแต่ไม่รุนแรง พบอาการนี้กับการอบมะนาวโดยวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลขึ้นไปอย่างเร็ว

3. ระยะเวลาในช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิผลมะนาวจากอุณหภูมิห้องถึง 43 °ซ. เป็นช่วงเวลาที่มีความสำคัญอย่างยิ่งในการอบมะนาวด้วยวิธีอบไอน้ำ ถ้ามะนาวอยู่ภายใต้สภาพอุณหภูมิสูงในช่วงเวลาดังกล่าวนี้เป็นระยะเวลานานพอดี จะกระตุ้นให้มะนาวสร้างความทนทานต่อความร้อน ซึ่งช่วยให้สามารถลดความเสียหายของมะนาวจากความร้อนได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ผู้เชี่ยวชาญอุดร อุณหวุฒิ และ คุณรัชฎา อินทรกำแหง ที่มีส่วนช่วยให้คำปรึกษาในงานทดลอง และขอขอบคุณ คุณประชุม นุ้ยจำนัล คุณสมิทธิ์ อยู่เอี่ยม คุณกัลยา วงศ์สุวรรณ คุณมีนา จริงจิตร คุณนวลนิสา ตั้งสัจจะกุล ที่มีส่วนช่วยในการเตรียมการทดลอง รวมถึงการเช็คผลการทดลอง ฝ่ายวิชาการสถิติ กองแผนงานและวิชาการ ที่ให้คำแนะนำและช่วยเหลือด้านสถิติ

เอกสารอ้างอิง

อุดร อุณหวุฒิ และ พิทวัฒน์ อ่อนทองหลาง. 2539. อิทธิพลของความชื้นสัมพัทธ์ต่อคุณภาพของผลมังคุดที่ผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำปรับความชื้นสัมพัทธ์. รายงานผลวิจัยประจำปี พ.ศ. 2539. กองควบคุมพืชและวัสดุเกษตร กรมวิชาการเกษตร.

Chan, H.T. and E. Lines. 1989 a. Conditioning cucumbers for quarantine heat treatments. Hort Science. 24: 985-989.

Claypool, L.L. and H.M. Vines. 1956. Commodity tolerance studies of deciduous fruits to moist heat and fumigants. Hilgardia. 24: 297-355.

Lindquist, S. and E.A. Carig. 1988. The heat shock proteins. Ann. Rev. Genetics. 22: 631-677.

Hatton, T.T.and R.H. Cubbedge.1983. Preferred temperature for prestorage conditioning of “Marsh” grapefruit to prevent chilling injury at low temperature. Hort Science. 18:7201-722

Lurie, S. and J.D. Klein. 1991. Accquistion of low-temperature tolerance in tomatoes by exposure to high-temperature stress. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 116: 1007-1012.

McCollum, T.G.., S. D’Aquino and R.E. McDonald. 1993. Heat treatment inhibits chilling injury on mangoes. Hort Science. 28: 197-198.

Seo, S.T., B.K.S. Hu, M. Komura, C.Y.L. Lee and E.J. Harris. 1974. *Dacs dorsalis*. Vapor heat treatment in papaya. J. Econ. Entomol. 67: 240-242.

Sinclair, W.B. and D.L. Lindgren. 1955. Vapor heat sterilization of California citrus and avocado fruits against fruit-fly insects. J. Econ. Entomol. 48: 395-403.

Unahawutti, Udorn, Mana Poomthong, Rachada Intarakumheng, Walaikorn Worawisitthumrong, Chamlong Lapasathukool, Eueychai Smitasiri, Pratuang Srisook and Chanuan Ratanawaraha. 1991. Vapor heat as plant quarantine treatment of ‘Nang Klarngwan’, ‘Nam Dokmai’, ‘Rad’ and ‘Pimsen Daeng’ mangoes infested with fuit flies (Diptera : Tephritidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on Thai mangoes to be exported to Japan. Tech. Plant Quarant. Sub-Div., Agr. Regulat. Div., Dept. of Agr., Bangkok. 342 pp.

ตารางที่ 1 ระยะเวลาที่อุณหภูมิภายในสุดผลมะนาวเพิ่มขึ้นถึง 46 °ซ และ 47 °ซ ของมะนาวหลังจากผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (vapor heat treatment, VHT) โดยวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลขั้นไปอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาสั้น (constant) เปรียบเทียบกับวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นไปแต่ละระดับอย่างช้าๆ โดยใช้ระยะเวลานาน (stepped)

อุณหภูมิอากาศ	การทดลองครั้งที่	น้ำหนักมะนาวกำหนดอุณหภูมิ(กรัม)		ปริมาณมะนาวในตู้ (กก/ลบ.ม.)		ระยะเวลา[1/] (ชั่วโมง)	
		constant	Stepped	constant	Stepped	constant	Stepped
47 °ซ	1	40.50	40.50	2.40	2.37	15	2
		40.40	40.45				
		40.39	40.49				
	2	40.65	40.01	2.36	2.34	15	2
		40.67	40.18				
		40.70	40.40				
	3	40.68	46.41	2.36	2.36	15	2
		40.76	40.48				
		40.77	40.54				
48°ซ	1	40.45	40.48	2.34	2.40	15	1
		40.49	40.64				
		40.60	40.66				
	2	40.61	40.10	2.45	2.46	15	1
		40.85	40.18				
		40.86	40.21				
	3	40.41	40.24	2.41	2.41	15	1
		40.48	40.24				
		40.52	40.30				

[1/] ระยะเวลาที่อุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นถึงที่กำหนดจากมะนาวกำหนดอุณหภูมิจำนวน 3 ผล

ตารางที่ 2 ระยะเวลาที่อุณหภูมิภายในสุดผลมะนาวเพิ่มขึ้นถึง 47°ซ ของมะนาวหลังจากผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT) โดยวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลขั้นไปอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาสั้น (constant) เปรียบเทียบกับวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นไปแต่ละระดับอย่างช้าๆ โดยใช้ระยะเวลานาน (stepped)

อุณหภูมิ(°ซ)	การทดลองครั้งที่	เวลาอุณหภูมิภายในสุดผลมะนาวขึ้นถึง 46°ซ		อุณหภูมิภายในสุดผลมะนาวขึ้นถึง 47°ซ	
		constant	Stepped	constant	Stepped
46	1	0.41	2.25	-	-
	2	0.47	2.09	-	-
	3	0.39	2.05	-	-
47	1	-	-	0.42	2.08
	2	-	-	0.33	2.07
	3	-	-	0.40	2.03

[1/] ระยะเวลาที่อุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นถึงที่กำหนดจากมะนาวกำหนดอุณหภูมิจำนวน 3 ผล

ตารางที่ 3 การสูญเสียน้ำหนัก (%) ของมะนาวหลังจากผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT) โดยวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลขึ้นไปอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาสั้น (constant) เปรียบเทียบกับวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นไปแต่ละระดับอย่างช้าๆ โดยใช้ระยะเวลานาน (stepped) ที่อุณหภูมิภายในสุดผล 46 °ซ เป็นระยะเวลาต่าง ๆ และเก็บไว้นาน 7 วัน ที่อุณหภูมิ 27±1 °ซ และความชื้นสัมพัทธ์ 75 ± 5 เปอร์เซ็นต์

การทดลองครั้งที่	กรรมวิธี	การสูญเสียน้ำหนัก (%)[1/]		
		1 ชั่วโมง	1.30 ชั่วโมง	2 ชั่วโมง
1	constant	11.12	11.30	11.37
	Stepped	11.58	11.63	11.72
	ไม่ผ่านความร้อน	11.54		
	t-test constant เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	ns	ns	ns
	t-test Stepped เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	ns	ns	ns
	t-test constant เทียบกับ Stepped	ns	ns	ns
2	constant	11.81	11.93	11.97
	Stepped	11.71	11.76	12.28
	ไม่ผ่านความร้อน	11.65		
	t-test constant เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	ns	ns	ns
	t-test Stepped เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	ns	ns	**
	t-test constant เทียบกับ Stepped	ns	ns	ns
3	constant	11.53	11.53	11.66
	Stepped	11.32	11.62	11.33
	ไม่ผ่านความร้อน	11.49		
	t-test constant เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	ns	ns	ns
	t-test Stepped เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	ns	ns	ns
	t-test constant เทียบกับ Stepped	ns	ns	ns

[1/] ค่าเฉลี่ยจากมะนาว 20 ผล

ns= ไม่แตกต่างทางสถิติ ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4 การสูญเสียน้ำหนัก (%) ของมะนาวหลังจากผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (vapor heat treatment, VHT)โดยวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลขึ้นไปอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาสั้น(constant)เปรียบเทียบกับวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นไปแต่ละระดับอย่างช้าๆ โดยใช้ระยะเวลานาน(stepped) ที่อุณหภูมิภายในสุดผล 47 °ซ เป็นระยะเวลาต่าง ๆ และเก็บไว้นาน 7 วัน ที่อุณหภูมิ 27±1 °ซ และความชื้นสัมพัทธ์ 75 ± 5 เปอร์เซ็นต์

การทดลองครั้งที่	กรรมวิธี	การสูญเสียน้ำหนัก (%)[1/]		
		1 ชั่วโมง	1.30 ชั่วโมง	2 ชั่วโมง
1	constant	10.84	11.06	11.45
	Stepped	11.33	11.45	11.67
	ไม่ผ่านความร้อน	11.10		
	t-test constant เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	ns	ns	ns
	t-test Stepped เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	ns	ns	*
	t-test constant เทียบกับ Stepped	ns	*	ns
2	constant	10.35	11.23	11.85
	Stepped	10.54	10.13	11.15
	ไม่ผ่านความร้อน	10.26		
	t-test constant เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	ns	*	*
	t-test Stepped เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	ns	*	*
	t-test constant เทียบกับ Stepped	ns	ns	*
3	constant	10.82	11.28	11.79
	Stepped	10.95	11.35	11.37
	ไม่ผ่านความร้อน	10.41		
	t-test constant เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	*	*	*
	t-test Stepped เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	*	*	*
	t-test constant เทียบกับ Stepped	ns	ns	ns

[1/] ค่าเฉลี่ยจากมะนาว 20 ผล

ns= ไม่แตกต่างทางสถิติ ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 5 ความเป็นกรด (%) ของมะนาวหลังจากผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT) โดยวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลขึ้นไปอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาสั้น (constant) เปรียบเทียบกับวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นไปแต่ละระดับอย่างช้าๆ โดยใช้ระยะเวลานาน (stepped) ที่อุณหภูมิภายในสุดผล 46 °ซ เป็นระยะเวลาต่าง ๆ และเก็บไว้นาน 7 วัน ที่อุณหภูมิ 27±1 °ซ และความชื้นสัมพัทธ์ 75 ± 5 เปอร์เซ็นต์

การทดลองครั้งที่	กรรมวิธี	ความเป็นกรด (%)		
		1 ชั่วโมง	1:30 ชั่วโมง	2 ชั่วโมง
1	constant	5.62	5.43	5.08
	Stepped	5.50	5.23	5.14
	ไม่ผ่านความร้อน	5.66		
	t-test constant เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	ns	*	*
	t-test Stepped เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	*	*	*
	t-test constant เทียบกับ Stepped	ns	ns	ns
2	constant	5.18	5.28	4.89
	Stepped	5.23	5.46	5.08
	ไม่ผ่านความร้อน	5.51		
	t-test constant เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	*	ns	*
	t-test Stepped เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	*	ns	*
	t-test constant เทียบกับ Stepped	ns	ns	ns
3	constant	5.49	5.44	5.28
	Stepped	5.67	5.42	5.29
	ไม่ผ่านความร้อน	5.69		
	t-test constant เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	*	ns	*
	t-test Stepped เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	*	ns	*
	t-test constant เทียบกับ Stepped	ns	ns	ns

1/ ค่าเฉลี่ยจากมะนาว 20 ผล

ns= ไม่แตกต่างทางสถิติ ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 6 ความเป็นกรด (%) ของมะนาวหลังจากผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT) โดยวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลขึ้นไปอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาสั้น (constant) เปรียบเทียบกับวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นไปแต่ละระดับอย่างช้าๆ โดยใช้ระยะเวลานาน (stepped) ที่อุณหภูมิภายในสุดผล 47 °ซ เป็นระยะเวลาต่าง ๆ และเก็บไว้นาน 7 วัน ที่อุณหภูมิ 27±1 °ซ และความชื้นสัมพัทธ์ 75 ± 5 เปอร์เซ็นต์

การทดลองครั้งที่	กรรมวิธี	ความเป็นกรด (%)		
		1 ชั่วโมง	1:30 ชั่วโมง	2 ชั่วโมง
1	constant	5.20	4.76	4.76
	Stepped	5.44	5.14	4.90
	ไม่ผ่านความร้อน	5.44		
	t-test constant เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	*	*	*
	t-test Stepped เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	ns	*	*
	t-test constant เทียบกับ Stepped	*	*	ns
2	constant	5.11	4.82	4.77
	Stepped	5.09	4.99	4.99
	ไม่ผ่านความร้อน	5.49		
	t-test constant เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	*	*	*
	t-test Stepped เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	*	*	*
	t-test constant เทียบกับ Stepped	ns	*	*
3	constant	5.72	5.62	5.45
	Stepped	6.16	6.10	5.82
	ไม่ผ่านความร้อน	6.72		
	t-test constant เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	*	*	*
	t-test Stepped เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	ns	ns	*
	t-test constant เทียบกับ Stepped	*	*	*

1/ ค่าเฉลี่ยจากมะนาว 20 ผล

ns= ไม่แตกต่างทางสถิติ ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 7 ระดับการเปลี่ยนสีผิวเปลือกเป็นสีเหลือง (%) ของมะนาวหลังจากผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT) โดยวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลขึ้นไปอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาสั้น (constant) เปรียบเทียบกับวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นไปแต่ละระดับอย่างช้าๆ โดยใช้ระยะเวลานาน (stepped) ที่อุณหภูมิภายในสุดผล 46°ซ และ 47 °ซ เป็นระยะเวลาต่าง ๆ และเก็บไว้นาน 7 วัน ที่อุณหภูมิ 27±1 °ซ และความชื้นสัมพัทธ์ 75 ± 5 เปอร์เซ็นต์

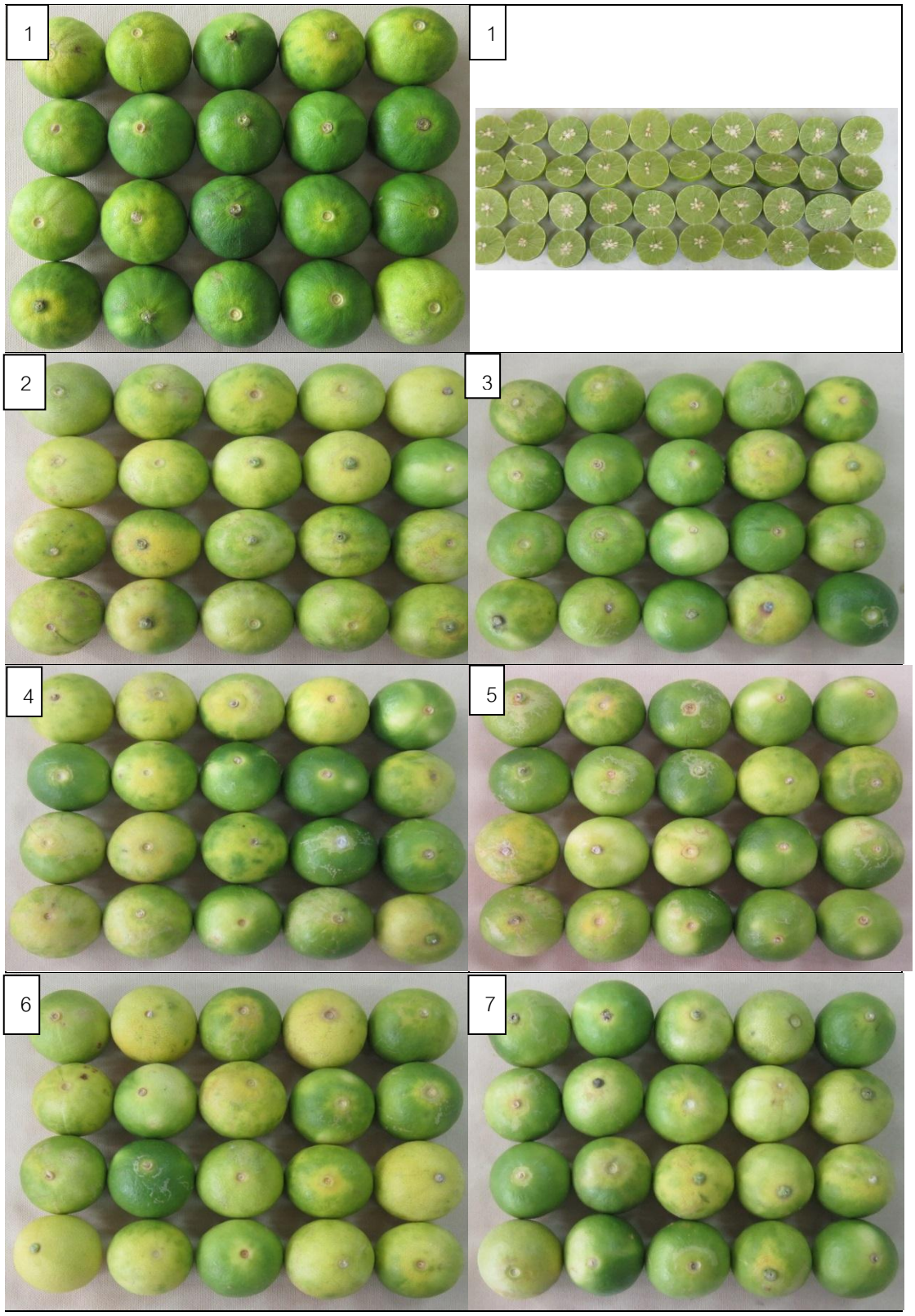
อุณหภูมิ (°ซ)	การทดลองครั้งที่	กรรมวิธี	สีผิวเปลือกเป็นสีเหลือง (%)[1/]		
			1 ชม.	1:30 ชม.	2 ชม.
46	1	constant	31.25	35.50	40.00
		Stepped	46.25	50.00	66.55
		ไม่ผ่านความร้อน	32.50		
	2	constant	41.25	48.50	52.75
		Stepped	48.75	50.25	53.75
		ไม่ผ่านความร้อน	37.50		
	3	constant	40.00	45.25	51.25
		Stepped	47.50	48.75	53.75
		ไม่ผ่านความร้อน	33.75		
47	1	constant	51.25	50.00	50.00
		Stepped	72.50	68.75	77.50
		ไม่ผ่านความร้อน	45.00		
	2	constant	40.00	43.75	55.25
		Stepped	43.75	50.00	58.75
		ไม่ผ่านความร้อน	6.25		
	3	constant	30.25	47.50	50.00
		Stepped	32.50	51.25	55.00
		ไม่ผ่านความร้อน	11.25		

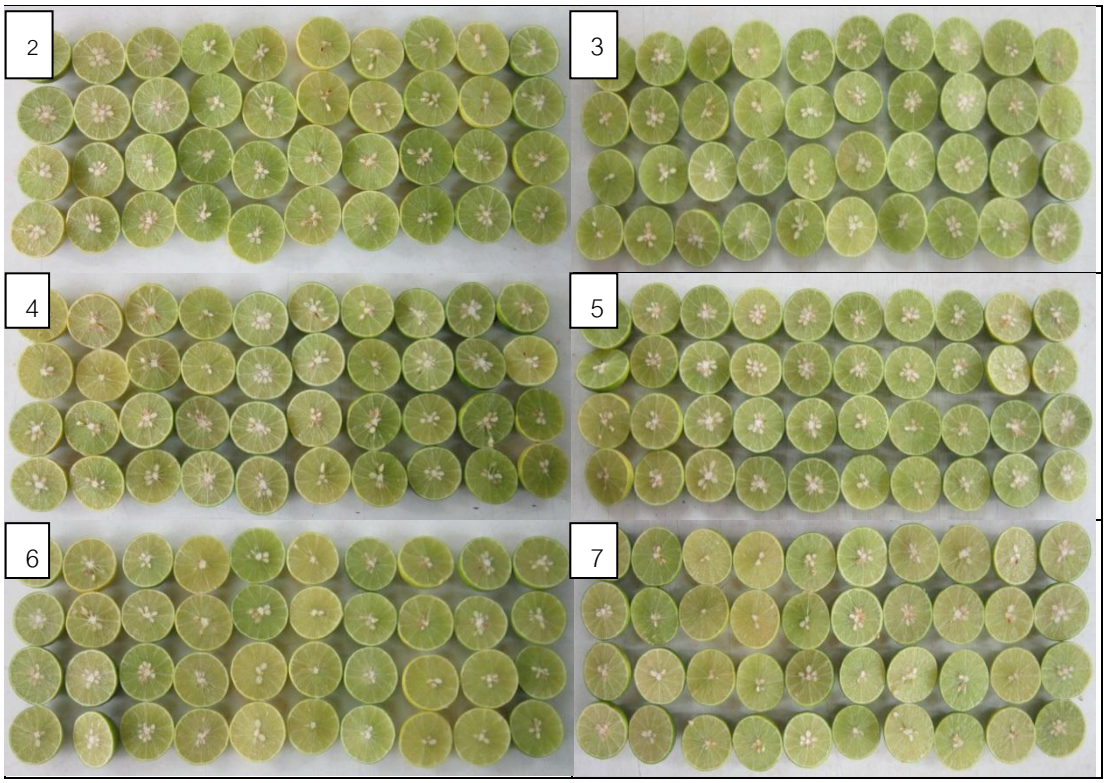
[1/] ค่าเฉลี่ยความเสียหายคิดเป็นเปอร์เซ็นต์จากมะนาว 20 ผล

ตารางที่ 8 ระดับการเปลี่ยนแปลงของต่อมน้ำมันยุบเป็นหลุมเล็กๆ (%) ของมะนาวหลังจากผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT) โดยวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลขั้นไปอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาสั้น (constant) เปรียบเทียบกับวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นไปแต่ละระดับอย่างช้าๆ โดยใช้ระยะเวลานาน (stepped) ที่อุณหภูมิภายในสุดผล 46°ซ. และ 47 °ซ เป็นระยะเวลาต่าง ๆ และเก็บไว้นาน 7 วัน ที่อุณหภูมิ 27±1 °ซ และความชื้นสัมพัทธ์ 75 ± 5 เปอร์เซ็นต์

อุณหภูมิ (°ซ)	การทดลองครั้งที่	Method	Flesh pitting (%)[1/]		
			1 h	1:30 h	2 h
46	1	constant	0	0	0
		Stepped	0	0	0
		ไม่ผ่านความร้อน	0		
	2	constant	0	0	0
		Stepped	0	0	0
		ไม่ผ่านความร้อน	0		
	3	constant	0	0	0
		Stepped	0	0	0
		ไม่ผ่านความร้อน	0		
47	1	constant	0	5	15
		Stepped	0	0	0
		ไม่ผ่านความร้อน	0		
	2	constant	0	5	10
		Stepped	0	0	0
		ไม่ผ่านความร้อน	0		
	3	constant	0	10	10
		Stepped	0	0	0
		ไม่ผ่านความร้อน	0		

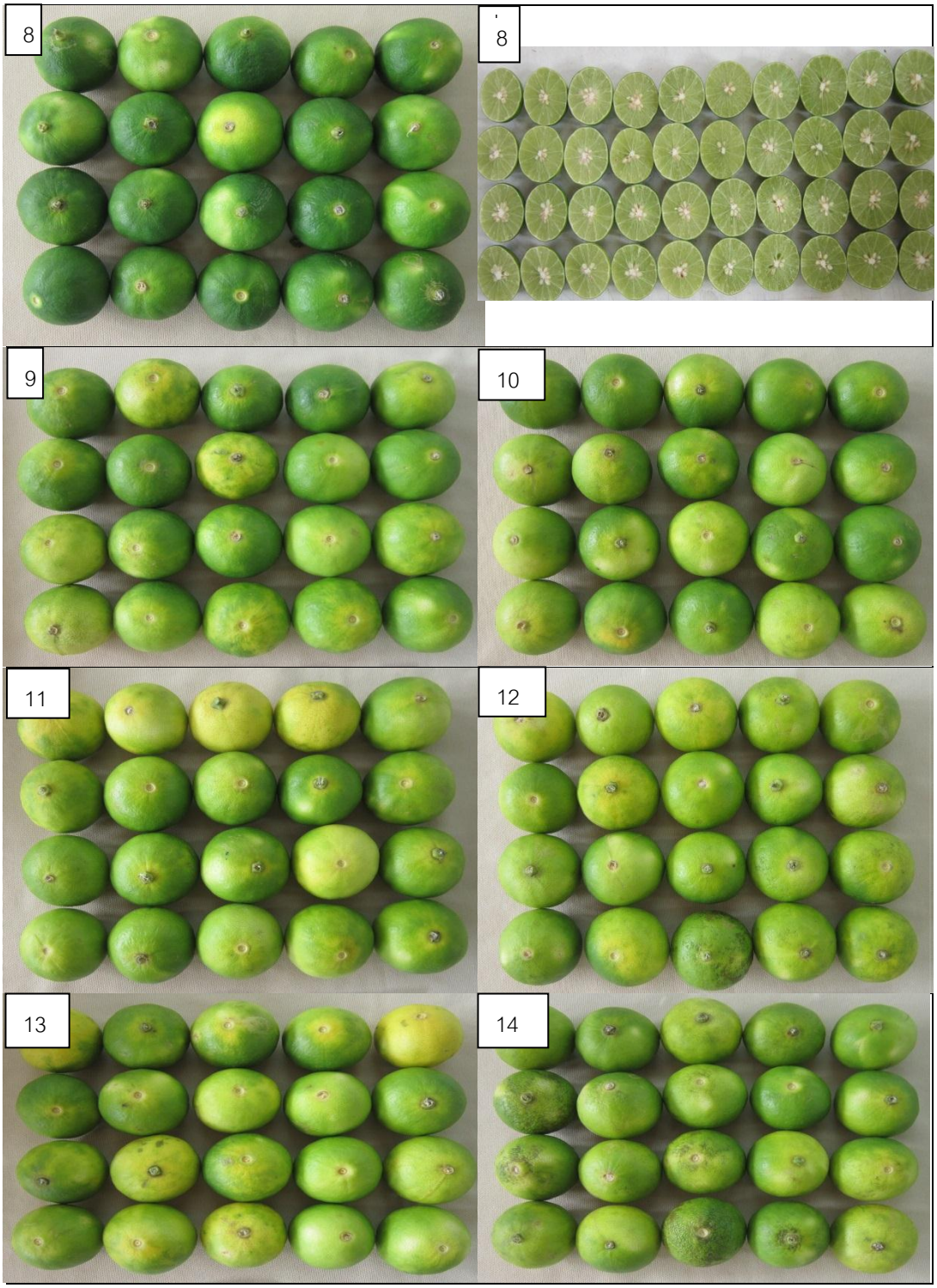
[1/]ค่าเฉลี่ยความเสียหายคิดเป็นเปอร์เซ็นต์จากมะนาว 20 ผล

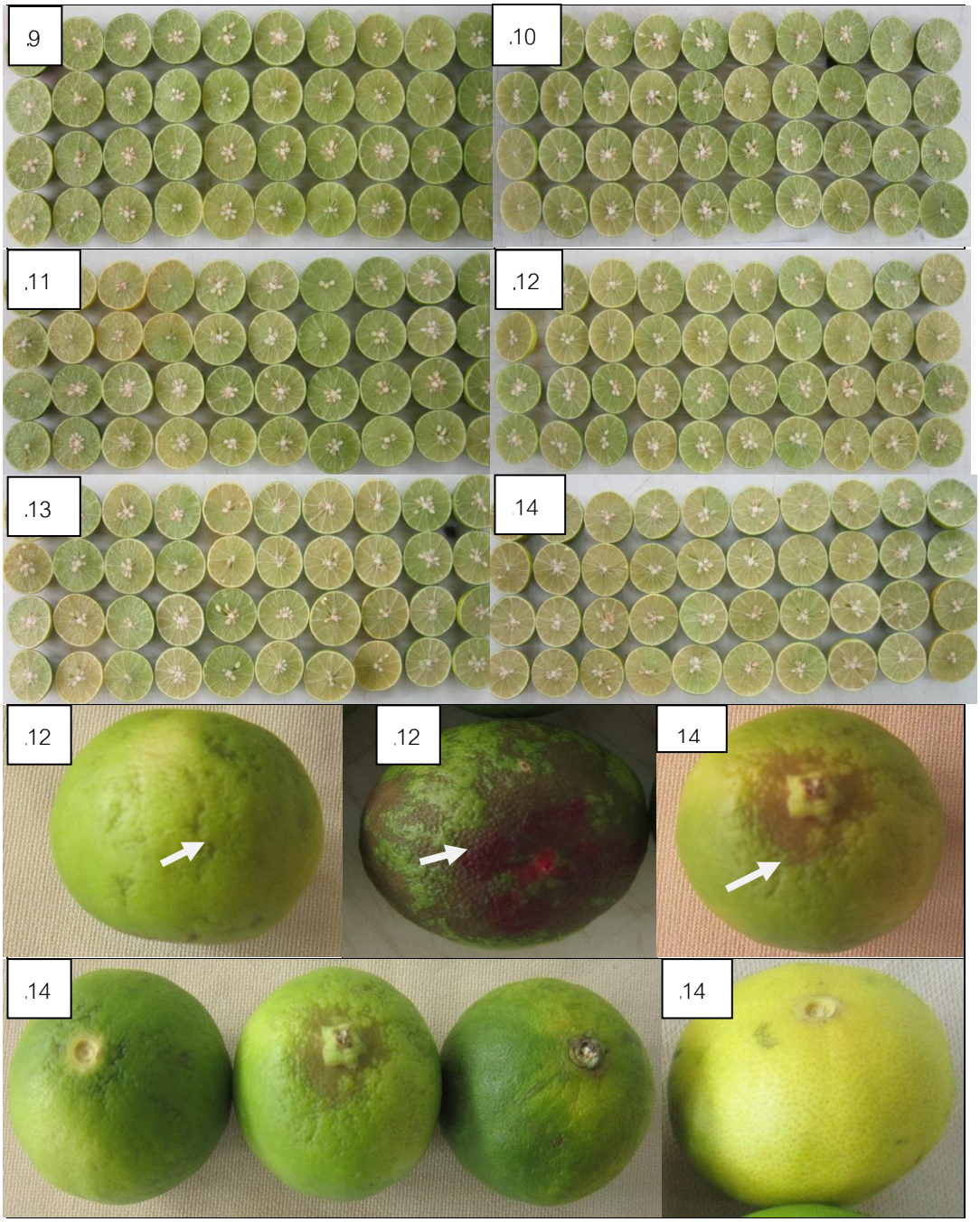

1
1
2
3
4
5
6
7



ภาพแสดงความเสียหายการเปลี่ยนสีผิวเปลือกเป็นสีเหลือง (%) ของมะนาวหลังจากผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT)โดยวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลขั้นไปอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาสั้น (constant) เปรียบเทียบกับวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นไปแต่ละระดับอย่างช้าๆ โดยใช้ระยะเวลานาน (stepped) ที่อุณหภูมิภายในสุดผล 46°ซ เป็นระยะเวลาต่าง ๆ และเก็บไว้นาน 7 วัน ที่อุณหภูมิ 27±1 °ซ และความชื้นสัมพัทธ์ 75 ± 5 เปอร์เซ็นต์

รูปที่ 1 มะนาวเปรียบเทียบไม่ผ่านความร้อน
รูปที่ 2 อุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นไปแต่ละระดับอย่างช้าๆ โดยใช้ระยะเวลานาน 1ชั่วโมง
รูปที่ 3 อุณหภูมิผลขั้นไปอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาสั้น1ชั่วโมง
รูปที่ 4 อุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นไปแต่ละระดับอย่างช้าๆ โดยใช้ระยะเวลานาน 1:30 ชั่วโมง
รูปที่ 5 อุณหภูมิผลขั้นไปอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาสั้น1ชั่วโมง1:30 ชั่วโมง
รูปที่ 6 อุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นไปแต่ละระดับอย่างช้าๆ โดยใช้ระยะเวลานาน 2 ชั่วโมง
รูปที่ 7 อุณหภูมิผลขั้นไปอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาสั้น1ชั่วโมง 2 ชั่วโมง


8
8
9
10
11
12
13
14



แสดงความเสียหายการเปลี่ยนสีผิวเปลือกเป็นสีเหลือง และการเปลี่ยนแปลงของต่อมน้ำมันยุบเป็นหลุมเล็กๆ (%) ของมะนาวหลังจากผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT)โดยวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลขึ้นไปอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาสั้น (constant) เปรียบเทียบกับวิธีเพิ่มอุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นไปแต่ละระดับอย่างช้าๆ โดยใช้ระยะเวลานาน (stepped) ที่อุณหภูมิภายในสุดผล 47 °ซ เป็นระยะเวลาต่าง ๆ และเก็บไว้นาน 7 วัน ที่อุณหภูมิ 27±1 °ซ และความชื้นสัมพัทธ์ 75 ± 5 เปอร์เซ็นต์

รูปที่ 8 มะนาวเปรียบเทียบไม่ผ่านความร้อน
รูปที่ 9 อุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นไปแต่ละระดับอย่างช้าๆ โดยใช้ระยะเวลานาน 1ชั่วโมง
รูปที่ 10 อุณหภูมิผลขึ้นไปอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาสั้น 1ชั่วโมง
รูปที่ 11 อุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นไปแต่ละระดับอย่างช้าๆ โดยใช้ระยะเวลานาน 1:30 ชั่วโมง
รูปที่ 12 อุณหภูมิผลขึ้นไปอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาสั้น1ชั่วโมง1:30 ชั่วโมง
รูปที่ 13 อุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นไปแต่ละระดับอย่างช้าๆ โดยใช้ระยะเวลานาน 2 ชั่วโมง
รูปที 14 อุณหภูมิผลขึ้นไปอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาสั้น1ชั่วโมง 2 ชั่วโมง

วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันทอง ในผลมะละกอเพื่อการส่งออก

Research and Development of Quarantine Heat Treatment to Disinfest the Oriental Fruit Fly in Papaya for Export

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์[1/] ชัยณรัตน์ สนศิริ[1/] สลักจิต พานคำ[1/]
รัชฎา อินทรกำแหง[1/] อุดร อุณหวุฒิ[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ผู้เชี่ยวชาญ กรมวิชาการเกษตร

รายงานความก้าวหน้า

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันทองในกลุ่ม *B. dorsalis* species complex ด้วยความร้อนที่ได้มาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชในผลมะละกอก่อนการส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น ศึกษาด้านความเสียหายของมะละกอจากวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำเปรียบเทียบกับวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ พบว่าวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์จะใช้เวลาในการอบมะละกอนานกว่าวิธีการอบไอน้ำ การสูญเสียน้ำหนัก และปริมาณน้ำตาล ทั้ง 2 วิธีการไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน เมื่อพิจารณาจากความเสียหายที่ผิวภายนอก และภายในผลมะละกอที่ผ่านความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ที่อุณหภูมิ 46^{0}C นาน 2 ชั่วโมง พบว่าการเปลี่ยนแปลงของสีผิวที่ผลจากสีเขียวเป็นสีเหลืองใกล้เคียงกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน ในขณะที่มะละกอที่ผ่านความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 46^{0}C นาน 2 ชั่วโมง จะแสดงความเสียหายภายนอกที่ผิว โดยเกิดรอยบุ๋ม และภายในผลเกิดอาการช้ำ และนิ่ม เนื่องจากความร้อนอย่างเด่นชัด เมื่อพิจารณาจากข้อมูลเบื้องต้น วิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์มีความเหมาะสมที่จะใช้เป็นวิธีกำจัดแมลงวันทองในผลมะละกอมากกว่าวิธีการอบไอน้ำ ศึกษาความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันทองในระยะไข่ และหนอนวัยต่าง ๆ ในผลมะละกอด้วยวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ เพื่อกำหนดระยะการเจริญเติบโตที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุด พบว่าหนอนวัยที่ 1 เป็นวัยที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุด โดยที่หนอนวัยที่ 1 ตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 46.5^{0}C นาน 30 นาที ในมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ จากผลงานวิจัยนี้สามารถนำไปใช้พิจารณาเพื่อศึกษาการประเมินประสิทธิภาพการกำจัดแมลงด้วยความร้อนต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-05-00-04-54

คำนำ

มะละกอมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Carica papaya* L. วงศ์ Caricaceae (วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, 2555) เป็นหนึ่งในผลไม้เศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยที่มีปัญหาด้านกักกันพืชในการส่งออก เนื่องจากเป็นพืชอาศัยของแมลงวันทองในกลุ่ม *Bactrocera dorsalis* complex ที่มีความสำคัญทางด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ (White and Elson-Harris, 1992; Iwaizumi, 2004) มะละกอเป็นผลไม้ที่มีเปลือกบางซึ่งจะถูกทำลายโดยแมลงวันทองได้ง่าย การเข้าทำลายของแมลงวันทองเกิดจากตัวเต็มวัยเพศเมียใช้อวัยวะวางไข่ (ovipositor) แทงลงใต้ผิวของผลมะละกอเพื่อวางไข่ เมื่อไข่ฟักเป็นหนอนจะชอนไช กัดกินเนื้อภายในผลจนทำให้มะละกอเน่าเสีย แมลงวันทองสามารถเข้าทำลายได้ตั้งแต่อยู่ในแปลงปลูก การทำลายอาจรุนแรงมากถึง 100 เปอร์เซ็นต์ หากไม่มีการป้องกันกำจัด ด้วยเหตุนี้มะละกอจากประเทศไทยจึงถูกห้ามนำเข้าประเทศญี่ปุ่น ซึ่งไม่มีแมลงชนิดดังกล่าวนี้แพร่ระบาดภายใต้ข้อกำหนดของกฎหมายกักกันพืช ข้อกำหนดนี้จะถูกยกเลิกไปหากประเทศไทยสามารถพัฒนาวิธีกำจัดศัตรูพืชที่ได้มาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (plant quarantine treatment) กระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่น (Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, MAFF) ได้กำหนดให้การขออนุญาตนำเข้าสิ่งต้องห้ามที่เป็นพืชอาศัยของแมลงวันทอง ต้องยื่นเสนอแผนการวิจัยการกำจัดแมลงวันทองก่อนการส่งออกไปให้กับ (MAFF) พิจารณาตรวจสอบและให้ความเห็นชอบก่อน โดยที่ขั้นตอนในการวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันทองด้วยความร้อนต้องเป็นไปตามข้อกำหนด และมีประสิทธิภาพซึ่งได้มาตรฐานตามวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Miyazaki, 2010)

การศึกษาวิจัยการใช้วิธีกำจัดแมลงวันทองด้วยความร้อนมีรายงานในหลายประเทศ ประเทศสหรัฐอเมริกา Armstrong et al., (1989) พบว่าวิธีอบอากาศร้อน (Hot air treatment, HAT) ที่อุณหภูมิ 47.2 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพในกำจัดไข่ และหนอนของแมลงวันทองในผลมะละกอพันธุ์ “Solo” Jones (1939) พบว่าการอบมะละกอพันธุ์ “Solo” ด้วยวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT) ที่อุณหภูมิ 43.3 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ทำให้มะละกอเสียหายเพียงเล็กน้อย ซึ่งจากการวิจัยดังกล่าวกระทรวงเกษตรฯสหรัฐอเมริกาได้อนุมัติให้ใช้เป็นวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช สำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลมะละกอก่อนส่งออกจากรัฐฮาวายไปยังสหรัฐอเมริกา ในประเทศไต้หวัน Dong et al., (2011) รายงานว่ากระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่น (MAFF) ได้อนุญาตนำเข้ามะละกอพันธุ์ “Tainung No.2”ด้วยวิธีการอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 47.2 องศาเซลเซียส ในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2529 กลุ่มวิจัยการกักกันพืช ได้รับความช่วยเหลือทางด้านวิชาการจากรัฐบาลญี่ปุ่นให้ศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการใช้ความร้อนเพื่อกำจัดแมลงวันทอง *B. dorsalis* และแมลงวันแตง *B. cucurbitae* ในผลมะม่วงพันธุ์หนังกลางวัน พบว่าวิธีการอบไอน้ำ (Vapor Heat Treatment, VHT) มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันทองทั้ง 2 ชนิด ได้อย่างมีประสิทธิภาพตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Unhawutti *et al*., 1986) และปี พ.ศ. 2534 ได้วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันทองครอบคลุมมะม่วงถึง 4 พันธุ์ ได้แก่ หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง (Unhawutti *et al*., 1991) โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของมะม่วง หลังจากนั้นกลุ่มวิจัยการกักกันพืชได้ประสบความสำเร็จจากการวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันทองด้วยความร้อนในผลมังคุด (ปี พ.ศ. 2546) มะม่วงพันธุ์มหาชนก (ปี พ.ศ. 2549) (ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว, 2551)

และส้มโอพันธุ์ทองดี (ปี พ.ศ. 2555) (Unhawutti *et al.,* 2006; อุดร และคณะ, 2549) วิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) นอกจากมีประสิทธิภาพกำจัดแมลงวันทองได้แล้ว ยังมีข้อดีในแง่ของความปลอดภัยจากสารพิษตกค้างภายในผลไม้ จึงผ่านการยอมรับได้โดยง่ายจากประเทศผู้นำเข้าหากมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลง

ปัจจุบันในประเทศไทยยังไม่มีวิธีการใดที่มีประสิทธิภาพและเป็นที่ยอมรับสำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลมะละกอเพื่อการส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น ดังนั้นงานวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ 2 ประการ คือ (1) เพื่อศึกษาวิธีการอบไอน้ำ และวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันทองในผลมะละกอ (2) เพื่อศึกษาความเสียหายของผลมะละกอหลังผ่านความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำทั้ง 2 วิธี เพื่อพัฒนาวิธีการกำจัดศัตรูพืชให้ได้มาตรฐาน และใช้เป็นข้อมูลวิชาการนำเสนอต่อกระทรวงเกษตรป่าไม้ และประมง ประเทศญี่ปุ่น เพื่อพิจารณาและอนุญาตนำเข้ามะละกอจากประเทศไทยในอนาคต

วิธีดำเนินการ

วิธีการ

ดำเนินการทดลองโดยใช้ เครื่องอบไอน้ำกำจัดแมลงวันทองขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง (Sanshu Vapor Heat Treatment System : Differential Pressure Type รุ่น EHK 1000 D จำนวน 2 เครื่อง) ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สำหรับแมลงวันทอง *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ที่ใช้ทดลองได้มาจากผลมะละกอ ที่เก็บรวบรวมจากอำเภอศรีสวัสดิ์ จังหวัดกาญจนบุรี ทำการขยายพันธุ์ประชากรแมลงให้เพิ่มขึ้น และมีความแข็งแรงโดยอาศัยการเลี้ยงแมลงด้วยอาหารเทียม การเตรียมแมลงวันทองให้เพียงพอสำหรับงานทดลอง โดยการเลี้ยงในกรงใหญ่ จำนวน 20,000 ตัว/กรง และในกรงเล็ก จำนวน 2,000 ตัว/กรง การเลี้ยงแมลงแต่ละรุ่นจะตรวจสอบอัตราการฟักไข่ (hatching rate) อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate) น้ำหนักของดักแด้(pupae weight) และอัตราส่วนของเพศผู้-เพศเมีย (sex ratio) เพื่อควบคุมคุณภาพของแมลงก่อนการทดลอง แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน คือ 1) ศึกษาด้านความเสียหายของมะละกอจากวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำ (VHT) เปรียบเทียบกับวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) 2) ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีกำจัดแมลงวันทองด้วยความร้อนในผลมะละกอ

1) ศึกษาด้านความเสียหายของมะละกอจากวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน

ศึกษาลักษะความเสียหายของมะละกอจากวิธีการอบไอน้ำ (VHT) เปรียบเทียบกับวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) วิธีการอบไอน้ำ (VHT) เป็นกรรมวิธีให้ที่ความร้อนกับผลมะละกอ โดยอาศัยการหมุนเวียนของไอน้ำร้อนที่อยู่ในสภาพอิ่มตัวด้วยไอน้ำ (saturated condition) ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 % ตลอดเวลา สำหรับวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) เป็นกรรมวิธีที่ให้ความร้อนกับผลมะละกอ โดยอาศัยวิธีการอบไอน้ำ (VHT) ร่วมกับวิธีการอบอากาศร้อน (Hot air treatment, HAT) โดยช่วงแรกจะให้ความร้อนกับผลมะละกอด้วยวิธีอบอากาศร้อน (HAT) ซึ่งอากาศร้อนที่หมุนเวียนผ่านผลมะละกอจะมีความชื้นสัมพัทธ์ 50-80 % จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิในผลมะละกอเพิ่มขึ้นถึง 43^{0}C จึงปรับเปลี่ยนเป็นวิธีการอบไอน้ำ (VHT) ซึ่งอากาศร้อนจะอยู่ในสภาพอิ่มตัวด้วยไอน้ำ ที่มีความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 % (อุดร, 2541; อุดร และคณะ, 2549; Unahawutti *et al*., 2006) ดำเนินการโดยใช้เครื่องอบไอน้ำของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช

(Figure 1) จำนวน 2 เครื่อง โดยตั้งค่าอุณหภูมิ และความชื้นของเครื่องอบไอน้ำตามรูปแบบของวิธีการอบไอน้ำ (VHT) และวิธีการอบไอน้ำแบบ (MVHT) ในตู้ที่ 1 และ 2 ตามลำดับ (จำนวนมะละกอที่ใช้ทดลอง treatment จำนวน 15 ผล/ตู้ และ control 5 ผล) ก่อนการอบผลมะละกอต้องบันทึกน้ำหนัก และถ่ายรูปผลมะละกอทุกครั้ง **(Figure 2)** สำหรับการวัดอุณหภูมิผลมะละกอที่ทดลองอาศัยการวัดจากเซ็นเซอร์กำหนดอุณหภูมิผลมะละกอ (sensor fruit) จำนวน 3 ผล น้ำหนัก 650-750 กรัม **(Figure 3)** โดยให้อุณหภูมิตรงบริเวณกึ่งกลางผลคงอยู่ที่ 46^{0}C (เซ็นเซอร์กำหนดอุณหภูมิผลมะละกอจะต้องอ่านค่าได้ 46 ^{0}C ครบทั้ง 3 เส้น) และคงอุณหภูมิ นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ หลังจากที่อบมะละกอครบตามอุณหภูมิ และระยะเวลาที่กำหนดไว้ นำมะละกอจำนวน 15 ผลที่ผ่านความร้อนออกจากตู้อบไอน้ำ มาลดอุณหภูมิผลมะละกอทันทีโดยการเป่าด้วยพัดลมนาน 1 ชั่วโมง จากเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ “Sanshu” Shower Cooling System (Differential Pressure Type) (model : SHS-12, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan) จากนั้นเก็บมะละกอที่ทดลองตามรายละเอียดใน (Unahawutti *et al*, 2006) แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 12 ^{0}C **(Figure 4)** บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทั้งภายนอก และภายในของผลมะละกอ ด้านการสูญเสียน้ำหนัก และปริมาณน้ำตาลของมะละกอหลังอบด้วย 2 กรรมวิธี แล้ว 7 วัน เปรียบเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน

2) ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีกำจัดแมลงวันทองด้วยความร้อนในผลมะละกอ

แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง คือ

<u>การทดลองที่ 2.1</u> : ศึกษาวิธีเตรียมมะละกอทดลองในสภาพที่มีไข่และหนอนของแมลงวันทองอยู่ภายในผล โดยใช้เทคนิคการใส่ไข่ของแมลงวันทองเข้าไปในชิ้นเนื้อของมะละกอโดยตรง (Artificial infestation method) ใช้มีดผ่าตัดกรีดบริเวณผิวของมะละกอให้ลึกจนถึงเนื้อในประมาณ 0.5 เซนติเมตร โดยกรีดบริเวณผิวให้เปิดออก (Beneath the peel method) ดัดแปลงจากวิธีการของ Srimartpirom (2010) ใช้พู่กันย้ายไข่และหนอนใส่เข้าไปในเนื้อมะละกอ จำนวน 100, 150 และ 200 ฟอง/ตัว/ผล ตามลำดับ **(Figure 5)** จากนั้นปิดเทปกาวที่ผลมะละกอ นำมะละกอแต่ละผลใส่ในถุงผ้าขาวบางและปิดปากถุงด้วยหนังยาง แล้วนำไปเก็บไว้ในกระบะพลาสติก โดยวางมะละกอลงบนแท่นพลาสติกทรงกลม ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ อุดร และคณะ (2549) และรองด้วยแผ่นพลาสติกที่เป็นตาข่าย ปิดกระบะด้วยผ้ามัสลิน เพื่อป้องกันไม่ให้แมลงวันทองจากภายนอกวางไข่ซ้ำเข้าไปภายในผล เก็บมะละกอไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ (25-27 ^{0}C) บันทึกจำนวนแมลงรอดชีวิตในแต่ละผลหลังจากใส่ไข่ หนอนวัยที่ 1, 2 และ 3 แล้วเป็นเวลา 7, 5, 3 และ 2 วัน ตามลำดับ

<u>การทดลองที่ 2.2</u> : ศึกษาความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันทองในระยะไข่ และหนอนในผลมะละกอด้วยวิธีอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) โดยเปรียบเทียบความทนทานของไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) และหนอนวัยต่าง ๆ ของแมลงวันทองในผลมะละกอด้วยวิธีอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) เพื่อกำหนดระยะการเจริญเติบโตที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุด เปรียบเทียบอัตราการตายของแมลงแต่ละระยะการเจริญเติบโต โดยอบมะละกอให้อุณหภูมิตรงบริเวณกึ่งกลางผลคงอยู่ที่ 45, 46 และ 46.5^{0}C (เซ็นเซอร์กำหนดอุณหภูมิผลมะละกอจะต้องอ่านค่าได้ 45, 46 และ 46.5^{0}C จำนวน 2 ใน 3 เส้น) และคงอุณหภูมิเป็นเวลานาน 0, 0:10, 0:20, 0:30, 0:40, 0:50 และ 0:60 ชั่วโมง **(Figure 6)** โดยช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิผลจากอุณหภูมิห้องจนถึงอุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส อาศัยอากาศร้อนหมุนเวียนผ่านผลมะละกอจะมีความชื้นสัมพัทธ์ 50 %

หลังจากอุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นถึง 43^{0}C จึงปรับเปลี่ยนเป็นอากาศร้อนที่อยู่ในสภาพอิ่มตัวด้วยไอน้ำ ที่มีความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุดการให้ความร้อนแล้วลดอุณหภูมิผลโดยเป่าด้วยลมนาน 1 ชั่วโมง เก็บมะละกอไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ (25-27^{0}C) บันทึกจำนวนแมลงรอดชีวิตในแต่ละผลหลังจากใส่ไข่ หนอนวัยที่ 1, 2 และ 3 แล้วเป็นเวลา 7, 5, 3 และ 2 วัน ตามลำดับ

เวลาและสถานที่

เวลา: เดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2556

สถานที่: จังหวัดนครปฐม, สมุทรสงคราม, นครราชสีมา, ลพบุรี, กาญจนบุรี, ราชบุรี, ปราจีนบุรี, แพร่ เชียงใหม่ และห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1) ศึกษาด้านความเสียหายของมะละกอจากวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน

ศึกษาด้านความเสียหายของมะละกอจากวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำ (VHT) เปรียบเทียบกับวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) โดยอบมะละกอให้อุณหภูมิตรงบริเวณกึ่งกลางผลคงอยู่ที่ 46^{0}C และคงอุณหภูมินาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่าวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) จะใช้เวลาในการอบมะละกอนานกว่าวิธีการอบไอน้ำ (VHT) เล็กน้อย **(Table 1)** และมะละกอที่ผ่านความร้อน ทั้ง 2 วิธีการ มีการเปลี่ยนแปลงของสีผิวที่ผลจากสีเขียวเป็นสีเหลือง (skin yellowing) มากกว่ามะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน **(Figure 7)** โดยเฉพาะอย่างยิ่งมะละกอที่ผ่านความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำ (VHT) ที่อุณหภูมิ 46^{0}C นาน 2 ชั่วโมง จะแสดงความเสียหายภายนอกที่ผิว โดยเกิดรอยบุ๋ม (pitting) และภายในผลเกิดอาการช้ำ และนิ่ม (flesh softening) เนื่องจากความร้อนอย่างเด่นชัด **(Figure 8)** สำหรับการสูญเสียน้ำหนัก **(Table 2)** และปริมาณน้ำตาล **(Table 3)** ทั้ง 2 วิธีการไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน เมื่อพิจารณาจากข้อมูลเบื้องต้น วิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) มีความเหมาะสมที่จะใช้เป็นวิธีกำจัดแมลงวันทองในผลมะละกอมากกว่าวิธีการอบไอน้ำ (VHT) ในประเทศสหรัฐอเมริกาได้มีการใช้วิธีอบอากาศร้อน (HAT) ในผลมะละกอ พบว่าวิธีการดังกล่าวใช้เวลาในการอบมะละกอนานกว่า 4 ชั่วโมง และมะละกอแสดงอาการเนื้อผลแข็ง (hardening) เนื่องจากความร้อนไปยับยั้งกระบวนการทำงานของเอนไซม์ polygalacturonase (PG) จึงทำให้เนื้อผลมะละกอเกิดความผิดปกติ (Toshiyo, 1996) ซึ่งแตกต่างจากผลการทดลองนี้ที่พบว่ามะละกอไม่ได้แสดงอาการเนื้อผลแข็ง (hardening) แต่แสดงอาการช้ำ และนิ่ม เนื่องจากเอนไซม์ดังกล่าวไม่ได้ถูกยับยั้งการทำงานจากความร้อนที่สูง จากผลการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำตัวแปรที่สำคัญไปศึกษาในด้านความเสียหายของมะละกอด้วยวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่อไป

2) ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีกำจัดแมลงวันทองด้วยความร้อนในผลมะละกอ

<u>การทดลองที่ 2.1</u> : ศึกษาวิธีเตรียมมะละกอทดลองในสภาพที่มีไข่และหนอนของแมลงวันทองอยู่ภายในผล พบว่าการเตรียมผลมะละกอให้มีแมลงวันทองทุกระยะการเจริญเติบโตในอัตราที่เหมาะสมที่สุด คือ 100 ฟอง/ตัว/ผล โดยในระยะไข่มีการรอดชีวิตเท่ากับ 62.20 %หนอนวัยที่ 1 มีการรอดชีวิตเท่ากับ 86.45 % หนอนวัยที่ 2 มีการรอดชีวิตเท่ากับ 91.20 % และหนอนวัยที่ 3 มีการรอดชีวิตเท่ากับ 82.00 % ตามลำดับ **(Figure 9)** จากผลการทดลองการเตรียมมะละกอในสภาพที่มี

ไข่ และหนอนวัยต่าง ๆ ในอัตรา 100 ฟอง/ตัว/ผล มีแนวโน้มที่แมลงวันทองมีการรอดชีวิตมากกว่า 60 % ซึ่งถือว่าเป็นอัตราที่เหมาะสม จึงเลือกอัตรานี้เพื่อใช้ในการทดลอง และเป็นที่น่าสังเกตว่าในระยะหนอนวัย 3 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลง อาจเนื่องมาจากหนอนวัย 3 เตรียมเข้าสู่ระยะดักแด้ จึงทำให้มีการรอดชีวิตลดลงเมื่อเทียบกับหนอนวัยที่ 2 ที่มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากกว่า 90 %

การทดลองที่ 2.2 : ศึกษาความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันทองในระยะไข่ และหนอนในผลมะละกอด้วยวิธีอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) เพื่อกำหนดระยะการเจริญเติบโตที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุด พบว่าหนอนวัยที่ 1 เป็นวัยที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุด รองลงมาคือ ไข่, หนอนวัยที่ 2 และ หนอนวัยที่ 3 ตามลำดับ **(Table 4)** โดยหนอนวัยที่ 1 ตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 46.5 ^{0}C นาน 30 นาที ในมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ **(Figure 10)** จากผลงานวิจัยนี้สามารถนำไปใช้พิจารณาเพื่อศึกษาด้านการประเมินประสิทธิภาพการกำจัดแมลงด้วยความร้อนต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การใช้วิธีอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) อบผลมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ โดยให้อุณหภูมิตรงบริเวณกึ่งกลางผลคงอยู่ที่ 46^{0}C และคงอุณหภูมิ นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ เป็นวิธีการที่มีความเหมาะสมที่จะใช้เป็นวิธีกำจัดแมลงวันทองในผลมะละกอมากกว่าวิธีการอบไอน้ำ (VHT) เมื่อพิจารณาจากตัวแปรความเสียหายที่สำคัญ ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงของสีผิวที่ผลจากสีเขียวเป็นสีเหลือง (skin yellowing), ความเสียหายภายนอกที่ผิวโดยเกิดรอยบุ๋ม (pitting) และภายในผลเกิดอาการช้ำ และนิ่ม (flesh softening) ภายหลังจากอบมะละกอที่อุณหภูมิ 46^{0}C นาน 2 ชั่วโมง ด้วยวิธีการอบไอน้ำ (VHT) แสดงความเสียหายอย่างเด่นชัด อย่างไรก็ดีระยะความสุกแก่ของผลมะละกอก่อนการทดลอง, อุณหภูมิเย็นที่ใช้เก็บผลมะละกอ และเปอร์เซ็นต์ความแน่นของเนื้อมะละกอ (firmness) หลังการทดลองก็เป็นอีกสามตัวแปรที่มีความสำคัญ จากผลการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำตัวแปรที่สำคัญไปศึกษาในด้านความเสียหายของมะละกอด้วยวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่อไป ศึกษาความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันทองในระยะไข่ และหนอนวัยต่าง ๆ ในผลมะละกอด้วยวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) เพื่อกำหนดระยะการเจริญเติบโตที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุด พบว่าหนอนวัยที่ 1 เป็นวัยที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุด โดยที่หนอนวัยที่ 1 ตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 46.5^{0}C นาน 30 นาที จากผลงานวิจัยนี้สามารถนำไปใช้พิจารณาเพื่อศึกษาการประเมินประสิทธิภาพการกำจัดแมลงด้วยความร้อนต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณคุณกัลยา คูห์วัฒนศิลป์, คุณประชุม นุ้ยจำนัล, คุณมีนา จริงจิตร, คุณนวลนิสา ตั้งสัจจะกุล และคุณสมิทธิ์ อยู่เอี่ยม ที่มีส่วนช่วยในการเตรียมการทดลอง รวมถึงการเช็คผลการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2549. มะละกอฮอลแลนด์. สืบค้นจาก: http://esc.agritech.doae.go.th/webpage/e-book/papaya-holland.pdf. [ก.ค. 2555].

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

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ และชัยณรัตน์ สนศิริ. 2551. ศึกษาการเจริญเติบโตของแมลงวันทอง *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera:Tephritidae) ในผลพริกหวาน. โครงการวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลพริกหวานเพื่อการส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 31 หน้า.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2552. การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชด้วยวิธีการอบไอน้ำมะม่วงและมังคุดส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น (ตอนที่1). เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชบนผัก ผลไม้ที่นำเข้าและส่งออก. 24-26 มิถุนายน 2552. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 43 หน้า.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2552. การอบไอน้ำมะม่วงและมังคุดสดจากประเทศไทยเพื่อการส่งออกไปญี่ปุ่น (ตอนที่ 2). เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชบนผัก ผลไม้ที่นำเข้าและส่งออก. 24-26 มิถุนายน 2552. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 66 หน้า.

รสริน เกลี้ยงเกลา. 2551. รวยด้วยมะละกอแนวทางการลงทุนอย่างมืออาชีพ. สำนักพิมพ์นาคา อินเตอร์มีเดีย จำกัด. กรุงเทพฯ. 123 หน้า.

วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี. 2555. มะละกอ. สืบค้นจาก: http://th.wikipedia.org/wiki/มะละกอ. [เม.ย. 2555].

ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 2551. กำจัดแมลงวันทองด้วยความร้อนดันผลไม้ไทยโกอินเตอร์ฯ. สืบค้นจาก: http://www.phtnet.org/news51/view-news.asp?nID=86. [มี.ค 2552].

สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช. 2553. มะละกอ *ใน*: ระบบงานรับรองแหล่งผลิตพืช : GAP DOA Online. สืบค้นจาก: http://gap.doa.go.th/gap/[ก.ค 2555].

อุดร อุณหวุฒิ. 2541. วิธีกำจัดแมลงในผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวด้วยอากาศร้อน. การกำจัดแมลงในผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว. ฝ่ายกักกันพืช กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. หน้า 54.

อุดร อุณหวุฒิ รัชฎา อินทรกำแหง สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชุติมา อ้อมกิ่ง และ จารุวรรณ จันทรา. 2549. การวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลพริกหวานเพื่อส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น. แบบเสนอโครงการวิจัย (Project Proposal) เพื่อขอรับทุนสนับสนุนการวิจัยจากกองทุนสนับสนุนงานวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร: กรุงเทพฯ. 31 หน้า.

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

Armstrong, J.W., J.D. Hansen, B.K.S. Hu and S.A. Brown. 1989. High-temperature, forced-air quarantine treatment for papayas infested with teprhitid fruit flies (Diptera: Tephritidae). J. Econ. Entomol. 82: 1667-1674.

Dong, Y., C. Song, Y. Chuang, K. Chiang, W. Wu, L. Cheng and C. Chen. 2011. Degree of fruit ripeness affecting infestation of papaya by two species of fruit flies (Diptera : Tephritidae). J. Taiwan. Agric. Res. 60(4): 253-262.

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

Jaime, A., T. Silva, Z. Rashid, D. Nhut, D. Sivakumar, A. Gera, M. Teixeira and P. Tennant. 2007. Papaya (*carica papaya* L) biology and biotechnology. Tree and forest Science and Biotechnology. 73 p.

Jones, W. 1939. The influence of relative humidity on the respiration of papaya at high temperatures. Proceeding of the American Society for Horticultural Science. 37: 700-705.

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

Srimartpirom, M. 2010. The final report of thermal treatment for the disinfestations of fruit flies from Thailand. p 95. *In*: Report of the thermal treatment for the disinfestations of fruit flies. Naha Plant Protection Station, Ministry of Agriculture Forestry and Fisheries, Okinawa International Centre. Japan International Cooperation Agency, Japan. 100 p.

Songpol, S. 2011. Current study of papaya production in Thailand. *In*: 3th The International Symposium on Papaya Dec 19-22, 2011 Imperial Maeping Hotel Chiangmai, Thailand. 70 p.

Thaipong, K., S. Srimart, K. Iamjud, P. Sangwanankul and S. Wasee. 2011. Collection evaluation and selection of papaya varieties in Thailand. *In*: 3th The International Symposium on Papaya Dec 19-22, 2011 Imperial Maeping Hotel Chiangmai, Thailand. 70 p.

Toshiyo, K. 1996. Textbook for vapor heat disinfestations test technicians (revised). Japan Fumigation Technology Association. Okinawa International Centre. Japan International Cooperation Agency, Japan.

Unahawutti, U., C. Chettanachitara, M. Poomthong, P. Konson, E. Smitasiri, C. Lapasathukool, W. Worawisitthumrong and R. Intarakumheng. 1986. Vapor heat treatment for 'Nang Klarngwun' mango, *Mangifera indica* Linn., infested with

eggs and larvae of the oriental fruit fly, *Dacus dorsalis* Hendel and the melon fly, D. *cucurbitae* Coquillett (Diptera : Tephritidae). Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture, Bangkok. 108 p.

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

Unahawutti, U., S. Phankum, M. Srimartpirom, C. Ormking, C. Sonsiri, J. Chantra and R. Intarakumheng. 2006. Development of Heated-Air Quarantine Treatment for Pummelo Infested with Oriental fruit fly (Diptera : Tephritidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF) for approval of a quarantine treatment on Thai pummel to be exported to Japan, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Chattuchak, Bangkok. 143 p.

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

ภาคผนวก

Table 1 Time for center of papaya "Holland" to attain 46^{0}C during vapor heat treatment (VHT) and modified vapor heat treatment (MVHT)

Rep	Sensor fruit weight (g)		Loading (Kg/cum.)		Time[1] (h)	
	VHT	MVHT	VHT	MVHT	VHT	MVHT
1	697.21	695.05	10.50	10.10	2:50	3:10
	704.34	701.12				
	699.10	704.00				
2	700.14	703.14	10.80	10.10	2:55	3:05
	701.20	695.04				
	705.00	702.61				

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

Table 2 Weight loss (%) of papaya "Holland" after VHT and MVHT at 46^{0}C holding times at 0, 1 and 2 h. and 7 days storage at 12±1^{0}C, 75±5 % RH

	Method	Weight loss (%)[1]		
		0 h	1 h	2 h
1	VHT	3.54	3.67	3.85
	MVHT	3.21	3.17	3.34
	Control	3.00		
	t-test VHT vs Control	ns	ns	ns
	t-test MVHT vs Control	ns	ns	ns
	t-test VHT vs MVHT	ns	ns	ns
2	VHT	3.71	3.69	3.78
	MVHT	3.10	3.23	3.27
	Control	3.04		
	t-test VHT vs Control	ns	ns	ns
	t-test MVHT vs Control	ns	ns	ns
	t-test VHT vs MVHT	ns	ns	ns

[1]Value are mean of 5 fruits (treatment), and 10 fruits (Control), ns=non-significant *=significant at 5% level

Table 3 Total soluble solid (^{0}Brix) of papaya "Holland" after vapor heat treatment (VHT) and modified vapor heat treatment (MVHT) at 46^{0}C holding times at 0, 1 and 2 h. and 7 days storage at 12±1^{0}C, 75±5 % RH

Rep	Method	Total soluble solid (^{0}Brix)[1]		
		0 h	1 h	2 h
1	VHT	11.64	11.36	12.61
	MVHT	11.48	11.68	12.50
	Control	12.23		
	t-test VHT vs Control	ns	ns	ns
	t-test MVHT vs Control	ns	ns	ns
	t-test VHT vs MVHT	ns	ns	ns
2	VHT	11.51	12.00	12.43
	MVHT	11.37	12.12	12.51
	Control	12.45		
	t-test VHT vs Control	ns	ns	ns
	t-test MVHT vs Control	ns	ns	ns
	t-test VHT vs MVHT	ns	ns	ns

[1]Value are mean of 5 fruits (treatment), and 10 fruits (Control), ns=non-significant

Table 4 Mortality of eggs, 1st, 2nd and 3rd instar larvae of *B. dorsalis* in papaya "Holland" treated with modified vapor heat treatment (MVHT)

Treatment[1] condition	$Egg_{24}h$		1st instar larvae		2nd instar larvae		3rd instar larvae	
	Survival	CM %[2]	Survival	CM %	Survival	CM %	Survival	CM %
Control	1,748	0.00	1,795	0.00	1,762	0.00	1,313	0.00
45.0°C	267	49.08	419	22.19	415	21.49	72	81.72
46.0°C	62	88.18	162	69.92	264	50.06	48	87.81
46.5°C+0:0h	15	97.14	122	77.34	46	91.30	0	100.00
46.5°C+0:10h	14	97.33	116	78.46	0	100.00	0	100.00
46.5°C+0:20h	0	100.00	15	97.21	0	100.00	0	100.00
46.5°C+0:30h	0	100.00	0	100.00	0	100.00	0	100.00
46.5°C+0:40h	0	100.00	0	100.00	0	100.00	0	100.00
46.5°C+0:50h	0	100.00	0	100.00	0	100.00	0	100.00
46.5°C+0:60h	0	100.00	0	100.00	0	100.00	0	100.00

Combined data of 2 replicates
[1]Treatment : 3 fruits infested with 100 individuals/fruit
Control : 10 fruits infested with 100 individuals/fruit
[2]Corrected Mortality (CM %) is corrected by using Abbot

Fig. 1 Sanshu Vapor Heat Treatment System (Differential Pressure Type : Model EHK 1000 D) used for experiment of Plant Quarantine Research Group.

Fig. 2 Laboratory of phytotoxic response of papaya to heat treatment.
Before treatment : papayas were weighed, recorded, separated size, label by pen marker and take pictures of fruits.

Fig. 3 During treatment : The treatment fruits were placed in the chamber (on top of the metal trays) and monitoring of fruit temperature by using the sensors were placed in the bottom. Two methods VHT and MVHT 65%RH were compared each time by treated fruits until fruit center temperature reached 46 ^{0}C and held for 0, 1 and 2 h.

Fig. 4 After treatment : The heat-treated and untreated fruits were kept in constant temperature and humidity chamber at 12 ^{0}C±1 and 75±5% RH. For evaluate the quality of fruits 7 days after treatment.

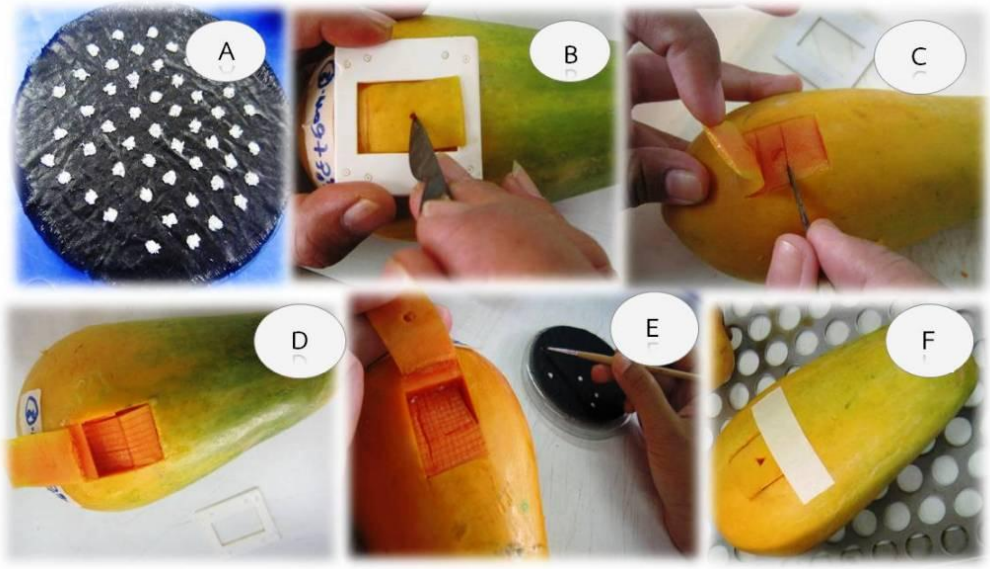


Fig. 5 Laboratory preparation of the infested fruit. (Egg inoculation method) Inoculation of eggs, 1st, 2nd and 3rd instar larvae of fruit fly to papaya with "Beneath the peel" method (A) Count eggs on black muslin cloth (B) Cut to slit the peel and make a hole (C) Lift the peel and take out a piece of the pulp (D) Notch the pulp (E) Transfer the eggs on the pulp (F) Close by surgical tape.

Fig. 6 Susceptibility of stages of *B. dorsalis* to modified vapor heat treatment test. All infested test fruits were placed in the chamber and monitoring of fruit temperature by using sensors reached the center fruit temperature at 45°C, 46°C, 46.5°C, and maintained at 46.5°C for 0, 0:10, 0:20, 0:30, 0:40, 0:50 and 0:60 h.

Fig. 7 The external appearance was similar between control (A) and MVHT treated fruits at 46°C for 2 h. (B)

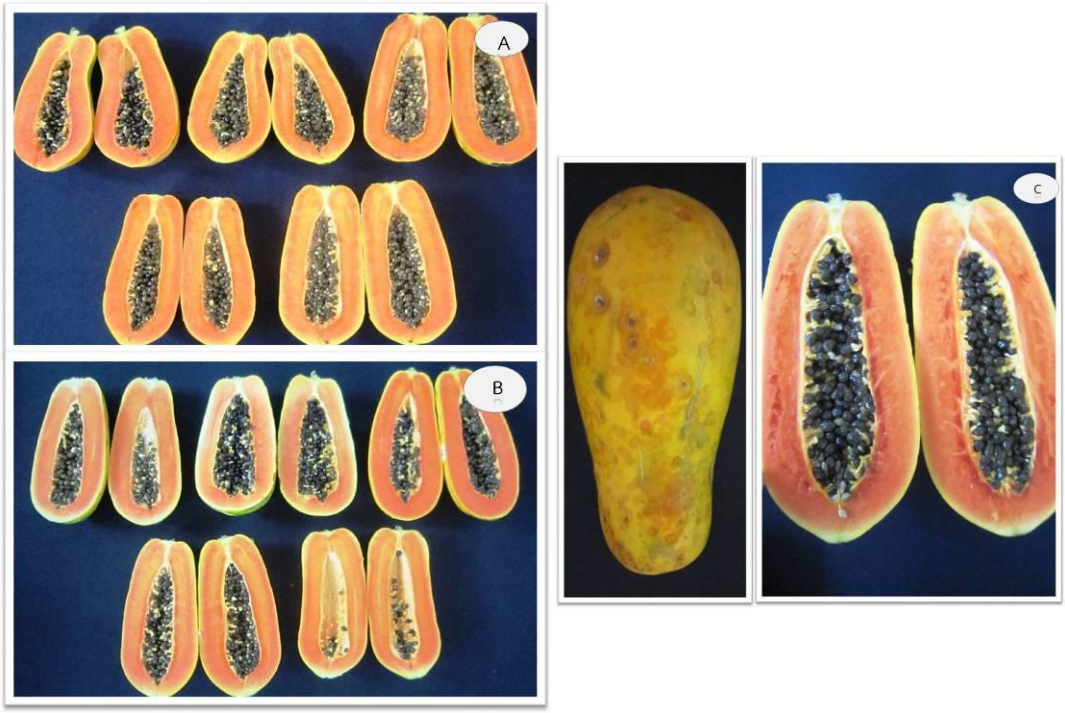


Fig. 8 The internal appearance was similar between control (A) and MVHT treated fruits at 46^{0}C for 2 h. (B), but differences were found between VHT treated fruits at 46^{0}C for 2 h. (C) with MVHT treated fruits and control.

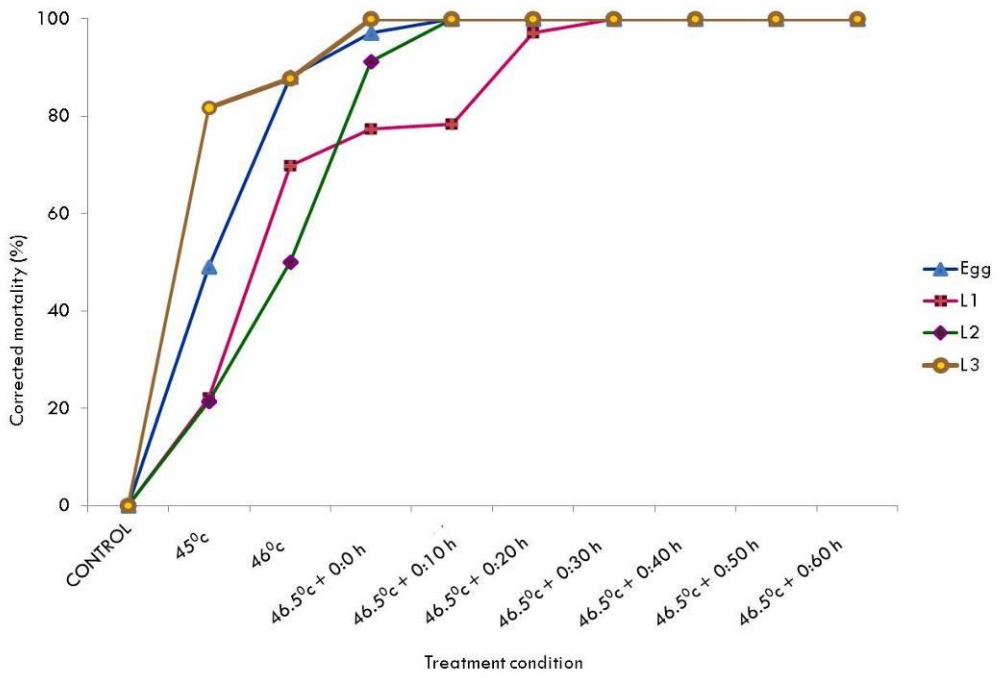


Fig. 9 The survival rate of eggs, 1st, 2nd and 3rd instar larvae of *B. dorsalis* in papaya.

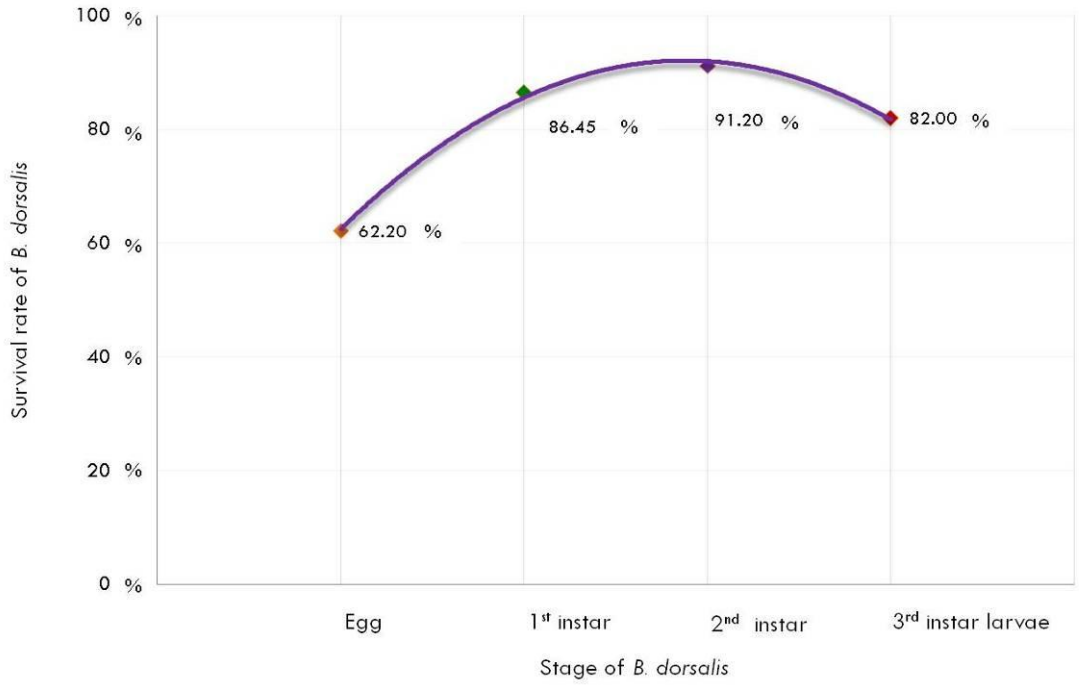


Fig. 10 Mortality of eggs, 1st, 2nd and 3rd instar larvae of *B. dorsalis* in papaya treated with modified vapor heat treatment.

วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลลำไยเพื่อการส่งออก

Research and Development of Heated-Air Quarantine Treatment for Longan Infested with Fruit Flies for Export

ชัยณรัตน์ สนศิริ[1/] สลักจิต พานคำ[1/] มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์[1/]
อุดร อุณหวุฒิ[2/] รัชฎา อินทรกำแหง[1/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ผู้เชี่ยวชาญ กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

ศึกษาวิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อนเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในผลลำไย (*Dimocarpus longan* L.) โดยศึกษาประสิทธิภาพของวิธีอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลลำไย เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) ศึกษา 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 อบลำไยให้อุณหภูมิภายในผลเพิ่มขึ้นถึง 46 องศาเซลเซียส และคงความร้อนไว้ที่ 46 องศาเซลเซียส นาน 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ พบว่า แมลงวันผลไม้มีอัตราการตายเฉลี่ย 92.93, 99.51, 99.94, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การทดลองที่ 2 อบลำไยให้อุณหภูมิภายในผลเพิ่มขึ้นถึง 46 องศาเซลเซียส และคงความร้อนไว้ที่ 46 องศาเซลเซียส นาน 45, 50 และ 55 นาที พบว่า แมลงวันผลไม้มีอัตราการตายเฉลี่ย 100, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงว่าที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที สามารถกำจัดระยะไข่ของแมลงวันผลไม้ในผลลำไยจำนวนไม่น้อยกว่าประมาณ 3,500 ตัว ตายทั้งหมด จากผลการทดลองนี้ได้เสนอให้มีการประเมินประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 46.0 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที เพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช สำหรับกำจัดไข่ และหนอนวัยต่างๆ ของแมลงวันผลไม้ในผลลำไยก่อนส่งออก

การยืนยันประสิทธิภาพของวิธีอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลลำไย ศึกษา 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 การประเมินประสิทธิภาพการกำจัดแมลง โดยวิธีใส่ไข่แมลงในผลลำไย และวิธีให้แมลงวางไข่ในผลลำไย อบลำไยที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ลำไยที่ไม่ผ่านความร้อน (control) จำนวน 8,000 และ4,000 ผล มีแมลงรอดชีวิต จำนวน 14,806 และ 235 ตัว ลำไยที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 12,000 และ6,000 ผล ไม่พบแมลงรอดชีวิต ผลการประเมินประสิทธิภาพกระบวนการกำจัดแมลงวัน

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-05-00-05-54

ผลไม้ดังกล่าวข้างต้น พบว่า สามารถกำจัดไข่จำนวนประมาณ 22,566 ฟอง ในผลลำไยตายทั้งหมด การทดลองที่ 2 การประเมินความเสียหายต่อคุณภาพลำไยในสภาพจำลองการส่งออกทางเครื่องบินและทางเรือ อบลำไยที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ และความชื้นที่ 10 องศาเซลเซียส นาน 7 และ 14 วัน พบว่าการสูญเสียน้ำหนัก และปริมาณน้ำตาลไม่เปลี่ยนแปลง แต่สีผิวเปลือกของผลลำไยจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ผลแห้ง และแข็ง ข้อมูลจากการทดลองนี้ และการทดลองที่ผ่านมาจึงขอเสนอกระบวนการกำจัดแมลงดังกล่าวข้างต้นเป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชสำหรับใช้กำจัดแมลงวันผลไม้ในผลลำไยก่อนส่งออกไปจำหน่ายยังประเทศที่ห้ามนำเข้าลำไยสดจากประเทศไทย

คำนำ

ปัญหาการกักกันพืชระหว่างประเทศนับวันจะยุ่งยากและสลับซับซ้อนเพิ่มขึ้น เนื่องจากการขยายตัวทางการค้าระหว่างประเทศอย่างรวดเร็ว การนำเข้าและส่งออกผักและผลไม้มีความเสี่ยงสูงที่แมลงศัตรูพืชร้ายแรงด้านกักกันพืชจะแพร่ระบาดจากประเทศหนึ่งไปยังอีกประเทศหนึ่งโดยเฉพาะอย่างยิ่งแมลงวันผลไม้ การวิจัยและพัฒนาวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Plant quarantine treatment) เพื่อใช้สำหรับกำจัดแมลงในผักและผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งต่องานกักกันพืชระหว่างประเทศ เพราะช่วยให้สามารถส่งผักและผลไม้ออกจากแหล่งแพร่ระบาดของแมลงวันผลไม้ได้ โดยปราศจากความเสี่ยงที่ศัตรูพืชร้ายแรงจะเล็ดลอดติดไปกับสินค้า (อุดร, 2541) หลังจากที่ประเทศไทยจัดทำข้อตกลงเขตการค้าเสรี (Free Trade Area, FTA) กับประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีนก่อให้เกิดผลกระทบค่อนข้างมากกับเกษตรกรในภาคเหนือตอนบน โดยเฉพาะอย่างยิ่งเกษตรกรที่ทำสวนลำไยเป็นอาชีพหลักต้องประสบปัญหาไม่สามารถแข่งขันด้านราคากับสินค้านำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์มีนโยบายช่วยเหลือเกษตรกรที่ได้รับผลกระทบโดยส่งเสริมและผลักดันให้มีการส่งออกลำไยเพิ่มมากขึ้น

ลำไยเป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมีพื้นที่ปลูกประมาณ 1,035,708 ไร่ ให้ผลผลิต 525,230 ตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2555) ลำไยมีปัญหาในการส่งออกเนื่องจากเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ ซึ่งเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางด้านกักกันพืช หลายประเทศออกมาตรการด้านสุขอนามัยพืชห้ามนำเข้าผลไม้จากประเทศไทย กลุ่มวิจัยการกักกันพืชได้ศึกษาวิจัยเพื่อพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงศัตรูพืชที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงศัตรูพืชด้านกักกันพืช (plant quarantine treatment) สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ก่อนการส่งออก หากประสบผลสำเร็จจะส่งผลให้หลายประเทศผ่อนปรนหรือยกเลิกข้อกำหนดในการห้ามนำเข้าผลไม้จากประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2529 กลุ่มวิจัยการกักกันพืชประสบความสำเร็จในการวิจัยพัฒนาวิธีการอบไอน้ำ (Vapor Heat Treatment, VHT)ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ 2 ชนิด คือ oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) และ melon fly, *B. cucurbitae* (Coquillett) ในมะม่วงพันธุ์หนังกลางวัน (Unahawutti et al., 1986) ต่อมาได้มีการวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT) ที่อุณหภูมิภายในสุดผล 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที มีประสิทธิภาพสูงสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง (*Mangifera indica* Linn.) ครอบคลุมถึง 4 พันธุ์ คือ หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของมะม่วง (Unahawutt et al., 1991) หลังจากนั้นประสบความสำเร็จในการวิจัยพัฒนาวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์มีประสิทธิภาพสูงสามารถกำจัด

แมลงวันผลไม้ในผลมังคุด (*Garcinia mangostana* Linn.) ที่อุณหภูมิภายในสุดผล 46 องศาเซลเซียส นาน 58 นาที สามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในกลุ่ม *B. dorsalis* species complex จำนวน 4 ชนิด คือ *B. carambolae, B. dorsalis*, *B. papayae* และ *B. pyrifoliae* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Unahawutt et al., 1999) ในปี 2549 กระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่นอนุญาตให้มีการนำเข้ามะม่วงเพิ่มอีก 1 พันธุ์ คือ มหาชนก และในปัจจุบันได้ศึกษาวิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์มีประสิทธิภาพสูงสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในในกลุ่ม *B. dorsalis* species complex จำนวน 4 ชนิด ในผลส้มโอ (*Citrus maxima* (Burman) Merr.) พันธุ์ทองดีได้เป็นผลสำเร็จที่อุณหภูมิภายในสุดผล 46 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และได้ส่งรายงานผลการศึกษาวิจัยวิธีการกำจัดแมลงวันผลไม้ดังกล่าวให้กับกระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่นพิจารณาเรียบร้อยแล้ว ซึ่งในต้นปี 2555 กระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่นอนุญาตให้นำเข้าส้มโอจากประเทศไทยเข้าไปจำหน่ายในประเทศญี่ปุ่นได้อีกชนิดหนึ่ง (Unahawutti et al., 2006)

ลำไยเป็นสิ่งต้องห้ามในการนำเข้าประเทศญี่ปุ่น เนื่องจากเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ตามประกาศของกระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่นระบุว่า *B. dorsalis* และ *B. cucurbitae* เป็นแมลงศัตรูพืชทางด้านกักกันพืช ต่อมาได้มีการแก้ไขประกาศใหม่จากแมลงวันผลไม้ดังกล่าวเปลี่ยนเป็นแมลงวันผลไม้ในกลุ่ม *B. dorsalis* species complex 4 ชนิด ดังกล่าวในการกำจัดแมลงศัตรูพืชด้านกักกันพืชสำหรับลำไยที่ถูกระบุว่าเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ในกลุ่ม *B. dorsalis* species complex ต้องศึกษาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ที่ได้มาตรฐานและเป็นที่ยอมรับ การกำจัดแมลงด้วยความร้อนโดยวิธีอบไอน้ำ (VHT) จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมเพื่อใช้เป็นวิธีกำจัดแมลงศัตรูพืช ดังนั้นงานวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้วยวิธีอบไอน้ำ (VHT) ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลลำไยให้ได้มาตรฐานทางด้านกักกันพืชในผลลำไยก่อนการส่งออก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้จำนวน 2 ห้อง
2. เครื่องอบไอน้ำกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวน 2 เครื่อง
3. เครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์แบบต่อเนื่อง
4. เครื่องวัดค่าความหวาน
5. เครื่องชั่งทศนิยม
6. เครื่องลดอุณหภูมิผลไม้
7. เครื่องวัดความเที่ยงตรง
8. เครื่องหม้อนึ่งความดัน
9. เครื่องควบคุมอุณหภูมิและความชื้น
10. ห้องเย็นสำหรับเก็บผลไม้
11. แท่งวัดอุณหภูมิ
12. กล้องจุลทรรศน์
13. จานทดลอง(plate)
14. เลนส์ขยาย

15. อุปกรณ์อื่นๆได้แก่ พู่กัน ปากคีบ ถาดใส่ผลไม้ มีดผ่าตัด ถุงมือยาง หลอดดูดสารละลาย และผ้าปิดปาก

วิธีการ

1. แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ที่ใช้ในการทดลอง

1.1 แหล่งที่มาของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis*

เลี้ยงแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เป็นจำนวนมากไว้ในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในการทดลอง โดยเลี้ยงไว้ในห้องเลี้ยงแมลงของกลุ่มงานวิชาการกักกันศัตรูพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ต้นกำเนิดสายพันธุ์ของแมลงวันผลไม้ได้มาจากผลมะม่วงในพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา แมลงตัวเต็มวัยจะถูกจำแนกชนิดอย่างละเอียดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คัดแยกเอาเฉพาะแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เพียงชนิดเดียว จากนั้นจึงนำแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยไปเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการและเพิ่มจำนวนให้มากขึ้น โดยอาศัยวิธีการเลี้ยงแมลงด้วยอาหารเทียม (artificial diet)

1.2 เทคนิคและวิธีการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis*

แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ที่ใช้ในการทดลองทั้งหมดใช้เทคนิค และวิธีการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ตามวิธีการของ Watanabe et al., (1973) สภาพห้องเลี้ยงแมลง: ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เป็นห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ ความชื้น และแสงสว่าง ห้องเลี้ยงแมลงมีขนาด 3.5 x 4.6 x 2.3 เมตร อุณหภูมิ 26 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 $\pm$ 5 เปอร์เซ็นต์ แสงสว่างภายในห้องได้จากหลอดไฟ ฟลูโอเรสเซนส์ (Fluorescent lights) จำนวน 20 หลอด ติดตั้งบนเพดานห้องเลี้ยงแมลง มีระยะรอบของความมืดและสว่าง (light - dark cycle) เป็น 12:12 ชั่วโมง ไฟจะสว่างในช่วงเวลา 6:00 - 18:00 นาฬิกา ภายในห้องเลี้ยงแมลงติดหลอดไฟขนาด 15 วัตต์ จำนวน 1 หลอด ให้แสงสลัว (dim light) เป็นเวลานาน 15 นาที ก่อนและหลังที่ไฟในห้องเลี้ยงแมลงจะสว่างเพื่อช่วยกระตุ้นให้แมลงวันผลไม้ผสมพันธุ์

ตัวเต็มวัย: เลี้ยงแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ตัวเต็มวัยกรงใหญ่จำนวนประมาณ 20,000 ตัว/กรง และกรงเล็กจำนวนประมาณ 2,000 ตัว/กรง กรงเลี้ยงแมลงมีขนาด 65.5 x 69.0 x 77.0 เซนติเมตร และ 35 x 50 x 35 เซนติเมตร ทำด้วยมุ้งลวดตาข่ายอลูมิเนียมขนาด 16 เมช ภายในกรงมีจานพลาสติกบรรจุอาหารสำหรับตัวเต็มวัย ซึ่งประกอบด้วยส่วนผสมโดยน้ำหนัก ดังนี้ น้ำตาล 10 ส่วน เอ็นไซม์โปรตีนไฮโดรไลเซส (Enzymatic protein hydrolysate; Amber series 100) 1 ส่วน และยีสต์เอ็กเทรค (Yeast extract) 1 ส่วน การให้น้ำจะใช้ขวดพลาสติกทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6.0 เซนติเมตร สูง 7.5 เซนติเมตร ฝาขวดเจาะรูขนาด 1 มิลลิเมตร จำนวน 3 รู วิธีให้น้ำจะคว่ำขวดน้ำลงบนกระดาษกรองซึ่งวางอยู่บนหลังกรงเลี้ยงแมลง หลังจากเลี้ยงแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยครบ 6 สัปดาห์ แมลงที่เหลือในกรงทั้งหมดจะถูกนำไปทำลาย และทำความสะอาดกรงเลี้ยงแมลง เพื่อเตรียมไว้สำหรับใส่แมลงในรุ่นต่อไป ในระหว่างการทดลองจะต้องมีแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยอายุต่างๆ กันเพื่อเตรียมไว้ใช้ในการทดลอง กรงใหญ่ไม่น้อยกว่า 5 กรง และกรงเล็กไม่น้อยกว่า 10 กรง

วิธีการเก็บไข่: เก็บไข่แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เมื่อตัวเต็มวัยมีอายุประมาณ 15 วัน โดยใช้กระบอกพลาสติก ขนาด 7 x 17 เซนติเมตร ด้านข้างเจาะรูขนาด 0.4 มิลลิเมตร ประมาณ 80-100 รู เพื่อให้แมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยเพศเมียแทงอวัยวะวางไข่ผ่านรูจากด้านข้างเข้าไปวางไข่ภายในกระบอกพลาสติก ในการเก็บไข่แต่ละครั้ง จะใส่น้ำส้มประมาณ 30 มิลลิเมตร ไว้ในกระบอกเก็บไข่ เพื่อกระตุ้น

ให้แมลงมาวางไข่ในขณะเดียวกันยังจะให้ความชื้นภายในกระบอกพลาสติกป้องกันไม่ให้ไข่ของแมลงแห้งและแตก รวบรวมไข่แมลงด้วยวิธีเติมน้ำสะอาดในกระบอกพลาสติกเก็บไข่ แล้วเขย่าเบาๆ เพื่อให้ไข่ที่ติดอยู่ด้านข้างภายในกระบอกหลุด ใช้ผ้ามัสลินขนาด 150 เมซ แยกไข่ออกจากน้ำส้ม รวบรวมไข่ทั้งหมดที่ได้ใส่ในน้ำกลั่นเก็บไว้ในถ้วยแก้ว (beaker) ขนาด 200 มิลลิเมตร หลังจากนั้นนำไข่ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารเทียมพร้อมทั้งตรวจหาอัตราการฟักไข่ด้วยวิธีสุ่มไข่จำนวน 100 ฟอง วางไข่ให้กระจายเป็นแถวยาวบนกระดาษกรองสีดำที่ชุ่มน้ำเก็บไว้ในจานแก้ว (petri-dish) ตรวจนับจำนวนไข่ที่ฟักเป็นตัวหนอน 2 วัน

การควบคุมคุณภาพแมลง : แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ซึ่งเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการจะต้องมีความแข็งแรง เพื่อที่ข้อมูลจากผลการศึกษาวิจัยจะได้ถูกต้องและเป็นที่ยอมรับ ดังนั้นจึงต้องมีการตรวจสอบคุณภาพของแมลงเป็นประจำ โดยในการเลี้ยงแมลงแต่ละรุ่นจะตรวจสอบอัตราการฟักไข่ (hatching rate) อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate) น้ำหนักของดักแด้ และอัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio)

2. วิธีเตรียมแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ระยะไข่สำหรับใช้ในการทดลอง

2.1 การเตรียมแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ระยะไข่

เก็บไข่จากแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ตัวเต็มวัยซึ่งเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการ โดยใช้กระบอกพลาสติกมีฝาปิด และด้านข้างเจาะรูเป็นอุปกรณ์รวบรวมไข่ กระบอกพลาสติกมีขนาด 7 x 17 เซนติเมตร ด้านข้างเจาะรูขนาด 0.4 มิลลิเมตร ประมาณ 80 - 100 รู เพื่อให้แมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยเพศเมียแทงอวัยวะวางไข่ผ่านรูจากด้านข้างเข้าไปภายในกระบอกพลาสติก ในการเก็บไข่แต่ละครั้งจะใส่น้ำส้มประมาณ 30 มิลลิเมตร ไว้ในกระบอกเก็บไข่ เพื่อกระตุ้นให้แมลงมาวางไข่ในขณะเดียวกันยังจะให้ความชื้นภายในกระบอกพลาสติกป้องกันไม่ให้ไข่ของแมลงแห้งและแตก รวบรวมไข่แมลงด้วยวิธีเติมน้ำสะอาดในกระบอกพลาสติกเก็บไข่ แล้วเขย่าเบา ๆ เพื่อให้ไข่ที่ติดอยู่ด้านข้างภายในกระบอกหลุด ใช้ผ้ามัสลินขนาด 150 เมซ แยกไข่ออกจากน้ำส้ม รวบรวมไข่ที่ได้ใส่ในน้ำกลั่นเก็บไว้ในถ้วยแก้ว (beaker) ขนาด 200 มิลลิเมตร แยกไข่ที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์ซึ่งลอยอยู่เหนือน้ำทิ้งทั้งหมด ใช้หลอดดูดสารละลาย (dropper) ขนาด 1 มิลลิเมตร ดูดไข่ย้ายไปวางไว้บนกระดาษกรองสีดำที่ชุ่มน้ำ พยายามวางไข่ให้กระจายเป็นแถวยาวเพื่อสะดวกในการนับจำนวน ตรวจนับคุณภาพไข่แต่ละฟองภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อแยกไข่ที่ไม่สมบูรณ์หรือไข่ที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์ทิ้ง

2.2 การเตรียมลำไยให้มีแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ระยะไข่อยู่ภายในผล

เก็บไข่แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ตามวิธีที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น โดยวางกระบอกเก็บไข่ไว้ในกรงเลี้ยงแมลงนาน 30 นาที รวบรวมไข่ที่ได้ใส่ในน้ำกลั่นเก็บไว้ในถ้วยแก้ว (beaker) แยกไข่ที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์ซึ่งลอยอยู่เหนือน้ำทิ้งทั้งหมด ใช้หลอดดูดสารละลาย (dropper) ดูดไข่ไปวางไว้บนกระดาษกรองสีดำชุ่มน้ำ โดยการกระจายไข่ให้เป็นแถวยาวเพื่อสะดวกในการนับจำนวนไข่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ใช้พู่กันเขี่ยไข่ให้รวมกันเป็นกลุ่ม ๆ ละ 10 ฟอง การเตรียมลำไยให้มีแมลงวันผลไม้ระยะไข่ อยู่ภายในผล (artificial infestation method) ดำเนินการตามขั้นตอน และวิธีการปฏิบัติของสลักจิต และคณะ (2551) โดยใช้ที่เจาะรู (cock borer) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร สำหรับเจาะเอาเมล็ดออกจากผลลำไยโดยเจาะผลลำไยบริเวณด้านขั้วผล จากนั้นดึงเมล็ดซึ่งติดกับปลายที่เจาะรูออกมาจากผล นำลำไยวางคว่ำไว้บนถาดซึ่งรองด้วยกระดาษชำระ ซึ่งพร้อมที่จะใส่ไข่ในผลลำไย ใช้พู่กันย้ายไข่จำนวน 10 ฟอง/ผล วางลงบนเนื้อลำไยตรงบริเวณที่เจาะรูไว้ อุดรูด้วยสำลีเพื่อป้องกัน

ไม่ให้ไข่เมื่อฟักออกมาเป็นตัวหนอนเล็ดลอดออกจากผลตรงบริเวณรอยต่อระหว่างสำลีกับเนื้อลำไยอุดช่องโดยใช้ปืนกาวยิงอุดรอบบริเวณดังกล่าวเก็บลำไยไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อเตรียมใช้ในการทดลอง

2.3 การเตรียมลำไยเพื่อใช้ในการทดลอง

ลำไยที่ใช้ในการทดลองได้แก่ ลำไยพันธุ์อีดอ ผลลำไยมีขนาดกลางน้ำหนัก 15 – 20 กรัม/ผล ล้างทำความสะอาดผลลำไยและนำไปเป่าให้แห้งโดยใช้เครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ “Sanshu” Shower Cooling System (Differential Pressure Type) รุ่น SHS-12, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan ตรวจสภาพความผิดปกติของผลลำไยซึ่งลำไยทุกผลจะต้องไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงหรือรอยแตก การเตรียมลำไยให้มีแมลงวันผลไม้ระยะไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) อยู่ภายในผลจะใช้วิธีใส่ไข่แมลงในผลลำไย โดยใช้ที่เจาะรู (cock borer) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร สำหรับเจาะเอาเมล็ดออกจากผลลำไยโดยเจาะผลลำไยบริเวณด้านขั้วผล จากนั้นดึงเมล็ดซึ่งติดกับปลายที่เจาะรูออกมาจากผล นำลำไยวางคว่ำไว้บนถาดซึ่งรองด้วยกระดาษชำระ ซึ่งพร้อมที่จะใส่ไข่ในผลลำไย ใช้พู่กันย้ายไข่จำนวน 10 ฟอง/ผล วางลงบนเนื้อลำไยตรงบริเวณที่เจาะรูไว้ อุดรูด้วยสำลีเพื่อป้องกันไม่ให้ไข่เมื่อฟักออกมาเป็นตัวหนอนเล็ดลอดออกจากผลตรงบริเวณรอยต่อระหว่างสำลีกับเนื้อลำไยอุดช่องโดยใช้ปืนกาวยิงอุดรอบบริเวณดังกล่าวเก็บลำไยที่อุณหภูมิห้องเตรียมใช้ในการทดลอง

3. การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลลำไย

การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลลำไย ศึกษา 2 การทดลอง แต่ละการทดลองมีขั้นตอน และวิธีการดำเนินการดังต่อไปนี้

ดำเนินการทดลองด้วยเครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็ก “Sanshu” Vapor Heat Treatment System (Differential Pressure Type) รุ่น EHK – 1000B และEHK – 1000D, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan (เครื่องตู้อบความร้อนรุ่น EHK – 1000D เป็นเครื่องที่ปรับปรุงใหม่จากรุ่นEHK – 1000B) จำนวน 2 เครื่อง ลำไยที่ใช้ในการทดลองมีผลขนาดกลางน้ำหนัก 15-20 กรัม/ผล การเตรียมลำไยให้มีแมลงวันผลไม้ระยะไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) อยู่ภายในผล โดยรวบรวมไข่จากกระบอกเก็บไข่ซึ่งได้จากการให้แมลงวันผลไม้วางไข่นาน 30 นาที รวบรวมไข่ที่ได้ใส่ในน้ำกลั่นเก็บไว้ในถ้วยแก้ว (beaker) แยกไข่ที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์ซึ่งลอยอยู่เหนือน้ำทิ้งทั้งหมดใช้หลอดดูดสารละลาย (dropper) ดูดไข่ไปวางไว้บนกระดาษกรองสีดำชุ่มน้ำ โดยการกระจายไข่ให้เป็นแถวยาวเพื่อสะดวกในการนับจำนวนไข่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ใช้พู่กันเขี่ยไข่ให้รวมกันเป็นกลุ่มๆ ละ 10 ฟอง เจาะลำไยโดยใช้ที่เจาะรู (cock borer) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1เซนติเมตร สำหรับเจาะเอาเมล็ดออกจากผลลำไยโดยเจาะผลลำไยบริเวณด้านขั้วผล จากนั้นดึงเมล็ดซึ่งติดกับปลายที่เจาะรูออกมาจากผล นำลำไยวางคว่ำไว้บนถาดซึ่งรองด้วยกระดาษชำระ ซึ่งพร้อมที่จะใส่ไข่ในผลลำไย ใช้พู่กันย้ายไข่จำนวน 10 ฟอง/ผล วางลงบนเนื้อลำไยตรงบริเวณที่เจาะรูไว้ อุดรูด้วยสำลีเพื่อป้องกันไม่ให้ไข่เมื่อฟักออกมาเป็นตัวหนอนเล็ดลอดออกจากผลตรงบริเวณรอยต่อระหว่างสำลีกับเนื้อลำไยอุดช่องโดยใช้ปืนกาวยิงอุดรอบบริเวณดังกล่าว

นำลำไยทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน วางเรียงลำไยในถาดผลไม้จำนวน 100 ผล/ถาด อบลำไยกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) เพื่อกำหนดกระบวนการอบไอน้ำที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในผลลำไยให้ตายทั้งหมด อบลำไยโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลลำไยภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้เป็นอากาศร้อนที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำให้อุณหภูมิภายในสุดผลของลำไยเพิ่มขึ้นจนถึง 46 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลที่ 46 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลานานแตกต่างกันดังนี้ การทดลองที่ 1 ใช้ระยะเวลา

นาน 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที แต่ละระยะเวลาที่กำหนดมีลำไยที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 500 ผล และมีลำไยที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อนจำนวน 200 ผล ทำการทดลอง 4 ครั้ง การทดลองที่ 2 ใช้ระยะเวลานาน 45, 50 และ 55 นาที แต่ละระยะเวลาที่กำหนดมีลำไยที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 300 ผล และมีลำไยที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อนจำนวน 200 ผล ทำการทดลอง 4 ครั้ง

ในการทดลองแต่ละครั้งใช้ลำไยที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) น้ำหนัก 17 ± 2 กรัม/ผล จำนวน 3 ผล วางไว้ในกระบะชั้นล่างสุด ซึ่งใช้เป็นตัวแทนแสดงอุณหภูมิของลำไยทั้งหมดภายในเครื่องตู้อบความร้อน เมื่อลำไยที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิจำนวน 2 ผล มีอุณหภูมิคงอยู่ที่ 46 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาตามที่กำหนด แสดงว่าขณะนั้นลำไยทดลองทั้งหมดในเครื่องตู้อบความร้อนมีอุณหภูมิอยู่ในระดับเดียวกันกับลำไยที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ นำลำไยทดลองในถาดผลไม้จำนวน 100 ผล ออกจากห้องบรรจุผลไม้ภายในเครื่องตู้อบความร้อน และลดอุณหภูมิลำไยโดยวิธีเป่าด้วยลมนาน 1 ชั่วโมง ในเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ แยกเก็บลำไยทดลองที่ไม่ผ่านความร้อนและผ่านความร้อนแต่ละระยะเวลาใส่ในกระป๋องพลาสติกทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6.5 x 4.5 เซนติเมตร กระป๋องละหนึ่งลูก และปิดฝาให้สนิท ฝาปิดทำช่องระบายอากาศเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร ปิดช่องระบายอากาศด้วยผ้ามัสลินขนาด 16 เมช นำกระป๋องที่ใส่ลำไยจัดเรียงลงในกระบะพลาสติกขนาด 36 x 54 x 15 เซนติเมตร ใส่ลำไยจำนวน 50 ผล/กระบะ คลุมกระบะด้วยผ้ามัสลิน นำลำไยไปเก็บไว้ในห้องควบคมอุณหภูมิ โดยมีอุณหภูมิประมาณ 25-28 องศาเซลเซียส ตรวจนับจำนวนแมลงวันผลไม้ที่รอดชีวิตในลำไยแต่ละผลหลังจากผ่านความร้อนเป็นเวลานาน 7 วัน

4. การยืนยันประสิทธิภาพของวิธีอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลลำไย

การยืนยันประสิทธิภาพของวิธีอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลลำไย ศึกษา 2 การทดลอง แต่ละการทดลองมีขั้นตอน และวิธีการดำเนินการดังต่อไปนี้

ดำเนินการทดลองด้วยเครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็ก “Sanshu” Vapor Heat Treatment System (Differential Pressure Type) รุ่น EHK – 1000B และEHK – 1000D, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan (เครื่องตู้อบความร้อนรุ่น EHK – 1000D เป็นเครื่องที่ปรับปรุงใหม่จากรุ่นEHK – 1000B) จำนวน 2 เครื่อง ทำการทดลองดังนี้

<u>การทดลองที่ 1 การประเมินประสิทธิภาพการกำจัดแมลง</u>

ลำไยที่ใช้ในการทดลองมีผลขนาดกลางน้ำหนัก 15-20 กรัม/ผล เตรียมลำไยให้มีแมลงวันผลไม้ระยะไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) อยู่ภายในผล 2 วิธี คือ วิธีใส่ไข่แมลงในผลลำไย (artificial infestation method) และวิธีให้แมลงวางไข่ในผลลำไย (forced infestation method) แต่ละวิธีมีรายละเอียดดังนี้

1. วิธีใส่ไข่แมลงในผลลำไย รวบรวมไข่จากกระบอกเก็บไข่ซึ่งได้จากการให้แมลงวันผลไม้วางไข่นาน 30 นาที รวบรวมไข่ที่ได้ใส่ในน้ำกลั่นเก็บไว้ในถ้วยแก้ว (beaker) แยกไข่ที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์ซึ่งลอยอยู่เหนือน้ำทิ้งทั้งหมด ใช้หลอดดูดสารละลาย (dropper) ดูดไข่ไปวางไว้บนกระดาษกรองสีดำชุ่มน้ำ โดยการกระจายไข่ให้เป็นแถวยาวเพื่อสะดวกในการนับจำนวนไข่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ใช้พู่กันเขี่ยไข่ให้รวมกันเป็นกลุ่ม ๆ ละ 10 ฟอง เจาะลำไยโดยใช้ที่เจาะรู (cock borer) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร เจาะเอาเมล็ดออกจากผลลำไยโดยเจาะผลลำไยบริเวณด้านขั้วผล จากนั้นดึงเมล็ดซึ่งติดกับปลายที่เจาะรูออกมาจากผล นำลำไยวางคว่ำไว้บนถาดซึ่งรองด้วยกระดาษ

ชำระรอการใส่ไข่ในผลลำไย ใช้พู่กันย้ายไข่จำนวน 10 ฟอง/ผล วางลงบนเนื้อลำไยอุดรูด้วยสำลี และใช้ปืนกาวยิงอุดรอบอีกครั้งหนึ่ง ใช้ลำไยทดลองจำนวน 2,000 ผล แยกเป็นลำไยที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 1,200 ผล และลำไยที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อนจำนวน 800 ผล นำลำไยทั้งหมดเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิโดยมีอุณหภูมิประมาณ 25-28 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำลำไยไปใช้ในการทดลอง

2. วิธีให้แมลงวางไข่ในผลลำไย ใช้เข็มปักแมลงเจาะรูบนผลลำไย จำนวน 5 รู ให้ทะลุเปลือกไปถึงเนื้อ เพื่อบังคับให้แมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยเพศเมียแทงอวัยวะวางไข่เข้าไปวางไข่ในผลลำไยผ่านรูที่เจาะไว้ ใช้ลำไยทดลองจำนวน 1,000 ผล แยกเป็นลำไยที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 600 ผล และลำไยที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 400 ผล วางเรียงในตะแกรงลวดขนาด 22 x 30 เซนติเมตร ตะแกรงละ 100 ผล/กรง เพื่อความสะดวกในการไล่แมลงบนผลลำไยขณะนำลำไยออกจากกรงแมลงหลัง เสร็จจากการวางไข่ นำไปวางไว้ในกรงเลี้ยงแมลงขนาดเล็กที่มีแมลงวันผลไม้ตัวเต็ม ประมาณ 2,000 ตัว ใช้ระยะเวลาในการให้แมลงวางไข่นาน 30 นาที นำลำไยทั้งหมดเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ โดยมีอุณหภูมิประมาณ 25-28 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำลำไยไปใช้ในการทดลอง

อบลำไยในสภาพที่ห้องบรรจุผลไม้ของเครื่องตู้อบความร้อน มีปริมาณลำไยน้ำหนัก 100 กก/ลบ.ม. แบ่งลำไยที่มีแมลงวันผลไม้ระยะไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) อยู่ภายในผล ทั้ง 2 วิธี ออกเป็น 4 ส่วน เลือกลำไยทดลองที่ได้จากวิธีใส่ไข่แมลงในผลลำไย และวิธีให้แมลงวางไข่ในผลลำไย 1 ส่วน จำนวน 800 และ 400 ผล เก็บไว้สำหรับใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน ลำไยส่วนนี้จะใช้สำหรับการประมาณจำนวนแมลงทั้งหมดในลำไยที่ผ่านความร้อน (treatment) เนื่องจากว่าจำนวนแมลงที่มีชีวิตในลำไยที่ผ่านความร้อนนั้นไม่สามารถที่จะทำการตรวจสอบได้โดยตรง สำหรับลำไยอีก 3 ส่วน แบ่งจำนวนเท่าๆ กันใส่ในภาชนะบรรจุผลไม้แบบกระบะพลาสติกแข็งทนความร้อนขนาด 36 x 70 x 15 เซนติเมตร กระบะเดียวกัน จำนวน 3 กระบะ วางลำไยซ้อนกันสองชั้น/กระบะ ชั้นที่สองรองด้วยตะแกรงพลาสติกขนาด 30 x 50 เซนติเมตร ในแต่ละกระบะมีลำไยทดลองโดยวิธีใส่ไข่แมลงในผลลำไย จำนวน 400 ผล และวิธีให้แมลงวางไข่ในผลลำไย จำนวน 200 ผล และใส่ลำไยที่ไม่ใช้ในการทดลอง (filler fruit) เฉลี่ยจำนวนเท่าๆ กันในกระบะบรรจุผลไม้อีก 9 กระบะ และนำไปวางซ้อนลงบนกระบะซึ่งบรรจุลำไยทดลอง ในสภาพที่ห้องบรรจุผลไม้ของเครื่องตู้อบความร้อนมีปริมาณลำไย 100 เปอร์เซ็นต์ ของความจุตู้ นำลำไยเข้าเครื่องตู้อบความร้อนเพื่อประเมินประสิทธิภาพของกระบวนการอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) จำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว เพื่อการยอมรับเป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช อบลำไยโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลลำไยภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้เป็นอากาศร้อนที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำให้อุณหภูมิภายในสุดผลของลำไยเพิ่มขึ้นจนถึง 46 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์

ในการทดลองแต่ละครั้งใช้ลำไยที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) น้ำหนัก 17 ± 2 กรัม/ผล จำนวน 3 ผล วางไว้ในกระบะชั้นล่างสุด ซึ่งใช้เป็นตัวแทนแสดงอุณหภูมิของลำไยทั้งหมดภายในเครื่องตู้อบความร้อน เมื่อลำไยที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิจำนวน 2 ผล มีอุณหภูมิคงอยู่ที่ 46 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที แสดงว่าขณะนั้นลำไยทดลองทั้งหมดในเครื่องตู้อบความร้อนมีอุณหภูมิอยู่ในระดับเดียวกันกับลำไยที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ เป็นการสิ้นสุดการให้ความร้อน เปิดประตูห้อง

บรรจุผลไม้ของเครื่องต้อบความร้อนทันที และลดอุณหภูมิลำไยโดยวิธีเป่าด้วยลมนาน 1 ชั่วโมง เก็บลำไยทดลองที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อนใส่ในกระป๋องพลาสติกทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6.5 x 4.5 เซนติเมตร กระป๋องละหนึ่งลูก และปิดฝาให้สนิท ฝาปิดทำช่องระบายอากาศเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร ปิดช่องระบายอากาศด้วยผ้ามัสลินขนาด 16 เมซ นำกระป๋องที่ใส่ลำไยจัดวางเรียงลงในกระบะพลาสติกขนาด 36 x 54 x 15 เซนติเมตร ใส่ลำไยจำนวน 50 ผล/กระบะ คลุมกระบะด้วยผ้ามัสลิน นำลำไยไปเก็บไว้ในห้องควบคมอุณหภูมิโดยมีอุณหภูมิประมาณ 25-28 องศาเซลเซียส ตรวจนับจำนวนแมลงที่รอดชีวิตในลำไยแต่ละผลหลังจากผ่านความร้อนเป็นเวลานาน 7 วัน ทำการทดลองอบลำไยตามรายละเอียดที่กล่าวมาแล้วจนกระทั่งมีแมลงในผลลำไย ผ่านความร้อนจำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว

<u>การทดลองที่ 2 การประเมินความเสียหายต่อคุณภาพผลลำไย</u>

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำต่อลำไยในสภาพจำลองการส่งออกลำไยทางเครื่องบิน และทางเรือ ตรวจสภาพความผิดปกติของผลลำไยซึ่งลำไยทุกผลจะต้องไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงหรือรอยแตก แยกเป็นลำไยที่ผ่านความร้อน (treatment) และลำไยที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน นำลำไยทดลองเข้าเครื่องต้อบความร้อนวางลำไยที่ผ่านความร้อนไว้ในกระบะที่ไม่ใช้ในการทดลอง (filler fruit) ชั้นบนสุดกระบะเดียวกัน อบลำไยโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลลำไยภายในเครื่องต้อบความร้อนให้เป็นอากาศร้อนที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำให้อุณหภูมิภายในสุดผลของลำไยเพิ่มขึ้นจนถึง 46 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุดการให้ความร้อนลดอุณหภูมิลำไยโดยวิธีเป่าด้วยลมนาน 1 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับลำไยที่ไม่ผ่านความร้อน นำลำไยทดลองทั้งหมดที่ผ่านความร้อน และไม่ผ่านความร้อน บรรจุใส่ในกล่องกระดาษขนาด 36 x 50 x 11 เซนติเมตร ด้านยาวทั้งสองข้างเจาะรูกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร พร้อมทั้งปิดด้วยผ้าตาข่ายจำนวน 4 รู เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ และความชื้นที่ 10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 7 และ 14 วัน เพื่อจำลองสภาพการส่งออกลำไยทางเครื่องบิน และทางเรือ เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดนำลำไยทั้งหมดที่ผ่านความร้อน และไม่ผ่านความร้อนมาประเมินความเสียหายจากความร้อน โดยใช้หลักเกณฑ์พิจารณาและดำเนินการในหัวข้อต่างๆ ดังต่อไปนี้

1. การสูญเสียน้ำหนัก (weight loss) ศึกษาการสูญเสียน้ำหนักของลำไยโดยคำนวณเป็นร้อยละของน้ำหนักที่ศูนย์เสียไปด้วยวิธีการบันทึกน้ำหนักลำไยก่อนการทดลอง และในวันที่ตรวจผลการทดลองชั่งน้ำหนักผลลำไยอีกครั้งหนึ่ง

2. ปริมาณน้ำตาล (brix value) ในการทดลองแต่ละครั้งคั้นน้ำจากเนื้อลำไยที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อนจำนวน 10 ผล เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล ปริมาณน้ำตาลในรูปปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) มีหน่วยเป็นค่า องศาบริกซ์ การวัดปริมาณน้ำตาลจากเนื้อลำไยใช้เครื่อง digital refractometer (รุ่น DBX-30, Atago Co., Ltd., Tokyo, Japan)

นำข้อมูล การสูญเสียน้ำหนัก และปริมาณน้ำตาล วิเคราะห์ผลทางสถิติ การตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยใช้วิธีการตรวจสอบแบบ T-test

เวลาและสถานที่

เวลา กันยายน 2554-กันยายน 2556

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลลำไย ศึกษา 2 การทดลอง อบลำไยกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) เพื่อกำหนดกระบวนการอบไอน้ำที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในผลลำไยให้ตายทั้งหมด

อบลำไยโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลลำไยภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้เป็นอากาศร้อนที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำให้อุณหภูมิภายในสุดผลของลำไยเพิ่มขึ้นจนถึง 46 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลานานแตกต่างกัน การทดลองที่ 1 ระยะเวลาที่ใช้ในการอบลำไยที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที รวมทั้งน้ำหนักลำไยกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ใน (ตารางที่ 1) จากการทดลอง 4 ครั้ง พบว่า ลำไยที่ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 800 ผล มีแมลงวันผลไม้รอดชีวิต จำนวน 3,029 ตัว แสดงว่าในลำไยจำนวน 2,000 ผล ซึ่งผ่านความร้อนแต่ละระยะเวลาที่กำหนด แมลงวันผลไม้ระยะไข่รอดชีวิต จำนวน 610 ตัว ที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที โดยมีอัตราการตายของระยะไข่เฉลี่ย 92.93, 99.51, 99.94, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2) การทดลองที่ 2 ระยะเวลาที่ใช้ในการอบลำไยที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 45, 50 และ 55 นาที รวมทั้งน้ำหนักลำไยกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ใน (ตารางที่ 3) จากการทดลอง 4 ครั้ง พบว่า ลำไยที่ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 800 ผล มีแมลงวันผลไม้รอดชีวิต จำนวน 2,378 ตัว ซึ่งในลำไยที่ผ่านความร้อนแต่ละระยะเวลาที่กำหนด จำนวน 1,200 ผล ระยะไข่ตายทั้งหมดที่ระยะเวลานาน 45, 50 และ 55 นาที โดยมีอัตราการตายของระยะไข่เฉลี่ย 100, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

จากการทดลองจึงประมาณการได้ว่าลำไยซึ่งผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส แต่ละระยะเวลาที่กำหนดจะมีไข่ซึ่งสามารถฟักออกเป็นตัวหนอนได้จำนวนไม่น้อยกว่าประมาณ 3,500 ฟอง ผลการตรวจนับจำนวนแมลงในลำไยจากการทดลองปรากฏว่า ไข่แมลงวันผลไม้ในลำไยตายทั้งหมดเมื่อคงความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลานานตั้งแต่ 50 นาทีขึ้นไป กระบวนการกำจัดแมลงดังกล่าวนี้มีความเป็นไปได้สูงที่จะมีประสิทธิภาพกำจัดแมลงได้ถึงระดับของวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช ดังนั้นควรจะได้มีการทดสอบยืนยันกระบวนการกำจัดแมลงดังกล่าวข้างต้นตามขั้นตอนต่อไป เพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชสำหรับกำจัดระยะไข่ และหนอนวัยต่างๆ ของแมลงวันผลไม้ในลำไยก่อนการส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ

การยืนยันประสิทธิภาพของวิธีอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลลำไย ศึกษา 2 การทดลอง

<u>การทดลองที่ 1 การประเมินประสิทธิภาพการกำจัดแมลง</u>

เตรียมลำไยทดลองให้มีแมลงวันผลไม้ระยะไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) อยู่ภายในผล 2 วิธี คือ วิธีใส่ไข่แมลงในผลลำไย และวิธีให้แมลงวางไข่ในผลลำไย นำลำไยเข้าเครื่องตู้อบความร้อนเพื่อประเมินประสิทธิภาพของกระบวนการอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียสนาน 50 นาที ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) จำนวนไม่น้อยกว่า

30,000 ตัว เพื่อการยอมรับเป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการอบลำไยที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที รวมทั้งน้ำหนักลำไยกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ใน (ตารางที่ 5) จากการทดลอง พบว่า ลำไยที่ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 8,000 และ 4,000 ผล มีแมลงรอดชีวิต จำนวน 14,806 และ235 ตัว ลำไยที่ผ่านความร้อน จำนวน 12,000 และ 6,000 ผล ไม่พบแมลงรอดชีวิต โดยสามารถกำจัดระยะไข่ของแมลงวันผลไม้ได้ประมาณ 22,566 ตัว ในผลลำไยตายทั้งหมด (ตารางที่ 6)

กระบวนการอบลำไยดังกล่าวนี้มีประสิทธิภาพสูงถึงระดับมาตรฐานที่ยอมรับเป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช เพื่อใช้กำจัดแมลงวันผลไม้ระยะไข่และหนอนวัยต่างๆ ในลำไยก่อนการส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ

<u>การทดลองที่ 2 การประเมินความเสียหายต่อคุณภาพผลลำไย</u>

ประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำต่อลำไยในสภาพจำลองการส่งออกลำไยทางเครื่องบิน และทางเรือ อบลำไยโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลลำไยภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้เป็นอากาศร้อนที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำให้อุณหภูมิภายในสุดผลของลำไยเพิ่มขึ้นจนถึง 46 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการสูญเสียน้ำหนัก และปริมาณน้ำตาลของลำไยที่ผ่านความร้อน และไม่ผ่านความร้อน เมื่อเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ และความชื้นที่ 10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 7 และ 14 วัน จากการทดลอง พบว่า การสูญเสียน้ำหนัก และปริมาณน้ำตาลของลำไย ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 7,8,9 และ10) เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ โดยคุณภาพของลำไยไม่เปลี่ยนแปลง แต่สีผิวเปลือกของผลลำไยจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ผลแห้ง และแข็ง

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลลำไย ศึกษา 2 การทดลอง อบลำไยกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) เพื่อกำหนดกระบวนการอบไอน้ำที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในผลลำไยให้ตายทั้งหมด พบว่า การทดลองที่ 1 ลำไยที่ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 800 ผล มีแมลงวันผลไม้รอดชีวิต จำนวน 3,029 ตัว แสดงว่าในลำไย จำนวน 2,000 ผล ซึ่งผ่านความร้อนแต่ละระยะเวลาที่กำหนดมีแมลงวันผลไม้ระยะไข่รอดชีวิต จำนวน 610 ตัว ที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที มีอัตราการตายของระยะไข่เฉลี่ย 92.93, 99.51, 99.94, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การทดลองที่ 2 ลำไยที่ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 800 ผล มีแมลงวันผลไม้รอดชีวิต จำนวน 2,378 ตัว ซึ่งในลำไยที่ผ่านความร้อนแต่ละระยะเวลาที่กำหนด จำนวน 1,200 ผล พบว่า ระยะไข่ตายทั้งหมด โดยอัตราการตายของระยะไข่ในลำไยที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 45, 50 และ 55 นาที มีอัตราการตายของระยะไข่เฉลี่ย 100, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากการทดลองแสดงว่าที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที สามารถกำจัดระยะไข่ในผลลำไยจำนวนไม่น้อยกว่าประมาณ 3,500 ตัว ตายทั้งหมด กระบวนการกำจัดแมลงดังกล่าวนี้มีความเป็นไปได้สูงที่จะได้รับการยอมรับ เพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชสำหรับกำจัดระยะไข่และหนอนวัยต่างๆ ของแมลงวันผลไม้ในลำไยก่อนการส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ

การยืนยันประสิทธิภาพของวิธีอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลลำไย ศึกษา 2 การทดลอง

<u>การทดลองที่ 1 การประเมินประสิทธิภาพการกำจัดแมลง</u>

การประเมินประสิทธิภาพของกระบวนการอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) จำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว เพื่อการยอมรับเป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช โดยวิธีใส่ไข่แมลงในผลลำไย และวิธีให้แมลงวางไข่ในผลลำไย จากการทดลอง พบว่า ลำไยที่ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 8,000 และ 4,000 ผล มีแมลงรอดชีวิต จำนวน 14,806 และ 235 ตัว ลำไยที่ผ่านความร้อน จำนวน 12,000 และ 6,000 ผล ไม่พบแมลงรอดชีวิต โดยสามารถกำจัดระยะไข่ของแมลงวันผลไม้ได้ประมาณ 22,566 ตัว ในลำไยตายทั้งหมด

กระบวนการอบลำไยดังกล่าวนี้มีประสิทธิภาพสูงถึงระดับมาตรฐานที่ยอมรับเป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช เพื่อใช้กำจัดแมลงวันผลไม้ระยะไข่ และหนอนวัยต่างๆ ในลำไยก่อนการส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ

<u>การทดลองที่ 2 การประเมินความเสียหายต่อคุณภาพผลลำไย</u>

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำต่อลำไยในสภาพจำลองการส่งออกลำไยทางเครื่องบิน และทางเรือ อบลำไยที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการสูญเสียน้ำหนัก และปริมาณน้ำตาลของลำไยที่ผ่านความร้อน และไม่ผ่านความร้อน เมื่อเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นที่ 10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 7 และ 14 วัน พบว่า การสูญเสียน้ำหนัก และปริมาณน้ำตาลของลำไย ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยคุณภาพของลำไยไม่เปลี่ยนแปลง แต่สีผิวเปลือกของผลลำไยจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ผลแห้ง และแข็ง

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณมีนา จริงจิตร คุณสมิทธิ์ อยู่เอี่ยม คุณกัลยา คูห์วัฒนศิลป์ และคุณประชุม นุ้ยจำนัล ที่มีส่วนช่วยในการเตรียมงานทดลองรวมถึงเช็คผลการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

สลักจิต พานคำ และอุดร อุณหวุฒิ. 2551. ศึกษาวิธีการเตรียมลำไยทดลองในสภาพที่มีไข่และหนอนของแมลงวันผลไม้ Oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae). อยู่ภายในผล. หน้า 21-22. *ใน* เรื่องย่อผลงานวิจัยการประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืช 6-8 สิงหาคม 2551 ณ ชลพฤกษ์ รีสอร์ท นครนายก.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2555. การผลิตสินค้าเกษตรที่สำคัญ. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www.doae.go.th (มกราคม 2556)

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

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

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

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

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

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

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

Table 1 Experiment 1: Time for center of longan to attain 46 C for various holding times during vapor heat treatment during intermediate disinfestations test.

Loading (kg/cum)	Rep.	Sensor fruitweight (g)			Time(h)[1/] 0:20	0:30	0:40	0:50	0:60
5	1	16.18	16.65	16.73	2.21	2.31	2.41	2.51	3.01
5	2	17.18	17.37	17.87	2.20	2.30	2.40	2.50	3.00
5	3	16.11	16.20	16.27	2.19	2.29	2.39	2.49	2.59
5	4	16.24	16.32	16.41	2.20	2.30	2.40	2.50	3.00

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

Table 2 Experiment 1 : Mortality[1/] of eggs instar (24 hr.) of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*, in longan treated with vapor heat treatment during intermediate disinfestation test.

Treatment[2/]	Number treated	Number alive	Number dead	Corrected mortality(%)[3/]
Control	8,000	3,029	4,971	0
46.0 C + 0:20 h	4,000	566	3,434	92.93
46.0 C + 0:30 h	4,000	39	3,961	99.51
46.0 C + 0:40 h	4,000	5	3,995	99.94
46.0 C + 0:50 h	4,000	0	4,000	100
46.0 C + 0:60 h	4,000	0	4,000	100

[1/]Combined data of 4 replicates

[2/]Treatment: 200 fruits infested with 10 individuals/fruit
Control: 100 fruits infested with 10 individuals/fruit

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

Table 3 Experiment 2 : Time for center of longan to attain 46 C for various holding times during vapor heat treatment during intermediate disinfestations test.

Loading (kg/cum)	Rep.	Sensor fruit weight (g)			Time(h)[1/] 0:45	0:50	0:55
5	1	14.72	14.99	15.13	2.46	2.51	2.56
5	2	16.55	16.97	16.99	2.44	2.49	2.54
5	3	15.58	15.74	16.02	2.46	2.51	2.56
5	4	16.18	16.42	16.67	2.44	2.49	2.54

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

Table 4 Experiment 2 : Mortality[1/] of eggs instar (24 hr.) of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*, in longan treated with vapor heat treatment during intermediate disinfestation test.

Treatment[2/]	Number treated	Number alive	Number dead	Corrected mortality(%)[3/]
Control	8,000	2,378	5,622	0
46.0 C + 0:45 h	4,000	0	0	100
46.0 C + 0:50 h	4,000	0	0	100
46.0 C + 0:55 h	4,000	0	0	100

[1/]Combined data of 4 replicates

[2/]Treatment: 200 fruits infested with 10 individuals/fruit

Control: 100 fruits infested with 10 individuals/fruit

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

Table 5 Experiment 1: Times for center of longan to attain 46 C for 0:50 h.

Loading (kg/cum)	Rep.	Sensor fruit weight (g)	Time(h)[1/]
100	1	17.35	17.53
100	2	16.67	17.12
100	3	19.45	19.71
100	4	19.32	19.51
100	5	19.21	19.46
100	6	19.67	19.78
100	7	19.06	19.21
100	8	17.31	17.40
100	9	17.82	17.55
100	10	17.42	17.47

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

Table 6 Experiment 1 : Survival of eggs instar (24 hr.) of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*, in longan treated with proposed qauarantine treatment schedule, vapor heat treatment at 46 C for 0:50 h.

Loading (kg/cum)	Rep.	Infestation method	No. test fruits		No. alive individuals In control	Estimated treated population	No. survivors
			Control	Treatment			
100	1	1. Eggs inoculation	800	1,200	1,635	2,480	0
		2. Forced infestation	400	600	11	17	0
	2	1. Eggs inoculation	800	1,200	1,664	2,496	0
		2. Forced infestation	400	600	20	30	0
	3	1. Eggs inoculation	800	1,200	1,338	2,007	0
		2. Forced infestation	400	600	43	65	0
	4	1. Eggs inoculation	800	1,200	1,007	1,511	0
		2. Forced infestation	400	600	19	29	0
	5	1. Eggs inoculation	800	1,200	1,790	2,685	0
		2. Forced infestation	400	600	16	24	0
	6	1. Eggs inoculation	800	1,200	1,386	2,079	0
		2. Forced infestation	400	600	26	39	0
	7	1. Eggs inoculation	800	1,200	1,517	2,276	0
		2. Forced infestation	400	600	32	48	0
	8	1. Eggs inoculation	800	1,200	1,287	1,931	0
		2. Forced infestation	400	600	24	36	0
	9	1. Eggs inoculation	800	1,200	1,682	2,523	0
		2. Forced infestation	400	600	15	23	0
	10	1. Eggs inoculation	800	1,200	1,482	2,223	0
		2. Forced infestation	400	600	29	44	0
			12,000	18,000		22,566	

Table 7 Experiment 2 : Air transportation : Quality of longan fruits treated with proposed quarantine vapor heat treatment at center temperature 46 C for 0:50 h and 7 days storage at 10 C.

Rep.	method	Weight loss (%) 0:50 h
1	Treatment	20.83
	Control	17.17
2	Treatment	25.94
	Control	25.80
3	Treatment	20.04
	Control	14.53
4	Treatment	15.84
	Control	16.47
5	Treatment	15.19
	Control	10.74
6	Treatment	9.58
	Control	7.13
7	Treatment	8.63
	Control	10.93
8	Treatment	19.34
	Control	17.13
9	Treatment	15.99
	Control	19.53
10	Treatment	19.66
	Control	18.50

Table 8 Experiment 2: Sea transportation : Quality of longan fruits treated with proposed quarantine vapor heat treatment at center temperature 46 C for 0:50 h and 14 days storage at 10 C.

Rep.	Method	Weight loss (%) 0:50 h
1	Treatment	12.88
	Control	13.00
2	Treatment	18.37
	Control	16.74
3	Treatment	12.67
	Control	15.48
4	Treatment	16.39
	Control	14.97
5	Treatment	15.03
	Control	11.54
6	Treatment	11.28
	Control	11.99
7	Treatment	15.92
	Control	16.33
8	Treatment	13.25
	Control	10.46
9	Treatment	14.72
	Control	14.24
10	Treatment	15.16
	Control	13.57

Table 9 Experiment 2: Air transportation : Quality of longan fruits treated with proposed quarantine vapor heat treatment at center temperature 46 C for 0:50 h and 7 days storage at 10 C.

Rep.	Method	(Brix)[1/] (%) 0:50 h
1	Treatment	16.55
	Control	18.26
2	Treatment	17.39
	Control	17.78
3	Treatment	16.72
	Control	15.84
4	Treatment	15.15
	Control	16.02
5	Treatment	16.22
	Control	19.76
6	Treatment	19.75
	Control	18.87
7	Treatment	19.26
	Control	18.70
8	Treatment	18.92
	Control	18.87
9	Treatment	18.23
	Control	17.80
10	Treatment	19.33
	Control	18.94

[1/]Average 10 fruit

Table 10 Experiment 2 : Sea transportation : Quality of longan fruits treated with proposed quarantine vapor heat treatment at center temperature 46 C for 0:50 h and 14 days storage at 10 C.

Rep.	Method	(Brix)[1/] (%) 0:50 h
1	Treatment	18.53
	Control	16.38
2	Treatment	19.49
	Control	19.51
3	Treatment	16.86
	Control	15.85
4	Treatment	14.80
	Control	14.77
5	Treatment	17.97
	Control	19.35
6	Treatment	18.50
	Control	18.04
7	Treatment	18.45
	Control	17.87
8	Treatment	19.21
	Control	18.09
9	Treatment	18.81
	Control	18.37
10	Treatment	18.70
	Control	17.86

[1/]Average 10 fruit

การเฝ้าระวังการแพร่กระจายไรแดง *Amphitetranychus viennensis* (Zacher) ศัตรูพืชกักกันของแอปเปิ้ล

Surveillance of *Amphitetranychus viennensis* (Zacher) Quarantine Pest of Apple

พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล
พลอยชมพู กรวิภาสเรือง มานิตา คงชื่นสิน
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจไรแดง *Amphitetranychus veinnensis* (Zacher) ในแปลงพืชอาศัย และ ผลแอปเปิ้ลนำเข้าจากต่างประเทศ โดยในแปลงพืชอาศัย ทำการสำรวจใน แอปเปิ้ล ท้อ สาลี่ และ บ๊วย ที่ปลูกในแปลงทดลองของ สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง สถานีทดลองเกษตรหลวงขุนวาง สถานีทดลองเกษตรหลวงขุนห้วยแห้ง จังหวัดเชียงใหม่ ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2554 ถึง กันยายน 2555 และ สำรวจจากผลแอปเปิ้ลที่นำเข้าจากต่างประเทศที่ได้จากด่านตรวจพืชเชียงแสน ด่านตรวจพืชลาดกระบัง และด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบัง ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2555 ถึง กันยายน 2556 พบว่าทั้งการสำรวจในแปลงพืชอาศัย และ ผลแอปเปิ้ลที่นำเข้าจากต่างประเทศ ไม่พบ ไรแดง *Amphitetranychus veinnensis* (Zacher) ที่เป็นศัตรูพืชกักกัน

Surviellance of *Amphitetranychus viennensis* (Zacher) were conducted on host plants and imported apple fruits. For host plants, apple, peach, chinese pear, and plum orchards were sampled at Royal Agriculture Station Angkhang, Khun Wang Royal Project and Khun Huay Heang Royal Project, Chiangmai province during October 2011-September 2012. For imported fruits, the fruits were sampled from Chiang Saen Plant Quarantine Station, Ladkrabang Plant Quarantine Station, Laem Chabang Plant Quarantine Station, during October 2012 – September 2013. The result showed that *Amphitetranychus viennensis* (Zacher) was not found in both host plant orchards and imported fruits.

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-06-00-01-54

คำนำ

ไรแดง *Amphitetranychus veinnensis* (Zacher) จัดเป็นศัตรูพืชที่สำคัญของไม้ผลเมืองหนาว เช่น แอปเปิ้ล สาลี่ ท้อ บ๊วย เชอรี่ และราสเบอรี่ มีพืชอาศัยมากกว่า 40 ชนิด และแพร่กระจายไปในประเทศต่าง ๆ ทั่วโลกมากกว่า 20 ประเทศ (Bolland et al., 1998) มักพบไรแดง *A. veinnensis* อยู่รวมกันเป็นกลุ่มบ้นต้นแอปเปิ้ลในส่วนล่างของทรงพุ่ม โดยอาศัยดูดกินน้ำเลี้ยงอยู่ใต้ใบ หลังการผสมพันธุ์ ตัวเต็มวัยเพศเมียจะพักตัวและอาศัยอยู่ใต้เปลือกไม้ เมื่อถึงฤดูใบไม้ผลิก็จะเลิกพักตัว โดยประชากรจะเริ่มเพิ่มมากขึ้นในช่วงเดือน พฤษภาคม จนถึงเดือนมิถุนายน และจะพบความเสียหายมากขึ้นจนถึงเดือนตุลาคม จำนวนรุ่นต่อปีจะผันแปรไปในแต่ละท้องที่ เช่นในอิหร่าน จะพบประมาณ 4-6 รุ่นต่อปี ในเยอรมันพบ 5-6 รุ่นต่อปี ในตุรกีพบมากถึง 9-10 รุ่นต่อปี (CABI, 2003)

Ji *et al*., (2005) ทดสอบหาตารางชีวิตในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิต่างๆ 5 ระดับ พบว่า ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ประชากรของไร *A. veinnensis* จะเพิ่มเป็น 2 เท่าใน12.2 วัน มีชั่วอายุขัยสั้นที่สุดประมาณ 32.3 วัน ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และมีชั่วอายุขัยยาวที่สุดประมาณ 105.6 วันที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ตัวเมียสามารถวางไข่ได้ 17ฟอง/ตัว/วันที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส วงจรชีวิตจากไข่เป็นตัวเต็มวัยที่อุณหภูมิ 22-25 องศาเซลเซียส ประมาณ 12-14.5 วัน (CABI, 2003)

ไร *A. veinnensis* สามารถปรับตัวให้เข้ากับพืชอาหารใหม่ได้โดยใช้เวลาเพียง 2-3 รุ่นเท่านั้น ซึ่งเร็วกว่าไรสองจุด (*Tetranychus urticae* Koch) ต้องใช้เวลาถึง 10 รุ่นจึงสามารถปรับตัวให้เข้ากับพืชอาหารใหม่ได้ Kasap (2004) ทดสอบการขยายพันธุ์ของไร *A. veinnensis* บนแอปเปิ้ลสายพันธุ์ต่างๆ 5 สายพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 $\pm$ 10 % พบว่าสายพันธุ์ Golden Delicious มีอัตราการขยายพันธุ์สูงสุด พลอยชมพูและคณะ (2550) ทดสอบหาอัตราการอยู่รอดและเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ของไร *A. veinnensis* บนพืชอาหาร 7 ชนิด พบว่า สามารถอยู่รอดจนครบวงจรชีวิต และมี %การฟักของไข่สูงถึง 100% บนใบท้อและพลัมป่า ส่วนบนใบกุหลาบ สามารถอยู่รอดจนเป็นตัวเต็มวัยได้เพียง 4.17% แต่ ไม่สามรถขยายพันธุ์ได้

พลอยชมพู และคณะ (2550) ตรวจพบไรแดง *A. veinnensis* บนผลแอปเปิ้ลที่ส่งมาจากประเทศจีน โดยหลบซ่อนอยู่ในสภาพพักตัวที่ขั้วผลแอปเปิ้ล สามารถอดอาหารได้นาน เมื่อมาพบสภาพ และพืชอาหารที่เหมาะสมก็จะออกจากสภาพพักตัว เริ่มกินอาหารและเริ่มขยายพันธุ์ระบาดทำความเสียหายให้กับพืชได้ และจากการทดสอบพืชอาหารที่เป็นพืชตระกูลเดียวกับแอปเปิ้ลที่ปลูกในประเทศไทย 2 ชนิด คือ ท้อ และ พลัมป่า พบว่า สามารถมีชีวิตจนครบวงจรชีวิต และสามารถขยายพันธุ์ให้ลูกหลานได้บนใบพืชทั้ง 2 ชนิด

โดยที่ไรแดง *A. veinnensis* นี้ยังไม่มีรายงานการพบในประเทศไทยมาก่อน และยังสามารถมีชีวิตรอด และขยายพันธุ์ได้ในพืชตระกูลเดียวกับแอปเปิ้ลที่ปลูกในประเทศไทยได้ ดังนั้นจึงควรมีการสำรวจและเฝ้าระวังเพื่อป้องกันไม่ให้เข้ามาระบาดทำความเสียหายให้กับพืชเศรษฐกิจในประเทศไทยได้

วิธีดำเนินงาน

อุปกรณ์

- ต้นแอปเปิ้ล ต้นท้อ ต้นสาลี่ และ ต้นบ๊วย ในเขตที่สูง จ.เชียงใหม่
- ผลแอปเปิ้ลนำเข้าจากด่านตรวจพืช
- พู่กัน, เข็มเขี่ย, ถุงกระดาษเก็บตัวอย่าง

- กล้อง stereomicroscope, hand lens
- เครื่องหาพิกัด (GPS)
- อุปกรณ์บันทึกข้อมูล

วิธีการ

สำรวจไรแดง *Amphitetranychus veinnensis* (Zacher) ในแปลงพืชอาศัย

พื้นที่ : กำหนดพื้นที่ปลูกท้อ แอปเปิ้ล สาลี่ และ บ๊วย ในภาคเหนือ ในเขตพื้นที่สถานีทดลองเกษตรหลวงอ่างขาง สถานีทดลองเกษตรหลวงขุนวาง สถานีทดลองเกษตรหลวงขุนห้วยแห้ง จังหวัดเชียงใหม่ สุ่มสำรวจในแหล่งที่มีพืชอาศัยของไรแดง *Amphitetranychus viennensis* โดยสุ่มสำรวจบนใบท้อ ใบแอปเปิ้ล ใบสาลี่ และ ใบบ๊วย

ช่วงเวลาการสำรวจ : สุ่มสำรวจทุก 2 เดือน

ขนาดตัวอย่าง : สุ่มเก็บใบท้อ ใบแอปเปิ้ล และ ใบบ๊วย จากต้น ต้นละ 10 ใบ จำนวน 10 ต้น ต่อจุด จำนวน 4 จุด

นำมาตรวจหา ไรแดง *Amphitetranychus viennensis* บนใบที่เก็บมาภายใต้กล้องแบบ stereo นำตัวอย่างที่ได้มา จัดทำสไลด์ แล้วทำการจำแนกชนิด ภายใต้กล้อง compound โดยใช้คู่มือในการจำแนกไร

สำรวจไรแดง *Amphitetranychus veinnensis* (Zacher) บนผลแอปเปิ้ล

สุ่มตรวจตัวอย่างแอปเปิ้ลนำเข้าจากด่านตรวจพืชต่าง ๆ ที่มีการนำเข้าผลแอปเปิ้ล เช่น ด่านตรวจพืชเชียงแสน ด่านตรวจพืชลาดกระบัง หรือ ด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบัง เพื่อตรวจดูหาไรแดง *Amphitetranychus viennensis* (Zacher) ที่อาจติดมากับผลแอปเปิ้ล จำนวน 100 ผล

นำมาตรวจหา ไรแดง *Amphitetranychus viennensis* (Zacher) ที่บริเวณขั้วผล ภายใต้กล้องแบบ stereo นำตัวอย่างที่ได้มา จัดทำสไลด์ แล้วทำการจำแนกชนิด ภายใต้กล้อง compound โดยใช้ คู่มือในการจำแนกไร

บันทึกข้อมูล

1) บันทึกจำนวนของไรแดงที่พบ และพืชที่พบ
2) บันทึกพิกัดพื้นที่ (สภาพทางภูมิศาสตร์) ชื่อที่อยู่ ที่ตั้งของแปลง วัน และเวลา ที่เก็บตัวอย่าง
3) บันทึกข้อมูลพืช สภาพของต้นพืช และบันทึกภาพ
4) บันทึกข้อมูลสภาพอากาศ
5) บันทึกข้อมูลการนำเข้าของผลแอปเปิ้ล

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2556

สถานที่ สถานีทดลองเกษตรหลวง อ่างขาง ขุนห้วยแห้ง ขุนวางจังหวัดเชียงใหม่ ด่านตรวจพืชเชียงแสน ด่านตรวจพืชลาดกระบัง ด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบัง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สำรวจไรแดง *Amphitetranychus veinnensis* (Zacher) ในแปลงพืชอาศัย (2554-2555)

จากเก็บตัวอย่างใบในแปลงแอปเปิ้ล สถานีทดลองเกษตรหลวงขุนวาง และถานีทดลองเกษตรหลวงอ่างขาง ตัวอย่างใบท้อจากสถานีเกษตรหลวงอ่างขาง สถานีเกษตรหลวงขุนห้วยแห้ง ตัวอย่างใบสาลี่จากสถานีเกษตรหลวงอ่างขาง และ ตัวอย่างใบบ๊วยจากสถานีทดลองเกษตรหลวงอ่างขาง พบไรศัตรูพืช 5 ชนิดคือ ไรแดงแอฟริกัน *Eutetranychus africanus* (Tucker), ไรสองจุด *Tetranychus urticae* Koch, ไรแมงมุมคันซาวา *Tetranychus kanzawai* Kishida, ไรแดงชมพู่ *Oligonychus biharensis* (Hirst), ไรแดงแพสชั่นฟรุท *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) และไร *Panonychus elongates* Manson (ตารางที่ 1) แต่ไม่พบไรแดง *Amphitetranychus veinnensis* (Zacher)

สำรวจไรแดง *Amphitetranychus veinnensis* (Zacher) บนผลแอปเปิ้ล (2556)

จากการเก็บตัวอย่างไรจากผลแอปเปิ้ล และสาลี่ ที่นำเข้าจากต่างประเทศ ที่ได้จากด่านตรวจพืชเชียงแสน ด่านตรวจพืชลาดกระบัง และด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบัง พบตัวอย่างไรศัตรูพืช 2 ชนิด คือ ไรสองจุด *Tetranychus urticae* Koch, และไรขาวในวงศ์ Tarsonemidae (ตารางที่ 2) และไม่พบไรแดง *Amphitetranychus veinnensis* (Zacher)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ไม่พบไรแดง *Amphitetranychus veinnensis* (Zacher) ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกัน ในพืชที่เป็นพืชอาศัยในเขตที่ทำการเก็บตัวอย่าง และในผลแอปเปิ้ลที่นำเข้าจากต่างประเทศ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ หัวหน้าสถานีทดลองเกษตรหลวงหลวงขุนวาง หัวหน้าสถานีทดลองเกษตรหลวงอ่างขาง หัวหน้าสถานีเกษตรหลวงขุนห้วยแห้ง ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเข้าเก็บตัวอย่างใบพืชอาหารของไร และขอบคุณหัวหน้าด่านตรวจพืชลาดกระบัง หัวหน้าด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบัง หัวหน้าด่านตรวจพืชเชียงแสน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างผลแอปเปิ้ลที่นำเข้าจากต่างประเทศที่นำมาตรวจหาไรศัตรูพืชที่ติดมากับผลแอปเปิ้ล

ตารางที่ 1. ชนิดของไรศัตรูพืชที่ตรวจพบในแปลงพืชอาศัยต่างๆ (2554-2556)

	แอปเปิ้ล	บ๊วย	ท้อ	สาลี่
E.africanus	/			
T.kanzawai			/	
T.urticae	/			
P.elongatus		/	/	/
B.phoenisis	/			/
O.biharensis				/

ตารางที่ 2. ไรศัตรูพืชที่ตรวจพบจากผลแอปเปิ้ลนำเข้าจากต่างประเทศ (2556)

	แอปเปิ้ล	สาลี่
T.urticae	/	
Tarsonemidae	/	

เอกสารอ้างอิง

พลอยชมพู กรวิภาสเรือง. มานิตา คงชื่นสิน. พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และ วัฒนา จารณศรี. 2550. ไรศัตรูพืชที่สำคัญของพืชนำเข้าจากต่างประเทศ. หน้า 1-16 *ใน*:การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 8.วันที่ 20-22 พฤศจิกายน 2550. โรงแรมอัมรินทร์ลากูน อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก.

Bolland, H.R., J. Gutierrez and C.H.W. Flechtman. 1988. World Catalouge of the Spider Mite Family (Tetranychidae). Koninklijke Brill Nv. Netherland. 392 pp.

CABI. 2003. Crop Protection Compendium. CAB International, Wallingford, UK.

Ji J, Zhang Y X, Chen X and Lin J Z. 2005. Laboratory population life table of *Amphitetranychus veinnensis* (Zacher) (Acari: Tetranychidae) at different temperatures. Systematic & Applied Acarology. (10), 7-10. (Abstract).

Kasap. I. 2004. Life history of hawthorn spider mite *Amphitetranychus viennensis* (Acarina: Tetranychidae) on various apple cultivars and at different temperatures. Experiment and Applied Acarology. 31: 1-2 (Abstract).

McMaugh,Teresa. 2005. Guidelines for surveillance for plant pests in Asia and Pacific. ACIAR Monograph No. 119, 192 p.

การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเพลี้ยแป้ง *Cataenococcus hispidus* Green และ *Planococcus litchi* Cox ในลิ้นจี่

Surveilance on mealybug, *Cataenococcus hispidis* Green and *Planococcus litchi* Cox on Litchi

ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา[1/] บุษบง มนัสมั่นคง[1/] ชมัยพร บัวมาศ[2/]
วนาพร วงษ์นิคง[1/]
[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สถานการณ์การแพร่ระบาดของเพลี้ยแป้ง, *Cataenococcus hispidus* Green และ *Planococcus litchi* Cox ในลิ้นจี่ ดำเนินการสำรวจในแหล่งปลูกจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา น่าน และสมุทรสงคราม ในระยะเก็บเกี่ยวผลลิ้นจี่ โดยสุ่มสำรวจแมลงในแปลงโดยวิธีการสุ่มอย่างง่าย (simple random sampling) คือ สุ่มตัดช่อผลลิ้นจี่ต้นละ 4 ทิศๆ ละ 1 ช่อ จำนวน 10 ต้น/แปลง ดำเนินการสำรวจในปีการผลิต 2554 -2556 พบการระบาดของเพลี้ยแป้งไม่รุนแรงแต่พบทุกแหล่งผลิตลิ้นจี่ที่เข้าทำการสำรวจ พบเพลี้ยแป้งที่ลงทำลายผลลิ้นจี่ 4 ชนิด โดยพบชนิดที่เฝ้าระวัง *C. Hispidus* ที่แหล่งปลูกจังหวัดเชียงใหม่และเชียงราย และเพลี้ยแป้งสกุล *Planococcus* ที่แหล่งผลิตจังหวัดน่าน พะเยา และเชียงราย ซึ่งไม่สามารถจำแนกได้ในระดับชนิดเนื่องจากสภาพตัวอย่างไม่สมบูรณ์ และมีจำนวนน้อย นอกจากชนิดเฝ้าระวังแล้วยังพบการลงทำลายของเพลี้ยแป้งอีก 2 ชนิดคือ *Ferrisia vergata* (Cockerell), *Pseudococcus cyptus* Hempel

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-06-00-02-54

คำนำ

จากการเปิดเสรีการค้าภายใต้องค์การการค้าโลก (World Tread Organization, WTO) ซึ่งได้ยกเลิกมาตรการกีดกันทางภาษี และให้ใช้มาตรการทางสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (SPS Agreement) เป็นมาตรการทดแทน เพื่อให้ประเทศสมาชิกปกป้องมิให้ศัตรูพืชที่อาจจะติดไปกับสินค้าพืชจากประเทศหนึ่งไปสู่อีกประเทศหนึ่ง เป็นการอำนวยความสะดวกด้านการค้าระหว่างประเทศสมาชิก ประเทศไทยเป็นประเทศสมาชิกขององค์การการค้าโลก จึงต้องดำเนินการเพื่อเตรียมความพร้อมในด้านวิทยาศาสตร์ เพื่อใช้ในการต่อรองทางการค้าสินค้าเกษตรระหว่างประเทศ กรมวิชาการเกษตรโดยสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชซึ่งเป็นหน่วยงานอารักขาพืชแห่งชาติ จึงมีความจำเป็นต้องเตรียมความพร้อมด้านข้อมูล ทางวิทยาศาสตร์ทางด้านพืชดังกล่าวเพื่อใช้ในการเจรจาการค้าสินค้าเกษตรภายใต้เงื่อนไขขององค์การการค้าโลก การสำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชเป็นงานพื้นฐานที่มีความจำเป็นสำหรับใช้ในการดำเนินการด้านอื่นๆ อีก เช่น Pest Risk Analysis, Establishment for pest free area, Pest list, Pest report เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance)

ลิ้นจี่เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีศักยภาพในการผลิตและการตลาดสูง โดยเฉพาะตลาดส่งออกทั้งในรูปผลไม้สด ผลไม้แช่แข็ง และผลิตภัณฑ์แปรรูป สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2553) ได้รายงานว่าพื้นที่การปลูกลิ้นจี่ รวมทั้งประเทศ 151,260 ไร่ พื้นที่ปลูกมากที่สุด คือ จ.เชียงใหม่ 50,151 ไร่ รองลงมา จ.เชียงราย 32,269 ไร่ จ.พะเยา 21,078 ไร่ จ.น่าน 18,997 ไร่ และ จ.สมุทรสงคราม 10,477 ไร่ ตามลำดับ หรือคิดเป็น 87.91% ของพื้นที่ปลูกลิ้นจี่ทั้งประเทศ ลิ้นจี่สด ตลาดสำคัญอยู่เฉพาะในภูมิภาคใกล้เคียง เช่น จีน ฮ่องกง อินโดนีเซีย สหรัฐอาหรับอิมิเรต เป็นต้น ประเทศที่พัฒนาโดยเฉพาะประเทศในแถบยุโรปและอเมริกามักจะไม่ค่อยรับซื้อ เนื่องจากกลัวปัญหาด้านโรคแมลงที่ติดไปกับผลลิ้นจี่ ปี 2548 ประเทศไทยได้ยื่นขอเปิดตลาดผลไม้ไทยไปสหรัฐอเมริกา 6 ชนิด คือ ลำไย ลิ้นจี่ มะม่วง เงาะ สับปะรด และมังคุด และจากการทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของลิ้นจี่พบ *Cataenococcus* (*Exallomochlus*) *hispidus* และ *P. litchi* เป็นศัตรูพืชกักกันของสหรัฐอเมริกา (CABI, 2003 and Ben-Dov,1994) นอกจากสหรัฐอเมริกา เพลี้ยแป้งทั้งสองชนิดยังพบเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ เกาหลีใต้ และไต้หวัน (DAFF, 2011; NZMAF, 2011; anonymous, 2006; Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, 2004) แต่จากการสืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับศัตรูลิ้นจี่ในประเทศที่ผ่านมาไม่เคยมีรายงานว่าศัตรูพืชดังกล่าวเข้าทำลายลิ้นจี่ในประเทศไทยมาก่อน ดังนั้นการสำรวจเพื่อตรวจหาเพลี้ยแป้งทั้งสองชนิด ในแหล่งปลูกลิ้นจี่ที่สำคัญเพื่อการส่งออก จึงมีความจำเป็นที่ต้องดำเนินการ ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวสามารถนำไปใช้เป็นหลักฐานอ้างอิงทางวิชาการ ในการขอเปิดตลาดลิ้นจี่กับประเทศคู่ค้าต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงลิ้นจี่
2. กรรไกรตัดกิ่ง

3. ถังน้ำแข็ง
4. เครื่องกำหนดพิกัด (GPS)
5. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างแมลง เช่น กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ยางรัดของ vial แอลกอฮอล์ 80% พู่กัน เข็มเขี่ย Label เป็นต้น
6. อุปกรณ์เก็บข้อมูล เช่น กล้องถ่ายรูป, คอมพิวเตอร์, กระดาน, ดินสอ, ปากกาเมจิก เป็นต้น

วิธีการ

ปี 2554

ดำเนินการสุ่มเลือกพื้นที่การสำรวจในแหล่งปลูกลิ้นจี่ทั่วประเทศ และแปลงลิ้นจี่ในแต่ละจังหวัด โดยใช้วิธี purposive sampling ได้พื้นที่การสุ่มสำรวจ ดังนี้ ในแหล่งปลูกภาคเหนือ อำเภอเชียงกลาง (1) ท่าวังผา (2) ทุ่งช้าง (2) ปัว (1) ภูเพียง (3) จังหวัดน่าน อำเภอแม่ใจ (12) จังหวัดพะเยา อำเภอฝาง (9) ไชยปราการ (5) จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเมือง (2) แม่จัน (2) แม่สาย (3) จังหวัดเชียงราย และแหล่งปลูกภาคกลาง อำเภออัมพวา (3) บางคนที (2) จังหวัดสมุทรสงคราม รวม 47 แปลง ดำเนินการสำรวจผลลิ้นจี่ในระยะเก็บเกี่ยว ดำเนินการสุ่มสำรวจแมลงในแปลงโดยวิธีการสุ่มอย่างง่าย (simple random sampling) คือ สุ่มตัดช่อผลลำไยต้นละ 4 ทิศๆ ละ 1 ช่อ จำนวน 10 ต้น/แปลง ร่วมกับการเก็บผลที่พบการทำลายของเพลี้ยแป้งจากต้นลำไยโดยตรง เก็บตัวอย่างเพลี้ยแป้งที่ได้ในแอลกอฮอล์ 80% บันทึกชนิดและจำนวนเพลี้ยแป้งที่ทำลายผลลำไย จำนวนผลลำไยที่สุ่มพิกัดพื้นที่ สภาพภูมิอากาศ และข้อมูลพืชและการจัดการ

ปี 2555

ดำเนินการสุ่มเลือกพื้นที่การสำรวจในแหล่งปลูกลิ้นจี่ทั่วประเทศ และแปลงลิ้นจี่ในแต่ละจังหวัด โดยใช้วิธี purposive sampling ได้พื้นที่การสุ่มสำรวจ ดังนี้ ในแหล่งปลูกภาคเหนือ อำเภอเชียงกลาง (1) ท่าวังผา (2) ทุ่งช้าง (2) ปัว (1) ภูเพียง (3) จังหวัดน่าน อำเภอแม่ใจ (12) จังหวัดพะเยา อำเภอฝาง (8) ไชยปราการ (4) แม่อาย (8) จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเมือง (1) แม่จัน (2) แม่สาย (2) แม่ฟ้าหลวง (1) แม่สรวย (2) จังหวัดเชียงราย และแหล่งปลูกภาคกลาง อำเภออัมพวา (1) บางคนที (1) จังหวัดสมุทรสงคราม รวม 51 แปลง ดำเนินการสำรวจและเก็บข้อมูลเช่นเดียวกับปี 2554

ปี 2556

ดำเนินการสุ่มเลือกพื้นที่การสำรวจในแหล่งปลูกลิ้นจี่ทั่วประเทศ และแปลงลิ้นจี่ในแต่ละจังหวัด โดยใช้วิธี purposive sampling ได้พื้นที่การสุ่มสำรวจ ดังนี้ ในแหล่งปลูกภาคเหนือ อำเภอเชียงกลาง (5) ท่าวังผา (4) ภูเพียง (3) จังหวัดน่าน อำเภอแม่ใจ (12) จังหวัดพะเยา อำเภอฝาง (8) ไชยปราการ (4) แม่อาย (8) จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเมือง (1) แม่จัน (2) แม่สาย (2) แม่ฟ้าหลวง (1) แม่สรวย (2) จังหวัดเชียงราย รวม 52 แปลง ดำเนินการสำรวจและเก็บข้อมูลเช่นเดียวกับปี 2554

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2553- กันยายน 2556 ในแหล่งปลูกลิ้นจี่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา น่าน และสมุทรสงคราม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ปี 2554 (ตารางที่ 1)

การแพร่กระจายของ เพลี้ยแป้ง, *C. hispidus* และ *P. lichi* ในลิ้นจี่ จากแหล่งปลูกลิ้นจี่จังหวัดสมุทรสงคราม จำนวน 5 แปลง จังหวัดน่าน จำนวน 9 แปลง จังหวัดพะเยา จำนวน 12 แปลง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 14 แปลง และ จังหวัดเชียงราย จำนวน 7 แปลง รวม 47 แปลง จากผลผลิต 15,194 ผล น้ำหนัก 234.88 กิโลกรัม พบเพลี้ยแป้งทุกจังหวัดแหล่งผลิตลิ้นจี่ที่เข้าทำการสำรวจ

การสำรวจที่ จังหวัดสมุทรสงคราม ซึ่งเป็นพื้นที่ปลูกลิ้นจี่แหล่งใหญ่ทางภาคกลาง โดยพันธุ์ลิ้นจี่ที่นิยมปลูกคือพันธุ์ค่อม พบเพลี้ยแป้ง 2 ชนิด คือ *F. vergata* และ *P. cyptus* เข้าทำลายผลลิ้นจี่ ที่อำเภออัมพวา ไม่พบเพลี้ยแป้งลงทำลายผลผลิตลิ้นจี่ที่ อำเภอบางคนทีเลย

การสำรวจที่พื้นที่ปลูกลิ้นจี่แหล่งใหญ่ทางภาคเหนือ พันธุ์ที่นิยมลูกคือพันธุ์ฮงฮวย พบว่าแหล่งปลูกจังหวัดน่าน พบการเข้าทำลายของเพลี้ยแป้งชนิด *P. cyptus* ที่อำเภอทุ่งช้างและอำเภอปัวส่วนที่อำเภอภูเพียง พบการลงทำลายของเพลี้ยแป้ง *Planococcus* sp. จังหวัดเชียงใหม่พบการเข้าทำลายของเพลี้ยแป้ง 2 ชนิด คือ *P. Cyptus* ที่อำเภอไชยปราการ และ *F. Vergata* ที่อำเภอฝาง จากการสำรวจครั้งนี้ไม่พบเพลี้ยแป้งในผลผลิตที่จังหวัดน่านและจังหวัดเชียงราย

ปี 2555 (ตารางที่ 2)

การแพร่กระจายของ เพลี้ยแป้ง, *C. hispidus* และ *P. lichi* ในลิ้นจี่ จากแหล่งปลูกลิ้นจี่จังหวัดสมุทรสงคราม จำนวน 2 แปลง จังหวัดน่าน จำนวน 9 แปลง จังหวัดพะเยา จำนวน 12 แปลง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 20 แปลง และ จังหวัดเชียงราย จำนวน 8 แปลง รวม 51 แปลง จากผลผลิต 15,232 ผล น้ำหนัก 225.38 กิโลกรัม พบเพลี้ยแป้งปริมาณเล็กน้อยจากทุกจังหวัดแหล่งผลิตลิ้นจี่ที่เข้าทำการสำรวจ

การสำรวจที่ จังหวัดสมุทรสงคราม พบเพลี้ยแป้งเพียงชนิดเดียว คือ *F. vergata* ที่อำเภออัมพวา ไม่พบเพลี้ยแป้งลงทำลายผลผลิตลิ้นจี่ที่ อำเภอบางคนทีเลยเช่นเดียวกับในปี 2554

การสำรวจที่พื้นที่ปลูกลิ้นจี่แหล่งใหญ่ทางภาคเหนือ พบว่า แหล่งปลูกที่ อำเภอแม่ใจ จังหวัดพะเยา พบการลงทำลายที่ผลผลิตของเพลี้ยแป้ง คือ *P. cyptus* และชนิด *Planococcus* sp. จังหวัดน่าน ที่อำเภอทุ่งช้างพบการเข้าทำลายของเพลี้ยแป้งชนิด *P. cyptus* และ *Planococcus* sp. ส่วนอำเภอท่าวังผาพบการลงทำลายของเพลี้ยแป้งเพียงชนิดเดียวคือ *P. cyptus* จังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดเชียงราย พบการเข้าทำลายของเพลี้ยแป้งชนิด *P. cyptus* ที่อำเภอฝาง และ อำเภอแม่สาย

ปี 2556 (ตารางที่ 3)

การแพร่กระจายของ เพลี้ยแป้ง, *C. hispidus* และ *P. lichi* ในลิ้นจี่ จากแหล่งปลูกลิ้นจี่จังหวัดน่าน จำนวน 12 แปลง จังหวัดพะเยา จำนวน 12 แปลง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 20 แปลง และ จังหวัดเชียงราย จำนวน 8 แปลง รวม 52 แปลง จากผลผลิต 14,899 ผล น้ำหนัก 179.68 กิโลกรัม และในปีการสำรวจนี้การติดดอกออกผลของลิ้นจี่ล่าช้ากว่าปกติ ติดผลผลิตน้อยกว่าทุกๆปี บางแหล่งผลิตเช่นจังหวัดสมุทรสงคราม ไม่พบการติดผลเลย จึงไม่มีข้อมูลการสำรวจ

การสำรวจที่พื้นที่ปลูกลิ้นจี่แหล่งใหญ่ทางภาคเหนือ พบว่า แหล่งปลูกที่ อำเภอแม่ใจ จังหวัดพะเยา พบการลงทำลายที่ผลผลิตของเพลี้ยแป้ง 2 ชนิด คือ *P. cyptus* และ *F. Vergata* จังหวัดน่าน ที่อำเภอท่าวังผา พบการเข้าทำลายของเพลี้ยแป้งเพียงชนิดเดียว คือ *P. cyptus* จังหวัดเชียงใหม่ พบเพลี้ยแป้งในทุกอำเภอที่เข้าทำการสำรวจ โดยพบเพลี้ยแป้งชนิด *C. hispidus* ที่อำเภอไชยปราการ ส่วนที่อำเภอฝางและแม่อายพบเพลี้ยแป้งชนิด *P. cyptus* จังหวัดเชียงราย พบเพลี้ยแป้งลงทำลายผลผลิตลิ้นจี่ 2 ชนิด คือ *C. hispidus* และ *Planococcus* sp.

จากการสำรวจผลผลิตลิ้นจี่ตั้งแต่ปี 2554-2556 สรุปได้ว่า ทุกแหล่งปลูกที่สำรวจพบเพลี้ยแป้งลงทำลายผลผลิตและพบเพียงเล็กน้อย ไม่จัดว่าเป็นศัตรูพืชที่สำคัญ โดยแหล่งปลูกจังหวัดสมุทรสงครามพบเพลี้ยแป้งที่ลงทำลายผลผลิตลิ้นจี่ 2 ชนิด คือ *P. cyptus* และ *F. Vergata* จังหวัดพะเยาพบเพลี้ยแป้งที่ลงทำลายผลผลิตลิ้นจี่ 2 ชนิด คือ *Planococcus* sp. และ *P. cyptus* จังหวัดน่าน ไม่พบเพลี้ยแป้งในอำเภอเชียงกลางเพียงอำเภอเดียว ส่วนอำเภอทุ่งช้าง ปัว ท่าวังผา ภูเพียง พบเพลี้ยแป้ง 2 ชนิด คือ *Planococcus* sp. และ *P. cyptus* จังหวัดเชียงใหม่ พบเพลี้ยแป้งที่ลงทำลายผลผลิตลิ้นจี่ 3 ชนิด คือ *P. Cyptus* พบทั้งอำเภอไชยปราการ ฝาง และแม่อาย *F. Vergata* พบที่อำเภอฝาง และ *C. hispidous* พบที่อำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงรายพบเพลี้ยแป้งที่ลงทำลายผลผลิตลิ้นจี่ 3 ชนิด คือ *P. cyptus* และ *C. hispidous* พบที่อำเภอแม่สาย *Planococcus* sp. พบที่อำเภอแม่จันและแม่ฟ้าหลวง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเพลี้ยแป้ง, *C. hispidus* และ *P. lichi* ในลิ้นจี่ จากแหล่งปลูกลิ้นจี่ ในจังหวัดสมุทรสงคราม เชียงใหม่ เชียงราย พะเยา และ น่าน ซึ่งเป็นแหล่งปลูกใหญ่ของประเทศไทย หรือประมาณ 88% ของพื้นที่ปลูกทั้งประเทศ ในปี 2554-2555 จากการสำรวจพบว่าเพลี้ยแป้งปริมาณเล็กน้อยลงทำลายผลผลิต ไม่จัดเป็นศัตรูพืชที่สำคัญในลิ้นจี่เนื่องจากไม่พบการแพร่ระบาดจนส่งผลกระทบต่อปริมาณและคุณภาพผลผลิต โดยพบเพลี้ยแป้ง 4 ชนิด โดยพบชนิดที่เฝ้าระวัง *C. Hispidus* ที่แหล่งปลูก อำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่และ อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย ในปีสำรวจ 2556 เพียงปีเดียว และพบเพียงอำเภอละ 1 สวนที่ช่อลิ้นจี่เพียงสวนละ 1 ช่อ ซึ่งเป็นปริมาณที่น้อยมากๆ และเพลี้ยแป้งสกุล *Planococcus* ที่แหล่งผลิต อำเภอภูเพียง และอำเภอทุ่งช้าง จังหวัดน่าน อำเภอแม่ใจ จังหวัดพะเยา และอำเภอแม่จัน อำเภอแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย ซึ่งไม่สามารถจำแนกได้ในระดับชนิดเนื่องจากสภาพตัวอย่างไม่สมบูรณ์ นอกจากชนิดเฝ้าระวังแล้วยังพบการระบาดของเพลี้ยแป้งอีก 2 ชนิดคือ *F. vergata* และ *P. cyptus* ซึ่งเป็นชนิดที่พบลงทำลายในไม้ผลอื่นๆ เช่น มังคุด น้อยหน่า ฝรั่ง

แม้เพลี้ยแป้ง *C. hispidous* และ *P. litchi* จากผลการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกับสหรัฐอเมริกา ไม่ได้จัดเป็นศัตรูพืชกักกันที่ต้องมีมาตรการในการดำเนินการก่อนการส่งออก แต่การสำรวจในครั้งนี้จะเป็นข้อมูลที่สำคัญในการทำบัญชีรายชื่อชนิดของเพลี้ยแป้งที่พบลงทำลายลิ้นจี่ในประเทศไทย สามารถนำไปใช้เป็นหลักฐานอ้างอิงทางวิชาการ ในการขอเปิดตลาดลำไยกับประเทศคู่ค้าอื่นต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณชญาน์นันท์ โค้วอินทร์ ส่วนถ่ายทอดเทคโนโลยี สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1 จังหวัดเชียงใหม่ เจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ ศูนย์วิจัยและ

พัฒนาการเกษตรเชียงราย ศูนย์วิจัยข้าวแพร่ และศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรน่าน ที่ช่วยดำเนินการติดต่อแปลงสำรวจ ขอขอบคุณคุณสุริยะ เกาะม่วงหมู่ คุณสุรางค์ นงนุช เจ้าหน้าที่วิเคราะห์นโยบายและแผน คุณณิชาพร ฉ่ำประวิง คุณกัญญาภัค ตาแก้ว คุณวงษ์สยาม นิสสัย คุณจงดี อ้นจันทร์ นักวิชาการเกษตร คุณบุญลาภ คชบาง คนงานทดลองการเกษตร ที่ช่วยดำเนินการสำรวจและเก็บข้อมูลในแปลง ตลอดจนรวบรวมข้อมูลเบื้องต้น ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2553. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2553. สำนักงานเศรษฐกิจ การเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพมหานคร. 176 หน้า.

anonymous. 2006 . List of Regulated Pests in Republic of Korea, 2006. (Online). Available. https://www.ippc.int/file_uploaded/1168303091735_List_of_Regulated_pests_in_Rep-1104665007.pdf (14 December. 2011)

APHIS. 2006. Proposed Rules : Federal Register, Volume 71 Issue 143 (Wednesday, July, 2006). (Online). Available. www.gpo/fdsys/pkg/Fr-2006-07-26/htm/E6-11941htm (14 December. 2011)

Ben-Dov Y. 1994. A systematic Catalogue of the Mealybugs of the World (Insecta: Homoptera: Coccoidea: Pseudococcidae and Putoidae) with Data on Geographical Distribution, Host Plants, Biology and Economic Importance. Intercept Limited, Andover, UK. 686 pp.

Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine. 2004. Quarantine Requirements for The Importation of Plants or Plant Products into The Republic of China. (Online). Available. http://www.nda.agric.za/doaDev/topMenu/services/doc/ExportRequirements_Taiwan.pdf (15 December. 2011)

CABI. 2003. Crop Protection Compendium. CAB International, Wallingford, UK.

DAFF, 2011. Mangosteen fruit from Thailand : Final Import Risk Analysis Report. Department of Agriculture, Fisheries and forestry, Austrarian Government. 158 pp.

NZLMAF, 2011. (Online). Available. http://www.maf.govt.nz/biosecurity-animal-welfare/pests-diseases/boric (15 December. 2011)

ตารางที่ 1 ผลการสำรวจเพลี้ยแป้งในพื้นที่จังหวัดสมุทรสงคราม พะเยา น่าน เชียงใหม่ และเชียงราย เดือนเมษายน-พฤษภาคม 2554

จุดสำรวจ	เพลี้ยแป้ง	หมายเหตุ (การจำแนกเบื้องต้น)
จ.สมุทรสงคราม (4 แปลง)		
- อ.อัมพวา (3)	+ [1/]	*Ferrisia vergata* (Cockerell) *Pseudococcus cyptus* Hempel
- อ.บางคนที (2)	-	-
จ.พะเยา (12 แปลง)		
- อ.แม่ใจ (12)	-	-
จ.น่าน (9 แปลง)		
- อ.ทุ่งช้าง (2)	+	*Pseudococcus cyptus* Hempel
- อ.เชียงกลาง (1)	-	-
- อ.ปัว (1)	+	*Pseudococcus cyptus* Hempel
- อ.ท่าวังผา (2)	-	-
- อ.ภูเพียง (3)	-	*Planococcus* sp
จ.เชียงใหม่ (14 แปลง)		
- อ.ไชยปราการ (5)	+	*Pseudococcus cyptus* Hempel
- อ.ฝาง (9)	+	*Ferrisia vergata* (Cockerell)
จ.เชียงราย (7 แปลง)		
- อ.แม่จัน (2)	-	-
- อ.แม่สาย (3)	-	-
- อ.เมือง (2)	-	-

[1/] + = พบ, - = ไม่พบ

ตารางที่ 2 ผลการสำรวจเพลี้ยแป้งในพื้นที่จังหวัดสมุทรสงคราม พะเยา น่าน เชียงใหม่ และเชียงราย เดือนเมษายน-พฤษภาคม 2555

จุดสำรวจ	เพลี้ยแป้ง	หมายเหตุ (การจำแนกเบื้องต้น)
จ.สมุทรสงคราม (2 แปลง)		
- อ.อัมพวา (1)	+ [1/]	*Ferrisia vergata* (Cockerell)
- อ.บางคนที (1)	-	-
จ.พะเยา (12 แปลง)		
- อ.แม่ใจ (12)	+	*Planococcus* sp. *Pseudococcus cyptus* Hempel
จ.น่าน (9 แปลง)		
- อ.ทุ่งช้าง (2)	+	*Pseudococcus cyptus* Hempel *Planococcus* sp.
- อ.เชียงกลาง (1)	-	-
- อ.ปัว (1)	-	-
- อ.ท่าวังผา (2)	+	*Pseudococcus cyptus* Hempel
- อ.ภูเพียง (3)	+	-
จ.เชียงใหม่ (20 แปลง)		
- อ.ไชยปราการ (4)	-	-
- อ.ฝาง (8)	+	*Pseudococcus cyptus* Hempel
- อ.แม่อาย (8)	-	-
จ.เชียงราย (8 แปลง)		
- อ.แม่จัน (2)	-	-
- อ.แม่สาย (2)	+	*Pseudococcus cyptus* Hempel
- อ.เมือง (1)	-	-
- อ.แม่ฟ้าหลวง (1)	-	-
- อ.แม่สรวย (2)	-	-

[1/] + = พบ, - = ไม่พบ

ตารางที่ 3 ผลการสำรวจเพลี้ยแป้งในพื้นที่จังหวัด พะเยา น่าน เชียงใหม่ และเชียงราย เดือนเมษายน 2556

จุดสำรวจ	เพลี้ยแป้ง	หมายเหตุ (การจำแนกเบื้องต้น)
จ.พะเยา (12 แปลง)		
- อ.แม่ใจ (12)	+[1/]	*Pseudococcus cyptus* Hempel *Ferrisia vergata* (Cockerell)
จ.น่าน (12 แปลง)		
- อ.เชียงกลาง (5)	-	-
- อ.ท่าวังผา (4)	+	*Pseudococcus cyptus* Hempel
- อ.ภูเพียง (3)	-	-
จ.เชียงใหม่ (20 แปลง)		
- อ.ไชยปราการ (4)	+	*Cataenococcus hispidus* Green
- อ.ฝาง (8)	+	*Pseudococcus cyptus* Hempel
- อ.แม่อาย (8)	+	*Pseudococcus cyptus* Hempel
จ.เชียงราย (8 แปลง)		
- อ.แม่จัน (2)	+	*Planococcus* sp.
- อ.แม่สาย (2)	+	*Cataenococcus hispidus* Green
- อ.เมือง (1)	-	-
- อ.แม่ฟ้าหลวง (1)	+	*Planococcus* sp.
- อ.แม่สรวย (2)	-	-

[1/] + = พบ, - = ไม่พบ

Ferrisia vergata (Cockerell)

Planococcus sp.

Pseudococcus cyptus Hempel

ภาพที่ 1 ชนิดของเพลี้ยแป้งที่พบจากการสำรวจที่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา น่าน และสมุทรสงคราม ปี 2554-2556

การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของหนอนเจาะผล, *Cryptophlebia ombrodelta* (Lower) ในลิ้นจี่

Distribution of Fruit Borer, *Cryptophlebia ombrodelta* (Lower) on Lichi

บุษบง มนัสมั่นคง[1/] ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา[1/] พวงผกา อ่างมณี[1/]
สุนัดดา เชาวลิต[2/] พฤทธิชาติ ปุญวัฒโท[2/] เกรียงไกร จำเริญมา[1/]

[1/] **กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
[2/] **กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

สถานการณ์การแพร่ระบาดของหนอนเจาะผล *Cryptophlebia ombrodelta* (Lower) ในลิ้นจี่ ดำเนินการสำรวจในแหล่งปลูกจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา น่าน และสมุทรสงคราม ในระยะเก็บเกี่ยวผลลิ้นจี่ โดยสุ่มสำรวจแมลงในแปลงโดยวิธีการสุ่มอย่างง่าย (simple random sampling) คือ สุ่มตัดช่อผลลิ้นจี่ต้นละ 4 ทิศๆ ละ 1 ช่อ จำนวน 10 ต้น/แปลง ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2555 ผลการสำรวจจากแหล่งปลูกลิ้นจี่ ปี 2554 จังหวัดสมุทรสงคราม จำนวน 5 แปลง จังหวัดน่าน จำนวน 9 แปลง จังหวัดพะเยา จำนวน 12 แปลง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 14 แปลง และ จังหวัดเชียงราย จำนวน 7 แปลง รวม 47 แปลง จากผลผลิต 15,194 ผล น้ำหนัก 234.88 กิโลกรัม ปี 2555 จังหวัดสมุทรสงคราม จำนวน 2 แปลง จังหวัดน่าน จำนวน 9 แปลง จังหวัดพะเยา จำนวน 12 แปลง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 20 แปลง และ จังหวัดเชียงราย จำนวน 8 แปลง รวม 51 แปลง จากผลผลิต 15,232 ผล น้ำหนัก 225.38 กิโลกรัม ปี 2556 จังหวัดน่าน จำนวน 12 แปลง จังหวัดพะเยา จำนวน 12 แปลง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 20 แปลง และ จังหวัดเชียงราย จำนวน 8 แปลง รวม 52 แปลง จากผลผลิต 10,107 ผล น้ำหนัก 179.68 กิโลกรัม พบหนอนเจาะขั้วผล *Conopomorpha sinensis* Breadley เข้าทำลายผลลิ้นจี่ทุกจังหวัดที่ทำการสำรวจ โดยพบเกือบทุกแปลงที่ดำเนินการสำรวจ ส่วนหนอนเจาะผล *Deudoric epijarbas* Moore พบในแปลงลิ้นจี่ อำเภอไชยปราการ อำเภอแม่อาย จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย อำเภอภูเพียง จังหวัดน่าน และอำเภอแม่ใจ จังหวัดพะเยา และพบหนอนเจาะผล *Conogethes punciferalis* ในแปลงลิ้นจี่ อำเภอแม่อาย และ อำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ ส่วนหนอนเจาะผล *Cryptophlebia ombrodelta* พบการเข้าทำลายผลลิ้นจี่ ที่ อำเภอแม่ใจ จังหวัดพะเยา และอำเภอบางคนที จังหวัดสมุทรสงคราม ส่วนจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และน่านไม่พบการเข้าทำลาย

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-06-00-03-54

คำนำ

จากการเปิดเสรีการค้าภายใต้องค์การการค้าโลก (World Tread Organization, WTO) ซึ่งได้ยกเลิกมาตรการกีดกันทางภาษี และให้ใช้มาตรการทางสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (SPS Agreement) เป็นมาตรการทดแทน เพื่อให้ประเทศสมาชิกปกป้องมิให้ศัตรูพืชที่อาจจะติดไปกับสินค้าพืชจากประเทศหนึ่งไปสู่อีกประเทศหนึ่ง เป็นการอำนวยความสะดวกด้านการค้าระหว่างประเทศสมาชิก ประเทศไทยเป็นประเทศสมาชิกขององค์การการค้าโลกจึงต้องดำเนินการเพื่อเตรียมความพร้อมในด้านวิทยาศาสตร์ เพื่อใช้ในการต่อรองทางการค้าสินค้าเกษตรระหว่างประเทศ กรมวิชาการเกษตร โดยสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชซึ่งเป็นหน่วยงานอารักขาพืชแห่งชาติ จึงมีความจำเป็นต้องเตรียมความพร้อมด้านข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ทางด้านพืชดังกล่าวเพื่อใช้ในการเจรจาการค้าสินค้าเกษตรภายใต้เงื่อนไขขององค์การการค้าโลก การสำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชเป็นงานพื้นฐานที่มีความจำเป็นสำหรับใช้ในการดำเนินการด้านอื่นๆ อีก เช่น Pest Risk Analysis, Establishment for pest free area, Pest list, Pest report เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance)

ลิ้นจี่เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีศักยภาพในการผลิตและการตลาด ในปี 2550 มีการส่งออกลิ้นจี่สด ลิ้นจี่บรรจุภาชนะอัดลม และอบแห้ง ปริมาณ 26,801 เมตริกตัน มูลค่า 759 ล้านบาท ดังนั้นจึงควรมีขบวนการผลิตอย่างถูกต้องและเหมาะสม เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีมาตรฐาน มีสุขอนามัย และสุขอนามัยพืช สามารถแข่งขันในตลาดโลก แหล่งปลูกสำคัญของลิ้นจี่อยู่ทางภาคเหนือตอนบน ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง แพร่ น่าน ลิ้นจี่พันธุ์ที่ปลูกมาก คือ พันธุ์ฮงฮวย โอเฮี้ยะ ค่อม กิมเจ็ง และจักรพรรดิ์ การผลิตลิ้นจี่มักประสบปัญหาการให้ผลผลิตปีเว้นปี ปีที่มีผลผลิตมากมักเกิดปัญหาด้านการตลาด ลิ้นจี่มีตลาดส่งออกใหญ่ที่ประเทศจีน เนเธอร์แลนด์ และฮ่องกง เป็นต้น ส่วนประเทศที่พัฒนาแล้วมักจะไม่ค่อยรับซื้อ เนื่องจากกลัวปัญหาด้านโรคแมลงที่ติดไปกับผลลิ้นจี่ ซึ่งก่อนที่จะนำเข้าต้องยื่นคำขอเปิดตลาดพร้อมข้อมูลศัตรูพืช ซึ่งประกอบด้วยรายชื่อและรายละเอียดเกี่ยวกับศัตรูพืชเพื่อที่ประเทศผู้นำเข้าจะนำไปวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis, PRA) และอาจจะสอบถามข้อมูลเพิ่มเติมเพื่อกำหนดเงื่อนไขการนำเข้า แต่ที่ผ่านมาข้อมูลเหล่านี้ยังขาดอยู่ จึงมีความจำเป็นต้องดำเนินการวิจัยเพื่อหาข้อมูลเกี่ยวกับแมลงศัตรูพืชดังกล่าว

แมลงที่ลงทำลายผลลิ้นจี่ในประเทศไทยและสามารถติดไปกับผลผลิต ได้แก่ หนอนเจาะขั้วผล (*Conopomorpha sinensis* Bradley), หนอนกินผลลำไยและลิ้นจี่ (*Conogethes punciferalis* (Guenee), หนอนเจาะผล (*Deudorix epijarbas* Moore), เพลี้ยหอยสีน้ำตาล *(Saisatia coffeae* Wlk.), เพลี้ยแป้ง (*Nipaecoccus* sp.), เพลี้ยหอยข้าวตอก (*Ceroplastes pseudoceriferus* (Green)), เพลี้ยหอยหลังเต่า *(Drepanococcus chiton* (Green)), เพลี้ยหอย (*Icerya* sp. (Margarodidae)) เป็นต้น (จริยาและคณะ, 2545)

แต่จากการดำเนินการการขอเปิดตลาดลิ้นจี่กับประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งได้ส่งข้อมูลที่พบว่าลิ้นจี่มีหนอนเจาะผลชนิด *Cryptophlebia ombrodelta* ลงทำลายด้วย ซึ่งทางประเทศไทยไม่มีข้อมูลศัตรูพืชชนิดนี้ จึงต้องดำเนินการเฝ้าระวังและติดตามหนอนเจาะผล *Cryptophlebia ombrodelta* ในแหล่งปลูกลิ้นจี่เพื่อการส่งออก เพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนการดำเนินการขอเปิดตลาดการค้าต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงลิ้นจี่
2. กรรไกรตัดกิ่ง
3. ถังน้ำแข็ง
4. เครื่องกำหนดพิกัด (GPS)
5. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างแมลง เช่น กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ยางรัดของ vial แอลกอฮอล์ 80% พู่กัน เข็มเขี่ย Label เป็นต้น
6. อุปกรณ์เก็บข้อมูล เช่น กระดาน ดินสอ ปากกาเมจิก เป็นต้น

วิธีการ

ดำเนินการสุ่มเลือกพื้นที่การสำรวจในแหล่งปลูกลิ้นจี่ทั่วประเทศ และแปลงลิ้นจี่ในแต่ละจังหวัด โดยใช้วิธี purposive sampling ได้พื้นที่การสุ่มสำรวจ ดังนี้ ในแหล่งปลูกภาคเหนือ ในปี 2554 อำเภอเชียงกลาง (1) ท่าวังผา (2) ทุ่งช้าง (2) ปัว (1) ภูเพียง (3) จังหวัดน่าน อำเภอแม่ใจ (12) จังหวัดพะเยา อำเภอฝาง (9) ไชยปราการ (5) จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเมือง (2) แม่จัน (2) แม่สาย (3) จังหวัดเชียงราย และแหล่งปลูกภาคกลาง อำเภออัมพวา (3) บางคนที (2) จังหวัดสมุทรสงคราม รวม 47 แปลง ในปี 2555 อำเภอเชียงกลาง (1) ท่าวังผา (2) ทุ่งช้าง (2) ปัว (1) ภูเพียง (3) จังหวัดน่าน อำเภอแม่ใจ (12) จังหวัดพะเยา อำเภอแม่อาย (8) ฝาง (8) ไชยปราการ (4) จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเมือง (1) แม่จัน (2) แม่สาย (2) แม่ฟ้าหลวง (1) แม่สรวย (2) จังหวัดเชียงราย และแหล่งปลูกภาคกลาง อำเภออัมพวา (1) บางคนที (1) จังหวัดสมุทรสงคราม รวม 51 แปลง ในปี 2556 อำเภอเชียงกลาง (5) ท่าวังผา (4) ภูเพียง (3) จังหวัดน่าน อำเภอแม่ใจ (12) จังหวัดพะเยา อำเภอแม่อาย (8) ฝาง (8) ไชยปราการ (4) จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเมือง (1) แม่จัน (2) แม่สาย (2) แม่ฟ้าหลวง (1) แม่สรวย (2) จังหวัดเชียงราย รวม 51 แปลง ส่วนแหล่งปลูกภาคกลาง จังหวัดสมุทรสงคราม เนื่องจากสภาพอากาศไม่เหมาะสมทำให้ลิ้นจี่ไม่มีผลผลิต ดำเนินการสำรวจผลลิ้นจี่ในระยะเก็บเกี่ยว สุ่มสำรวจแมลงในแปลงโดยวิธีการสุ่มอย่างง่าย (simple random sampling) คือ สุ่มตัดช่อผลลิ้นจี่ต้นละ 4 ทิศๆ ละ 1 ช่อ จำนวน 10 ต้น/แปลง ร่วมกับการเก็บตัวอย่างหนอนเจาะผลที่พบลงทำลายผลลิ้นจี่ นำมาเลี้ยงเพื่อให้เป็นตัวเต็มวัยเพื่อส่งจำแนกต่อไป บันทึกชนิด จำนวนหนอนเจาะผลที่ทำลายผลลิ้นจี่ จำนวนผลลิ้นจี่ที่สุ่ม พิกัดพื้นที่ สภาพภูมิอากาศ ข้อมูลพืช และการจัดการ

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – เดือนกันยายน 2556 ในแหล่งปลูกลิ้นจี่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา น่าน และสมุทรสงคราม และห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการสำรวจเพื่อตรวจหาชนิดของหนอนเจาะผล และการแพร่กระจายของ *Cryptophlebia ombrodelta* ในลิ้นจี่ จากแหล่งปลูกลิ้นจี่ ปี 2554 จังหวัดสมุทรสงคราม จำนวน 5 แปลง จังหวัด

น่าน จำนวน 9 แปลง จังหวัดพะเยา จำนวน 12 แปลง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 14 แปลง และจังหวัดเชียงราย จำนวน 7 แปลง รวม 47 แปลง จากผลผลิต 15,194 ผล น้ำหนัก 234.88 กิโลกรัม ปี 2555 จังหวัดสมุทรสงคราม จำนวน 2 แปลง จังหวัดน่าน จำนวน 9 แปลง จังหวัดพะเยา จำนวน 12 แปลง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 20 แปลง และ จังหวัดเชียงราย จำนวน 8 แปลง รวม 51 แปลง จากผลผลิต 15,232 ผล น้ำหนัก 225.38 กิโลกรัม ปี 2556 จังหวัดน่าน จำนวน 12 แปลง จังหวัดพะเยา จำนวน 12 แปลง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 20 แปลง และ จังหวัดเชียงราย จำนวน 8 แปลง รวม 52 แปลง จากผลผลิต 10,107 ผล น้ำหนัก 179.68 กิโลกรัม จากการสำรวจเบื้องต้นไม่พบหนอนเจาะผล *Cryptophlebia ombrodelta* (Lower) ในทุกแปลงที่ทำการสำรวจ ปี 2554 (ตารางที่ 1) พบหนอนเจาะขั้วผล *Conopomorpha sinensis* Breadley เข้าทำลายผลลิ้นจี่ทุกจังหวัดที่ทำการสำรวจ โดยพบเกือบทุกแปลงที่ดำเนินการสำรวจ และพบหนอนเจาะผล *Deudoric epijarbas* Moore เฉพาะในแปลงลิ้นจี่ อำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ ปี 2555 (ตารางที่ 2) พบหนอนเจาะขั้วผล *Conopomorpha sinensis* Breadley เข้าทำลายผลลิ้นจี่ทุกแปลงที่ดำเนินการสำรวจ พบหนอนเจาะผล *Deudoric epijarbas* Moore เฉพาะในแปลงลิ้นจี่ อำเภอภูเพียง จังหวัดน่าน อำเภอแม่ใจ จังหวัดพะเยา และ อำเภอแม่อาย จังหวัดเชียงใหม่ และพบ *Conogethes punciferalis* เฉพาะในแปลงลิ้นจี่ อำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ ปี 2556 (ตารางที่ 3) พบหนอนเจาะขั้วผล *Conopomorpha sinensis* Breadley เข้าทำลายผลลิ้นจี่ทุกแปลงที่ดำเนินการสำรวจ พบหนอนเจาะผล *Deudoric epijarbas* Moore เฉพาะในแปลงลิ้นจี่ อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย และอำเภอแม่อาย จังหวัดเชียงใหม่ และพบ *Conogethes punciferalis* เฉพาะในแปลงลิ้นจี่ อำเภอแม่อาย และ อำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ ส่วนหนอนเจาะผล *Cryptophlebia ombrodelta* พบการเข้าทำลายผลลิ้นจี่ ที่ อำเภอแม่ใจ จังหวัดพะเยา และอำเภอบางคนที จังหวัดสมุทรสงคราม ส่วนจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และน่าน ไม่พบการเข้าทำลาย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

พบหนอนเจาะผล *Cryptophlebia ombrodelta* เข้าทำลายผลลิ้นจี่ ที่ อำเภอแม่ใจ จังหวัดพะเยา และอำเภอบางคนที จังหวัดสมุทรสงคราม ส่วนจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และน่าน ไม่พบการเข้าทำลาย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่จากสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงราย ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่ และศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรน่าน ที่ช่วยดำเนินการติดต่อแปลงสำรวจ ขอขอบคุณคุณสุริยะ เกาะม่วงหมู่ เจ้าหน้าที่วิเคราะห์นโยบายและแผน และคุณณิชาพร ฉ่ำประวิง นักวิชาการเกษตร ช่วยดำเนินการสำรวจและเก็บข้อมูลในแปลง ตลอดจนรวบรวมข้อมูลเบื้องต้น ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

จริยา วิสิทธิ์พานิช ชาตรี สิทธิกุล และเยาวลักษณ์ จันทร์บาง. 2545. โรคและแมลงศัตรูลำไย ลิ้นจี่ และมะม่วง. หจก.ธนบรรณการพิมพ์, จังหวัดเชียงใหม่. 308 หน้า.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2552. ข้อมูลพื้นฐานเศรษฐกิจการเกษตร ปี 2552. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. http://www.oae.go.th 93 หน้า.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 แสดงผลการสำรวจหนอนเจาะผลในพื้นที่จังหวัดสมุทรสงคราม พะเยา น่าน เชียงใหม่ และเชียงราย ระหว่างเดือนเมษายน – พฤษภาคม ปี 2554

จุดสำรวจ	หนอนเจาะขั้ว *Conopomorpha sinensis* Bradley	หนอนเจาะผล *Deudorix epijarbas* Moore	หนอนกินผล *Conogethes punciferalis*
จ.สมุทรสงคราม (5 แปลง)			
- อ.อัมพวา (3)	-	-	-
- อ.บางคนที (2)	+	-	-
จ.พะเยา (12 แปลง)			
- อ.แม่ใจ (12)	+	-	-
จ.น่าน (9 แปลง)			
- อ.ทุ่งช้าง (2)	-	-	-
- อ.เชียงกลาง (1)	+	-	-
- อ.ปัว (1)	-	-	-
- อ.ท่าวังผา (2)	+	-	-
- อ.ภูเพียง (3)	+	-	-
จ.เชียงใหม่ (14 แปลง)			
- อ.ไชยปราการ (5)	+	+	-
- อ.ฝาง (9)	+	-	-
จ.เชียงราย (7 แปลง)			
- อ.แม่จัน (2)	+	-	-
- อ.แม่สาย (3)	+	-	-
- อ.เมือง (2)	+	-	-

1/ + = พบ, - = ไม่พบ

ตารางที่ 2 แสดงผลการสำรวจหนอนเจาะผลในพื้นที่จังหวัดสมุทรสงคราม พะเยา น่าน เชียงใหม่ และเชียงราย ระหว่างเดือนเมษายน – พฤษภาคม ปี 2555

จุดสำรวจ	หนอนเจาะขั้ว *Conopomorpha sinensis* Bradley	หนอนเจาะผล *Deudorix epijarbas* Moore	หนอนกินผล *Conogethes punciferalis*
จ.สมุทรสงคราม (2 แปลง)			
- อ.อัมพวา (1)	+	-	-
- อ.บางคนที (1)	+	-	-
จ.พะเยา (12 แปลง)			
- อ.แม่ใจ (12)	+	+	-
จ.น่าน (9 แปลง)			
- อ.ทุ่งช้าง (2)	+	-	-
- อ.เชียงกลาง (1)	+	-	-
- อ.ปัว (1)	+	-	-
- อ.ท่าวังผา (2)	+	-	-
- อ.ภูเพียง (3)	+	+	-
จ.เชียงใหม่ (20 แปลง)			
- อ.แม่อาย (8)	+	+	-
- อ.ฝาง (8)	+	-	-
- อ.ไชยปราการ (4)	+	-	+
จ.เชียงราย (8 แปลง)			
- อ.แม่ฟ้าหลวง (1)	+	-	-
- อ.แม่สาย (2)	+	-	-
- อ.แม่จัน (2)	+	-	-
- อ.แม่สรวย (2)	+	-	-
- อ.เมือง (1)	+	-	-

1/ + = พบ, - = ไม่พบ

ตารางที่ 3 แสดงผลการสำรวจหนอนเจาะผลในพื้นที่จังหวัดสมุทรสงคราม พะเยา น่าน เชียงใหม่ และเชียงราย ระหว่างเดือนเมษายน – พฤษภาคม ปี 2556

จุดสำรวจ	หนอนเจาะขั้ว *Conopomorpha sinensis* Bradley	หนอนเจาะผล *Deudorix epijarbas* Moore	หนอนกินผล *Conogethes punciferalis*
จ.พะเยา (12 แปลง)			
- อ.แม่ใจ (12)	+	-	-
จ.น่าน (12 แปลง)			
- อ.เชียงกลาง (5)	+	-	-
- อ.ท่าวังผา (4)	+	-	-
- อ.ภูเพียง (3)	+	-	-
จ.เชียงใหม่ (20 แปลง)			
- อ.ไชยปราการ (4)	+	-	+
- อ.แม่อาย (8)	+	+	+
- อ.ฝาง (8)	+	-	-
จ.เชียงราย (8 แปลง)			
- อ.แม่จัน (2)	+	-	-
- อ.แม่สาย (2)	+	-	-
- อ.แม่สรวย (2)	+	+	-
- อ.แม่ฟ้าหลวง (1)	+	-	-
- อ.เมือง (1)	+	-	-

1/ + = พบ, - = ไม่พบ

การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเพลี้ยไก่แจ้, *Trioza erytreae* (Del Guercio) ในแหล่งปลูกส้มจังหวัดเชียงใหม่

Surveillance on African Citrus Psyllid, *Trioza erytreae* (Del Guercio) on Citrus Plantation, Chiangmai

ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา[1/] บุษบง มนัสมั่นคง[1/] สุธามาส ณ น่าน[3/]
เจริญ ท่าระเบียบ[4/] จารุฉัตร เขนยทิพย์[4/] ชมัยพร บัวมาศ[2/]
วนาพร วงษ์นิคง[1/] ชลิดา อุณหวุฒิ[2/]
[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สถาบันวิจัยพืชสวน
[4/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

บทคัดย่อ

การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเพลี้ยไก่แจ้ (*Trioza erytreae* (Del Guercio)) ในแหล่งปลูกส้มจังหวัดเชียงใหม่ ดำเนินการในแปลงปลูกส้มสายน้ำผึ้งจังหวัดเชียงใหม่ 6 สวน ได้แก่ อำเภอฝาง(2) ไชยปราการ (2) แม่อาย (2) และจังหวัดเชียงราย 3 สวน ได้แก่ อำเภอเมืองเชียงราย (2) และอำเภอแม่สาย (1) รวมทั้งสิ้น 9 สวน ระหว่างเดือน ธันวาคม 2553- กันยายน 2556 ผลการเฝ้าติดตามการแพร่กระจาย พบว่า ไม่พบเพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกัน *Trioza erytreae* (Del Guercio) แต่พบเพลี้ยไก่แจ้เอเชีย *Diaphorina citri* Kuwayama ซึ่งเป็นชนิดที่พบระบาดในพืชตระกูลส้มในประเทศไทย

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-06-00-04-54

คำนำ

จากการเปิดเสรีการค้าภายใต้องค์การการค้าโลก (World Tread Organization, WTO) ซึ่งได้ยกเลิกมาตรการกีดกันทางภาษี และให้ใช้มาตรการทางสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (SPS Agreement) เป็นมาตรการทดแทน เพื่อให้ประเทศสมาชิกปกป้องมิให้ศัตรูพืชที่อาจจะติดไปกับสินค้าพืชจากประเทศหนึ่งไปสู่อีกประเทศหนึ่ง เป็นการอำนวยความสะดวกด้านการค้าระหว่างประเทศสมาชิก ประเทศไทยเป็นประเทศสมาชิกขององค์การการค้าโลก จึงต้องดำเนินการเพื่อเตรียมความพร้อมในด้านวิทยาศาสตร์ เพื่อใช้ในการต่อรองทางการค้าสินค้าเกษตรระหว่างประเทศ กรมวิชาการเกษตรโดยสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชซึ่งเป็นหน่วยงานอารักขาพืชแห่งชาติ จึงมีความจำเป็นต้องเตรียมความพร้อมด้านข้อมูล ทางวิทยาศาสตร์ทางด้านพืชดังกล่าวเพื่อใช้ในการเจรจาการค้าสินค้าเกษตรภายใต้เงื่อนไขขององค์การการค้าโลก การสำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชเป็นงานพื้นฐานที่มีความจำเป็นสำหรับใช้ในการดำเนินการด้านอื่นๆ อีก เช่น Pest Risk Analysis, Establishment for pest free area, Pest list, Pest report เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance)

ผลจากมาตรการทางสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชที่นำมาใช้ นอกจากการเฝ้าระวังแมลงศัตรูที่มีปัญหาด้านการส่งออกแล้ว ยังต้องป้องกันแมลงศัตรูพืชบางชนิดที่มีการแพร่ระบาดภายนอกประเทศและมีโอกาสติดเข้ามากับส่วนของพืชที่นำเข้ามา ไม่ให้เข้ามาแพร่กระจายภายในประเทศด้วย จากการสืบค้นข้อมูล พบว่า เพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกัน *Trioza erytreae* (Del Guercio) (Hemiptera : Psyllidae) ซึ่งมีแหล่งแพร่กระจายในทวีปแอฟริกาได้มีการแพร่กระจายสู่ประเทศจีน และมีโอกาสเคลื่อนย้ายเข้าสู่ประเทศไทย โดยเฉพาะในแหล่งปลูกส้มทางภาคเหนือ ในประเทศไทยพบเพลี้ยไก่แจ้ชนิด *Diaphorina citri* Kuwayama ในพืชตระกูลส้ม และที่สำคัญเพลี้ยไก่แจ้ทั้งสองชนิดยังเป็นพาหะในการนำโรคกรีนนิ่ง หรือโรคใบเหลืองต้นโทรมที่ทำความเสียหายอย่างมากแก่เกษตรกรผู้ปลูกส้มโดยเฉพาะแหล่งปลูกส้มทางภาคเหนือซึ่งเป็นแหล่งปลูกใหญ่ของประเทศ ดังนั้นการเฝ้าติดตามการแพร่กระจายของเพลี้ยไก่แจ้ทั้งสองชนิดนี้ จึงมีความจำเป็นต้องดำเนินการเพื่อเฝ้าระวัง ติดตามและตรวจสอบการเข้ามาของเพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกัน *Trioza erytreae* และเขตการแพร่กระจายของเพลี้ยไก่แจ้ชนิด *Diaphorina citri* เพื่อกำหนดเขตการแพร่กระจายต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงส้มเขียวหวาน
2. เครื่องกำหนดพิกัด (GPS)
3. กับดักกาวเหนียวสีเหลือง
4. อุปกรณ์เก็บข้อมูล เช่น กล้องถ่ายรูป, คอมพิวเตอร์, กระดาน, ดินสอ, ปากกาเมจิก เป็นต้น

วิธีการ

ดำเนินการติดกับดักกาวเหนียวสีเหลืองในแหล่งปลูกส้มที่สำคัญใน อำเภอฝาง แม่อาย และไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ รวม 6 สวน อำเภอเมือง และแม่สาย จังหวัดเชียงราย รวม 3 สวนโดยแต่ละสวนติดตั้งกับดักกาวเหนียวจำนวน 4 กับดัก/ต้น รอบทรงพุ่ม จำนวน 10 ต้น/สวน เปลี่ยนกับดัก

กาวเหนียวทุก 1 เดือน นำกับดักกาวเหนียวมาจำแนกชนิดของเพลี้ยไก่แจ้ส้ม แมลงศัตรูพืชอื่นๆ บันทึกพิกัดพื้นที่ และข้อมูลพืชและการจัดการ

เวลาและสถานที่

ระหว่างเดือนตุลาคม 2553-กันยายน 2554 ในสวนส้มของเกษตรกร อ.ฝาง ไชยปราการ และแม่อาย จังหวัดเชียงใหม่ และ อ.เมือง และแม่สาย จังหวัดเชียงราย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การดำเนินการเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเพลี้ยไก่แจ้แอฟริกัน (*T. erytreae*) ในแหล่งปลูกส้มจังหวัดเชียงใหม่ และเชียงราย ดำเนินการเป็นปีที่ 1 จากการบันทึกพิกัด พบว่าแปลงส้มในจังหวัดเชียงรายทั้ง 3 แปลง มีความสูง 391-423 เมตร จากระดับน้ำทะเล ส่วนแปลงส้มในจังหวัดเชียงใหม่ 6 แปลง มีความสูง 498-555 เมตรจากระดับน้ำทะเล จากข้อมูลดังกล่าว พบว่าแหล่งปลูกส้มในจังหวัดเชียงรายทั้งที่อำเภอฝาง แม่อาย และไชยปราการ มีความเสี่ยงในการเกิดการแพร่กระจายของเพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกัน ซึ่ง Espinosa and Hodges (2009) รายงานว่า เพลี้ยไก่แจ้ชนิดนี้ชอบอาศัยในที่อากาศเย็นและชื้น ที่ระดับความสูง 500-600 เมตรจากระดับน้ำทะเล และอ่อนแอต่อสภาพอากาศร้อนและแห้งแล้ง

ผลการติดตามการแพร่กระจายของเพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกัน ในปีที่ 1 ช่วงเดือนมกราคม53 – กันยายน 2554 ไม่พบการแพร่ระบาดของเพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกัน และเพลี้ยไก่แจ้ส้มเอเชียซึ่งเป็นชนิดที่พบระบาดในแหล่งปลูกส้มในประเทศไทย แต่พบการแพร่ระบาดของศัตรูส้มสำคัญหลายชนิดทุกแปลง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เพลี้ยไฟพริก ซึ่งจากปริมาณที่พบบนกับดัก พบมากในเดือนกุมภาพันธ์-มีนาคม 2554 และพบผีเสื้อหนอนชอนใบส้มในปริมาณเล็กน้อยแต่พบทุกแปลงที่ทำการติดตั้งกับดักและพบแมลงวันผลไม้ในกับดักหลายชนิดโดยพบปริมาณมากที่แปลงอำเภอไชยปราการ 1 และ 2 ชนิดของแมลงวันผลไม้ที่พบส่วนใหญ่เป็น *Bactrocera dorsalis* รองลงมาเป็นชนิด *B. cucurbitae B. tau* และ *B. correcta* สำหรับศัตรูธรรมชาติที่พบบนกับดักมากคือ แมลงช้าง และด้วงเต่า

ผลการติดตามการแพร่กระจายของเพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกันในปีที่ 2 ในช่วงเดือนตุลาคม 54 – กันยายน 2555 พบว่าไม่พบการแพร่ระบาดของเพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกัน แต่พบการระบาดของเพลี้ยไก่แจ้ส้มเอเชีย ในแปลงอำเภอแม่อาย 1 และไชยปราการ 1 และ 2 เนื่องจากเกษตรกรเริ่มทิ้งแปลงจึงไม่มีการดูแลรักษา จึงเป็นแหล่งสะสมการระบาดของเพลี้ยไก่แจ้ส้ม ส่วนศัตรูพืชอื่นพบการระบาดของเพลี้ยไฟพริก ซึ่งพบมากเกือบทุกแปลง โดยเฉพาะในช่วงแล้ง พบการระบาดตั้งแต่เดือนมกราคม-เมษายน และพบปริมาณของหนอนชอนใบบนกับดักเล็กน้อย การติดตั้งกับดักและพบแมลงวันผลไม้ในกับดักหลายชนิดโดยพบปริมาณมากที่แปลงอำเภอไชยปราการ 1 และ 2 ชนิดของแมลงวันผลไม้ที่พบส่วนใหญ่เป็น *B.a dorsalis* รองลงมาเป็นชนิด *B. cucurbitae* และ *B. tau* สำหรับศัตรูธรรมชาติที่พบบนกับดักมากคือ แมลงช้าง และด้วงเต่า

ผลการติดตามการแพร่กระจายของเพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกันในปีที่ 3 ในช่วงเดือนตุลาคม 2555 – กันยายน 2556 ไม่การติดตามการแพร่กระจายในแปลงอำเภอไชยปราการเนื่องจากเกษตรกรทิ้งแปลง ต้นส้มตาย และไม่พบการแพร่ระบาดของเพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกัน แต่พบการระบาดของเพลี้ยไก่แจ้ส้มเอเชีย ในแปลงอำเภอแม่อาย 1 และแปลงอำเภอฝาง 1 และ 2 ส่วนศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติอื่น พบเช่นเดียวกับผลการเฝ้าระวังในปี 2554 และ2555

จากการติดตามการแพร่กระจายของเพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกันทั้งสามปีโดยการใช้กับดักกาวเหนียว ไม่พบการแพร่กระจายของเพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกัน แม้พื้นที่เหล่านี้จะมีความสูงของพื้นที่ที่เสี่ยงต่อการแพร่ระบาดของเพลี้ยไก่แจ้ชนิดนี้ แต่สภาพแวดล้อมที่เหล่าสมต่อการแพร่ระบาดคือพื้นที่ที่มีอากาศเย็น และมีความชื้นต่อเนื่อง แต่สภาพแวดล้อมของแหล่งปลูกส้มเหล่านี้อาจจะมีความเย็นและความชื้นไม่แต่ไม่ต่อเนื่องตลอดทั้งปี ทำให้เพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกันไม่สามารถตั้งรกราก และแพร่ระบาดได้ แต่พบการระบาดของเพลี้ยไก่แจ้ส้มเอเชีย ซึ่งเริ่มพบในปี 2555 ซึ่งพบในบางแปลงเท่านั้นและพบในปริมาณที่ไม่มาก ซึ่งขึ้นอยู่กับการจัดการป้องกันกำจัดศัตรูพืชในแต่ละแปลง แปลงที่พบเป็นแปลงที่เกษตรกรทิ้งสวนหรือไม่มีการจัดการกับศัตรูพืชที่ดีพอ ส่วนแปลงศัตรูพืชที่พบทุกแปลงในปริมาณมาก คือ เพลี้ยไฟพริก ซึ่งจัดว่าเป็นศัตรูที่สำคัญมากและพบระบาดทั้งปี โดยจะมีความรุนแรงในช่วงเดือนมกราคม-เมษายนของทุกปี ซึ่งเป็นช่วงที่แล้ง ประกอบกับการผลิตส้มมีหลายรุ่นในแต่ละปี ทำให้ศัตรูพืชระบาดต่อเนื่อง ความรุนแรงขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมและความสมบูรณ์ของอาหาร ส่วนแมลงศัตรูอีกชนิดที่พบมาก คือ แมลงวันผลไม้ ซึ่งพบหลายชนิด แต่ชนิด *B. dorsalis* เป็นชนิดที่พบมากที่สุด และพบทุกสวนที่มีติดตั้งกับดักกาวเหนียว ซึ่งสวนที่พบมากที่สุด คือ แปลงอำเภอแม่สาย 1 และควรจะมีการดำเนินการป้องกันกำจัด ส่วนศัตรูธรรมชาติที่สำคัญและพบตลอดทั้งปี คือ แมลงช้าง และด้วงเต่า ซึ่งควรอนุรักษ์ให้มีการเพิ่มปริมาณอย่างต่อเนื่องเพื่อช่วยลดการระบาดของศัตรูพืช

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเพลี้ยไก่แจ้แอฟริกัน (*T. erytreae*) ในแหล่งปลูกส้มจังหวัดเชียงใหม่ ดำเนินการในแปลงปลูกส้มสายน้ำผึ้งจังหวัดเชียงใหม่ 6 สวน ได้แก่ อำเภอฝาง(2) ไชยปราการ (2) แม่อาย (2) และจังหวัดเชียงราย 3 สวน ได้แก่ อำเภอเมืองเชียงราย (2) และอำเภอแม่สาย (1) รวมทั้งสิ้น 9 สวน จากการเฝ้าระวังในปี 2554-2556 ไม่พบการแพร่ระบาดของเพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกัน แต่พบการระบาดของเพลี้ยไก่แจ้ส้มเอเชีย ซึ่งเป็นชนิดที่พบระบาดในพืชตระกูลส้มในประเทศไทย และเป็นพาหะนำเชื้อแบคทีเรียซึ่งเป็นสาเหตุของโรคกรีนนิ่ง ในการเฝ้าระวังแพร่ระบาดของเพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกันควรจะมีการดำเนินการเป็นช่วงๆ เนื่องจากเป็นศัตรูพืชกักกันร้ายแรงและ เกษตรกรนิยมนำพันธุ์ส้มจากต่างประเทศมาปลูก และมีการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ ส่วนศัตรูพืชอื่นพบว่า เพลี้ยไฟพริก เป็นศัตรูพืชที่สำคัญและมีการระบาดตลอดทั้งปี โดยเฉพาะจะรุนแรงในช่วงฤดูแล้ง และแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera dorsalis* โดยทุกสวน และควรจะมีมาตรการการป้องกันกำจัดอย่างต่อเนื่อง

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ และศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงรายที่ช่วยดำเนินการเก็บกับดักกาวเหนียว คุณสุริยะ เกาะม่วงหมู่ เจ้าหน้าที่วิเคราะห์โครงการ และคุณณิชาพร ฉ่ำประวิง คุณวงษ์สยาม นิสสัย นักวิชาการเกษตร ที่ช่วยดำเนินการจำแนกชนิดแมลงและรวบรวมข้อมูลเบื้องต้น จึงทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

Espinosa, A and A.C.Hodges. 2009. ***Trioza erytreae*.** (online). Available. http://riki.bugwood.org/Trioza_erytreae (5August, 2009)

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 แสดงพิกัดและความสูงจากระดับน้ำทะเลของสวนส้มที่เข้าดำเนินการเฝ้าระวัง ติดตามและตรวจสอบเพลี้ยไก่แจ้ส้ม

ลำดับ	code	ความสูงจากระดับน้ำทะเล(m)	พิกัด
จ.เชียงราย			
1	เมือง 1	391	N19°48'11.8" E099°57'28.7"
2	แม่สาย 1	392	N20°21'35.0" E099°52'47.2"
3	แม่สาย 2	423	N20°24'13.3" E099°52'27.0"
จ.เชียงใหม่			
1	ฝาง 1	549	N19°57'37.9" E099°08'25.2"
2	ฝาง 2	555	N19°56'07.5" E099°07'02.5"
3	แม่อาย 1	504	N20°00'05.8" E099°14'46.2"
4	แม่อาย 2	498	N20°0'04.0" E099°26'22.3"
5	ไชยปราการ 1	534	N19°45'02.2" E099°06'54.6"
6	ไชยปราการ 2	550	N19°45'03.9" E099°06'41.7"

ตารางที่ 2 ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติที่พบบนกับดักจากแปลงส้มที่เข้าดำเนินการเฝ้าระวัง ติดตาม และตรวจสอบเพลี้ยไก่แจ้ส้ม เดือนมกราคม-กันยายน 2554

แปลง	ศัตรูพืช					ศัตรูธรรมชาติ			หมายเหตุ
	เพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกัน	เพลี้ยไก่แจ้ส้มเอเชีย	เพลี้ยไฟ	ผีเสื้อหนอนชอนใบส้ม	แมลงวันผลไม้	แมลงช้าง	แตนเบียน	ด้วงเต่า	
แม่อาย 1	-	-	+	+	+	+	-	+	
แม่อาย 2	-	-	+	+	+	+	-	+	
ฝาง 1	-	-	+	+	+	+	-	+	
ฝาง 2	-	-	+	+	+	+	+	+	
ไชยปราการ 1	-	-	+	+	+	+	-	+	
ไชยปราการ 2	-	-	+	+	+	+	-	+	
เมืองเชียงราย	-	-	+	+	+	+	-	+	
แม่สาย 1	-	-	+	+	+	+	-	+	
แม่สาย 2	-	-	+	+	+	+	-	+	

- = ไม่พบ + = พบ

ตารางที่ 3 ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติที่พบบนกับดักจากแปลงส้มที่เข้าดำเนินการเฝ้าระวัง ติดตาม และตรวจสอบเพลี้ยไก่แจ้ส้ม เดือนตุลาคม 2554 - กันยายน 2555

แปลง	ศัตรูพืช					ศัตรูธรรมชาติ			หมายเหตุ
	เพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกัน	เพลี้ยไก่แจ้ส้มเอเชีย	เพลี้ยไฟ	ผีเสื้อหนอนชอนใบส้ม	แมลงวันผลไม้	แมลงช้าง	แตนเบียน	ด้วงเต่า	
แม่อาย 1	-	+	+	+	+	+	-	+	
แม่อาย 2	-	-	+	+	+	+	+	+	
ฝาง 1	-	-	+	+	+	+	-	+	
ฝาง 2	-	-	+	+	+	+	-	+	
ไชยปราการ 1	-	+	+	+	+	+	-	+	สำรวจถึง ม.ค.55
ไชยปราการ 2	-	+	+	+	+	+	-	+	สำรวจถึง มี.ค.55
เมืองเชียงราย	-	-	+	+	+	+	-	+	
แม่สาย 1	-	-	+	+	+	+	-	+	
แม่สาย 2	-	-	+	+	+	+	-	+	

- = ไม่พบ + = พบ

ตารางที่ 4 ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติที่พบบนกับดักจากแปลงส้มที่เข้าดำเนินการเฝ้าระวัง ติดตาม และตรวจสอบเพลี้ยไก่แจ้ส้ม เดือนตุลาคม 2555 - กันยายน 2556

แปลง	ศัตรูพืช				ศัตรูธรรมชาติ				หมายเหตุ
	เพลี้ยไก่แจ้ส้มแอฟริกัน	เพลี้ยไก่แจ้ส้มเอเชีย	เพลี้ยไฟ	ผีเสื้อหนอนชอนใบส้ม	แมลงวันผลไม้	แมลงช้าง	แตนเบียน	ด้วงเต่า	
แม่อาย 1	-	+	+	-	+	+	-	+	
แม่อาย 2	-	-	+	+	+	+	-	+	
ฝาง 1	-	+	+	+	+	+	-	+	
ฝาง 2	-	+	+	+	+	+	-	+	
เมืองเชียงราย 1	-	-	+	+	+	+	-	+	
เมืองเชียงราย 2	-	-	+	+	+	+	-	+	
แม่สาย	-	-	+	+	+	+	-	+	

- = ไม่พบ + = พบ

การเฝ้าระวังราเขม่าดำ *Urocystis cepulae* Frost ในพื้นที่ปลูกหอมแดง
Surveillance of Smut Fungi: *Urocystis cepulae* Frost in Shallot Plantation

พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ชนินทร ดวงสะอาด
ทิพวรรณ กันหาญาติ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ประเทศไทยส่งออกหอมแดงไปประเทศอินโดนีเซียมีมูลค่า 500 ล้านบาทต่อปี และมีแนวโน้มจะเพิ่มขึ้นในอนาคต ในปี 2552 ประเทศอินโดนีเซียได้แจ้งว่าพบรายงานในประเทศไทยมีเชื้อศัตรูพืชที่เป็นศัตรูกักกันของประเทศอินโดนีเซียคือ ราเขม่าดำ (*Urocystis cepulae*) การนำเข้าจะต้องผ่านการตรวจรับรองและออกใบรับรองสุขอนามัยพืชว่าจะต้องปราศจากรา *U. cepulae* จากประเทศผู้ส่งออก ดังนั้นเพื่อส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ ลดขั้นตอนและระยะเวลาการออกใบรับรอง จึงมีความจำเป็นต้องทำการเฝ้าระวังเชื้อทั้งสองชนิดนี้ในหอมแดงที่จะส่งออกไปประเทศอินโดนีเซียตั้งแต่ในแปลงปลูก โดยทำการสืบค้นข้อมูลและศึกษาลักษณะของรา *U. cepulae* ที่เข้าทำลายหอมแดงและกระเทียม จัดทำคู่มือการสำรวจ ดำเนินการตาม มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (ISPM 6) แนวทางการเฝ้าระวัง คือดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง และสุ่มเก็บตัวอย่างหอมแดง และกระเทียมในแปลงเกษตรกรอย่างเป็นระบบ ในจังหวัดกาญจนบุรี เชียงราย เชียงใหม่ เพชรบูรณ์ บุรีรัมย์ แม่ฮ่องสอน ราชบุรี ลำพูน ลำปาง ศรีสะเกษ และอุตรดิตถ์ ระหว่างเดือนมกราคม 2554 ถึง เดือนกันยายน 2556 รวมทั้งสิ้นจำนวน 393 แปลง จำนวน 235,800 ตัวอย่าง ผลจากการสำรวจไม่ปรากฏรา *U. cepulae* ผลการศึกษานี้สามารถยืนยันได้ว่า แหล่งปลูกหอมแดงและกระเทียมในประเทศไทยไม่มี รา *U. cepulae* จึงสามารถรับรองว่าสินค้าหอมแดงและกระเทียมจากแหล่งปลูกของไทยปลอดจากราเขม่าดำ *U. cepulae* โดยไม่ต้องทำการตรวจรับรองก่อนการส่งออก ทำให้ประหยัดขั้นตอนและเวลาในการออกใบรองรองของกรมวิชาการเกษตร

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-06-00-05-54

คำนำ

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

หอมแดง เป็นพืชผักที่มีการปลูกมากในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ในปี 2554 มีพื้นที่ปลูกหอมแดงเท่ากับ 101,823 ไร่ ผลผลิตเท่ากับ 183,462 ตัน พื้นที่ที่มีการปลูกหอมแดงมากที่สุดคือ จังหวัดศรีสะเกษ โดยมีพื้นที่ปลูกหอมแดงมากที่สุดเท่ากับ 24,972 ไร่ รองลงมาคือ จังหวัดพะเยา อุตรดิตถ์ ลำพูน และเชียงใหม่ ตามลำดับ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2553) โดยผลผลิตส่วนใหญ่ใช้ในประเทศไทยแต่ก็สามารถส่งออกไปในประเทศต่าง ๆ ได้แก่ ประเทศมาเลเซีย อินโดนีเซีย สิงคโปร์ กลุ่มประเทศตะวันออกกลาง เยอรมัน และอังกฤษ (ศูนย์บริการข้อมูลการค้าการลงทุน จังหวัดเชียงใหม่, 2553) ในปี 2553 ประเทศไทยส่งออกหอมแดงแห้ง ประมาณ 179,493 กิโลกรัม มูลค่า 8,022,214 บาท และนาเข้า ปริมาณ 506,135 กิโลกรัม มูลค่า 10,008,103 บาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2553)

หอมแดงเป็นพืชที่มีการปลูกหลักๆ ในพื้นที่ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย โดยมีพื้นที่เพาะปลูกทั้งสิ้น ในปี 2556 เนื้อที่เพาะปลูกหอมแดง รวมทั้งประเทศจำนวน 0.101 ล้านไร่ ผลผลิตหอมแดง รวมทั้งประเทศ จำนวน 0.203 ล้านตัน ลดลงจากปีที่แล้ว จำนวน 2,090 ตัน ผลผลิตต่อไร่ทั้งประเทศ จำนวน 2,009 กิโลกรัม เพิ่มขึ้น จากปีที่แล้ว 15 กิโลกรัม หรือร้อยละ 0.75 สถานการณ์การผลิต เนื้อที่เพาะปลูก ลดลงจากปีที่แล้ว เนื่องจากราคาหอมแดงแห้งใหญ่คละที่เกษตรกรขายได้มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง ตั้งแต่ปี 2554 โดยในปี 2554 ราคาหอมแดงกิโลกรัมละ 23.32 บาท และในปี 2555 ราคากิโลกรัมละ 22.15 บาท จึงไม่จูงใจให้เกษตรกรปลูกเพิ่มขึ้นประกอบกับแรงงานหายาก ส่งผลให้เกษตรกรปรับเปลี่ยนไปปลูกพืชอื่น เช่น จังหวัดศรีสะเกษ เกษตรกรปรับเปลี่ยนไปปลูกพริกและข้าวโพดหวาน และในจังหวัดเชียงใหม่ เกษตรกรปรับเปลี่ยนไปปลูกมันฝรั่ง เป็นต้น สำหรับจังหวัดอุตรดิตถ์เกษตรกร ปลูกหอมแดงแทนหอม

แบ่งมากขึ้น ส่วนผลผลิตต่อไร่ คาดว่าเพิ่มขึ้นหากสภาพภูมิอากาศเอื้ออำนวย อากาศหนาวเย็น ไม่มีโรคและแมลงรบกวน ภาพรวมผลผลิต ลดลงตามการลดลงของเนื้อที่เพาะปลูก โดยพื้นที่ที่มีการปลูกหอมแดงมากที่สุดคือ จังหวัดศรีสะเกษ โดยมีพื้นที่เพาะปลูกทั้งสิ้น 24,972 ไร่ รองลงมาคือ พะเยา อุตรดิตถ์ ลาพูน และเชียงใหม่ ตามลำดับ (ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2556)

ในปี 2556 เนื้อที่เพาะปลูกของกระเทียม รวมทั้งประเทศ จำนวน 77,115 ไร่ ผลผลิตรวมทั้งประเทศจำนวน 78,390 ตัน ผลผลิตต่อไร่ ทั้งประเทศ จำนวน 1,017 กิโลกรัม ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2556)

ในปี 2552 การส่งออกหอมแดงและกระเทียมไปประเทศอินโดนิเซียต้องปลอดจากโรคราเขม่าดำสาเหตุเกิดจาก *U. cepulae* เนื่องจากราชนิดนี้เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศอินโดนีเซีย จากการสืบค้นข้อมูลในประเทศไทย.มีรายงานพบรา Onion smut ในหอมหัวใหญ่ ทำให้การส่งออกหอมแดงไปประเทศอินโดนิเซียจะต้องผ่านการตรวจวินิจฉัยโรคราเขม่าดำจากกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช โดยมีการส่งตัวอย่างหอมแดงและกระเทียมมาตรวจจำนวน 424 ตัวอย่าง ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ – พฤษภาคม 2552 ผลการตรวจไม่พบราเขม่าดำ พบแต่รา *Aspergillus niger* เป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นการศึกษาการเฝ้าระวังรา *U. cepulae* ในพื้นที่ปลูกหอมกระเทียม เพื่อการส่งออก จึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการสำรวจในพื้นที่ปลูกพืชหอมแดง หอมหัวใหญ่ และกระเทียม เพื่อติดตามสถานการณ์ของโรคนี้ว่ามีปรากฏ หรือไม่ปรากฏในประเทศไทย เพื่อประโยชน์ต่อการส่งออกหอมและกระเทียมในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างได้แก่ ถุงพลาสติก กระดาษบันทึก ปากกาเคมี เครื่องระบุพิกัด กระดาษหนังสือพิมพ์

2. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อ

3. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง ขวดดูแรน บิกเกอร์ สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์ กระบอกตวง แท่งแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์

4. เข็มเขี่ยปลายแหลม ห่วงถ่ายเชื้อ ปากคีบ ใบมีดผ่าตัด มีด

5. กล้องจุลทรรศน์แบบ compound, stereo, camera lucida พร้อมกล้องถ่ายภาพ

6. อาหารแยกและเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ water agar (WA) และ potato dextrose agar (PDA)

7. สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ ได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ และ เอธิลแอลกอฮอล์ 75%

8. อุปกรณ์ทำตัวอย่างแห้ง เช่น กระดาษหนังสือพิมพ์ ไม้อัดตัวอย่าง กระดาษฟาง ซองกระดาษสำหรับใส่ตัวอย่าง

วิธีการ

1.สืบค้นข้อมูลลักษณะของราเขม่าดำ *Urocystis cepulae* ได้แก่ รายละเอียดของเชื้อ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง และลักษณะอาการของราเขม่าดำของหอมแดงและกระเทียม พร้อมรูปภาพและจัดทำคู่มือการสำรวจราเขม่าดำ

2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ พร้อมบันทึกข้อมูลชื่อเกษตรกร สถานที่ วันที่เก็บ และข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์ เก็บตัวอย่างโรคไว้ในกล่องเก็บความเย็น นำตัวอย่างมาศึกษาลักษณะอาการในห้องปฏิบัติการ จัดเก็บโรคพืชที่แสดงอาการที่ใบอัดทับเป็นตัวอย่างแห้งและเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ ฯ

3. การสำรวจ กำหนดพื้นที่แหล่งปลูกหอมและกระเทียมในเขตภาคเหนือ (เชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน แม่ฮ่องสอน อุตรดิตถ์และพะเยา) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ศรีสะเกษ ชัยภูมิ บุรีรัมย์ และสุรินทร์) และภาคกลาง (เพชรบูรณ์และราชบุรี) วางแผนการสำรวจอย่างมีระบบสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง ในพื้นที่อย่างน้อย 20 ไร่ แบ่งพื้นที่ออกเป็น 4 ส่วนๆละประมาณ 5 ไร่ แต่ละพื้นที่สุ่มเก็บตัวอย่าง 20 จุด รวม 20 กิโลกรัม โดยจะสำรวจครอบคลุมในพื้นที่ประมาณ 5-10% ของแหล่งปลูกหอมแดงแต่ละอำเภอ การสำรวจในแปลงของเกษตรกร แต่ละแปลงเดินตามเส้นทแยงมุม ทุกๆ 10 ก้าว

การกำหนดพื้นที่สำรวจ ภาคเหนือ ได้แก่

อำเภอบ้านโฮ่ง อำเภอลี้ อำเภอป่าซาง จังหวัดลำพูน

อำเภอดอยสะเก็ด อำเภอสันป่าตอง อำเภอแม่วาง อำเภอไชยปราการ อำเภอฝาง อำเภอแม่แตง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่

อำเภอเวียงป่าเป้า อำเภอแม่จัน จังหวัดเชียงราย

อำเภอวังเหนือ จังหวัดลำปาง

อำเภอปางมะผ้า อำเภอแม่สะเรียง อำเภอสบเมย อำเภอแม่ลาน้อย อำเภอขุนยวม จังหวัดแม่ฮ่องสอน

การกำหนดพื้นที่สำรวจ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือเหนือ ได้แก่

อำเภอเมือง อำเภอหนองหงส์ อำเภอชำนิ จังหวัดบุรีรัมย์

อำเภอวังหิน อำเภอยางชุมน้อย อำเภอราษีไศล อำเภอราศีไศล อำเภออุทุมพรพิสัย จังหวัดศรีสะเกษ

การกำหนดพื้นที่สำรวจ ภาคกลาง ได้แก่

อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี

อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี

อำเภอหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์

4. วิธีการตรวจของราเขม่าดำ *U. cepulae* ในแปลงปลูกหอมแดง

การศึกษาชนิดของราเขม่าดำ ให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ในข้อที่ 1 บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่าง และนำมาตรวจดูโดยตรงด้วยตาเปล่าเพื่อแยกลักษณะอาการที่เป็นโรคต่าง ๆ แล้วนำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักพืช

5. การศึกษาราเขม่าดำ

5.1 ศึกษาราเขม่าดำโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช (Direct observation)

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

5.2 การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี ลักษณะของสปอร์ สี ขนาด ชนิดของ fruiting body และถ่ายภาพราจากกล้องจุลทรรศน์ (Benson, 1998) ศึกษาลักษณะผิวขอสปอร์จากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด นำลักษณะของราดังกล่าวเปรียบเทียบกับคู่มือการจัดจำแนกชนิดราเขม่าดำ ที่ใช้กันทั่วไปได้แก่ Vánky (2002)

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น – สิ้นสุด
ตุลาคม 2553 – กันยายน 2556 **รวม** 3 **ปี**

สถานที่
- แหล่งปลูกหอมแดง ในเขตภาคกลาง ภาคเหนือ ตะวันออกเฉียงเหนือ
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช
- สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1.สืบค้นข้อมูลลักษณะของราเขม่าดำ *U. cepulae*

สืบค้นข้อมูลลักษณะของราเขม่าดำ *U. cepulae* ได้แก่ รายละเอียดของเชื้อ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง และลักษณะอาการของโรค พร้อมรูปภาพรูปภาพสีของโรค และรายละเอียดของศัตรูพืชชนิดอื่นที่คล้ายคลึงกับศัตรูพืชเป้าหมาย (รูปที่ 1, 2)

รายละเอียดของราเขม่าดำ (Babadoost, 1990; Vánky, 1994; Walker, 2001; Vánky and Shivas 2008) ดังนี้

Common name and scientific name

Scientific name:	*Urocystis cepulae* Frost
Synonyms:	= *Tuburcinia cepulae* (Frost) Liro
	= *Urocystis colchici* var. *cepulae* Cooke
	= *Urocystis magica* G. Passerini
Phyllum	Basidiomycota
Order	Urocystales
Family	Urocystaceae

ลักษณะของเชื้อ

Sori เกิดอยู่ภายใต้ผนังชั้นนอกใน pustule หรือเป็นรอยขีดตามยาว ภายในประกอบด้วยกลุ่มผงสปอร์ลักษณะคล้ายผงแป้งสีน้ำตาลดำรวมตัวกัน

Spore รูปร่างกลมรูปร่างกลมถึงรูปรีตรงกลางกว้าง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 11-14 ไมครอน สีน้ำตาลแกมแดง ผนังเรียบ (รูปที่ 2ก) มี sterile cells ล้อมรอบ (รูปที่ 1ค, 2ก, 2ข)

Spore balls สปอร์เดี่ยว ๆ รวมตัวเกาะกันเป็นกลุ่ม รูปร่างกลมถึงรูปรีตรงกลางกว้าง มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 14-22 ไมครอน ล้อมรอบด้วยชั้นของ sterile cells บาง ๆ ขนาด 4-6 ไมครอน (รูปที่: 2ข)

พืชอาศัย *Allium* ได้แก่ หอมแดง (*Allium ascalonicum*) หอมใหญ่ (*A. cepa*), *A. porrum* กระเทียม (*A. sativum*)

ลักษณะอาการ พบอาการครั้งแรกในระยะสร้างใบเลี้ยง เกิดเป็นจุดสีเข้ม หนา ขยายใหญ่ขึ้นและแตกเป็นรอยยาว ภายในประกอบด้วยกลุ่มของสปอร์สีเข้มอัดกันอยู่ตรงบริเวณที่ใบด้านล่าง ทำให้พืชตายได้หลังจากราเข้าทำลายประมาณ 3-4 อาทิตย์ แต่ถ้าสามารถเจริญต่อไปได้จะทำให้ใบสั้น เปราะ บิดเบี้ยว เกิดเป็นรอยแผลเป็นทางยาว และสปอร์สามารถเข้าทำลายที่หัวด้วย ทำให้หัวหอมแคระแกร็น (รูปที่ 1ก, รูปที่ 3 และ รูปที่ 4)

การเข้าทำลาย ราเข้าทำลายพืชในระยะต้นกล้า โดยเฉพาะต้นอ่อน ต้นพืชตายภายใน 3-4 อาทิตย์หลังจากงอก ถ้าสามารถเจริญต่อไปได้ ต้นพืชจะแคระแกร็น ใบบิด (Maude, 2006)

การแพร่ระบาด แพร่ระบาดโดยลม ฝน ติดไปกับดิน และเศษซากพืช ไม่สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดพันธุ์ได้ แต่ spore balls สามารถปนเปื้อนในเมล็ดหอม อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเข้าทำลายพืชอยู่ระหว่าง 13-22 องศาเซลเซียส และในฤดูใบไม้ผลิช่วงที่มีความชื้นสูง จะทำให้ต้นกล้าเจริญช้า ใบของหอมเจริญอยู่ใต้ดินเป็นระยะเวลานาน ทำให้ราสามารถเข้าทำลายพืชได้ และถ้าปลูกหอมในดินระยะลึกเกินไปก็จะทำให้ราเข้าทำลายได้เช่นกัน

เขตแพร่กระจาย ราเขม่าดำของหอมแดง หอมหัวใหญ่และกระเทียมแพร่กระจายอยู่ในยุโรป แอฟริกา แคนาดา ชิลี เม็กซิโก อียิปต์ โมร็อคโค เปอร์โตริโก ออสเตรีย เซ็นต์ลูเซีย เบลเยี่ยม อังกฤษ ไอร์แลนด์เหนือ บัลกาเรีย เช็คโกสโลวาเกีย เดนมาร์ก ฟินแลนด์ สวีเดน นอร์เวย์ โปแลนด์ โรมาเนีย สวิสเซอร์แลนด์ ยูโกสลาเวีย ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ และเปรู ประเทศเอเชีย ได้แก่ จีน อินเดีย อิหร่าน อิรัก ญี่ปุ่น (เมืองฟูจิโอกะ) เกาหลี เนปาล ฟิลิปปินส์ ประเทศไทย

2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

จากการสำรวจโรคราเขม่าดำของหอมแดงและกระเทียมในภาคกลางภาคเหนือและตะวันออกเฉียง เหนือ ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี เชียงราย เชียงใหม่ เพชรบูรณ์ บุรีรัมย์ แม่ฮ่องสอน ราชบุรี ลำพูน ลำปาง ศรีสะเกษ และอุตรดิตถ์ ช่วงเดือนมกราคม 2554 ถึงเดือนกันยายน 2556 ทำการสำรวจทั้งหมดจำนวน 393แปลง จำนวน 235,800 ตัวอย่าง โดยครอบคลุมในพื้นที่กำหนด ได้บันทึกข้อมูลชื่อเกษตร สถานที่ วันที่ และข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์ ตามแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ (รูปที่ 5)

3. การสำรวจ

จากการสำรวจโรคราเขม่าดำของหอมแดงและกระเทียมในภาคกลางภาคเหนือและตะวันออกเฉียง เหนือ ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี เชียงราย เชียงใหม่ เพชรบูรณ์ บุรีรัมย์ แม่ฮ่องสอน ราชบุรี ลำพูน ลำปาง ศรีสะเกษ และอุตรดิตถ์ ระหว่างเดือนมกราคม 2554 ถึง เดือนกันยายน 2556 รวมทั้งสิ้นจำนวน 393 แปลง จำนวนทั้งหมด 235,800 ตัวอย่าง โดยครอบคลุมในพื้นที่กำหนด และสุ่มเก็บตัวอย่างหอมแดง (ภาพที่ 6) ตรวจหาโรคราเขม่าดำที่จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 65 แปลง เชียงราย จำนวน 28 แปลง ลำปาง จำนวน 13 แปลง ลำพูน จำนวน 17 แปลง แม่ฮ่องสอน จำนวน 31 แปลง อุตรดิตถ์ จำนวน 25 แปลง เพชรบูรณ์ จำนวน 20 แปลง ศรีสะเกษ จำนวน 54 แปลง และ บุรีรัมย์ จำนวน 27 แปลง ราชบุรี จำนวน 10 แปลง และ กาญจนบุรี จำนวน 5 แปลง รวมทั้งหมด จำนวน 295 แปลง

สุ่มเก็บตัวอย่างกระเทียมมาตรวจหาโรคราเขม่าดำที่จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 55 แปลง เชียงราย จำนวน 20 แปลง แม่ฮ่องสอน จำนวน 23 แปลง รวมทั้งหมด 98 แปลง

การสุ่มเก็บตัวอย่างหอมแดงและกระเทียมเพื่อนำไปตรวจหาโรคราเขม่าดำนั้นจะทำการซื้อต้นหอมจากเกษตรกร ในแต่ละแปลง จำนวนแปลงละ 20 กิโลกรัม (รูปที่ 7)

4. วิธีการตรวจของราเขม่าดำ *U. cepulae* ในแปลงปลูกหอมแดง

เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกราย ละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษ และมาตรวจดูโดยตรงด้วยตาเปล่าเพื่อแยกลักษณะอาการที่เป็นโรคต่าง ๆ แล้วนำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักพืช

ผลการสำรวจและตรวจหาโรคราเขม่าดำในหอมแดงและกระเทียม ทั้งส่วนที่ใบจากการสุ่มเก็บตัวอย่างหอมแดง จำนวน 393 แปลง และมาตรวจหาโรคราเขม่าดำพบว่าไม่ปรากฏโรคราเขม่าดำบนทุกส่วนของหอมแดงกระเทียม แต่ในการสำรวจครั้งนี้พบการระบาดของโรคของหอมแดงดังนี้ โรคแอนแทรคโนส และโรคหอมเลื้อย สาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum gloeosporioides* พบระบาดที่จังหวัดศรีสะเกษ บุรีรัมย์ และเชียงใหม่ โรคใบจุดสีม่วง (Purple Blotch) สาเหตุเกิดจากรา *Alternaria porri* พบระบาดที่จังหวัดเชียงใหม่ โรคหัวและรากเน่า สาเหตุเกิดจากรา *Sclerotium rolfsii* พบระบาดที่จังหวัดศรีสะเกษ บุรีรัมย์ และเชียงใหม่ โรครากปมสาเหตุเกิดจากไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* พบระบาดที่จังหวัดบุรีรัมย์ โรคเน่าเละ (Soft Rot) สาเหตุเกิดจากแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* พบระบาดที่จังหวัดแม่ฮ่องสอน และอุตรดิตถ์ โรคราดำ (Black Mold) พบระบาดสาเหตุเกิดจาก *Aspergillus niger* ที่จังหวัดศรีสะเกษ บุรีรัมย์ อุตรดิตถ์ และเชียงใหม่ ซึ่งเชื้อชนิดนี้มีลักษณะคล้ายราเขม่าดำ เพราะมีลักษณะคล้ายผงสีดำเหมือนกัน แต่ราดำเข้าทำลายพืชในช่วงใกล้เก็บเกี่ยวและภายหลังการเก็บเกี่ยว ตลอดจนทำความเสียหายในช่วงการขนส่งหรือช่วงเก็บรักษารอจำหน่าย และพบการระบาดของโรคของกระเทียม ดังนี้ โรคใบจุดสีม่วง (Purple Blotch) สาเหตุเกิดจากรา *Alternaria porri* พบระบาดที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และแม่ฮ่องสอน โรคใบไหม้ (*Stemphylium* Leaf Blight) สาเหตุเกิดจากรา *Stemphylium vesicarium* พบระบาดที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และแม่ฮ่องสอน โรคหัวและรากเน่า สาเหตุเกิดจากรา *Sclerotium rolfsii* พบระบาดที่จังหวัดเชียงใหม่

และเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

5. การศึกษาราเขม่าดำ

จากการเก็บตัวอย่างลักษณะอาการคล้ายราเขม่าดำ เป็นลักษณะอาการแผลและมีลักษณะเป็นผงสปอร์สีดำบนใบและหัวของหอมแดง (รูปที่ 8ก) มาศึกษาในห้องปฏิบัติการภายใต้กล้องจุลทรรศน์ compound microscope พบว่าราชนิดนี้สร้าง conidiophores มีส่วนฐานเป็น foot cell ส่วนปลายโป่งเป็น vesicle ที่มี phialide เกิดอยู่บน vesicle นี้ หรือเกิดอยู่บน metulae ที่อยู่บน vesicle conidia เกิดบน phialides ต่อกันเป็นลูกโซ่ ซึ่งแตกต่างจากลักษณะของราเขม่าดำ

จากการศึกษาการจำแนกชนิดของราครั้งนี้ จำแนกชนิดเป็นรา *Aspergillus niger* van Tieghem ซึ่งมีลักษณะดังนี้:

conidial head สีดำ ลักษณะ radiate (รูปที่ 8ค, 8ง) แต่จะแตกและมีลักษณะเป็นแบบ columnar เมื่อแก่ (รูปที่ 8ข)

conidiophores มีผนังเรียบ ไม่มีสีจนถึงสีน้ำตาลอ่อน ยาว 540 ไมครอน จนถึง 1 มิลลิเมตร มีสีน้ำตาลอ่อน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10-14 ไมครอน

vesicle รูปร่างกลมจนถึงค่อนข้างกลม ผนังหนา ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50-100 ไมครอน

philide มีขนาด 7-10 x 2.3-3.3 ไมครอน เรียงเกิดอยู่บน metulae ลักษณะเป็นแบบ biseruate ไม่มีสีหรือสีน้ำตาล รูปร่างยาวเรียงอัดกันแน่น มีขนาด 10-20 x 2.8-3.5 ไมครอน และ phialide ขนาด 7-10 x 2.3-3.3 ไมครอน

conidia มีเซลล์เดียว รูปร่างกลม สีน้ำตาลอ่อนจนถึงน้ำตาลเข้ม ผนังมีหนามขรุขระ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.0-4.0 ไมครอน เกิดเรียงเป็นลูกโซ่ต่อกัน เกิดบน philide รูปร่างสั้น (รูปที่ 8ง) แต่ในบางครั้งพบเกิดรวมกันเป็นกลุ่ม

เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่าราสามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Czapek agar โคโลนีเจริญเร็ว ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส อายุ 14 วัน มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5-5.9 เซนติเมตร โคโลนีสีน้ำตาลดำ และมีเส้นใยสีเหลือง reverse สีเหลืองครีม สีเหลืองหรือสีส้ม การจำแนกชนิดของราสาเหตุโรคราดำของหอมแดงจำแนกชนิดเป็นรา *A. niger* ลักษณะต่าง ๆ ของราที่จำแนกนี้มีลักษณะเหมือนกับรา *A. niger* ซึ่ง Samson *et al*. (2002) ได้ศึกษาไว้มีขนาดแตกต่างกันเล็กน้อยแต่มีลักษณะที่สำคัญของสปอร์เหมือนกัน

จากการจำแนกชนิดราที่พบในการสำรวจโรคครั้งนี้พบโรคราดำที่ใบ และที่หัวหอมแดง พบว่าสาเหตุของโรคนี้คือรา *A. niger* ซึ่งมีลักษณะแตกต่างกับราเขม่าดำ *U. capulae* โดยมีขนาดของสปอร์แตกต่างกันมาก (รูปที่ 8ช และ 8ซ) (ตารางที่ 2) จากการศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาลักษณะผิวของสปอร์ของรา *A. niger* โดยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดพบว่าลักษณะของสปอร์รา *A. niger* มีผนังขรุขระ ลักษณะเป็นหนาม (รูปที่ 8ฉ) จากการสำรวจครั้งนี้พบโรคราดำสาเหตุเกิดจาก รา *A. niger* ไม่ปรากฏพบราเขม่าดำ *U. capulae*

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการสำรวจโรคราเขม่าดำของหอมแดงและกระเทียมในภาคกลางภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี เชียงราย เชียงใหม่ เพชรบูรณ์ บุรีรัมย์ แม่ฮ่องสอน ราชบุรี ลำพูน ลำปาง ศรีสะเกษ และอุตรดิตถ์ ระหว่างเดือนมกราคม 2554 ถึง เดือนกันยายน 2556 รวมทั้งสิ้นจำนวน 393 แปลง รวมทั้งสิ้นจำนวน 393 แปลง จำนวนทั้งหมด 235,800 ตัวอย่าง โดยครอบคลุมในพื้นที่กำหนดและสุ่มเก็บตัวอย่างหอมแดงตรวจหาโรคราเขม่าดำที่จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 65 แปลง เชียงราย จำนวน 28 แปลง ลำปาง จำนวน 13 แปลง ลำพูน จำนวน 17 แปลง แม่ฮ่องสอน จำนวน 31 แปลง อุตรดิตถ์ จำนวน 25 แปลง เพชรบูรณ์ จำนวน 20 แปลง ศรีสะเกษ จำนวน 54 แปลง และ บุรีรัมย์ จำนวน 27 แปลง ราชบุรี จำนวน 10 แปลง และ กาญจนบุรี จำนวน 5 แปลง รวมทั้งหมด จำนวน 295 แปลง สุ่มเก็บตัวอย่างกระเทียมมาตรวจหาโรคราเขม่าดำที่จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 55 แปลง เชียงราย จำนวน 20 แปลง แม่ฮ่องสอน จำนวน 23 แปลง รวมทั้งหมด 98 แปลง พบว่าไม่ปรากฏโรคราเขม่าดำในทุกแปลงของหอมแดงและกระเทียมที่ทำการสำรวจ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นักวิชาการจากศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ และ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตบุรีรัมย์ กรมวิชาการเกษตร รวมทั้งเกษตรอำเภอยางชุมน้อย เกษตรอำเภอวังหิน เกษตรอำเภอราษีไศล จังหวัดศรีสะเกษ เกษตรอำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ เกษตรอำเภอบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน เกษตรอำเภอสบเมย จังหวัดแม่ฮ่องสอน กรมส่งเสริมการเกษตร ที่ให้ความร่วมมือและช่วยเหลือในการติดต่อเกษตรกรปลูกหอมเพื่อการขอสำรวจโรคราเขม่าดำในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

นิตยา กันหลง. 2545. สมุดภาพโรคสำคัญของพืชสกุลหอมกระเทียมในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกองโรคพืชและจุลชีววิทยาปี 2545. 33 หน้า.

บรรเจิด คติการ. 2495. การปลูกหอมฝรั่ง. กสิกร 25 (5): 396-402.

พัฒนา สนธิรัตน์ ประไพศรี พิทกษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิ์รงค์ วิรัช ชูบำรุง และ อุบล คือประโคน. 2542. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 284 หน้า.

วารสารพยากรณ์ผลผลิตการเกษตร ปีที่ 25 ฉบับที่ 3 เดือน กันยายน 2553 สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร

ศูนย์บริการข้อมูลการค้าการลงทุน จังหวัดเชียงใหม่. 2553. สำนักงานพาณิชย์จังหวัดเชียงใหม่. เดือนธันวาคม 2553.

วารสารการพยากรณ์ผลผลิตการเกษตร ปีเพาะปลูก 2555/56 ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจ การเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เดือนกันยายน 2555.

Babadoost, M. 1990. Onion smut. Report on Plant Disease No. 933, ITCS, University of Illinois P345.

Benson, H.J. 1998. Fungi: Yeasts and Molds. P. 40-45. *In* Microbiological Applications Laboratory: Complete Version Lab Manual (Manual in General Microbiology) by the McGraw-Hill Companies, USA.

Githur, C. *Urocystis cepulae*, Image ID 5412 Photo/illustration by: FAO in collaboration CABI . http://ecoport.org/ep?SearchType=pdb&PdbID=5412

Kálmán, V. 1992. European Smut Fungi. Printed and bound by Friedrich Pustet, Regensburg, Germany. 570 pp.

Kálmán, V. and R. Shivas. 2008. Fungi of Australia : The Smut Fungi. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia. 267pp.

Mackie, A.E., and S.J. McKirdy. 2002. *Sclerotium cepivoru*, *Puccinia porri* and *Urocystis cepulae* not detected in Western Australia. Australasian Plant Pathology, 31: 309-310.

Maude, R.B. 2006. Onion Diseases. P. 491-520 *In* B.M. Cooke, D. Gareth Jones and B. Kaye (eds), The Epidemiology of Plant Diseases, 2nd edition. Springer. Printed in the Netherland.

Mulder JL, Holliday P. 1971. *Urocystis cepulae.* CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, No.298.

Puckdeedindan, P. 1996. A supplementary host list of plant disease in Thailand. Tech. Bull. No. 7, Dept. of Agr., Bangkok. 24 p.

Samson, R, E.S. Hoekstra, J.C.Frisvad, and O. Filtenborg. 2002. Introduction to Food- and Airborne Fungi. CBS, Netherland. 388pp.

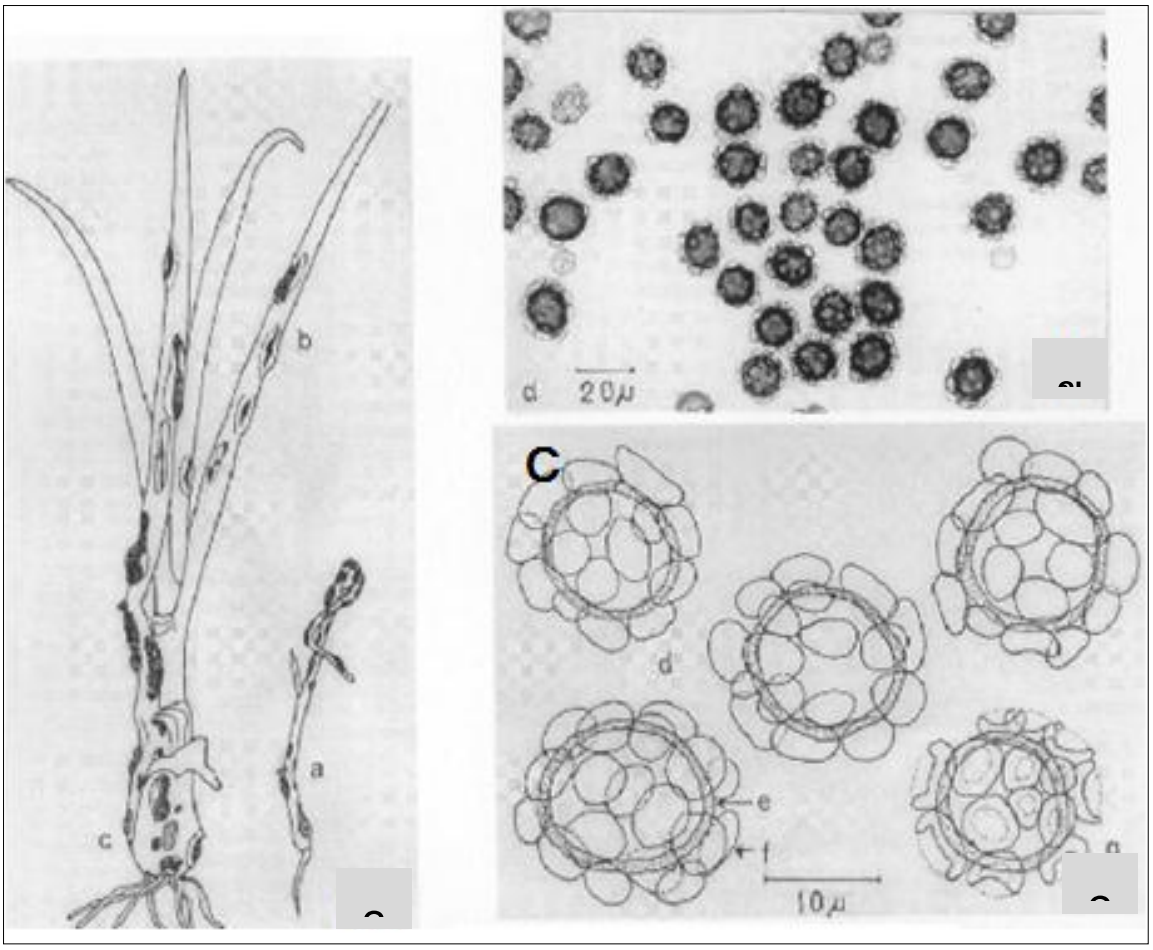
Shivas, R. 2010. *Allium* Smut (*Urocystis magica*) Updated on 12/8/2010 5:32:51 PM Available oline: PaDIL – http://www.padil.gov.au.

Walker, J. 2001. Smuts of Liliales in Australia, *Australas*. Mycol, 20: 61-70

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบลักษณะต่าง ๆ ของรา *Aspergillus niger* และ *Urocystis capulae*

ลักษณะของรา	*Aspergillus niger*	*Urocystis capulae*
Sori	ไม่มี	เกิดอยู่ภายใต้ผนังชั้นนอกใน pustule หรือเป็นรอยขีดตามยาว ภายในประกอบด้วยกลุ่มผงสปอร์ลักษณะคล้ายผงแป้งสีน้ำตาลดำรวมตัวกัน
Spore	เซลล์เดียว รูปร่างกลม สีน้ำตาลอ่อนจนถึงน้ำตาลเข้ม ผนังมีหนามขรุขระ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.0-4.0 ไมครอน เกิดเรียงเป็นลูกโซ่ต่อกัน เกิดบน philide รูปร่างสั้น แต่ในบางครั้งพบเกิดรวมกันเป็นกลุ่ม	รูปร่างกลมรูปร่างกลมถึงรูปรีตรงกลางกว้าง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 11-14 ไมครอน สีน้ำตาลแกมแดง ผนังเรียบ (ภาพที่ 8G)
Spore balls	ไม่มี	สปอร์เดี่ยว ๆ รวมตัวเกาะกันเป็นกลุ่ม รูปร่างกลมถึงรูปรีตรงกลางกว้าง มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 14-22 ไมครอน ล้อมรอบด้วยชั้นของ sterile cells บาง ๆ ขนาด 4-6 ไมครอน (ภาพที่ 8H)

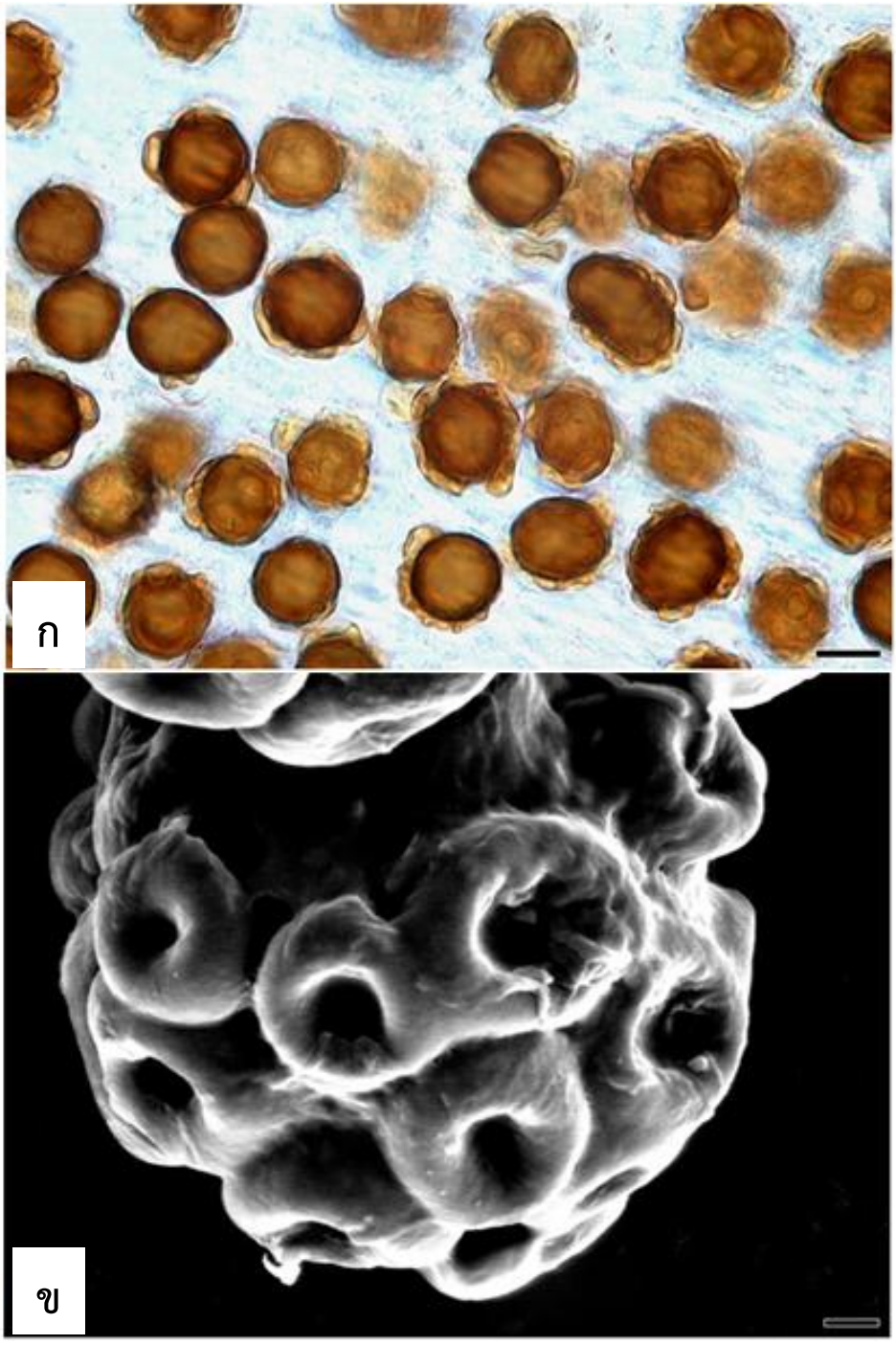


รูปที่ 1: ภาพวาดแสดงลักษณะอาการของโรคและ เชื้อสาเหตุโรคราเขม่าดำ *Urocystis capulae* (ที่มาภาพ: Githur, C : Picture ID 5412 by FAO in collaboration CABI)

ก) sori เกิดอยู่ในใบเลี้ยง

ข) กลุ่มของ spore ball

ค) สปอร์ล้อมรอบด้วย stetile cell



รูปที่ 2 ราเขม่าดำ *Urocystis cepulae* Frost (ที่มาของภาพ: Shivas, 2010)
ก) สปอร์ลักษณะกลม ค่อนข้างกลม รูปคล้ายไข่ มี sterile cells ล้อมรอบ
ข) Spores ball

รูปที่ 3 แสดงอาการโรคราเขม่าดำของหอมแดง (ภาพจาก courtesy R.C. lambe)
ก) แผลที่ใบและที่หัว ภายในมีราสีดำ ลักษณะคล้ายผงฝุ่นอัดรวมตัวกันอยู่
ข) ต้นกล้าหอมแดงที่เป็นโรคราเขม่าดำ

รูปที่ 4 แสดงอาการโรคราเขม่าดำของหอมแดง (ภาพจาก courtesy R.C. lambe)

แบบฟอร์มการสำรวจโรคราเขม่าดำ

ตัวอย่างที่.....**วันที่**.....
ชื่อเกษตรกร.....
ที่อยู่.....
พืช (ชื่อสามัญ).....**ชื่อวิทยาศาสตร์**.....
อายุพืช.....**พันธุ์พืช**.....
สถานที่ปลูก.....
พิกัดภูมิศาสตร์ เส้นรุ้ง.....**เส้นแวง**.....
ความสูงเหนือระดับน้ำทะเล (เมตร).....
ส่วนที่เก็บตัวอย่างลักษณะคล้ายราเขม่าดำ

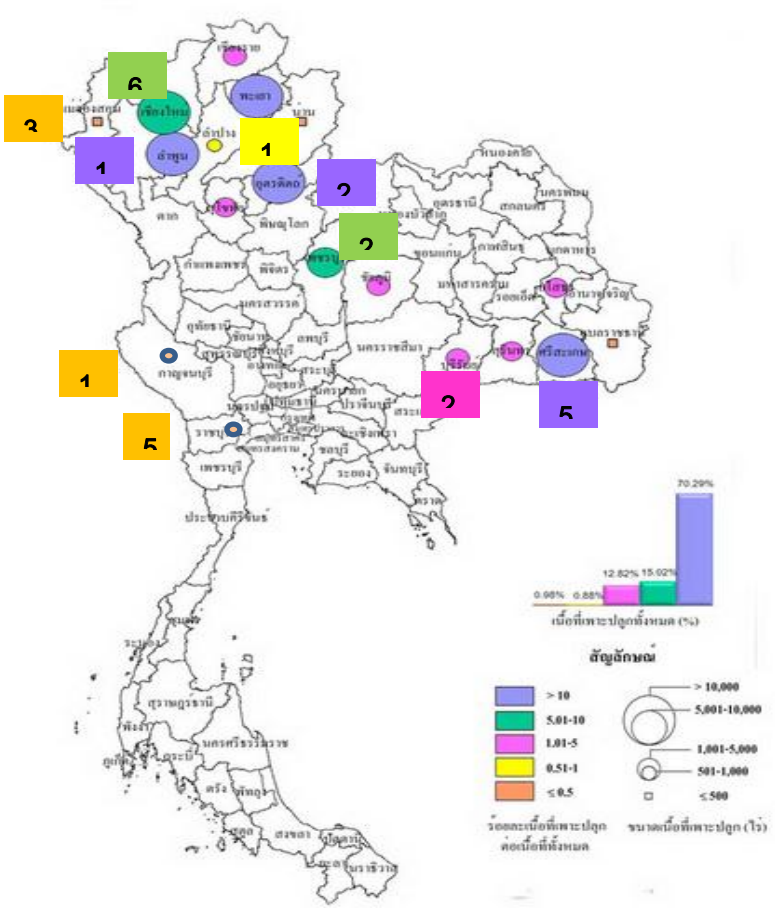
(.....) ต้น (.....) หัว

โรคอื่นๆ ที่พบ

1.....
2.....
3.....
4.....
5.....
6.....
7.....
8.....

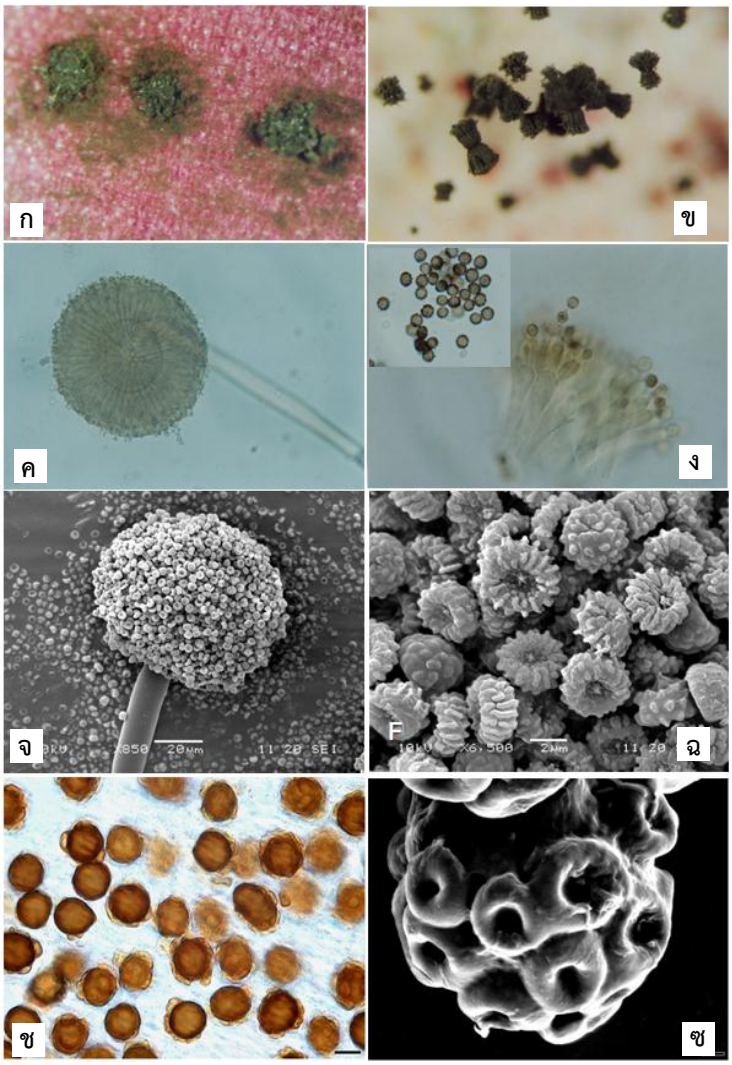
ผู้เก็บตัวอย่าง.....

รูปที่ 5 แบบฟอร์มการสำรวจโรคราเขม่าดำ



รูปที่ 6 ภาพแสดงแหล่งเพาะปลูกหอมแดงในประเทศไทยในปี 2553 และจำนวนแปลงที่สุ่มเก็บตัวอย่างหอมแดงไปตรวจหาโรคราเขม่าดำ (ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร 2553)

รูปที่ 7 การสุ่มและเก็บตัวอย่างหอมแดงที่ จังหวัดศรีสะเกษ เพื่อนำไปตรวจหาราเขม่าดำ



รูปที่ 8 ลักษณะเปรียบเทียบของรา *Aspergillus niger* (ก-ฉ) ที่พบในการสำรวจโรคหอมครั้งนี้ และราเขม่าดำของหอมสาเหตุเกิดจากรา *Urocystis capulae* ภาพจาก Shivas, 2012 (ช และ ซ)

ก) รา *A niger* เจริญอยู่บนหัวหอมแดง

ข) conidial head ลักษณะเป็นแบบ columnar

ค) conidial head ลักษณะเป็นแบบ radiate

ง) conidial head ลักษณะเป็นแบบcolumnar

จ,ฉ) ผนังมีหนามขรุขระ

ช) สปอร์รา *U. capulae*

ซ) spore ball ของรา *U. capulae*

การเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ในพื้นที่ปลูกหอม กระเทียม เพื่อการส่งออก

Surveillance and Epidemiology of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* in Onion and Garlic Plantation for Exportation

ทิพวรรณ กันหาญาติ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล รุ่งนภา ทองเคริง
พรพิมล อธิปัญญาคม
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ในพื้นที่ปลูกหอม และกระเทียม ดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (Specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด ดำเนินการโดยตรวจเอกสารข้อมูลของเชื้อแบคทีเรีย พบว่าไม่มีรายงานการทำให้เกิดโรคของเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* ในหอม กระเทียม หรือในพืชหัว (bulb) แต่พบรายงานการเกิดโรคไหม้ของกระเทียม (blight of leek) และโรคไหม้ของหอมแดง (bacterial blight of shallot) ที่เกิดจากเชื้อ *P. syringae* pv. *porri* ในต่างประเทศ สำหรับประเทศไทย พบรายงานโรคที่เกิดจากแบคทีเรียในหอมและกระเทียม ได้แก่ โรคใบแห้ง (bacterial leaf blight หรือ Xanthomonas blight) ที่เกิดจากเชื้อ *Xanthomonas campestris* และโรคเน่าเละ (soft rot หรือ bacterial soft rot) ที่เกิดจากเชื้อ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* เท่านั้น หาแหล่งปลูกหอมและกระเทียมพร้อมทั้งวางแผนการสำรวจโรค ทำการสำรวจเก็บตัวอย่างหอมแดง หอมหัวใหญ่ และกระเทียม ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2556 ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน ลำปาง แม่ฮ่องสอน ศรีสะเกษ บุรีรัมย์ อุตรดิตถ์ เพชรบูรณ์ และราชบุรี จำนวน 98 ตัวอย่าง นำมาตรวจในห้องปฏิบัติการ ผลการตรวจแยกเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียที่สร้างสารเรืองแสงบน King's medium B ได้จำนวน 42 ไอโซเลท เมื่อทดสอบด้วย 3% KOH และคุณสมบัติทางชีวเคมี Arginine dihydrolase test พบว่าเชื้อแบคทีเรียทุกไอโซเลทเป็นแบคทีเรียแกรมลบ สามารถใช้สาร Arginine ได้ ซึ่งเป็นคุณสมบัติของเชื้อ fluorescent Pseudomonas ที่ส่วนใหญ่เป็น saprophyte ไม่ใช่คุณสมบัติของเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* ที่ไม่สามารถใช้สาร Arginine ได้ ยืนยันผลการตรวจโดยเทคนิค PCR โดยใช้ specific primer B1 และ B2 หากเป็นเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* จะปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 752 bp พบว่าแบคทีเรียทั้งหมดไม่ใช่แบคทีเรีย *P. syringae* pv. *Syringae*

รหัสโครงการ 03-04-54-03-06-00-08-54

คำนำ

ในปี 2552 ประเทศอินโดนีเซียได้ออกกฎระเบียบ The Regulation of the Minister of Agriculture No. 18/permentan/OT. 140/2/2008 (Plant Quarantine Requirements and Measures Toward the Importation of Fresh Plant Products in the Form of Fresh Bulb Vegetables into the Territory of Republic of Indonesia) เมื่อวันที่ 26 กุมภาพันธ์ 2551 มีผลบังคับใช้ตั้งแต่เดือนเมษายน 2551 โดยมีข้อกำหนดในการนำเข้าสินค้าพืชสดประเภทพืชหัวกลุ่ม bulb ต้องผ่านการตรวจรับรองและออกใบรับรองสุขอนามัยพืช ประเทศไทยส่งออกหัวหอมไปยังประเทศอินโดนีเซีย มูลค่าประมาณ 300 ล้านบาท เมื่อกฎระเบียบมีผลบังคับใช้ทำให้เกิดปัญหากับการส่งออกหัวหอม เนื่องจากประเทศไทยมีเชื้อศัตรูพืชที่เป็นศัตรูกักกันพืชของอินโดนีเซีย ได้แก่ ราเขม่าดำสาเหตุเกิดจาก *Urocystis cepulae* และแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ทำให้การส่งออกหอมแดงและกระเทียมไปประเทศอินโดนีเซียต้องมีใบรับรองปลอดจากโรคทั้งสองชนิดกำกับไปด้วย จากการสืบค้นข้อมูลบัญชีรายชื่อโรคพืชที่พบในประเทศไทย พบว่าไม่มีรายงานการพบแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ในหอมและกระเทียมในประเทศไทย แต่มีรายงานของ พัฒนาและคณะ (2537) พบแบคทีเรีย *P. syringae* ในพริกไทย เมื่อสืบค้นข้อมูลต่างประเทศ พบว่า CABI (2007) ได้รายงานว่า ในประเทศไทยพบแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ในพืชหลายชนิดได้แก่ มะเขือเทศ พริก พริกไทย ส้มโอ หอมกระเทียม เป็นต้น จากข้อมูลที่สืบค้นดังกล่าวที่ไม่สอดคล้องกันทำให้ไม่ทราบสถานการณ์ในปัจจุบันของแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ในหอมและกระเทียม ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องทำการสำรวจในพื้นที่ปลูกหอม และกระเทียมส่งออก ติดตามสถานการณ์ของโรคนี้ว่ามีในประเทศไทยหรือไม่ ซึ่งเป็นการศึกษาการเฝ้าระวังและการแพร่ระบาดของแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ในพื้นที่ปลูกพืชทั้งสองชนิด เพื่อที่จะรายงานและตีพิมพ์ผลงานเพื่อเป็นการปลดโรคชนิดนี้ออกจากบัญชีรายชื่อโรคในประเทศไทยเพื่อประโยชน์ต่อการส่งออกหอมและกระเทียมในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย

2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven) เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (thermal cycler)

3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น

4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ สกัดดีเอ็นเอ และตรวจสอบด้วย PCR

วิธีการ

แบบการวิจัย การสำรวจแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ในพื้นที่ปลูกหอม และกระเทียม ดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด

ขั้นตอนและวิธีในการวิจัย ดำเนินการตามขั้นตอนต่อไปนี้

1. จัดทำคู่มือการสำรวจ โดยการรวบรวมตัวอย่างอ้างอิงและรูปภาพของโรคของพืชหัว (bulb) ที่เกิดจากแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* เพื่อใช้ในการตรวจสอบอ้างอิงขณะทำการสำรวจและจัดทำข้อมูลศัตรูพืช ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพืชอาศัย อาการของโรค รูปภาพสีของโรค และรายละเอียดของศัตรูพืชชนิดอื่นที่คล้ายคลึงกับศัตรูพืชเป้าหมาย

2. จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ ได้แก่ ชื่อที่อยู่ที่ตั้งของแปลง วันที่สำรวจ ตำแหน่งพิกัดภูมิศาสตร์ (พิกัด GPS) เป็นต้น

3. การสำรวจ โดยกำหนดพื้นที่แหล่งปลูกหอมและกระเทียมในเขตภาคเหนือ (เชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน และพะเยา) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ศรีสะเกษ ชัยภูมิ บุรีรัมย์ และสุรินทร์) และภาคกลาง (อุตรดิตถ์ และเพชรบูรณ์) วางแผนการสำรวจในพื้นที่อย่างน้อย 10 แปลงต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ สุ่มตรวจโรค 5 แถวต่อแปลง กำหนดการตรวจแบบแถวเว้นแถว ทำการสุ่มตรวจทุกเดือนในระหว่างฤดูปลูก

4. วิธีการตรวจแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ในแปลง เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

5. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ

5.1 การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชและเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์

นำตัวอย่างที่เก็บมาหรือสุ่มหัวหอมและกระทียมที่มีลักษณะนิ่มคล้ายจะเน่ามาแยกเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* โดยตัดส่วนของพืชระหว่างรอย ต่อของบริเวณที่เป็นโรคและไม่เป็นโรคเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาด 4 ตร.มม. แต่ละชิ้นตัวอย่างนำมาล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70% นาน 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง หลังจาก surface sterilize แล้วนำมาบดในน้ำกลั่น และ streak บนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร King's medium B บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจสอบการสร้างสารเรืองแสงภายใต้แสง UV คัดเฉพาะโคโลนีที่สร้างสารเรืองแสง (fluorescent pigment) และทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธี streak plate หลายๆ ครั้ง เก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และใน 15% กลีเซอรอล เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการศึกษา

5.2 การทดสอบด้วยสารละลายด่างและคุณสมบัติทางชีวเคมี Arginine dihydrolase test

นำเชื้อบริสุทธิ์ที่สามารถสร้างสารเรืองแสงได้มาเลี้ยงบนอาหาร PSA บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ใช้ลูปเขี่ยเชื้อมากวนในสารละลายด่าง 3% KOH สังเกตที่ปลายลูป หากมีสารเหนียวติดปลายลูปเมื่อยกลูปขึ้น แสดงว่าปฏิกิริยาเป็นบวกเชื้อจะมีการติดสีแบบแกรมลบ หากไม่มีสารเหนียวเกิดขึ้นเชื้อจะมีการติดสีแบบแกรมบวก

นำเชื้อบริสุทธิ์ที่สามารถสร้างสารเรืองแสงได้มาเลี้ยงใน Thornley's medium แล้วปิดทับด้วย paraffin oil ถ้าเป็นเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* จะไม่สามารถใช้สาร Arginine ได้ โดยอาหารจะไม่เปลี่ยนสีจากชมพูเป็นสีแดง

5.3 ยืนยันผลด้วยเทคนิค Polymerase chain reaction (PCR)

สกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัด QIAamp DNA Mini kit (Qiagen, USA) โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร PSA บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แตะเชื้อ 1 ลูป

ละลายในบัฟเฟอร์ ATL ปริมาตร 180 ไมโครลิตร จากนั้นเติมด้วย Proteinase K ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เติมด้วยบัฟเฟอร์ AL ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วเติมด้วย absolute ethanol ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นดูดส่วนผสมทั้งหมดใส่ใน QIAamp Spin Column ที่สวมอยู่บน collection tube นำไปปั่นเหวี่ยงความเร็ว 8000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที เปลี่ยน collection tube ใหม่ แล้วเติมบัฟเฟอร์ AW1 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใน QIAamp Spin Column นำไปปั่นเหวี่ยงความเร็ว 8000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที แล้วเติมบัฟเฟอร์ AW2 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใน QIAamp Spin Column ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 8000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที นำ QIAamp Spin Column ใส่ในหลอด microcentrifuge หลอดใหม่ แล้วเติมด้วยบัฟเฟอร์ AE ปริมาตร 200 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงความเร็ว 8000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที เก็บรักษาไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

ทำปฏิกิริยา PCR โดยใช้ specific primer B1 (5'-CTT TCC GTG GTC TTG ATG AGG-3') และ B2 (5'-TCG ATT TTG CCG TGA TGA GTC-3') หากเป็นเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* จะปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 752 bp ในปฏิกิริยาทั้งหมด 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 1X TopTaq master mix (Qiagen, USA), 0.5 µM ไพรเมอร์ B1 และไพรเมอร์ B2, ดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้น 50-100 ไมโครกรัม และน้ำ นำเข้าเครื่อง Thermal cycler โดยมีขั้นตอนการทำปฏิกิริยาดังนี้ อุณหภูมิแยกสายดีเอ็นเอแม่แบบ (denaturation) ที่ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที 30 วินาที ดีเอ็นเอจับคู่กับดีเอ็นเอแม่แบบ (annealing temperature) ที่อุณหภูมิ 64 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที 30 วินาที สังเคราะห์ดีเอ็นเอต่อจากดีเอ็นเอเริ่มต้น (extension) ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที ทำปฏิกิริยาทั้งหมด 35 รอบ และสังเคราะห์ดีเอ็นเอรอบสุดท้าย (final extension) ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วนำผลผลิตที่ได้มาแยกขนาดด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซีสบน 1.5% agarose gel ใน 0.5X TBE buffer ใช้ดีเอ็นเอมาตรฐาน Gel Pilot 100 bp plus ladder (Qiagen, USA) เป็นตัวเปรียบเทียบ แล้วนำมาผ่านสนามไฟฟ้าที่ความต่างศักย์ 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยสารละลาย ethidium bromide ตรวจสอบดีเอ็นเอโดยนำแผ่นเจลไปส่องดูภายใต้ Gel Documentation UV transilluminator พร้อมทำการบันทึกภาพ

6. เก็บข้อมูลที่ได้ในรูป data sheet เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ทางสถิติ จัดทำรายงานผลการวิจัย

เวลาและสถานที่

ต.ค. 53 – ก.ย. 56 ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และ แปลงปลูกหอมและกระเทียมของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมตัวอย่างอ้างอิงและรูปภาพของโรคของพืชหัว (bulb) ที่เกิดจากแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ตรวจเอกสารข้อมูลของเชื้อแบคทีเรีย และลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ที่พบในหอมและกระเทียม เพื่อใช้ในการตรวจสอบอ้างอิงขณะทำการสำรวจ มีรายละเอียดของเชื้อดังนี้

ชื่อวิทยาศาสตร์	*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* van Hall 1902
Phylum	Proteobacteria
Class	Gammaproteobacteria
Order	Pseudomonadales
Family	Pseudomonadaceae

เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่ต้องการออกซิเจนในการดำรงชีวิต รูปร่างเป็นท่อน ขนาด 0.7-1.2 x 1.5 ไมครอน เคลื่อนที่ได้ มีลักษณะโคโลนีกลม ขอบเรียบ สีขาว สามารถสร้างสารเรืองแสงได้บนอาหาร King's medium B ไม่สามารถใช้สาร Arginine ได้ และไม่สร้างเอนไซม์ oxidase (Holt *et al*., 1994, Schaad *et al*., 2001)

จากการสืบค้นข้อมูลในพืชหัว (corm) พบโรคแกลดิโอลัส สแคป (Gladiolus scab) สาเหตุเกิดจากเชื้อ *P. syringae* อาการเริ่มแรกเป็นจุดกลมสีเหลืองซีด ช้ำน้ำ จากนั้นแผลจะยุบตัวลงและเริ่มเปลี่ยนเป็นสีดำ ขอบแผลนูนขึ้นคล้ายอาการแผลสะเก็ด และมีสารเหนียวสีอำพันไหลออกจากแผล แบคทีเรียสามารถอยู่ข้ามฤดูได้บนหัว (corm) เมื่อนำหัวที่มีเชื้อไปปลูกพบอาการจุดขนาดเล็กสีแดงบนใบ จากนั้นขยายเป็นแผลยุบตัวสีเข้ม หากขยายเป็นบริเวณกว้างทำให้เกิดอาการเน่าเละที่ส่วนของคอหรือโคนต้น (Cornell University, 2001) ไม่มีรายงานการทำให้เกิดโรคของเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* ในหอม กระเทียม หรือในพืชหัว (bulb) แต่พบรายงานการเกิดโรคจากเชื้อ *P. syringae* pv. *porri* ได้แก่ โรคไหม้ของกระเทียม (blight of leek) อาการของโรคบนใบเป็นจุดสีเหลืองช้ำน้ำที่ปลายใบ แผลขยายไปตามความยาวของใบเป็นแถบยาวและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลขอบแผลสีเหลือง ใบบิด และเหี่ยวในที่สุด บนก้านดอกมีอาการช้ำน้ำสีเขียวเข้ม (Samson *et al*., 1998; Koike *et al*., 1999) และโรคไหม้ของหอมแดง (bacterial blight of shallot) อาการบนใบไหม้เป็นสีเหลืองหรือน้ำตาล หากอาการรุนแรงใบจะแห้งเหี่ยวและตายในแปลงปลูก (Myung *et al*., 2012)

สำหรับในประเทศไทย โรคที่เกิดจากแบคทีเรียในหอมและกระเทียมมีรายงานล่าสุดเฉพาะโรคใบแห้ง (bacterial leaf blight หรือ Xanthomonas blight) ที่เกิดจากเชื้อ *Xanthomonas campestris* อาการของโรคเริ่มแรกเป็นจุดขนาดเล็กสีเขียวซีดบนใบหอมหรือกระเทียม ช้ำน้ำในตอนเช้าพอสายแผลแห้งกลายเป็นรูปรีแหลมหัวท้ายขยายใหญ่ไปตามความยาวของใบ เนื้อเยื่อตรงกลางแผลบางโปร่งใสขอบแผลช้ำน้ำ บางครั้งตรงกลางแผลจะแตกเป็นทางยาวหากอาการรุนแรงแผลขนาดใหญ่ทำให้ใบหักพับได้ ต่อมาใบเหี่ยวมีสีเขียวอมเทาเหมือนถูกน้ำร้อนลวก และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อนหรือสีครีมหรือสีขาวในที่สุด เชื้อสามารถเข้าทำลายในทุกระยะการเจริญเติบโต พบระบาดตลอดปี แต่ทำความเสียหายรุนแรงในฤดูฝนและช่วงที่มีน้ำค้างลงจัดในฤดูหนาว และโรคเน่าเละ (soft rot หรือ bacterial soft rot) ที่เกิดจากเชื้อ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* อาการเริ่มแรกเกิดเป็นจุดช้ำน้ำเล็กๆ จากนั้นเชื้อเจริญเติบโตขยายเข้าไปในไส้กลางต้น หัวหอมจะมีอาการนิ่มภายในเมื่อผ่าดูจะเห็นเนื้อเยื่อตรงกลางหัวเน่า มีกลิ่นเหม็น ใบหอมซีดสีขาวครีม หักพับลงทั้งต้นและฟุบติดดิน การเกิดโรคในแปลงปลูกมักเกิดในระยะที่พืชลงหัวโตเต็มที่ใกล้เก็บเกี่ยวแล้ว ระบาดทำความเสียหายรุนแรงในฤดูฝนเพราะเป็นช่วงที่มีความชื้นและอุณหภูมิสูง (นิตยา, 2545)

2. การจัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ ทำการบันทึกรายละเอียดชื่อที่อยู่ของเกษตรกร ที่ตั้งของแปลง วันที่สำรวจ และตำแหน่งพิกัดภูมิศาสตร์ (พิกัด GPS)

3. การสำรวจแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ในพื้นที่ปลูกหอมแดง หอมหัวใหญ่ และกระเทียม ดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด โดยกำหนดพื้นที่แหล่งปลูกหอมหอมแดง หอมหัวใหญ่ และกระเทียมในเขตภาคเหนือ (เชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน และพะเยา) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ศรีสะเกษ ชัยภูมิ บุรีรัมย์ และสุรินทร์) และภาคกลาง (อุตรดิตถ์ และเพชรบูรณ์) วางแผนการสำรวจในพื้นที่อย่างน้อย 10 แปลงต่อพื้นที่ สุ่มตรวจโรค 5 แถวต่อแปลง ทำการสำรวจเก็บตัวอย่างหอมแดง หอมหัวใหญ่ และกระเทียมให้ครอบคลุมในพื้นที่กำหนด ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2556 ในพื้นที่ดังต่อไปนี้

อำเภอบ้านโฮ่ง อำเภอลี้ จังหวัดลำพูน

อำเภอไชยปราการ อำเภอฝาง อำเภอแม่แตง อำเภอแม่อาย อำเภอแม่วาง อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่

อำเภอเวียงป่าเป้า จังหวัดเชียงราย

อำเภอวังเหนือ จังหวัดลำปาง

อำเภอสบเมย อำเภอแม่สะเรียง อำเภอแม่ลาน้อย อำเภอขุนยวม อำเภอปางมะผ้า จังหวัดแม่ฮ่องสอน

อำเภอเมือง อำเภอหนองหงส์ อำเภอชำนิ จังหวัดบุรีรัมย์

อำเภอวังหิน อำเภอยางชุมน้อย อำเภอราษีไศล อำเภออุทุมพรพิสัย จังหวัดศรีสะเกษ

อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์

อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างและซื้อผลผลิตหอมแดง หอมหัวใหญ่ และกระเทียมที่สุ่มได้ในแต่ละแปลงจำนวน 20 กิโลกรัม เพื่อนำไปตรวจหาเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* ทั้งในส่วนของใบและหัวที่แสดงอาการของโรคที่มีลักษณะคล้ายเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในหอม กระเทียม ส่วนใหญ่ทำให้เกิดอาการเน่าและใบไหม้หรือใบช้ำน้ำหากมีความชื้นเพียงพอ และไม่มีรายงานการทำให้เกิดโรคของเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* ในหอมและกระเทียมให้อ้างอิง

4. วิธีการตรวจแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* ในแปลง เนื่องจากไม่มีรายงานการทำให้เกิดโรคของเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* ในหอมและกระเทียมทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคที่มีลักษณะคล้ายเกิดจากเชื้อแบคทีเรียเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลงตามแบบฟอร์ม บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

5. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ เก็บตัวอย่างหอมแดง หอมหัวใหญ่ และกระเทียม ที่หัวมีลักษณะนิ่มคล้ายจะเน่า (รูปที่ 1) หรือใบมีอาการเป็นแผลช้ำน้ำ ได้ตัวอย่างจำนวน 98 ตัวอย่าง นำมาตรวจในห้อง ปฏิบัติการเพื่อแยกหาเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* ผลการแยกเชื้อ พบว่าสามารถแยกเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีสีขาว และสร้างสารเรืองแสงได้บน King's medium B (รูปที่ 2) จำนวน 42 ไอโซเลท เมื่อทดสอบด้วย 3% KOH และคุณสมบัติทางชีวเคมี Arginine dihydrolase test พบว่าเชื้อแบคทีเรียทุกไอโซเลทเป็นแบคทีเรียแกรมลบ สามารถใช้สาร Arginine ได้ ซึ่งเป็นคุณสมบัติของเชื้อ fluorescent Pseudomonas ที่ส่วนใหญ่เป็น saprophyte ไม่ใช่คุณสมบัติของเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* ที่ไม่สามารถใช้สาร Arginine ได้ (Holt *et al*., 1994) ทำการสกัดดี

เอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียทุกไอโซเลทเพื่อนำมายืนยันผลการตรวจโดยเทคนิค PCR โดยใช้ specific primer B1 และ B2 หากเป็นเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* จะปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 752 bp (Sorensen *et al*., 1998) ผลการตรวจไม่พบแถบดีเอ็นเอเป้าหมายขนาดประมาณ 752 bp ในแบคทีเรียทุกไอโซเลท (รูปที่ 3) แบคทีเรียทั้งหมดจึงไม่ใช่แบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* และจากการตรวจตัวอย่างหัวหอมแดงที่สุ่มจากหอมแดงส่งออกไปยังอินโดนีเซียที่นำส่งโดยด่านตรวจพืชลาดกระบัง กลุ่มบริการส่งออกสินค้าเกษตร สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร และด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบัง จังหวัดชลบุรี เพื่อออกใบรับรองปลอดศัตรูพืช (Phytosanitary Certificate; PC) ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ 2552– กุมภาพันธ์ 2556 ผลการตรวจไม่พบเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* และยังไม่มีรายงานการแจ้งเตือนจากประเทศอินโดนีเซียว่าพบเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* ในหัวหอมแดงส่งออกเช่นเดียวกัน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสืบค้นข้อมูลไม่มีรายงานการทำให้เกิดโรคของเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* ในหอมและกระเทียมทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ แต่พบรายงานการเกิดโรคไหม้ของกระเทียม (blight of leek) และโรคไหม้ของหอมแดง (bacterial blight of shallot) ที่เกิดจากเชื้อ *P. syringae* pv. *porri* ในต่างประเทศ

ผลการตรวจตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ พบว่าสามารถแยกเชื้อแบคทีเรียที่สร้างสารเรืองแสงได้บน King's medium B จำนวน 42 ไอโซเลท เมื่อทดสอบด้วย 3% KOH และคุณสมบัติทางชีวเคมี Arginine dihydrolase test พบว่าเชื้อแบคทีเรียทุกไอโซเลทเป็นแบคทีเรียแกรมลบ สามารถใช้สาร Arginine ได้ ซึ่งไม่ใช่คุณสมบัติของเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* ที่ไม่สามารถใช้สาร Arginine ได้ ยืนยันผลการตรวจโดยเทคนิค PCR พบว่าแบคทีเรียทั้งหมดไม่ใช่แบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae* นอกจากนี้ยังตรวจไม่พบเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* จากตัวอย่างหัวหอมแดงที่ส่งออกไปยังอินโดนีเซีย และยังไม่มีรายงานการแจ้งเตือนจากประเทศอินโดนีเซียว่าพบเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* ในหัวหอมแดงส่งออกเช่นเดียวกัน จากข้อมูลนี้สามารถใช้สนับสนุนการออกประกาศการปลอดศัตรูพืช โดย NPPO เพื่อเป็นการปลดเชื้อโรคพืชชนิดนี้ออกจากบัญชีรายชื่อโรคพืชในประเทศไทย เพื่อประโยชน์ต่อการส่งออกหอมและกระเทียมในอนาคต

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นักวิชาการจากศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ และศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตบุรีรัมย์ กรมวิชาการเกษตร รวมทั้งเกษตรอำเภอยางชุมน้อย เกษตรอำเภอวังหิน เกษตรอำเภอราษีไศล จังหวัดศรีสะเกษ เกษตรอำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ เกษตรอำเภอบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน เกษตรอำเภอสบเมย จังหวัดแม่ฮ่องสอน กรมส่งเสริมการเกษตร ที่ให้ความร่วมมือและช่วยเหลือในการติดต่อเกษตรกรเพื่อเข้าสำรวจโรคในแปลงปลูก

เอกสารอ้างอิง

นิตยา กันหลง. 2545. สมุดภาพโรคสำคัญของพืชสกุลหอมกระเทียมในประเทศไทย. เอกสารวิชาการ กองโรคพืชและจุลชีววิทยาปี 2545. 33 หน้า.

พัฒนา สนธิรัตน ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 285 หน้า.

CAB International. 2007. Crop Protection Compendium. Wallingford, UK: CAB International.

Cornell University. 2001. Gladiolus Scab. (Online). Available : http://plantclinic.cornell.edu/factsheets/gladiolusscab.pdf (27 Nov, 2013).

Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley and S.T. Williams. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition. Williams and Wilkins, Baltimore, USA. 376 p.

Koike, S.T., J.D. Barak, D.M. Henderson and R.L. Gilbertson. 1999. Bacterial blight of leek: A new disease in California caused by *Pseudomonas syringae*. *Plant Dis*. 83:165-170.

Myung, I.-S, Y.-K. Lee and H.S. Shim. 2012. Bacterial Blight of Shallot, Caused by *Pseudomonas syringae* pv. *porri*, a New Disease in Korea. *Plant Pathol. J.* 28: 454.

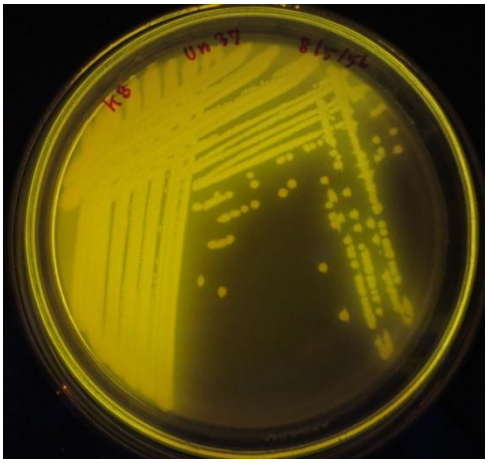
Samson, R., H. Shafik, A. Benjama and L. Gardan. 1998. Description of the bacterium causing blight of leek as *Pseudomonas syringae* pv. *porri* (pv. nov.). *Phytopathol.* 88: 844-850.

Schaad, N.W., J.B. Jones and W. Chun. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. APS Press, Minnessota, USA. 373 p.

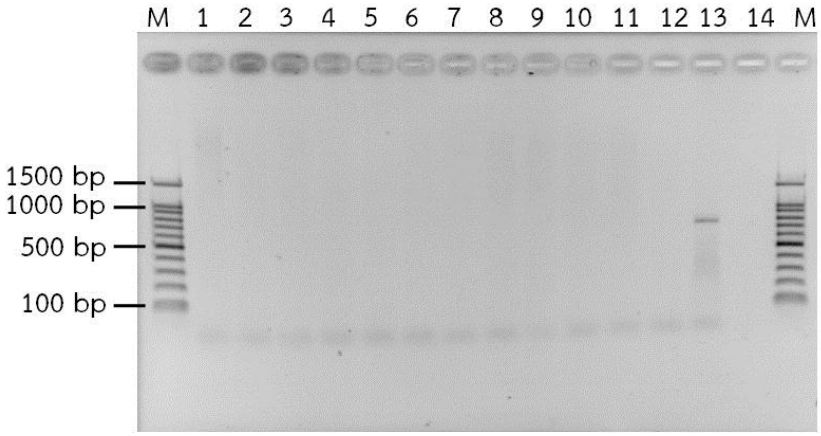
Sorensen, K.N., K.H. Kim and J.K. Takemoto. 1998. PCR detection of cyclic lipodepsinonapeptide-producing *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* and similarity of strains. *Appl. Environ. Microbiol*. 64: 663-666.

ภาคผนวก

รูปที่ 1 ตัวอย่างหอมและกระเทียมที่มีลักษณะนิ่มคล้ายจะเน่า นำมาแยกและตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *syringae*



รูปที่ 2 คัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารเรืองแสงได้บนอาหาร King's medium B มาทดสอบด้วยสารละลายด่างและคุณสมบัติทางชีวเคมี Arginine dihydrolase test



รูปที่ 3 ยืนยันผลด้วยเทคนิค Polymerase chain reaction (PCR) โดยใช้ specific primer B1 และ B2 ไม่พบแถบดีเอ็นเอเป้าหมายขนาดประมาณ 752 bp ของเชื้อ *P. syringae* pv. *syringae* ในทุกตัวอย่างที่ตรวจโดย M คือ Gel Pilot 100 bp plus ladder lane 1-12 คือ แบคทีเรียที่สร้างสารเรืองแสงได้ lane 13 คือ Positive control และ lane 14 คือ dH_2O (negative control)

การเฝ้าระวังการแพร่กระจายโรคไวรัสของมันฝรั่งที่เกิดจากไวรัส Potato virus A(PVA) Potato virus M(PVM) Potato virus T(PVT) Potato virus X(PVX) Potato virus S(PVS) และ Potato leaf roll virus(PLRV)

Survey and Identification of Potato Virus Diseases caused by Potato virus A(PVA) Potato virus M(PVM) Potato virus T(PVT) Potato virus X(PVX) Potato virus S(PVS) และ Potato leaf roll virus(PLRV)

สิทธิศักดิ์ แสไพศาล[1/] ปรียพรรณ พงศาทิชณ์[1/] วิวัฒน์ ภานุอำไพ[2/]

[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตเชียงใหม่ สำนักวิจัยพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

บทคัดย่อ

สำรวจและเก็บตัวอย่างใบมันฝรั่งระหว่างเดือนตุลาคม 2554 ถึงเดือนกันยายน 2556 จากแปลงปลูกของเกษตรกรในพื้นที่ อำเภอแม่อาย ฝาง ไชยปราการ และอำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่, อำเภอแจ้ห่ม จังหวัดลำปาง อำเภอแม่สอดและอำเภอพบพระ จังหวัดตาก โดยคัดแยกเฉพาะอาการคล้ายโรคไวรัสที่มีอาการใบด่าง ใบม้วน มาทำการตรวจสอบและตรวจวินิจฉัยหาเชื้อไวรัส PVA, PVX, PVS และ PLRV ด้วยวิธี GLIFT kit และ NCM-ELISA ส่วนเชื้อไวรัส PVT และ PVM ตรวจด้วยวิธี Indirect ELISA โดยตรวจในห้องปฏิบัติการ จากตัวอย่างทั้งหมดพบการระบาดของโรคไวรัส PLRV ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง อำเภอไชยปราการ อำเภอแม่อายและอำเภอสันทราย จ.เชียงใหม่ ส่วนเชื้อไวรัส PVT, PVM, PVS และ PVX ไม่พบการระบาดในพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-06-00-10-54

คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยได้มีข้อตกลงเปิดการค้าเสรีกับหลายประเทศ มีการวางข้อกำหนดด้านคุณภาพของสินค้า ความปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมมาเป็นข้อกำหนดการนำเข้าสินค้า ดังนั้นแต่ละประเทศจำเป็นต้องมีข้อมูลด้านวิชาการที่ชัดเจนเพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนการเจรจาตกลงในเรื่องข้อกำหนดในแต่ละเรื่อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้อมูลด้านศัตรูพืชและการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืช ที่จะถูกหยิบยกขึ้นมาเป็นเรื่องการกีดกันทางการนำเข้าได้เป็นอย่างดี ในระยะเวลา 5 ปีที่ผ่านมาประเทศไทยได้มีการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งมากกว่าปีละ 8,000-12,000 ตัน จากหลายประเทศ ได้แก่ ประเทศออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา สก๊อตแลนด์ เป็นต้น เนื่องจากประเทศไทยไม่สามารถผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งให้เพียงพอต่อความต้องการของผู้ปลูก แต่จากการนำเข้าหัวพันธุ์จากต่างประเทศมีปัญหาการติดเชื้อไวรัสเข้ามา ได้แก่เชื้อ PVS PVX PVY PLRV ฯลฯ จากการรายงานของ Gray *et.al.* (2003) ได้ทำการสำรวจและประเมินความรุนแรงของโรคใบด่างจาก PVY ในหัวมันฝรั่งใน Maine and New Yoke. โดยสำรวจและเก็บตัวอย่างอาการใบด่างจากต้นมันฝรั่ง จำนวน 1,330 ต้น จาก 90 ฟาร์ม 300 ตัวอย่าง เก็บจากต้นมีอาการด่างอย่างชัดเจน และ 1,030 ตัวอย่าง สุ่มจากต้นทั่วๆ ไป และทำการตรวจทางเซรุ่มวิทยากับแอนติซีรัมของไวรัส 6 ชนิด ได้แก่ PVA PVS PVX PVY PVM และ PLRV ซึ่งในโปรแกรมการผลิตหัวพันธุ์รับรองได้ทำการตรวจสอบไวรัสทั้ง 6 ชนิด เพราะไวรัสทั้ง 6 ชนิดนี้ เป็นเชื้อไวรัสที่พบเสมอในแหล่งปลูกมันฝรั่งในสหรัฐอเมริกา ผลจากการสำรวจพบว่ามีการเข้าทำลายของเชื้อ PVY สูงที่สุดมีการเข้าทำลายถึง 68% และ PVS 61% ส่วน PVX มีเพียง 10% ส่วนไวรัสอื่นๆ มีน้อยกว่า 1% ผลการสำรวจที่ได้นี้มีแนวโน้มใกล้เคียงกับการสำรวจในปี 2002 กิตติศักดิ์และคณะ(2531) ได้ทำการทดลองศึกษาความเสียหายที่เกิดขึ้นกับมันฝรั่งพันธุ์ Kennebec จากการเข้าทำลายของเชื้อ PVY และ PVX ที่เป็นโรคใน 3 อัตรา คือ 65% 41% และ 30% ตามลำดับ พบว่าหัวมันฝรั่งที่เก็บได้จากต้นเป็นโรคจะมีขนาดของหัวเล็กลงมีน้ำหนักโดยเฉลี่ย 30 กรัม ในขณะที่หัวมันที่เก็บได้จากต้นปกติมีน้ำหนักโดยเฉลี่ยเป็น 70 กรัม แต่ผลผลิตโดยรวมตามน้ำหนักต้นเป็นโรคจะได้น้ำหนักน้อยกว่าไม่เป็นโรค ประมาณ 9.67% เมื่อวิเคราะห์ตัวเลขทางสถิติไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่คุณภาพของหัวพันธุ์ที่ได้จากต้นไม่เป็นโรคมีขนาดใหญ่กว่า

ในภาวะปัจจุบันที่ประเทศไทยต้องสั่งหัวพันธุ์จากประเทศต่างๆ เข้ามาจำนวนมากทุกปี จึงจำเป็นต้องเร่งดำเนินการสำรวจ รวมถึงเร่งรวบรวมและหาข้อมูลของเชื้อไวรัสโดยเฉพาะ PVS PVX และ PLRV ให้เป็นปัจจุบัน ว่าเชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิดนี้ยังคงมีปรากฏอยู่ในแหล่งปลูกของประเทศไทยหรือไม่ หากปรากฏว่าสำรวจไม่พบว่ามีอยู่ในประเทศไทยอีกเลย นับว่าเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ที่จะนำมาแจ้งประกาศใน IPPC ว่าเชื้อเหล่านี้ไม่ได้มีอยู่ในประเทศไทยโดยถิ่นกำเนิด และปัจจุบันได้หายไปจากแหล่งปลูกมันฝรั่งของไทยแล้ว จากการที่ไทยมีข้อกำหนดให้มีการติดเชื้อไวรัสมากับหัวพันธุ์ได้ไม่เกิน 0.1% และฝ่ายวิชาการกักพืชมีการตรวจสอบอย่างเข้มงวดจริงจังทำให้หัวพันธุ์ที่นำเข้ามามีคุณภาพดี ปลอดโรคไวรัสมากขึ้น สุรภีและคณะ(2551) ดังนั้นการสำรวจให้ได้ข้อมูลของเชื้อทั้ง 3 ชนิดนี้จะเป็นประโยชน์ในการจัดทำเพื่อเป็นใช้ข้อมูล ในการจัดทำรายชื่อศัตรูพืช (Pest list) และ วิเคราะห์ความเสี่ยง (Pest Risk Analysis) ไวรัสของมันฝรั่ง และเป็นข้อมูลในการป้องกันกำจัดเพื่อการผลิตหัวพันธุ์ปลอดเชื้อไวรัส

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- ตู้แช่แข็ง -80 ^{0}C
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการปลูกเชื้อไวรัส
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA
- พืชทดสอบและพืชอาศัย

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างใบมันฝรั่ง เพื่อใช้ในการตรวจสอบและจำแนกโรคไวรัสของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อไวรัส Potato virus A (PVA) Potato virus M (PVM) Potato virus T (PVT) Potato virus X (PVX) Potato virus S (PVS) และ Potato leaf roll virus (PLRV)

สำรวจและเก็บตัวอย่างอาการใบด่างของมันฝรั่งจากแหล่งปลูกมันฝรั่งของเกษตรกรโดยเก็บตัวอย่างใบจากแปลงปลูกที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้าและแปลงที่ใช้หัวพันธุ์ที่ผลิตในประเทศไทยหรือเก็บใช้เองของผู้ปลูกมันฝรั่ง ใช้หลักการเก็บแบบ grid pattern (Canada/USA PVY-n Management plan) นำมาใช้สุ่มเก็บตัวอย่างในแปลงปลูกมันฝรั่งสำหรับตรวจหาเชื้อไวรัส PVA PVM PVT PVS PVX และ PLRV จะเก็บเฉพาะตัวอย่างที่แสดงอาการที่สงสัยว่าเป็นโรค โดยการเดินสำรวจในแปลงหาต้นเป็นโรคที่มีอาการด่างและอาการใบม้วนงอที่เกิดจากเชื้อ PVS, PVX และ PLRV การเดินแบบ grid pattern จะเดินเป็นรูปตัว U ดูแถวริมตลอดแถวแล้วเดินเว้นไป 10 แถว หรือ 10 เมตร เดินเข้าแถวที่ 10 และ 11 แล้วเดินตลอดแถวมาจนทะลุหัวแถว ขณะเดินสามารถมองสำรวจดูออกไปในรัสมีของแถวที่ 9, 10, 11 และ 12 ได้เป็น 4 แถว เมื่อมาถึงปลายแถวก็เดินขึ้นไปข้างหน้าของแถวที่ยังไม่ได้เดินผ่าน เดินผ่านหัวแถวเว้นไปอีก 10 แถว เดินเข้าระหว่างแถวที่ 20 และ 21 เดินดูได้ อีก 4 แถวคือ 19, 20, 21 และ 22 จึงเดินเป็นรูปตัว U คว่ำหงายชนกันไปตลอดแปลง การเก็บตัวอย่างเลือกเก็บที่มีอาการด่างทุกชนิดที่พบระหว่างการสำรวจ หากมีอาการด่างมากทั้งแปลงให้เก็บโดยเว้นระยะ 3 เมตรต่อ 1 ต้น ในแถวที่เดินผ่านทั้งซ้ายและขวา เพราะอาการใบด่างเกิดจากเชื้อไวรัสได้หลายชนิดจำเป็นต้องเก็บให้มาก ส่วนอาการใบม้วนงอที่มีความชัดเจนอยู่ในต้นว่าเกิดจากเชื้อ PLRV เก็บในลักษณะเดียวกับใบด่าง

2. ตรวจจำแนกด้วยวิธี Nitrocellulose membrane-Enzyme-linked immuno sorbent assay (NCM-ELISA)

นำตัวอย่างใบพืชที่ต้องการตรวจสอบใส่ในถุงพลาสติก เติม Extraction buffer (0.02 M Tris, 0.2 M NaN_3, 0.2% Na_2SO_3, pH 7.5) ในอัตราส่วน (ใบพืช : บัฟเฟอร์ = 1:5) แล้วบดตัวอย่างให้ละเอียด ทำการวางรูปแบบของแผ่น Nitrocellulose membrane (NCM) ขนาด 0.45 µm ชนิด High bone N+ ด้วยการตีเป็นช่องตารางสี่เหลี่ยม (ขนาด 1X1 ตารางเซนติเมตร) ทำเครื่องหมายที่ตารางของตัวแผ่น NCM หัวท้ายเพื่อเรียงลำดับตัวอย่างจาก 1 ถึงตัวอย่างสุดท้าย นำแผ่น NCM พร้อมกับวางกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่ตัดให้มีขนาดพอดีกับแผ่น NCM แช่ใน TBS (0.02M Tris, 0.5 M NaCl, pH 7.5) ประมาณ 5 นาที หลังจากนั้นคีบแผ่นกระดาษกรองเบอร์ 1 ขึ้นมาพร้อมกับแผ่น NCM ที่แช่ไว้ด้วยกัน วางลงบนแผ่นกระดาษกรองแผ่นใหม่ที่แห้งและมีขนาดใหญ่กว่า โดยใช้ pasteur

pipette ที่สะอาดรีดแผ่น NCM ให้แนบติดกับกระดาษกรอง ทำการหยดตัวอย่างน้ำคั้นพืช 1 หยด หรือประมาณ 20-25 ไมโครลิตร ลงในช่องตารางบนแผ่น NCM ตามรูปแบบที่วางไว้ เมื่อหยดตัวอย่างเสร็จแล้วคีบแผ่น NCM ออกมาวางบนกระดาษสะอาดผึ่งไว้ประมาณ 10-20 นาที นำแผ่นตัวอย่างที่แห้งแล้วแช่ลงในกล่องสี่เหลี่ยมที่มี blocking buffer (2% non fat milk ใน TBS pH 7.5) อยู่ 10 มิลลิลิตร + 0.8 มิลลิลิตร ของ 25% titonx100 แช่นาน 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง หรือ ประมาณ 27-30°C หลังจากนั้นเท blocking buffer ออก ใส่ส่วนผสมของ IgG ของ PVA PVM PVT PVX PVS และ PLRV ที่ละลายอยู่ใน blocking buffer ใหม่ ในอัตรา 1:500 แช่แผ่น NCM นั้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง หรือ ประมาณ 27-30°C แล้วจึงล้างแผ่น NCM ด้วย TBS-Tween 3 ครั้งๆ ละ 3 นาที เทส่วนผสม Goat anti-rabbit conjugated Alkaline phosphatase (SIGMA A7778) ที่เจือจางเป็น 1:3000 ในสารละลาย blocking buffer จำนวน 10 มิลลิลิตร บ่มปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง ล้างออกด้วย TBS-Tween 3 ครั้งๆ ละ 3 นาที แล้วเทส่วนผสม substrate (ละลาย 0.25% AS-MX จำนวน 1 มิลลิลิตร ใน 5 มิลลิลิตร ของ 0.2 M Tris HCl, pH 8.2 และละลายสาร Fast red TR-salt (FR-TR) ใน 6 มิลลิลิตร ของ 0.2 M Tris HCl, pH 8.2 เทส่วนผสมทั้ง 2 รวมกัน แล้วเทลงในกล่องแช่แผ่น NCM เขย่าเบาๆ) รอดูผลของปฏิกิริยา ประมาณ 5-30 นาที เมื่อเกิดปฏิกิริยาเห็นสีชมพูชัดเจนแล้วเท substrate ออก แล้วเทน้ำกลั่นลงแทน เพื่อเป็นการล้างและหยุดปฏิกิริยา

3. การตรวจจำแนก โดยวิธี Indirect ELISA

เริ่มจากนำใบมะเขือที่มีอาการใบด่างที่เป็นโรคและใบมะเขือปกติมาบดใน coating buffer ในอัตรา 1 กรัม : 5, 10, 15 มิลลิลิตร หยอดน้ำคั้นพืชลงในหลุมของไมโครเพลท (microplate) 100 ไมโครลิตร/หลุม บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 1-2 ชั่วโมง แล้วนำไมโครเพลทมาล้างด้วย phosphate buffer saline ที่มี tween 20 ผสมอยู่ (PBS-Tween 20) 3 ครั้งๆ ละ 3 นาที หยอดแอนติซีรัมจากการเจาะเลือดครั้งที่ 5 ที่เจือจางใน conjugate buffer 1:100 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร/หลุม บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ล้างไมโครเพลทด้วย PBS-Tween 20 จานวน 3 ครั้งๆ ละ 3 นาที แล้วหยอด Goat-Anti Rabbit อัตรา 1:2,000 ใน conjugate buffer 100 ไมโครลิตร/หลุม บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง นำเพลทมาล้างอีก 3 ครั้งใน PBS-Tween 20 แล้วหยอด p-nitrophenyl phosphatase substrate (5 มิลลิกรัม/ substrate buffer 10 มิลลิลิตร) หลุมละ 100 ไมโครลิตร และอ่านผลด้วยเครื่องอ่านอิไลซา (ELISA Reader) โดยใช้เพลทชนิด polysorp microplate ของ Nunc

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2554 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2556

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. เก็บตัวอย่างใบมันฝรั่ง เพื่อใช้ในการตรวจสอบและจำแนกโรคไวรัสของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อไวรัส Potato virus A (PVA) Potato virus M (PVM) Potato virus T (PVT) Potato virus X (PVX) Potato virus S (PVS) และ Potato leaf roll virus (PLRV)

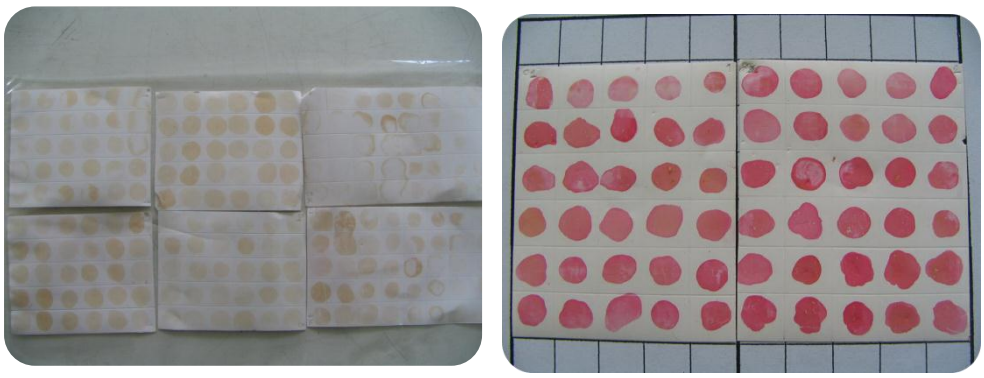
การสำรวจและเก็บตัวอย่างอาการใบด่างของมันฝรั่งจากแปลงปลูกของเกษตรกรใน อ.แม่อาย อ.ฝาง อ.ไชยปราการ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง อ.แม่สอด อ.พบพระ จ.ตาก ในปี

2554 ได้ตัวอย่างทั้งหมด 700 ตัวอย่าง ในปี 2555 ได้สำรวจและเก็บตัวอย่างใบมันฝรั่งในพื้นที่ อ.ไชยปราการ อ.แม่อาย อ.ฝาง อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ และ อ.พบพระ จ.ตาก ได้ตัวอย่างทั้งหมด 700 ตัวอย่าง และในปี 2556 ได้สำรวจและเก็บตัวอย่างอาการใบด่างของมันฝรั่งจากแปลงปลูกของเกษตรกรใน อ.แม่อาย อ.ฝาง อ.ไชยปราการ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง อ.แม่สอด อ.พบพระ จ.ตาก ได้ตัวอย่างทั้งหมด 630 ตัวอย่าง ซึ่งการสำรวจและจำแนกต้องทำการรวบรวมข้อมูลแหล่งปลูกมันฝรั่งก่อนเป็นขั้นตอนแรก ก่อนทำการออกสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างมันฝรั่งในแต่ละแหล่งปลูกของเกษตรกรเพื่อนำตัวอย่างใบมันฝรั่งนั้นกลับมาตรวจในห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้เป็นข้อมูลของเชื้อ PVA PVM PVT PVX PVS และ PLRV ที่ตรวจพบในแต่ละแหล่งปลูก

ภาพที่ 1 ลักษณะอาการด่างของเชื้อไวรัสบนใบมันฝรั่ง

2. ตรวจจำแนกด้วยวิธี Nitrocellulose membrane-Enzyme-linked immuno sorbent assay (NCM-ELISA)

จากตัวอย่างทั้งหมด 700 ตัวอย่าง ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งของเกษตรกรใน อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ อ.ห้างฉัตร จ.ลำปาง อ.พบพระและอ.แม่สอด จังหวัดตาก โดยได้นำตัวอย่างมาตรวจวินิจฉัยหาเชื้อไวรัส PVA PVX PVS PLRV ด้วยวิธี GLIFT kit และ NCM-ELISA และตรวจวินิจฉัยหาเชื้อ PVT และ PVM ด้วยวิธี ELISA จากตัวอย่างทั้งหมดพบว่าผลการตรวจยังไม่พบเชื้อไวรัส PVA PVM PVT PVX PVS และ PLRV ระบาดในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งดังกล่าว ส่วนในปี 2555 เก็บตัวอย่างใบมันฝรั่งในพื้นที่ อ.ไชยปราการ อ.แม่อาย อ.ฝาง อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ และ อ.พบพระ จ.ตาก ทั้งหมด 700 ตัวอย่าง (ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2555 - มีนาคม 2556) โดยได้คัดแยกเฉพาะที่มีอาการคล้ายโรคไวรัสมาทำการตรวจสอบด้วย NCM-ELISA และ ELISA ในห้องปฏิบัติการ ทำการตรวจหาเชื้อ PVA PVM PVT PVX PVS PLRV พบเชื้อไวรัส PLRV โดยพบในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งอำเภอไชยปราการ อำเภอแม่อายและอำเภอสันทราย จ.เชียงใหม่ และในปี 2556 เก็บตัวอย่างใบมันฝรั่งในพื้นที่ อ.แม่อาย อ.ฝาง อ.ไชยปราการ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง อ.แม่สอด อ.พบพระ จ.ตาก ทั้งหมด 630 ตัวอย่าง ได้คัดแยกเฉพาะที่มีอาการคล้ายโรคไวรัสมาทำการตรวจสอบด้วย NCM-ELISA และ ELISA ในห้องปฏิบัติการ ทำการตรวจหาเชื้อ PVA PVM PVT PVX PVS PLRV พบเชื้อไวรัส PLRV ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งอำเภอไชยปราการ อำเภอแม่อาย จ.ชียงใหม่ และพบทั้ง PVA และ PLRV ในพื้นที่อำเภอสันทราย จ.เชียงใหม่



ภาพที่ 2 ผลการตรวจลักษณะอาการด่างของเชื้อไวรัสบนใบมันฝรั่งด้วยวิธี NCM-ELISA

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การตรวจสอบตัวอย่างทั้งหมด (ในปี 2554-2556) ทำให้ทราบว่ายังมีเชื้อไวรัส PVA และ PLRV ระบาดในพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง อ.สันทราย อ.แม่อาย อ.ไชยปราการ จ.เชียงใหม่ ซึ่งเชื้อดังกล่าวนั้นเป็นเชื้อไวรัสที่สำคัญเชื้อหนึ่งที่เข้าทำลายมันฝรั่ง ลักษณะอาการของเชื้อไวรัส PLRV ที่พบเห็นในแปลงคือ ใบยอดม้วนงอ ใบมีสีเหลืองซีด ขนาดของใบเล็ก ต้นแคระแกรน และ PVA นั้น ลักษณะที่พบในแปลงคือ ใบด่างหรือใบอาจมีสีเหลืองซีด เชื้อ PVA และ PLRV สามารถติดไปกับหัวพันธุ์ได้ ดังนั้นเมื่อนำหัวพันธุ์ที่เป็นโรคไปปลูกจะมีส่วนอย่างมากที่ทำให้ผลผลิตลดลง ซึ่งเชื้อนี้ไม่สามารถถ่ายทอดโรคโดยวิธีสัมผัส แต่สามารถถ่ายทอดได้โดยเพลี้ยอ่อนแบบ persistant ในด้านการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งนั้น เชื้อไวรัส PVA และ PLRV สามารถติดเข้ามากับหัวพันธุ์ได้ไม่เกิน 4 เปอร์เซ็นต์ จากเหตุนี้จึงยังทำให้มีการตรวจพบเชื้อ PVA และ PLRV ในแปลงปลูกมันฝรั่งของเกษตรกรอยู่ จากการที่เชื้อไวรัสชนิดนี้ถ่ายทอดโรคได้ด้วยเพลี้ยอ่อนทำให้เกิดการระบาดและส่งผลต่อผลผลิตมันฝรั่ง ทั้งยังมีเชื้อไวรัสชนิดอื่นระบาดในแปลงปลูกมันฝรั่งร่วมด้วยแล้ว เช่น PVY จะยิ่งส่งผลกระทบต่อผลผลิตของมันฝรั่งเป็นอย่างมาก ส่วนเชื้อไวรัส PVM PVT PVX และ PVS ยังไม่พบการระบาดและจากผลการตรวจหาเชื้อไวรัสในพื้นที่แหล่งปลูกมันฝรั่งนั้น ทำให้ทราบข้อมูลของเชื้อไวรัสในสถานการณ์ปัจจุบันของเชื้อ PVA PVM PVT PVX PVS และ PLRV ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งของเกษตรกรในประเทศไทย (จังหวัดเชียงใหม่, จังหวัดลำพูนและจังหวัดตาก) ดังนั้นจากข้อมูลทางวิชาการนี้จึงเป็นประโยชน์อย่างมาก สามารถนำข้อมูลดังกล่าวมาวางมาตรการด้านการกักกันศัตรูพืชและการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืช และยังสามารถนำข้อมูลดังกล่าวมาใช้ในการปรับปรุงเงื่อนไขและข้อกำหนดในการวางมาตรการการอนุญาตนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากประเทศต่างๆ ให้เป็นปัจจุบันทั้งยังสามารถนำข้อมูลนี้ไปวางแผนในการวางแนวทางการป้องกัน เพื่อการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งปลอดเชื้อไวรัส PVA PVM PVT PVX PVS และ PLRV และวางแนวทางการควบคุมโรคในแปลงปลูกมันฝรั่งต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร สุรสิทธิ์ บุญทวี วิวัฒน์ ภานุอำไพ และนวลจันทร์ ดีมา. 2531. ความเสียหายของ ผลผลิตมันฝรั่งที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อ PVY และ PVX. รายงานผลงานวิจัยปี 2531 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 12-16.

สุรภี กีรติยะอังกูร สิทธิศักดิ์ แสไพศาล วิวัฒน์ ภาณุอำไพ เยาวภา ตันติวานิช ปรียพรรณ พงศาพิชณ์. 2551. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม: โครงการตรวจหา PVY strain และการประเมินความเสียหายของผลผลิตมันฝรั่งจากเชื้อ PVY ในประเทศไทย. กรมวิชาการเกษตร. 42 หน้า.

Gray, S., K. Perry and P. Baldauf. 2003. Report of 2003 Research activities funded by the Maine Potato Board.

อนุกรมวิธานผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae ในประเทศไทย
Taxonomy of Moth in Subfamily Pyraustinae in Thailand

สุนัดดา เชาวลิต ชมัยพร บัวมาศ อิทธิพล บรรณาการ
เกศสุดา สนศิริ สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาอนุกรมวิธานผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae เพื่อทราบชนิด พืชอาหาร และเขตการแพร่กระจาย สำหรับใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานประกอบการวินิจฉัยชนิดแมลงศัตรูพืช รวมถึงการจำทำรายชื่อแมลงศัตรูพืชรองรับปัญหาการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม ๒๕๕๓ ถึงเดือนกันยายน ๒๕๕๖ เก็บตัวอย่างโดยใช้กำดักแสงไฟในเวลากลางคืน และเก็บตัวหนอนจากแหล่งปลูกพืชทั่วไปประเทศไทย จำแนกชนิดโดยใช้รูปร่างลักษณะภายนอกและอวัยวะสืบพันธุ์ของตัวเต็มวัย รวมทั้งเปรียบเทียบจากตัวอย่างเดิมในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร การศึกษาครั้งนี้ใช้ตัวอย่างผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae จำนวน ๑,๕๗๙ ตัวอย่าง จำแนกได้ ๒๐ สกุล จำนวน ๒๘ ชนิด พบว่า ๑๓ ชนิด เป็นศัตรูของพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ ได้แก่ *Ostrinia furnacalis* (Guenée, ๑๘๕๔), *Conogethes pluto* (Butler), *Conogethes punctiferalis* (Guenée, ๑๘๕๔), *Cydalima laticostalis* Gueéne, *Diaphania indica* (Saunders, ๑๘๕๑), *Glyphodes pulverulantis* Hampson, ๑๘๙๖, *Herpetogramma bipunctalis* Guenee, *Leucinodes orbonalis* Guenée, ๑๘๕๔, *Maruca vitrata* (Fabricius, ๑๗๘๗), *Nausinoe geometralis* Guenée, *Omiodes diemenalis* (Guenée, ๑๘๕๔), *Omiodes indicatus* (Fabricius, ๑๗๗๕), *Omphisa anastomosalis* Guenée ๖ ชนิด เป็นศัตรูของพืชไม่สำคัญทางเศรษฐกิจ ได้แก่ *Agathodes ostentalis* (Geyer, ๑๘๓๗), *Botyodes asialis* Guenée, ๑๘๕๔, *Conogethes evaxalis* Walker, *Glyphodes bivitralis* Guenée, *Glyphodes conclusalis* Walker, *Meroctena tullalis* Walker และ ๙ ชนิด ไม่ทราบพืชอาหาร ได้แก่ *Glyphodes caesalis* Walker, *Glyphodes ernalis* Swinhoe, *Nevrina procopia* (Stoll, ๑๗๘๑), *Parotis incurvata* Warren, *Palpita annulata* Fabricius, *Pygospila tyres* (Cramer, ๑๗๘๐), *Parotis punctiferalis* Lederer, *Prooedema inscisala* (Walker, ๑๘๖๖), *Syllepte iophanes* Meyrick ตัวอย่างผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae ที่จำแนกเรียบร้อยแล้วนำเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-07-54

คำนำ

ผีเสื้อในวงศ์ย่อย Pyraustinae วงศ์ Crambidae เป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดเล็กถึงขนาดกลาง มีจำนวนชนิดและความหลากหลายในรูปร่างลักษณะค่อนข้างมาก หลายชนิดเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ การทำลายเกิดขึ้นในระยะหนอน (caterpillar) โดยหนอนกัดกินส่วนต่างๆ ของพืชทำให้ปริมาณและคุณภาพการผลิตลดลง ถ้ามีการระบาดรุนแรงอาจทำให้พืชตายได้ ทั่วโลกมีผีเสื้อในวงศ์ย่อย Pyraustinae ประมาณ ๑,๔๐๐ ชนิด มากกว่าครึ่งพบแพร่ระบาดในประเทศเขตร้อนแถบภูมิภาคเอเชีย (CABI, ๒๐๐๗) จากการศึกษาในประเทศออสเตรเลียพบผีเสื้อในวงศ์ย่อยนี้ ๓๙๐ ชนิด ที่สามารถจำแนกได้และมีอีกจำนวนมากที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ (Common, ๑๙๙๐) สกุลที่เป็นศัตรูพืชที่สำคัญ เช่น สกุล *Diaphania* ทำ ลายพืชในวงศ์แตง (Cucurbitaceae) ถั่ว (*Leguminosae)* (Pandey , ๑๙๗๗) สกุล *Omiodes* ทำลายพืชในวงศ์ถั่วคลุมดิน (Calopogonium), ถั่วลิสง ถั่วเหลือง กวาวเลือ อัญชัญ กระถิน ในอินเดียผีเสื้อสกุลนี้จัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่ง (Dammerman, ๑๙๒๙) Govindan *et al*. (๑๙๘๙) รายงานว่าทุกชนิดของผีเสื้อในสกุล *Omiodaes* เป็นศัตรูสำคัญของพืชตระกูลถั่ว และไม้ประดับบางชนิด Ghesquire, (๑๙๔๒) ศึกษาวงจรชีวิตของ *O. indicate* พบว่าตลอดชีพจักรใช้เวลา ๒๕ วัน เพศเมีย ๑ ตัว วางไข่ประมาณ ๒๘๐ ฟอง Xia *et al*., (๑๙๘๘) สามารถเลี้ยงผีเสื้อสกุลนี้ได้ ๖ รุ่นต่อปี หนอนมี ๕ วัย หนอนวัยสุดท้ายตัวสีเขียว ทำลายในชั้น mesophyll ของพืช ผีเสื้อสกุล *Nacolei* เป็นศัตรูสำคัญของกล้วย เฮลิโคเนีย ปาล์มบางชนิด (Paine, ๑๙๖๔; Wilkie, ๑๙๙๔) ผีเสื้อในสกุล *Diaphania* พบว่าหนอนกัดกินใบและผล ทำให้เกิดความเสียหาย บางชนิดเข้าทำลายระยะติดผลใหม่ (Patel and Kulkarny, ๑๙๕๖) หนอนเจาะฝักถั่วมารูคา ในสกุล *Maruca* เป็นศัตรูที่สำคัญเข้าทำลายถั่วพุ่มในระยะออกดอกและติดฝัก มีการระบาดตลอดปี โดยเฉาะในฤดูแล้ง ทำความเสียหายแก่ดอกและฝัก (พเยาว์ , ๒๕๔๓)

สำหรับในประเทศไทยยังไม่เคยมีการรายงานจำนวนชนิดของผีเสื้อในวงศ์ย่อยนี้มาก่อน จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาอนุกรมวิธานเพื่อได้ทราบชนิด ลักษณะความแตกต่าง พืชอาหาร และเขตการแพร่กระจายของผีเสื้อในวงศ์ย่อยนี้ เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานประกอบการวินิจฉัยชนิดแมลงศัตรูพืช การจำทำรายชื่อแมลงศัตรูพืชรองรับปัญหาด้านการนำเข้า-ส่งออกพืชในอนาคตสินค้าเกษตร รวมถึงนำไปสู่การหาวิธีป้องกันกำจัดที่มีประสิทธิภาพ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

๑) ตัวอย่างผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae

๒) อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ กับดักแสงไฟ สวิงจับแมลง ขวดฆ่า (killing jar) เอทิลอะซีเตท (ethyl acetate) หลอดหยด ปากคีบ กล่องใส่ตัวอย่างแมลง ถังรักษาความเย็น กล่องพลาสติกใส่ตัวหนอน กระดาษ ปากกา เครื่องวัดพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) กล้องถ่ายภาพ

๓) อุปกรณ์จัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิม (stainless steel) เบอร์ ๐๐๐- เบอร์ ๓ ไม้จัดรูปร่าง (setting board) กระดาษไข เข็มหมุด ตู้อบ (oven)

๔) อุปกรณ์และสารเคมีใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ หลอดทดลอง เตาให้ความร้อน (hot plate) หลอดหยด มีดผ่าตัด ปากคีบปลายแหลม พู่กันเบอร์ ๐๐-๐๑ เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้ว

ปิดสไลด์ ตู้อบสไลด์ กล่องสไลด์ถาวร แอลกอฮอล์ (alcohol) ๒๐-๑๐๐%, น้ำกลั่น โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ๑๐% (potassium hydroxide) เกจส์สเตน (Gage's slain) แอซิตฟุซซิน กรดเกลือ โคพออย (clove oil) และ คานาดา-บาซัม (Canada- balsam)

๕) อุปกรณ์ที่ใช้จำแนกชนิด กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo (stereo microscope) กล้องจุลทรรศน์แบบ compound (compound microscope) กล้องถ่ายภาพ อุปกรณ์วาดภาพ เช่น camera lucida ปากกา roting และกระดาษไขเขียนแบบ

๖) เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae

วิธีการ

๑) สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae จากทั่วประเทศไทย โดยวิธีติดตั้งกับดักแสงไฟ (light trap) เพื่อดึงดูดตัวเต็มวัยผีเสื้อในเวลากลางคืน เลือกผีเสื้อกลุ่มที่ต้องการศึกษา ฆ่าโดยใช้ขวดฆ่าซึ่งด้านในบรรจุสารเอทิลอะซีเตท หลังจากผีเสื้อตายแล้ว ใช้ปากคีบจับตัวผีเสื้อและใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณสันหลังอก ขั้นตอนนี้ห้ามใช้มือสัมผัสโดนตัวผีเสื้อเพราะจะทำให้เกล็ดปีกซึ่งเป็นลักษณะสำคัญที่ใช้จำแนกชนิดหลุดร่อนได้ จากนั้นนำตัวอย่างเก็บในกล่องเก็บตัวอย่างเพื่อป้องกันการชำรุดเสียหาย บันทึกรายละเอียด ได้แก่ สถานที่เก็บตัวอย่าง พิกัดภูมิศาสตร์ ช่วงเวลาและชื่อผู้เก็บตัวอย่าง นำกลับห้องปฏิบัติการเพื่อเข้าสู่กระบวนการจัดเตรียมตัวอย่างเพื่อจำแนกชนิด สำหรับตัวหนอนที่สำรวจได้ นำกลับมาเลี้ยงให้เป็นตัวเต็มวัย นอกจากตัวอย่างผีเสื้อที่ได้จากการสำรวจจากสภาพธรรมชาติแล้ว การศึกษาครั้งนี้ใช้ตัวอย่างผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae ที่มีอยู่เดิมในพิพิธภัณฑ์ กรมวิชาการเกษตร รวมทั้งตัวอย่างที่ได้รับจากนักวิชาการและผู้มาขอรับบริการตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิดด้วย

๒) การเตรียมตัวอย่างเพื่อจำแนกชนิด นำตัวอย่างผีเสื้อที่ได้มาจัดรูปร่างบนไม้จัดรูปร่าง จัดปีกให้กางออกในลักษณะที่ขอบล่างของปีกคู่หน้าตั้งฉากกับลำตัว ขอบบนของปีกคู่หลังอยู่ชิดขอบล่างของปีกคู่หน้า ใช้กระดาษไขทับปีกเพื่อป้องกันไม่ให้ปีกพับงอเมื่อโดนความร้อน ใช้เข็มหมุดตรึงให้กระดาษไขแนบกับปีกผีเสื้อ จัดหนวดให้ลู่ไปด้านหลัง อบแห้งในตู้อบ ซึ่งปรับอุณหภูมิที่ ๕๐ องศาเซลเซียส ใช้เวลา ๑๕-๓๐ วัน ขึ้นกับขนาดตัวอย่าง ผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae บางชนิดซึ่งมีลักษณะภายนอกใกล้เคียงกันมากจำเป็นต้องใช้ข้อแตกต่างของอวัยวะสืบพันธุ์ในการจำแนก ซึ่งต้องทำสไลด์ถาวรตามขั้นตอนดังนี้

๒.๑ ตัดส่วนท้องของผีเสื้อ ใส่ในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ๑๐ % ทิ้งไว้ ๒๔ ชั่วโมง หรือต้มในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ๑๐ % ที่อุณหภูมิ ๖๐ องศาเซลเซียส เป็นเวลา ๑๐ - ๒๐ นาที

๒.๒ ดูดสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ออก เติมน้ำกลั่นเพื่อล้างโพแทสเซียม-
ไฮดรอกไซด์ ดูดน้ำกลั่นออกเติมแอลกอฮอล์ ๒๐ % ทำซ้ำอีก ๑-๒ ครั้ง ย้อมด้วยสีย้อมเกจส์สเตน (ซึ่งเป็นสารละลายของแอซิตฟุซซิน ๐.๕ กรัม กรดเกลือ ๑๐% ๒๕ มิลลิลิตร และน้ำกลั่น ๓๐๐ มิลลิลิตร) แช่ทิ้งไว้ ๒-๓ นาทีหรือนานถึง ๑๒ ชั่วโมง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์ของตัวอย่างผีเสื้อที่จะติดสีได้ง่ายหรือยาก

๒.๓ ย้ายตัวอย่างลงในน้ำกลั่นเพื่อทำการผ่าเอาอวัยวะสืบพันธุ์ออกจากท้อง ถ้าเป็น

เพศผู้ ใช้ปากคีบปลายแหลมดึงอวัยวะสืบพันธุ์ออกจากปลายท้องได้เลย ถ้าเป็นเพศเมียใช้มีดผ่าตัดผ่าผนังลำตัวด้านข้างออกเพื่อป้องกันการเสียหายของอวัยวะสืบพันธุ์ ใช้พู่กันขนาดเล็กและปากคีบปลายแหลมทำความสะอาดไขมันส่วนเกินออกให้หมด ย้ายอวัยวะสืบพันธุ์ลงแอลกอฮอล์ ๓๐% แช่ทิ้งไว้ ๑๐ นาที ระหว่างนี้จัดรูปร่างให้ได้ตามลักษณะที่ต้องการ ย้ายตัวอย่างแช่ในแอลกฮอล์ ๑๐๐% แช่ทิ้งไว้ ๕ นาที เพื่อกำจัดน้ำออกให้หมด ย้ายตัวอย่างอวัยวะสืบพันธุ์ลงใน clove oil แช่ไว้ ๕-๑๐ นาที เพื่อให้ตัวอย่างใส

๒.๔ วางอวัยวะสืบพันธุ์ลงบนแผ่นสไลด์แก้วที่หยด คานาดา-บาซัม จัดรูปร่างให้ได้ตามต้องการ ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ อบให้แห้งในตู้อบอุณหภูมิ ๕๐ °C นาน ๔ - ๖ สัปดาห์

๓) การตรวจจำแนกชนิด นำตัวอย่างผีเสื้อที่ผ่านการอบแห้งมาตรวจจำแนกชนิด โดยดูลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ Stereo บันทึกรายละเอียดลักษณะสำคัญที่ใช้จำแนก ได้แก่ สี รูปร่างและขนาดของหัว (head) หน้า (front) กระหม่อม (vertex) ริมฝีปากล่าง (labial palpus) รยางค์ฟัน (maxillary palpus) ตารวม (compound eye) (อก) Thorax ความก้างของปีก (wing exspane) ปีกคู่หน้า (Forewing) ปีกคู่หลัง (Hindwing) ท้อง (Abdomen) ร่วมกับการเปรียบเทียบตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร สำหรับชนิดที่ไม่สามารถจำแนกจากรูปร่างภายนอกได้ต้องนำอวัยวะสืบพันธุ์ที่ผ่านการทำสไลด์เรียบร้อยแล้วมาตรวจลักษณะสำคัญใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound เพื่อจำแนก ลักษณะสำคัญของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย (Female genitalia; apophyses anterioris, apophyses posterioris, anal papillae, ostium bursae, antrum, ductus bursae, ductus seminalis, signum, corpus bursae) และอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (Male genitalia; uncus, gnathos, tegument, subteguminal process, anellus, valva, basal costa, juxta, ductus ejaculatorius, aedeagus, cornuti, vesica, manica, vinculum)

๔) ถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และแบบ compound วาดภาพโดยใช้เครื่องมือ camera lucida ช่วยทำให้ทราบสัดส่วนที่แท้จริงได้ บันทึกรายละเอียดบนแผ่นป้ายบันทึกข้อมูลของผีเสื้อแต่ละตัว พร้อมทั้งใส่หมายเลขรหัสประจำตัว

๕) จัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) สกุลและชนิดของผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae ที่รวบรวมได้

๖) จัดเก็บตัวอย่างผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae ที่จำแนกชนิดเรียบร้อยแล้วในพิพิธภัณฑ์ กรมวิชาการเกษตร โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลเพื่อการตรวจสอบ สืบค้น และอ้างอิงข้อมูลในภายหลัง

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น เดือนตุลาคม ๒๕๕๓ – **สิ้นสุด** เดือนกันยายน ๒๕๕๖

สถานที่ แหล่งปลูกพืชทั่วประเทศไทย และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลงกลุ่มกีฏและสัตวิวทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้ ใช้ตัวอย่างผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae ทั้งหมดจำนวน ๑,๗๓๒ ตัวอย่าง จำแนก ๒๐ สกุล จำนวน ๒๘ ชนิด โดยมีรายละเอียด ดังนี้

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	เขตการแพร่กระจาย	พืชอาหาร	ลักษณะการทำลาย	จำนวนตัวอย่าง
๑. *Ostrinia furnacalis* (Guenée, ๑๘๕๔) Tribe Pyraustini (Figure ๑ a)	ผีเสื้อหนอนเจาะลำต้นข้าวโพด (asian corn borer)	กรุงเทพฯ ฉะเชิงเทรา ชัยนาถ ชลบุรี มหาสารคาม ประจวบคีรีขันธ์ ราชบุรี สระบุรี อุบลราชธานี	ข้าวโพดเดือย	กินใบ เจาะฝัก ลำต้น	๑๙๑
๒. *Agathodes ostentalis* (Geyer, ๑๘๓๗) Tribe Spilomelini (Figure ๑ b)	หนอนม้วนใบทองหลาง (erythrina moths)	กรุงเทพฯ เชียงใหม่ เชียงราย ชุมพร จันทบุรี กาญจนบุรี ลพบุรี นครราชสีมา ราชบุรี ร้อยเอ็ด สมุทรสงคราม สระบุรี สุราษฎร์ธานี	ทองหลางนมแมว	ม้วนใบ	๑๓
๓. *Botyodes asialis* Guenée, ๑๘๕๔ Tribe Spilomelini (Figure ๑ c)	ผีเสื้อม้วนใบ (crambid Snout Moth)	กรุงเทพฯ เชียงใหม่ ชลบุรี นครราชสีมา นครศรีธรรมราช เพชรบูรณ์ พิษณุโลก ราชบุรี สระแก้ว สระบุรี สุราษฎร์ธานี ตาก	กรวย ผีเสื้อ	ม้วนใบ	๑๐๑
๔. *Conogethes evaxalis* (Walker, ๑๘๕๙) Tribe Spilomelini (Figure ๑ d)	หนอนเจาะผล (castor capsule borer)	ชุมพร เชียงใหม่ กาญจนบุรี เพชรบูรณ์ พิษณุโลก ประจวบคีรีขันธ์ สระแก้ว ตรัง	มะสาร	เจาะผล	๑๖

๕. *Conogethes pluto* (Butler, ๑๘๘๗) Tribe Spilomelini (Figure ๑ e)	หนอนเจาะผล (castor capsule borer)	กรุงเทพฯ	ทับทิม	เจาะผล	๔
๖. *Conogethes punctiferalis* (Guenée, ๑๘๕๔) Tribe Spilomelini (Figure ๑f)	หนอนเจาะผล (castor capsule borer, yellow peach moth)	กรุงเทพฯ จันทบุรี เชียงใหม่ เชียงราย ชลบุรี กำแพงเพชร นครนายก นครพนม นครราชสีมา นครศรีธรรมราช ปัตตานี เพชรบูรณ์ เพชรบุรี ระยอง ร้อยเอ็ด สระแก้ว สระบุรี สุราษฎร์ธานี สุพรรณบุรี	ทุเรียน ลิ้นจี่ ฝรั่ง ทับทิม ดอกเงาะ ละหุ่ง มะหวด ข้าวฟ่าง	เจาะผล กัดกิน ดอก ยอด	๑๔๓
๗. *Cydalima laticostalis* Gueéne Tribe Spilomelini (Figure ๑ g)	หนอนกินดอกมะลิ (jasmine caterpillar)	กรุงเทพฯ จันทบุรี เชียงใหม่ กาญจนบุรี นครนายก นครราชสีมา นครศรีธรรมราช แพร่ สระบุรี สงขลา อุทัยธานี	มะลิ โมกมัน	กัดกินใบ ดอก	๒๘
๘. *Diaphania indica* (Saunders, ๑๘๕๑) Tribe Spilomelini (Figure ๑ h)	ผีเสื้อหนอนฟัก (pumpkin caterpillar)	กรุงเทพฯ นนทบุรี ฉะเชิงเทรา ชัยภูมิ ชลบุรี จันทบุรี	แตงโม แคนตาลูป มะระ แคนตาลูป ตำลึง แตงกวา แตงไทย น้ำเต้า บวบ แฟง มะเขือเทศ	หนอนกัดกินใบ ดอก ผล	๔๓

๙ *Glyphodes bivitralis* Guenée Tribe Spilomelini (Figure ๒ a)		กรุงเทพฯ ฉะเชิงเทรา จันทบุรี กาญจนบุรี ลพบุรี นครนายก นครราชสีมา นครศรีธรรมราช นราธิวาส เพชรบูรณ์ เพชรบุรี แพร่ ระยอง สระแก้ว สระบุรี	มะขามเทศ ไทร	หนอนกัดกินใบ	๓๗
๑๐. *Glyphodes caesalis* Walker Tribe Spilomelini (Figure ๒ b)		กรุงเทพฯ	-		๙๙
๑๑. *Glyphodes conclusalis* Walker Tribe Spilomelini (Figure ๒ c)		กรุงเทพฯ ฉะเชิงเทรา จันทบุรี ชลบุรี ระยอง สระบุรี สุราษฎร์ธานี ตรัง	เครือไส้ตัน	หนอนกัดกินใบ	๒๕
๑๒. *Glyphodes ernalis* Swinhoe Tribe Spilomelini (Figure ๒ d)	-	กรุงเทพฯ ลำปาง น่าน นนทบุรี	-		๕
๑๓. *Glyphodes pulverulantis* Hampson, ๑๘๙๖ Tribe Spilomelini (Figure ๒ e)	-	เชียงใหม่ เลย นครราชสีมา นครศรีธรรมราช เพชรบูรณ์ พิษณุโลก ร้อยเอ็ด	มะเขือ หม่อน	กัดกินใบ	๔๖
๑๔. *Herpetogramma bipunctalis* Guenee Tribe Tribe Spilomelini (Figure ๒ f)	-	กรุงเทพฯ ฉะเชิงเทรา เชียงใหม่ ชุมพร กาญจนบุรี แพร่ สระบุรี	มะเขือ มะอึก ยอ งวงช้าง บานไม่รู้โรย	กัดกินใบ	๓๐

๑๕. *Leucinodes orbonalis* Guenée, ๑๘๕๔ Tribe Spilomelini (Figure ๒ g)	หนอนเจาะผลมะเขือ (eggplant fruit borer)	พระนครศรีอยุธยา กรุงเทพฯ เชียงใหม่ กาญจนบุรี นครปฐม แพร่ ราชบุรี	มะเขือ	กัดกินยอด ใบ ผล	๑๐๒
๑๖. *Maruca vitrata* (Fabricius, ๑๗๘๗) Tribe Spilomelini (Figure ๒ h)	หนอนเจาะฝักถั่ว (maruca bean pod borer)	กรุงเทพฯ ฉะเชิงเทรา จันทบุรี เชียงใหม่ ชลบุรี กาญจนบุรี ขอนแก่น นครนายก นครสวรรค์ พิษณุโลก สระบุรี สระบุรี อุทัยธานี	ถั่วเขียว ถั่วฝักยาว ถั่วพู ถั่วแดง ถั่วมะแฮะ แค โสกน้ำ โสน มัสตาด ทองกวาว ถั่วแขก ถั่วแปบ	กัดกินดอก ใบ ฝัก	๑๒๐
๑๗. *Meroctena tullalis* Walker Tribe Spilomelini (Figure ๓ a)	-	ฉะเชิงเทรา เชียงใหม่ เลย นครนายก นครราชสีมา นนทบุรี สระบุรี	พิกุล	กัดกินใบ	๒๒
๑๘. *Nausinoe geometralis* Guenée Tribe Spilomelini (Figure ๓ b)	-	กรุงเทพฯ เชียงใหม่ สระบุรี	พุด มะลิ	กัดกินใบ	๑๓๐
๑๙. *Nevrina procopia* (Stoll, ๑๗๘๑) Tribe Spilomelini (Figure ๓ c)	-	ชัยภูมิ เชียงใหม่ ชลบุรี กาญจนบุรี เลย นครนายก	-	-	๑๔
๒๐. *Omiodes diemenalis* (Guenée, ๑๘๕๔) Tribe Spilomelini (Figure ๓ d)	หนอนม้วนใบถั่ว (soybean leaf folder)	กรุงเทพฯ ฉะเชิงเทรา ชัยนาถ จันทบุรี เชียงใหม่ ชลบุรี กาฬสินธุ์ สระบุรี	ถั่วฝักยาว ถั่วเหลือง วัชพืช	กัดกินใบ	๑๐๔

๒๑. *Omiodes indicatus* (Fabricius, ๑๗๗๕) Tribe Spilomelini (Figure ๓ e)	-	กรุงเทพฯ ฉะเชิงเทรา ชัยนาถ ชัยภูมิ เชียงใหม่ นครราชสีมา แพร่ ราชบุรี ร้อยเอ็ด สระบุรี	ถั่วแปบ ถั่วฝักยาว ถั่วเขียว ถั่วเหลือง	กินใบ ม้วนใบ	๑๙๙
๒๒. *Omphisa anastomosalis* Guenée Tribe Spilomelini (Figure ๓ f)	-	กรุงเทพฯ ฉะเชิงเทรา จันทบุรี เชียงใหม่ มหาสารคาม นครปฐม ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา แพร่ ร้อยเอ็ด	คูน มันเทศ	เจาะฝัก เถา หัว	๔๙
๒๓. *Palpita annulata* Fabricius Tribe Spilomelini (Figure ๓ g)	-	กรุงเทพฯ ฉะเชิงเทรา เชียงใหม่ เลย นครราชสีมา เพชรบูรณ์ พิษณุโลก ปราจีนบุรี	-	-	๖๖
๒๔. *Parotis incurvata* Warren Tribe Spilomelini (Figure ๓ h)	-	นครราชสีมา เพชรบูรณ์	-	-	๑๓
๒๕. *Parotis punctiferalis* Lederer Tribe Spilomelini (Figure ๔ a)	-	จันทบุรี นครราชสีมา นครนายก ระนอง ตรัง	-	-	๑๘
๒๖. *Prooedema inscisala* (Walker, ๑๘๖๖) Tribe Spilomelini (Figure ๔ b)	-	ฉะเชิงเทรา ชัยภูมิ จันทบุรี ชลบุรี กาญจนบุรี สระบุรี ตรัง ยะลา	-	-	๑๙

๒๗. *Pygospila tyres* (Cramer, ๑๗๘๐) Tribe Spilomelini (Figure ๔ c)	-	เชียงใหม่ ชลบุรี กาญจนบุรี เลย นครศรีธรรมราช นนทบุรี เพชรบูรณ์ เพชรบุรี พิษณุโลก ร้อยเอ็ด สระบุรี	-	-	๓๘
๒๘. *Syllepte iophanes* Meyrick Tribe Spilomelini (Figure ๔ d)	-	นครราชสีมา พิษณุโลก ร้อยเอ็ด	-	-	๑๐

๑. *Ostrinia furnacalis* (Guenée, ๑๘๕๔) (Figure ๑ a)

ผีเสื้อหนอนเจาะลำต้นข้าวโพด (asian corn borer)

รูปร่างลักษณะ

หัว : ส่วนหน้าด้านบนสีเหลืองอ่อนและด้านใต้สีขาว กระหม่อมสีเหลืองอ่อน รยางค์ฟันสีน้ำตาล โคนหนวดปกคลุมด้วยเกล็ดสีขาว ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๒.๓๒ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างปล้องที่ ๑ สีขาว ปล้องที่ ๒ และ ๓ สีน้ำตาล

อก : สีเหลือง ปีกคู่หน้าสีเหลือง กว้าง ๒.๔๐±๐.๒๒ เซนติเมตร (n=๒๐) กลางปีกมีขนสีน้ำตาลกระจายอยู่ทั่วไป ปลายปีกมีการเรียงของขนลักษณะคล้ายลูกศรชี้ออกด้านนอก เรียงตามเนื้อเยื่อระหว่างเส้นปีก จำนวน ๒ แถว ปีกคู่หลังสีเหลืองอ่อน ขาทั้ง ๓ คู่ สีเหลืองอ่อน ปีกคู่หลังสีเหลืองอ่อน

ท้อง : ปกคลุมด้วยขนสีเหลือง

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : (๑๙๒ specimens) Thailand: Bangkok Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๒๐๐๗-๐๐๘, EMBT.Lep. ๐๐๒๑๔๐-๒๑๖๒), Bangkok noi (EMBT.Lep. ๐๐๒๐๒๑-๒๐๖๒, EMBT.Lep. ๐๐๒๑๑๒), Bangkhen (EMBT.Lep. ๐๐๒๐๖๕-๒๐๖๗), Chachoengsao Prov. Phanom Sarakham (EMBT.Lep. ๐๐๒๑๐๗-๒๑๑๑), Chainat Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๒๐๘๔-๒๑๐๑), Chonburi Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๒๑๘๔-๒๒๐๐), Bang Lamung (EMBT.Lep. ๐๐๒๐๖๓, EMBT.Lep. ๐๐๒๒๐๗-๒๒๐๘), Maha Sarakham (EMBT.Lep. ๐๐๒๑๖๓-๒๑๗๖, EMBT.Lep. ๐๐๒๑๐๒-๒๑๐๓), Nakhon Ratchasima Prov. Pak Chong (EMBT.Lep. ๐๐๒๑๐๖), Prachuap Khiri Khan Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๒๐๑๓-๐๒๐), Ratchaburi Prov., Damnoen Saduak (EMBT.Lep. ๐๐๒๐๗๓-๒๐๘๓) Saraburi Prov., Phu Kae (EMBT.Lep. ๐๐๒๑๒๙-๒๑๓๙, EMBT.Lep.๐๐๒๒๐๑- ๒๒๐๖), Phra Phutthabat (EMBT.Lep. ๐๐๒๑๗๗-๒๑๘๒), Supanburi Prov. U Thong (EMBT.Lep. ๐๐๒๐๖๘-๒๐๗๒, EMBT.Lep. ๐๐๒๐๐๙-๐๑๒), Ubon Ratchatani, EMBT.Lep. ๐๐๒๐๖๔

เขตการแพร่กระจาย : ประเทศไทย : กรุงเทพฯ ฉะเชิงเทรา ชัยนาท ชลบุรี มหาสารคาม ประจวบคีรีขันธ์ ราชบุรี สระบุรี สุพรรณบุรี และอุบลราชธานี ต่างประเทศ : รัสเซีย อัฟกานิสถาน

บรูไนดารุสซาลาม กัมพูชา จีน ไต้หวัน อินเดีย อินโดนีเซีย ญี่ปุ่น เกาหลี ลาว มาเลเซีย พม่า ปากีสถาน ฟิลิปปินส์ ศรีลังกา เวียดนาม ออสเตรเลีย ปาปัวนิวกินี

พืชอาหาร : ข้าวโพด (*Zea mays* Linn.), เดือย (*Coix lacryma-jobi*)

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้จัดเป็นศัตรูพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ หนอนกัดกินส่วนลำต้น ใบ และฝัก สำรวจพบช่วงเดือน มกราคม มิถุนายน กรกฎาคมสิงหาคม กันยายน ตุลาคม และพฤศจิกายน และพบมากช่วงเดือน มิถุนายน - สิงหาคม

๒. *Agathodes ostentalis* (Geyer, ๑๘๓๗) (Figure ๑ b)

Perinephela ostentalis Geyer, ๑๘๓๗

Agathodes pallidior E. Hering, ๑๙๐๑

Agathodes ostensalis Guenée, ๑๘๕๔

รูปร่างลักษณะ

หัว : ส่วนหน้าด้านบนและด้านใต้สีขาว กระหม่อมและโคนหนวดสีขาว-เหลืองอ่อน ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๘๐ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างปล้องที่ ๑ และ ๒ ด้านนอกสีขาวด้านในสีน้ำตาลอ่อน ปล้องที่ ๓ สีเหลือง รยางค์ฟันสีน้ำตาลอ่อน

อก : สีเหลือง ปลายสุดของอกปล้องที่ ๓ สีขาว ปีกคู่หน้าสีเหลือง กว้าง ๒.๗๖±๐.๑๔ เซนติเมตร (n=๒๐) กลางปีกระหว่างเส้น cubitus ถึงขอบล่างของปีกมีแถบสีม่วงอมชมพู ลักษณะเฉียงไปทางปลายปีก บริเวณ discall cell มีแถบสีเหลืองลักษณะคล้ายเสี้ยวพระจันทร์ มุมปลายปีกสีเหลืองอ่อนตรงกลางสีน้ำตาล เส้นขนปลายปีกสีน้ำตาลอมชมพู ปีกคู่หลังสีเหลืองอ่อน มุมปลายปีกสีเทา ขนปลายปีกสีเหลืองอ่อน

ท้อง : ปล้องที่ ๑-๒ สีขาวมีสีน้ำตาลอ่อนปะปนเล็กน้อย ปล้องที่ ๓-๕ สีน้ำตาลเข้ม รอยต่อระหว่างปล้องคาดด้วยแถบสีขาว ปล้องที่ ๖-๗ สีน้ำตาลอ่อน ปล้องที่ ๘ สีเหลืองอ่อน

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : (๑๐๙ specimens) Thailand: Bangkok Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๐๕๗๖-๐๐๐๕๗๘), Bangkhen (EMBT.Lep. ๐๐๑๓๓๗-๐๐๑๓๔๐), Bangkok Noi (EMBT.Lep. ๐๐๑๓๔๕), Chaiag Rai Prov., Doi Tung (EMBT.Lep. ๐๐๑๓๔๗), Chanthaburi Prov., Khao Soi Dao (EMBT.Lep. ๐๐๑๓๔๖), Tha Mai (EMBT.Lep. ๐๐๐๕๗๙), Chiang Mai Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๑๓๕๒), Chumphon Prov., Lang Suan (EMBT.Lep. ๐๐๑๓๔๑-๐๐๑๓๔๒), Kanchanaburi Prov., Thong Pha Phum (EMBT.Lep. ๐๐๑๓๔๙), Lopburi Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๐๕๘๐-๐๐๐๕๙๐), NaKhon Ratchasima Prov., Wang Nam Khiao (EMBT.Lep. ๐๐๑๓๕๐), Ratchaburi Prov., Suan Phung (EMBT.Lep. ๐๐๑๓๔๘), Roi-et Prov., Nong Pok (EMBT.Lep. ๐๐๑๓๕๑), Samut Songkhram Prov., Amphawa (EMBT.Lep. ๐๐๑๓๔๓-๐๐๑๓๔๔), Saraburi Prov., Phu Khae EMBT.Lep. ๐๐๐๕๙๒- ๐๐๐๖๖๙), Surat Thani Prov., Phanom (EMBT.Lep. ๐๐๐๕๗๕)

เขตการแพร่กระจาย : ประเทศไทย : กรุงเทพฯ เชียงราย เชียงใหม่ จันทบุรี ชุมพร กาญจนบุรี ลพบุรี ร้อยเอ็ด สมุทรสงคราม สระบุรี และสุราษฎร์ธานี ต่างประเทศ : บอร์เนียว จีน ฮ่องกง อินเดีย ญี่ปุ่น ไต้หวัน และออสเตรเลีย

พืชอาหาร : ได้แก่ ทองหลาง (*Erythrina variegate* Linn.), นมแมว (*Rauwenhoffia siamensis*) Scheff.

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้ไม่จัดเป็นศัตรูพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ หนอนกัดกินส่วนใบพืช สำรวจพบช่วงเดือน มกราคม มิถุนายน กรกฎาคมสิงหาคม กันยายน ตุลาคม และพฤศจิกายน และพบมากช่วงเดือน มิถุนายน - สิงหาคม

๓. *Botyodes asialis* Guenée, ๑๘๕๔ (Figure ๑ c)
ผีเสื้อม้วนใบ (crambid Snout Moth)

รูปร่างลักษณะ

หัว : ส่วนหน้าด้านบนสีเหลืองด้านใต้สีขาว กระหม่อมสีเหลือง ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๒๙ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างสีเหลือง รยางค์ฟันสีน้ำตาลอ่อน

อก : สีเหลือง ปีกคู่หน้าสีเหลือง กว้าง ๔.๖๖±๐.๓๓ เซนติเมตร (n=๒๐) โคนปีกระหว่างเส้นระหว่างเส้น Radius Media และ Anal มีแถบสีน้ำตาลช่องละ ๑ จุด กลางปีกระหว่าง R๒-Media มีจุดสีน้ำตาลลักษณะเป็นวงกลมมีขนขนาดเล็กรวมอยู่อย่างหนาแน่น มีแถบสีน้ำตาลเรียงตามขวางปีกขอบด้านนอกสุดของปีกระหว่างเส้น M๑-ขอบปีกด้านล่างสีน้ำตาล ปีกคู่หลังบริเวณโคนปีกมีแถบสีเทาสองแถบประกบกันลักษณะเป็นวงรีด้านในสีเหลืองกลางปีกมีแถบสีน้ำตาลเป็นลายหยักพาดขวางปีกขอบปีกด้านนอกสีน้ำตาล

ท้อง : ปล้องที่ ๑ สีเหลือง ปล้องที่ ๒-๗ สีน้ำตาลเข้ม ในเพศผู้ท้องปล้องสุดท้ายมีกระจุกขนสีดำหนาแน่น ส่วนในเพศเมียสีเหลือง

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๑๐๑ ตัวอย่าง Thailand: Bangkok Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๑๔๙๕๐, ๐๐๑๔๘๒, ๐๐๑๔๘๓), Bangkhen (EMBT.Lep. ๐๐๑๔๙๘); Chiang Mai Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๑๔๙๖), Dong Trak Ten (EMBT.Lep. ๐๐๑๔๙๔), Fang (EMBT.Lep. ๐๐๑๔๙๙-๐๐๑๔๕๐๑), Mae Chaem (EMBT.Lep. ๐๐๑๔๖๙-๐๐๑๔๗๒, EMBT.Lep. ๐๐๑๕๐๗-๐๑๕๑๑), San sai (EMBT.Lep. ๐๐๑๔๕๙-๐๐๑๔๖๓), Mae Teang (EMBT.Lep. ๐๐๑๕๐๓-๐๐๑๕๐๕); Chon Buri Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๑๔๙๑-๐๐๑๔๙๒); Nakhon Ratchama Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๑๔๙๗), Khao Yai (EMBT.Lep. EMBT.Lep. ๐๐๑๔๙๐,๐๐๑๔๙๓); Nakhon si Thammarat Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๑๔๘๑); Phetchabun Prov.,Khao Kho (EMBT.Lep. ๐๐๑๔๗๓-๐๐๑๔๗๕); Phitsanulok Prov., Nakhon Thai (EMBT.Lep. ๐๐๑๔๘๔-๐๐๑๔๘๘, ๐๐๑๕๐๖), Ratchaburi Prov., Ban Pong (EMBT.Lep. ๐๐๑๔๗๙-๐๐๑๔๘๐); Sakaeo Prov., Muang (EMBT.Lep. ๐๐๑๕๑๒); Saraburi Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๑๕๓๒), Phu Khae (EMBT.Lep. ๐๐๑๔๑๓-๐๐๑๔๕๘, ๐๐๑๔๖๕-๐๐๑๔๖๘); Surathani Prov., Phanom (EMBT.Lep. ๐๐๑๔๗๖-๐๐๑๔๗๘), Tak Muang Prov., (EMBT.Lep. ๐๐๑๔๘๙)

เขตการแพร่กระจาย : ประเทศไทย : กรุงเทพฯ เชียงใหม่ เพชรบูรณ์ พิษณุโลก ราชบุรี สระแก้ว สระบุรี สุราษฎร์ธานี และตาก ต่างประเทศ : แอฟริกา ฮ่องกง อินเดีย ฟิลิปปินส์ มาเลเซีย ควีนส์แลนด์

พืชอาหาร : หนอนกัดกินส่วนใบพืช ได้แก่ ผีเสื้อ (*Casearia kerrii* Craib.), กรวย (*Casearia grewiifolia* Vent.)

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้ไม่จัดเป็นศัตรูพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ สำรวจพบช่วงเดือนมกราคม กุมภาพันธ์ เมษายน พฤษภาคม มิถุนายน กรกฎาคม กันยายน ตุลาคม พฤศจิกายน ธันวาคม

๔. *Conogethes evaxalis* (Walker, ๑๘๕๙) (Figure ๑ d)

หนอนเจาะผล (castor capsule borer)

รูปร่างลักษณะ

หัว : หน้าด้านบนสีเหลืองด้านใต้สีขาว กระหม่อมสีเหลือง ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๑๕ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างปล้องที่ ๑ สีขาวขอบด้านในสีน้ำตาลเข้มถึงดำ ปล้องที่ ๒ ด้านนอกของส่วนที่ติดกับปล้องที่หนึ่ง สีขาวมีสีเหลืองแซมเล็กน้อย ขอบด้านในและส่วนที่ติดกับปล้องทีสาม สีเทา ปล้องที่ ๓ สีเหลือง

อก : สีเหลืองมีจุดดำ ๔ จุด ปีกคู่หน้าสีเหลือง กว้าง ๒.๗๑±๐.๑๘ เซนติเมตร (n=๑๖) เส้น costa สีดำ บริเวณโคนปีกมีแถบขนาดเล็กสีดำจำนวน ๕ แถบ กลางปีกมีแถบสีน้ำตาลเรียงขวางปีก ๔ แถว ปลายปีกมีแถบสีดำ ๖ แถว ใต้ปีกสีเหลืองสลับดำ ปีกคู่หลังสีเหลือง มีจุดสีดำเรียงเป็นแถว ๓ แถว แถวแรกถัดจากโคนปีกมี ๑ จุด แถวที่ ๒ มี ๗ จุด ขอบด้านล่างของปีกมีจุดสีดำชัดเจน ๑ จุด

ท้อง : ปล้องที่ ๑ สีเหลือง ปล้องที่ ๒-๕ สีเหลืองมีจุดดำกระจายปล้องละ ๓ จุด ปล้องที่ ๖ มีจุดสีดำอยู่กลางปล้อง ๑ จุด ท้องปล้องที่ ๘ เพศเมียสีเหลือง เพศผู้มีกระจุกขนสีดำหนาแน่น

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๑๖ ตัวอย่าง Thailand: Chumphon Prov. (EMBT.Lep.๐๐๐๒๘๑-๐๐๐๒๘๓), Chiang Mai Prov., Doi Suthep (EMBT.Lep.๐๐๐๒๘๖), Mae Teang (EMBT.Lep.๐๐๑๕๓๕), ChomThong (EMBT.Lep.๐๐๐๒๘๘-๐๐๐๒๙๐), Chiang Dao (EMBT.Lep.๐๐๐๒๙๑), Kanchanaburi Prov. (EMBT.Lep.๐๐๐๒๘๔), Phetchabun Prov., Khao Kho (EMBT.Lep.๐๐๐๓๖๒, EMBT.Lep.๐๐๑๕๓๔), Phitsanulok Prov., Nakhon Thai (EMBT.Lep.๐๐๐๓๖๔), Prachuap kiri kahn Prov. (EMBT.Lep.๐๐๐๒๘๕), Sakaeo Prov., Muang (EMBT.Lep.๐๐๐๓๖๓), Trang Prov., Kao Chong (EMBT.Lep.๐๐๐๒๘๗)

เขตการแพร่กระจาย : ประเทศไทย : ชุมพร เชียงใหม่ กาญจนบุรี เพชรบูรณ์ พิษณุโลก ประจวบคีรีขันธ์ สระแก้ว และตรัง

พืชอาหาร : มะสาร

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้ไม่จัดเป็นศัตรูพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ หนอนทำลายพืชโดยการกัดกินผล สำรวจพบช่วงเดือน มกราคม, เมษายน, พฤษภาคม, มิถุนายน, กรกฎาคม, กันยายน, พฤศจิกายน

๕. *Conogethes pluto* (Butler, ๑๘๘๗) (Figure ๑ e)

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนสีเหลืองด้านล่างสีขาว กระหม่อมสีเหลือง ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๔๘ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างปล้องที่ ๑ สีเหลือง ปล้องที่ ๒ ครึ่งแรกสีเหลืองส่วนปลายสีน้ำตาล ปล้องสุดท้ายมีขนาดเล็กสีเหลือง ริมฝีปากบนสีเหลืองปล้องสุดท้ายสีดำ

อก : สีเหลืองมีจุดดำปล้องละ ๓ จุด ปีกคู่หน้าสีเหลือง กว้าง ๒.๔๓±๐.๓๓ (n=๔) เซนติเมตร มีจุดสีดำเรียงเป็นระเบียบมากกว่า *Conogethes punctiferalis* โคนปีกมีจุดสีดำเรียงกัน ๒ แถว กลางปีก ๒ จุด และปลายปีก ๓ แถว เส้นขนบริเวณขอบด้านนอกของปีกสีน้ำตาลปลายขนสีเทา ปีกคู่

หลังสีเหลือง มีจุดสีดำกระจายทั่วปีก ๑๔ จุด แถบสีดำเป็นรูปสามเหลี่ยมที่เส้น Media บริเวณขอบล่างของปีกมีลักษณะเป็นแถบสีดำ ๑ แถบ ขาทั้ง ๓ คู่ สีขาว-เทา ที่ tibia และ tarsus สีเทา

ท้อง : สีเหลือง ปล้องที่ ๒-๕ สีเหลืองมีจุดดำกระจายปล้องละ ๓ จุด ปล้องที่ ๖ มีจุดสีดำ ๑ จุด ท้องปล้องที่ ๘ เพศเมียสีเหลือง เพศผู้มีกระจุกขนสีดำหนาแน่น ขาคู่หน้าขาว-สีเทา คู่ที่ ๒ สีขาว tibia และ tarsus สีเทา ขาคู่ที่ ๓ สีขาว

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๔ ตัวอย่าง Thailand: Bangkok Prov. (EMBT.Lep.๐๐๐๑๓๗-๐๐๐๑๓๘)

เขตการแพร่กระจาย : ประเทศไทย : กรุงเทพฯ

พืชอาหาร : ทับทิม (*Punica granatum* Linnaeus)

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้จัดเป็นศัตรูพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ มักพบหนอนกัดกินและอาศัยในผลทับทิมตลอดการจนกว่าจะลอกคราเป็นตัวเต็มวัย สำรวจพบช่วงเดือน กันยายน

๖. *Conogethes punctiferalis* Guenée, ๑๘๕๔) (Figure ๑ f)

หนอนเจาะผล (castor capsule borer, yellow peach moth)

Astura punctiferalis Guenée, ๑๘๕๔

Deiopeia detracta Walker, ๑๘๕๙

Botys nicippealis Walker, ๑๘๕๙

Astura guttatalis Walker, ๑๘๖๖

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนสีเหลืองด้านล่างสีเหลืองแซมด้วยสีเทา กระหม่อมสีเหลือง ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๖๐ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างปล้องที่ ๑ และ ๒ ด้านนอกสีเหลืองด้านในสีดำ ปล้องสุดท้ายมีขนาดเล็กด้านนอกสีขาวด้านในสีเหลือง

อก : สีเหลืองมีจุดดำปล้องละ ๓ จุด ปีกคู่หน้าสีเหลือง กว้าง ๒.๒๒±๐.๒๔ (n=๒๐) เซนติเมตร มีจุดสีดำกระจายทั่วปีก ๒๖-๒๘ จุด ปีกคู่หลังสีเหลือง มีจุดสีดำกระจายทั่วปีก ๑๕ จุด

ท้อง : สีเหลือง ปล้องที่ ๒-๕ สีเหลืองมีจุดดำกระจายปล้องละ ๓ จุด ปล้องที่ ๖ มีจุดสีดำ ๑ จุด ท้องปล้องที่ ๘ เพศเมียสีเหลือง เพศผู้มีกระจุกขนสีดำหนาแน่น

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๑๔๓ ตัวอย่าง Thailand: Bangkok Prov. (EMBT.Lep.๐๐๐๑๖๐-๖๑), Bangkok Noi (EMBT.Lep.๐๐๐๒๒๕), Bank khun non (EMBT.Lep.๐๐๐๒๕๐), Bang sue (EMBT.Lep.๐๐๐๑๕๙), Chanthaburi Prov. (EMBT.Lep.๐๐๐๒๑๒-๐๐๐๒๑๓, EMBT.Lep.๐๐๐๓๖๘), (EMBT.Lep.๐๐๐๒๑๔-๐๐๐๒๑๕, EMBT.Lep.๐๐๐๑๖๒, EMBT.Lep.๐๐๐๒๒๖-๐๐๐๒๒๘), Khlung (EMBT.Lep.๐๐๐๒๒๑-๐๐๐๒๒๔), Muang (EMBT.Lep.๐๐๐๒๔๓), Soi Dao (EMBT.Lep.๐๐๐๒๔๗), Chiang mai Prov., Doi Pui (EMBT.Lep.๐๐๐๒๔๘-๐๐๐๒๔๙), Chiang Rai Prov., Muang (EMBT.Lep.๐๐๐๒๒๙-๐๐๐๒๓๐), Chon Buri Prov., Si Racha (EMBT.Lep.๐๐๐๑๐๕-๐๐๐๑๒๕), Kampang Phet Prov., Khlong Lan (EMBT.Lep.๐๐๐๓๖๗), Nakhon Nayok Prov. (EMBT.Lep.๐๐๐๒๔๔-๐๐๐๒๔๖), Nakhon Panom Prov. (EMBT.Lep.๐๐๐๑๗๙-๐๐๐๑๘๖), Nakhon Ratchama Prov. (EMBT.Lep.๐๐๐๑๒๖-๐๐๐๑๒๘, EMBT.Lep.๐๐๐๑๗๓-๐๐๐๑๗๔, EMBT.Lep.๐๐๐๑๘๘-๐๐๐๑๙๙, EMBT.Lep.๐๐๐๒๐๐-๐๐๐๒๑๑), Ban Mai Samrong

(EMBT.Lep.๐๐๐๑๖๓-๐๐๐๑๗๒), Pak Chong (EMBT.Lep.๐๐๐๒๓๔-๐๐๐๒๓๕), Nakhon si Thammarat Prov., Tha Sala (EMBT.Lep.๐๐๐๒๓๙-๐๐๐๒๔๐), Pattani Prov., Sai buri (EMBT.Lep.๐๐๐๑๓๓-๐๐๐๑๓๖), Phetchabun Prov., Khao Kho (EMBT.Lep.๐๐๐๓๖๕), Phetchaburi Prov. (EMBT.Lep.๐๐๐๑๔๑-๐๐๐๑๕๘), Rayong Prov. (EMBT.Lep.๐๐๐๒๓๑-๐๐๐๒๓๓), Roi et Prov. (EMBT.Lep.๐๐๐๒๑๖-๐๐๐๒๒๐, EMBT.Lep.๐๐๐๑๘๗), Sakaeo Prov., Muang (EMBT.Lep.๐๐๐๓๖๖), Saraburi Prov., Muak Lek (EMBT.Lep.๐๐๐๑๗๕), Kaeng Khoi (EMBT.Lep.๐๐๑๕๓๖), Supanburi Prov., U Thong (EMBT.Lep.๐๐๐๑๗๖-๐๐๐๑๗๘), Surat thani Prov. ๑๕๐๐ ft (EMBT.Lep.๐๐๐๑๒๙-๐๐๐๑๓๒), Na San (EMBT.Lep.๐๐๐๒๔๑-๐๐๐๒๔๒)

เขตการแพร่กระจาย : ประเทศไทย : กรุงเทพฯ จันทบุรี เชียงใหม่ เชียงราย ชลบุรี กำปัง เพชร นครนายก นครพนมนครราชสีมา ปัตตานี เพชรบูรณ์ เพชรบุรี ระยอง ร้อยเอ็ด สระแก้ว สระบุรี และสุราษฎร์ธานี

ต่างประเทศ : บรูไนดารุสซาลาม กัมพูชา จีน อินเดีย อินโดนีเซีย ญี่ปุ่น เกาหลี ลาว พม่า ฟิลิปปินส์ ศรีลังกา เวียดนาม ออสเตรเลีย และปาปัวนิวกินี

พืชอาหาร : ทุเรียน (*Durio zebethinus* Linnaeus), ลิ้นจี่ (*Litchi chinensis* Sonn.), เจาะผลทับทิม (*Punica granatum* Linnaeus), กินดอกเงาะ (*Nephelium lappacem* Linnaeus), ฝรั่ง (*Psidium guajava* Linn.), ละหุ่ง (*Ricinus communis* Linnaeus), มะหวด (*Erioglossum rubiginosum* Blum.), ข้าวฟ่าง (*Sorghum vilgare* Pers.)

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้จัดเป็นศัตรูพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ หนอนทำลาย ผล ขั้วผล ดอก ยอด สำรวจพบได้ตลอดปีตลอดปี

๗. *Cydalima laticostalis* (Guenée, ๑๘๕๔) (Figure ๑ g)

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนสีน้ำตาลอ่อนด้านล่างสีขาวนวล กระหม่อมสีเหลือง-ขาว ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๒๗ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างปล้องที่ ๑ สีขาวด้านในสีน้ำตาล ปล้องที่ ๒ ด้านนอกสีขาวด้านในสีน้ำตาล ปล้องสุดท้ายขยายใหญ่สีน้ำตาล ริมฝีปากบนปล้องสุดท้ายขยายใหญ่สีน้ำตาล

อก : ปล้องที่ ๑ ขอบด้านบนสีน้ำตาลเข้มด้านในสีขาว ปล้องที่ ๒ และ ๓ สีขาวนวล ปีกคู่หน้าสีขาว กว้าง ๓.๓๔±๐.๓๒ (n=๒๐) เซนติเมตร ขอบปีกด้านบนสีน้ำตาลเข้ม มีแถบสีน้ำตาลลักษณะคล้ายพระจันทร์เสี้ยวบริเวณกลางปีก ปีกคู่หลังสีขาว โคนปีกระหว่างเส้น Radius และ Media มีแผ่นแข็งขนาดเล็กสีน้ำตาลข้างละ ๑ แถบ

ท้อง : สีขาว ปล้องที่ ๗-๘ สีน้ำตาลแซมด้วยสีเหลืองเข้ม ขาคู่หน้าบริเวณ trochanter และ femur ด้านในสีน้ำตาลด้านนอกสีขาว มีขนสีน้ำตาลเป็นกระจุกบริเวณ tibia ขาคู่ที่ ๒ สีขาว femur สีน้ำตาล ขาคู่ที่ ๓ สีขาว

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๒๘ ตัวอย่าง Thailand: Bangkok Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๐๒๕๑, EMBT.Lep. ๐๐๐๒๕๙-๐๐๐๒๖๐), Bangkok Noi (EMBT.Lep. ๐๐๐๒๖๑), Chanthaburi Prov., (EMBT.Lep. ๐๐๐๒๖๒-๐๐๐๒๖๓, EMBT.Lep. ๐๐๐๒๖๖), Chiang Mai Prov.,Fang (EMBT.Lep. ๐๐๐๒๕๕), Kanchanaburi Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๐๒๕๔), Sai yok

(EMBT.Lep. ๐๐๐๒๕๖), Nakhon Nayok Prov., (EMBT.Lep. ๐๐๐๒๕๗-๐๐๒๕๘, EMBT.Lep. ๐๐๐๒๖๕), NaKhon Ratchasima Prov., Pakchong (EMBT.Lep. ๐๐๐๒๗๐), วังน้ำเขียว (EMBT.Lep. ๐๐๐๒๗๔), Nakhon Si Thammrat Prov., Lansaka (EMBT.Lep. ๐๐๐๒๖๙), Phrae Prov., บ้านกลาง (EMBT.Lep. ๐๐๐๒๕๓), Saraburi Prov., Muak lek (EMBT.Lep. ๐๐๐๒๖๘), Songkhla Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๐๒๖๔), Uthaitani Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๐๒๕๒, EMBT.Lep. ๐๐๐๒๖๗, EMBT.Lep. ๐๐๐๒๖๗)

เขตการแพร่กระจาย : ประเทศไทย กรุงเทพฯ จันทบุรี เชียงใหม่ กาญจนบุรี นครนายก นครราชสีมา นครศรีธรรมราช แพร่ สระบุรี อุทัยธานี และสงขลา

พืชอาหาร : มะลิ (*Jasminum sambac* (L.)),โมกมัน (*Wrightia tomenotsa* R.S.)

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้จัดเป็นศัตรูพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ หนอนกัดกินส่วน ดอกและใบพืช สำรวจพบช่วงเดือน มกราคม มีนาคม เมษายน พฤษภาคม กรกฎาคม สิงหาคม กันยายน ตุลาคม พฤศจิกายน และธันวาคม

๘. *Diaphania indica* (Saunders, ๑๘๕๑) (Figure ๑ h)
ผีเสื้อหนอนฟัก (pumpkin caterpillar)

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนสีน้ำตาลด้านล่างสีขาว กระหม่อมสีน้ำตาลสลับขาว ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๕๑ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างปล้องที่ ๑ ด้านนอกสีขาวด้านในสีน้ำตาล ปล้องที่ ๒ สีน้ำตาล ปล้องสุดท้ายขนาดเล็กสีน้ำตาล

อก : ปล้องที่ ๑ และ ๒ สีน้ำตาล ปล้องที่ ๓ ส่วนที่ติดกับท้องสีขาว ปีกคู่หน้าสีขาว กว้าง ๒.๓๙±๐.๑๘ (n=๒๐) เซนติเมตร ขอบปีกด้านบนและขอบปีกด้านนอกสีน้ำตาล บริเวณกลางปีกสีขาว ปีกคู่หลังสีขาว ขอบปีกด้านนอกสีน้ำตาล เมื่อกางปีกแถบสีน้ำตาลบริเวณขอบด้านนอกของปีกคู่หน้าและปีกคู่หลังซ้อนทับกันทำให้เห็นสีขาวกลางปีกเป็นรูปสามเหลี่ยม

ท้อง : สีขาว ปล้องที่ ๖-๗ สีน้ำตาล ในเพศผู้ท้องปล้องที่ ๘ มีขนสีน้ำตาลอ่อน-เหลืองเป็นกระจุกหนาแน่น

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๑๓๗ ตัวอย่าง Thailand: Bangkok Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๒๒๕๗-๒๒๖๖), Bangkhen (EMBT.Lep. ๐๐๑๕๘๖, EMBT.Lep. ๐๐๒๒๗๘-๒๒๘๐, EMBT.Lep. ๐๐๒๒๘๖-๒๒๘๗), Bangkok Noi (EMBT.Lep. ๐๐๑๕๘๘), Don-muang (EMBT.Lep. ๐๐๒๓๐๘-๒๓๐๙), Chaiyaphum Prov.(EMBT.Lep. ๐๐๑๕๘๓), Kanchanaburi Prov. (EMBT.LEP.๐๐๒๓๔๒-๒๓๔๕, EMBT.LEP.๐๐๒๓๔๖-๒๓๔๗), Nakhon Nayok Prov. (EMBT.LEP.๐๐๒๒๗๓, EMBT.LEP.๐๐๒๓๐๒-๒๓๐๓), Phang nga Prov. (EMBT.LEP.๐๐๒๓๒๔-๒๓๔๑), Phichit Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๒๓๐๔-๒๓๐๗), Sakhon Nakhon Prov. (EMBT.LEP.๐๐๒๓๔๘-๒๓๕๐), Samut Sakhon Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๒๒๘๘-๒๒๙๑), Suphan Buri Prov. (EMBT.LEP.๐๐๒๓๕๑), Nakhon Si Thammarat Prov., Tha Sala (EMBT.Lep. ๐๐๒๓๕๒), Chumphon Prov., Lang suan (EMBT.Lep. ๐๐๒๒๘๑-๒๒๘๕), Chiang mai Prov., Sansai (EMBT.Lep. ๐๐๒๒๗๔-๒๒๗๗), Chachoengsao Prov., Phanom Sarakham (EMBT.Lep. ๐๐๑๕๘๔), Saraburi Prov., Phu Kae (EMBT.Lep. ๐๐๒๓๑๐-๒๓๒๓, EMBT.Lep. ๐๐๒๒๖๗-๒๒๗๒, EMBT.Lep. ๐๐๒๒๙๓-๒๒๙๖), Prachin Buri Prov., Sa kaew

(EMBT.Lep. ๐๐๒๒๙๗-๒๓๐๑), Chon buri Prov., Siracha (EMBT.Lep. ๐๐๑๕๘๕), Nonthaburi Prov., บางบัวทอง (EMBT.Lep. ๐๐๑๕๗๐-๕๘๒), Chanthaburi Prov., พลิ้ว Khlung (EMBT.LEP.๐๐๑๕๔๙-๕๗๓)

เขตการแพร่กระจาย : ประเทศไทย : กรุงเทพฯ, ชัยภูมิ, กาญจนบุรี, นครนายก, พิจิตร, สกลนคร, สมุทรสาคร, สุพรรณบุรีนครศรีธรรมราช, พังงา, ชุมพร, เชียงใหม่ฉะเชิงเทราสระบุรี, ปราจีนบุรี, ชลบุรี, นนทบุรี และจันทบุรี

พืชอาหาร : แตงโม (*Citrullus vulgaris* Schrad.), แคนตาลูป (*Cucumis melo* L.), มะระ (*Momordica charentia* Linn.), แคนตาลูป (*Cucumis melo* L.), ตำลึง (*Coccinia indica* W.&A.), แตงกวา (*Cucumis sativus* Linn), แตงไทย (*Cucumis melo* L.), น้ำเต้า (*Legenaria leucantha* Rusby), บวบ (*Luffa acutangula* Roxbg), แฟง (*Benincasa cerifera* Savi.), มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้จัดเป็นศัตรูพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ หนอนกัดกินดอกใบและผล สำรวจพบช่วงเดือน มกราคม กุมภาพันธ์ มีนาคม มิถุนายน กรกฎาคม สิงหาคม กันยายน ตุลาคม พฤศจิกายนธันวาคม

๙. *Glyphodes bivitralis* Guenée, ๑๘๕๔ (Figure ๒ a)

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนสีน้ำตาลขอบด้านนอกและตรงกลางสีเทา ด้านล่างสีขาว กระหม่อมสีขาวสลับสีน้ำตาล ปากปกคลุมด้วยขนสีขาว โคนหนวดปกคลุมด้วนขนสีเทา ริมฝีปากบนปล้องที่ ๑-๓ สีน้ำตาล ปล้องที่ ๔ สีเทา ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๔๓ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างขยายกว้าง ปล้องที่ ๑ สีขาว ปล้องที่ ๒ สีน้ำตาลขอบด้านนอกสีขาว ปล้องสุดท้ายขนาดเล็กสีน้ำตาลอ่อน ส่วนปลายชี้ออกด้านนอก

อก : สีน้ำตาลเข้มมีแถบสีขาวด้านข้าง ๒ แถบแถบสีขาวเชื่อมต่อกับ tegulae, patagium สีน้ำตาลเข้ม ปีกคู่หน้าสีน้ำตาล กว้าง ๒.๗๖±๐.๓๒ (n=๒๐) เซนติเมตร กลางปีกมีแถบสีขาวขนาดใหญ่ ๒ แถบ ระหว่างแถบสีขาว มีจุดกลมสีดำ ๑ จุด ขอบด้านบนของปีกสีเหลือง ปีกคู่หลังสีขาว ขอบด้านนอกของปีกสีน้ำตาลเข้ม

ท้อง : สีน้ำตาล ด้านข้างมีแถบสีขาวข้างละหนึ่งแถบ ในเพศผู้ท้องปล้องที่ ๘ มีขนสีน้ำตาลเข้มเป็นกระจุกหนาแน่น เพศเมียขนสีเหลือง

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๓๐ ตัวอย่าง Thailand: Phetchaburi Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๑๘๔๗), Rayong Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๑๘๕๘), Kanchanaburi Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๑๘๖๐), Nara Thiwat Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๑๘๕๗), Nakhon Nayok Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๑๘๖๕-๘๖๖), Khao Yai ๔,๐๐๐ ft (EMBT.Lep. ๐๐๑๘๖๑), Bangkok Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๑๘๖๗), Bang khen (EMBT.Lep. ๐๐๑๘๕๑, EMBT.Lep. ๐๐๑๘๕๒-๘๕๔), Saraburi Prov., Kaeng Khoi (EMBT.Lep. ๐๐๑๘๗๕), Phetchabun Prov., Khao Kho (EMBT.Lep. ๐๐๑๘๕๙, EMBT.Lep. ๐๐๑๘๗๔), Nam Nao (EMBT.Lep. ๐๐๑๘๗๒), Nakhon Si Thammrat Prov., Lansaka (EMBT.Lep. ๐๐๑๘๖๔), Nopphitam (EMBT.Lep. ๐๐๑๘๖๙-๘๗๐), Saraburi Prov., Phu Kae (EMBT.Lep. ๐๐๑๘๔๘-๘๕๐), Lop Buri Prov., Sub Langka, Lam Son Ti (EMBT.Lep. ๐๐๑๘๖๒), Nakhon Ratchasima Prov., Wang Nam Khiao (EMBT.Lep.

๐๐๑๘๗๓, EMBT.Lep. ๐๐๑๘๖๘, EMBT.Lep. ๐๐๑๘๗๑), Phrae Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๑๘๕๕-๘๕๖), Sa Kaeo Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๑๘๖๓)

เขตการแพร่กระจาย ประเทศไทย : กรุงเทพฯ, กาญจนบุรี, ลพบุรี, นครนายก, นครราชสีมา, นครศรีธรรมราช, นาราธิวาส, เพชรบูรณ์, แพร่, สระแก้ว, สระบุรี, ชลบุรี, นครราชสีมา และนครนายก

พืชอาหาร : โพธิ์ (*Ficus religiosa* Linn.), มะเดื่อชุมพร (*Ficus glomerata* Roxb.), มะขามเทศ (*Pithecellobium dulce* (Roxb.)), ไทร (*Ficus miceocarpa* Linn.)

วิจารณ์ : : ผีเสื้อชนิดนี้ทำลายพืชโดยการม้วนใบ กินใบ สำรวจพบช่วงเดือน มกราคม, กุมภาพันธ์, มีนาคม, เมษายน, พฤษภาคม,มิถุนายน, กรกฎาคม, สิงหาคม, กันยายน, ตุลาคม, พฤศจิกายน และธันวาคม

๑๐. *Glyphodes caesalis* Walker (Figure ๒ b)

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนสีน้ำตาลอ่อนมีแถบสีน้ำตาลเข้มใกล้ฐานหนวด ด้านล่างน้ำตาลอ่อน-สีขาวสลับด้วยแถบสีน้ำตาลเข้ม ๒ แถบ กระหม่อมสีน้ำตาลขอบด้านนอกสีน้ำตาลอ่อน ริมฝีปากล่างสีขาวปล้องสุดท้ายสีน้ำตาล ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๑๕ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างปล้องที่ ๑ ด้านนอกสีเหลืองอ่อนส่วนปลายมีแถบสีเทาอ่อนเล็กน้อย ปล้องที่ ๒ ขอบด้านนอกสีเทาอ่อนด้านในสีเหลืองอ่อน ปล้องสุดท้ายขนาดเล็กสีเหลืองอ่อน

อก : สีเหลืองอ่อน มีแถบสีน้ำตาลกลางอก ๒ แถบและด้านข้างอีก ๒ แถบ ปีกคู่หน้าสีเหลือง กว้าง ๒.๘๒±๐.๒๐ (n=๒๐) เซนติเมตร โคนปีกมีแถบสีน้ำตาลเข้ม ๓ แถบ กลางปีกแถบสีน้ำตาล ลักษณะเป็นวงรี ๒ วง ปลายปีกด้านนอกมีแถบสีน้ำตาลมาบรรจบกันที่เส้น M๒ และ M๓ ลักษณะเป็นครึ่งวงกลม บนเส้น CuA๑, CuA๒, M๒ และ M๓ มีจุดสีเหลืองล้อมขอบสีน้ำตาลเส้นละ ๑ จุด ขอบปีกด้านนอกมีแถบสีน้ำตาลกระจายทั่ว ขนปลายปีกสีน้ำตาล มุมด้านล่างของปลายปีกขนสีน้ำตาลอ่อน ปีกคู่หลังสีเหลืองอ่อน-ขาว กลางปีกมีแถบสีน้ำตาลเข้ม ๓ แถบ มุมปลายปีกและขอบปีกด้านนอกสีน้ำตาล ขนขอบปีกด้านนอกส่วนโคนสีเหลืองส่วนปลายสีขาว

ท้อง : ปล้องที่ ๑-๒ สีขาวมีแถบสีน้ำตาล ๒ แถบ ปล้องที่ ๓-๘ สีน้ำตาลและมีแถบสีน้ำตาลเข้ม ๒ แถบ ในเพศผู้ท้องปล้องที่ ๘ มีขนสีดำเป็นกระจุกหนาแน่น เพศเมียท้องปล้องสุดท้ายขนสั้นสีเหลือง

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๔๐ ตัวอย่าง Thailand: Bangkok (EMBT.Lep. ๐๐๑๕๘๙-๐๐๑๖๑๓), Bangkok Noi (EMBT.Lep. ๐๐๑๖๑๔-๖๑๙)

เขตการแพร่กระจาย : ประเทศไทย : กรุงเทพฯ

พืชอาหาร : ขนุน (*Artocarpus heterophyllus* Lam.), สาเก (*Artocarpus communis* Rorst.)

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้หนอนกัดกินใบและผล สำรวจพบช่วงเดือน มกราคม, กุมภาพันธ์, พฤษภาคม, มิถุนายน, กรกฎาคม, สิงหาคม, กันยายน, พฤศจิกายน และธันวาคม

๑๑ *Glyphodes conclusalis* Walker, ๑๘๖๕ (Figure ๒ c)

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนสีน้ำตาลอ่อน ด้านล่างสีขาว กระหม่อมสีขาวมีกระจุกขนสีน้ำตาลเข้มตรงกลาง ปากปกคลุมด้วยเกล็ดสีขาวสลับสีเทา ริมฝีปากบนปล้องที่ ๑ และ ๒ สีน้ำตาลอ่อน-ขาว ปล้องที่ ๓ สีน้ำตาลเข้ม ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๓๓ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างปล้องที่ ๑ ขายากว้าง สีขาว ปล้องที่ ๒ สีน้ำตาล-เทา ขอบด้านนอกสีขาว ปล้องสุดท้ายขนาดเล็กสีน้ำตาลอ่อน ส่วนปลายชี้ออกด้านนอก

อก : สีน้ำตาลเข้มมีแถบสีขาวด้านข้าง ๒ แถบ patagium สีน้ำตาลเข้ม แถบสีขาวเชื่อมต่อกับ tegulae ปีกคู่หน้าสีขาว กว้าง ๒๑๖±๐.๓๐ (n=๑๔) เซนติเมตร สีน้ำตาลเข้ม กลางปีกมีแถบสีขาวขนาดใหญ่สองแถบ ระหว่างแถบสีขาวมีจุดสีดำหนึ่งจุด ขอบด้านบนของปีกสีเหลือง ขนบริเวณขอบด้านนอกของปีกสีน้ำตาลอ่อน
ปีกคู่หลังสีขาว ขอบปีกด้านนอกสีน้ำตาล

ท้อง : สีน้ำตาล ด้านข้างมีแถบสีขาวข้างละหนึ่งแถบ ในเพศผู้ท้องปล้องที่ ๘ มีขนสีน้ำตาลเข้มเป็นกระจุกหนาแน่น เพศเมียขนสีเหลือง

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๒๑ ตัวอย่าง Thailand: (EMBT.Lep. ๐๐๑๗๔๐-๗๔๓, EMBT.Lep. ๐๐๑๗๕๑), Surat Thani Prov., Ban Na San (EMBT.Lep. ๐๐๑๗๓๙), Bangkok Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๑๗๔๗-๗๕๐), Trang Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๑๗๓๕-๗๓๖), Rayong Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๑๗๓๗), Chachoengsao Prov., Phanom Sarakham (EMBT.Lep. ๐๐๑๗๔๔, EMBT.Lep. ๐๐๑๗๔๖), Saraburi Prov., Phu Kae (EMBT.Lep. ๐๐๑๗๕๔-๗๕๕, EMBT.Lep. ๐๐๑๗๓๘), Chonburi Prov., Siracha (EMBT.Lep. ๐๐๑๗๔๕), Chanthaburi Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๑๗๕๒), Ta Mai (EMBT.Lep. ๐๐๑๗๕๓)

เขตการแพร่กระจาย : ประเทศไทย : กรุงเทพฯ, ฉะเชิงเทรา, จันทบุรี, ชลบุรี, ระยอง, สระบุรี, สุราษฎร์ธานี และตรัง

พืชอาหาร : เครือไส้ตัน (*Parameria barbata* (B.E.),K.Schum)

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้หนอนกัดกินใบ สำรวจพบช่วงเดือน มกราคม, เมษายน, มิถุนายน, กรกฎาคม, สิงหาคม, กันยายน, ตุลาคม และพฤศจิกายน

๑๒. *Glyphodes ernalis* Swinhoe, ๑๘๙๔ (Figure ๒ d)

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนสีเหลืองอ่อนมีแถบสีน้ำตาลเข้มใกล้ฐานหนวด ๒ จุด ด้านล่างสีขาว กระหม่อมสีเหลืองและมีแถบสีน้ำตาล-เทากลางกระหม่อม ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๓๓ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างปล้องที่ ๑ สีขาวขอบด้านในสีดำ ปล้องที่ ๒ สีดำ-น้ำตาล ขอบด้านนอกสีขาวสลับเหลือง ปล้องสุดท้ายขนาดเล็กสีเหลืองปลายปล้องชี้ออกด้านนอกลำตัว

อก : สีน้ำตาล มีแถบสีขาวกลางอก ๒ แถบ tegulae สีขาวส่วนโคนสีน้ำตาล-ดำ ปีกคู่หน้าสีน้ำตาล-ดำ กว้าง ๒.๑๓±๐.๑๕ (n=๔) เซนติเมตร โคนปีกมีแถบสีน้ำตาล กลางปีกมีแถบสีขาวขนาดใหญ่ ๑ แถบ และมีจุดลักษณะเป็นวงรีอีก ๑ จุด ขอบปีกด้านบนเกือบถึงมุมปลายปีกมีจุดสีขาว ๑ จุด

ขนบริเวณขอบด้านนอกของปีกสีขาวสลับน้ำตาล ปีกคู่หลังจากโคนปีกถึงกลางปีกสีขาว จากกลางปีกถึงขอบปีกด้านนอกสีน้ำตาลเข้ม ขนบริเวณขอบด้านนอกของปีกสีขาว

ท้อง : ปล้องสีน้ำตาล ด้านข้างลำตัวมีแถบสีขาวข้างละ ๑ แถบ ในเพศผู้ท้องปล้องที่ ๘ มีขนสีดำเป็นกระจุกหนาแน่น เพศเมียท้องปล้องสุดท้ายขนสั้นสีเหลือง

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๔๐ ตัวอย่าง Thailand: (EMBT.Lep. ๐๐๑๖๒๐), Bangkok Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๑๖๒๑), Lampang Prov., Ko Kha (EMBT. ๐๐๑๖๒๒), Lep. Nan Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๑๖๒๓), Nonthaburi Prov., Pak Kret (EMBT.Lep. ๐๐๑๖๒๔)

เขตการแพร่กระจาย : ประเทศไทย : กรุงเทพมหานคร ลำปาง น่าน นนทบุรี

พืชอาหาร -

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้หนอนกัดกินใบและผล สำรวจพบช่วงเดือน มิถุนายน, กรกฎาคม, สิงหาคม, กันยายน, พฤศจิกายน

๑๓. *Glyphodes pulverulantis* Hampson (Figure ๒ e)

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนสีเหลืองอ่อนด้านหน้าสีเทา ด้านล่างสีขาว เกล็ดที่หุ้ม Proboscis สีน้ำตาล-เทา กระหม่อมสีเหลืองและมีแถบสีน้ำตาลเข้มกลางกระหม่อม ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๕๗ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างปล้องที่ ๑ สีขาวขอบด้านในส่วนที่ติดกับปล้องที่ ๒ สีน้ำตาล ปล้องที่ ๒ ขอบด้านในสีเหลืองอ่อน ขอบด้านนอกสีขาว ส่วนตรงกลางปล้องสีเทา ปล้องสุดท้ายขนาดเล็กสีเหลืองส่วนปลายสีเทา

อก : สีเหลืองอ่อน สลับด้วยแถบสีน้ำตาลและน้ำตาลเข้ม ปีกคู่หน้าสีเหลือง กว้าง ๒.๕๔±๐.๑๘ (n=๔) เซนติเมตร บริเวณเส้น costa สีเหลือง มีแถบสีน้ำตาลเข้มพาดตามแนวขวางกระจายทั่วทั้งปีก ขอบด้านนอกของปีกสีน้ำตาลเข้ม ขนที่ขอบปีกส่วนโคนสีน้ำตาลอ่อนปลายขนสีเทา ปีกคู่หลังสีขาวแถบสีน้ำตาลกระจายบริเวณโคนปีกมากกว่าปลายปีก ขอบปีกด้านนอกและขนบริเวณขอบปีกสีน้ำตาลเข้ม ขนที่ขอบปีกส่วนโคนสีน้ำตาลอ่อนปลายขนสีเทาเหมือนปีกคู่หน้า

ท้อง : ปล้องสีน้ำตาลเข้มสลับด้วยสีน้ำตาลอ่อน มีแถบสีเหลืองอ่อนพาดในแนวเฉียงทางด้านข้างลำตัว ในเพศผู้ท้องปล้องที่ ๘ มีขนสีน้ำตาลเป็นกระจุกหนาแน่น เพศเมียท้องปล้องสุดท้ายขนสั้นสีเหลือง

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๒๕ ตัวอย่าง Thailand: NaKhon Ratchasima Prov., Wang nam Kheao (EMBT.Lep. ๐๐๑๖๒๗-๐๐๑๖๓๐, EMBT.Lep. ๐๐๑๖๓๔), Loei Prov. Phu Rua (EMBT.Lep. ๐๐๑๖๓๑), Pitsanulok Prov., Nakhon Thai (EMBT.Lep. ๐๐๑๖๒๕-๐๐๑๖๒๖), Roi-et Prov., Nong Pok (EMBT.Lep. ๐๐๑๖๓๒), Phetchabun Prov., Khao Kho (EMBT.Lep. ๐๐๑๖๓๓), Chiang mai Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๑๖๓๖), Samoeang (EMBT.Lep. ๐๐๑๖๓๗-๐๐๑๖๔๙), Nakhon Si Thammarat Prov., Thasala (EMBT.Lep. ๐๐๑๖๓๕), Chiang mai

เขตการแพร่กระจาย : ประเทศไทย NaKhon Ratchasima, Loei, Pitsanulok, Roi-et, Phetchabun, Chiang mai, Nakhon Si Thammarat

พืชอาหาร : มะเขือขาว และหม่อน

วิจารณ์ : เสื้อชนิดนี้หนอนกัดกินใบ สำรวจพบช่วงเดือนมกราคม, เมษายน, พฤษภาคม, มิถุนายน, กรกฎาคม, สิงหาคม, กันยายน, พฤศจิกายน

๑๔. *Herpetogramma bipunctalis* (Fabricius, ๑๗๙๔) (Figure ๒ f)

Phalaena bipunctalis Fabricius, ๑๗๙๔

Botys detritalis Guenée, ๑๘๕๔

Botys lycialis Walker, ๑๘๕๙

Botys philealis Walker, ๑๘๕๙

Botys repetitalis Grote, ๑๘๘๒

Botys terricolalis Möschler, ๑๘๘๒

Herpetogramma simplex Warren, ๑๘๙๒

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนสีเหลืองอ่อนด้านหน้าสีขาว-เทา ด้านล่างสีขาว เกล็ดที่หุ้มปาก (Proboscis) สีขาว กระหม่อมสีขาวและมีแถบสีน้ำตาลอ่อนกลางกระหม่อม ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑๗๓ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างปล้องที่ ๑ สีขาวขอบด้านในส่วนที่ติดกับปล้องที่ ๒ สีน้ำตาล ปล้องที่ ๒ ด้านในสีน้ำตาล ด้านนอกสีขาว ปล้องสุดท้ายสีน้ำตาลขนาดใกล้เคียงกับปล้องที่ ๒ ส่วนปลายชี้ออกด้านนอก

อก : สีน้ำตาลอ่อน ปีกคู่หน้าน้ำตาลอ่อน กว้าง ๒.๔๘±๐.๓๓ (n=๒๐) เซนติเมตร ขอบด้านบนของปีกถึงมุมปีกด้านบนสีน้ำตาลเข้ม บริเวณระหว่างเส้น Sc และ R๑ มีจุดสีดำสองจุด มีแถบสีน้ำตาลเข้มขนาดเล็กพาดตามแนวขวางของปีกสองเส้น แถบที่หนึ่งเยื้องมาทางโคนปีก แถบที่สองพบบริเวณขอบด้านนอกของปีกลักษณะเป็นเส้นโค้งส่วนปลายของเส้นมาถึงขอบด้านล่างของปีก ขอบปีกด้านนอกและขนบริเวณขอบปีกสีน้ำตาลเข้ม ขนที่ขอบปีกสีน้ำตาลอ่อน ปีกคู่หลังสีน้ำตาลอ่อน พบจุดสีน้ำตาลเข้มหนึ่งจุดบริเวณ discal cell มีแถบสีน้ำตาลบริเวณกลางปีกพาดยาวจากขอบด้านบนถึงขอบด้านล่างของปีก ขอบปีกด้านนอกและขนบริเวณขอบปีกสีน้ำตาลเข้ม ขนที่ขอบปีกสีน้ำตาลอ่อน ขาทั้งสามคู่สีน้ำตาลอ่อน

ท้อง : ปล้องสีน้ำตาลเข้มสลับด้วยสีน้ำตาลอ่อน

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๒๑๒ ตัวอย่าง

เขตการแพร่กระจาย : ประเทศไทย : กรุงเทพฯ ฉะเชิงเทรา เชียงใหม่ ชุมพร กาญจนบุรี แพร่ สระบุรี

พืชอาหาร : มะเขือเปราะ (*Solanum xanthocarpum* Schrad), มะเขือพวง (*Solanum torvum* Swartz) , มะเขือ (Solanum sp.), ยอ (*Morinda citrifolia* L.), หญ้างวงช้าง (*Heliotropium indicum* Linn.), บานไม่รู้โรย (*Gomphrena globosa* L.)

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้จัดเป็นศัตรูพืชสำคัญหนอนม้วนและกัดกินใบ สำรวจพบช่วงเดือนมกราคม, กุมภาพันธ์, กรกฎาคม, กันยายน, ตุลาคม, พฤศจิกายน และธันวาคม

๑๕. *Leucinodes orbonalis* Guenée, ๑๘๕๔ (Figure ๒ g)

หนอนเจาะผลมะเขือ (eggplant fruit borer)

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนสีขาวสลับน้ำตาลอ่อนด้านใต้สีขาว โคนหนวดปกคลุมด้วยขนสีขาว กระหม่อมสีขาว ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๘๔ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างสีขาว

กลางปล้องแต่ละปล้องแซมด้วยสีน้ำตาลอ่อน ปล้องสุดท้ายค่อนข้างยาวเห็นได้ชัดเจน ริมฝีปากบนสีน้ำตาลปล้องสุดท้ายสีดำ

อก : สีขาวแซมด้วยสีน้ำเข้มสลับน้ำตาลอ่อน ปีกคู่หน้ากว้าง ๒.๑๕+๐.๒๘ (n=๒๐) เซนติเมตร สีขาว โคนปีกสีเทาดำสลับสีน้ำตาลอ่อน เนื้อเยื่อกลางปีกระหว่าง R-M มีแถบสีเหลืองอ่อนหนึ่งแถบล้อมรอบด้วยสีน้ำตาลเข้ม ขอบด้านล่างของปีกระหว่างเส้น M ถึงขอบปีกด้านล่างมีแถบสีน้ำตาลรูปสามเหลี่ยมขอบเป็นสีเทา ขอบปีกด้านนอกระหว่างเส้น R ๕-M๓ มีแถบสีน้ำตาลเข้ม ๑ แถบ ระหว่างเส้น R๔-M๑ มีแถบสีน้ำตาลเข้มอีก ๑ แถบ มุมปลายปีกถึงขอบปีกด้านนอกมีจุดสีดำ ๖ จุด ขนรอบปีกสีขาวแซมด้วยสีน้ำตาลบางๆ ปีกคู่หลังสีขาว กลางปีกพบจุดสีดำ ๑ จุด ขอบด้านนอกของปีกมีจุดสีดำ ๕ จุด ขนรอบปีกสีขาว ขาทั้ง ๓ คู่ สีขาว ที่ tibia ของขาคู่แรกมีขนสีน้ำตาลเข้มหนาแน่น

ท้อง : ปล้องที่ ๑ ปล้องที่ ๒-๗ สีขาวสลับสีน้ำตาลอ่อนแซมด้วยสีดำเล็กน้อย ท้องปล้องที่ ๘ เพศเมียสีขาว เพศผู้มีกระจุกขนสีดำหนาแน่น

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๑๐๒ specimens ตัวอย่าง Thailand: Ayutthaya Prov.(EMBT.Lep. ๐๐๐๐๓๐-๐๐๐๐๕๔, EMBT.Lep. ๐๐๐๐๗๖-๐๐๐๐๘๑), Bangkok Prov.(EMBT.Lep. ๐๐๐๐๐๕, EMBT.Lep. ๐๐๐๐๘๒-๘๕), Bangkok Noi (EMBT.Lep. ๐๐๐๐๐๖, EMBT.Lep. ๐๐๐๐๕๖-๐๐๐๐๕๙, EMBT.Lep. ๐๐๐๐๘๘-๐๐๐๐๙๑), Bangkhen (EMBT.Lep. ๐๐๐๐๑๐-๐๐๐๐๒๕), Chiang Mai Prov., San Pa Tong (EMBT.Lep. ๐๐๐๐๙๒-๐๐๐๐๙๕), Kanchanaburi Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๐๐๑๐๑-๐๐๐๑๐๔), Tha Muang (EMBT.Lep. ๐๐๐๐๖๐-๗๕), Loei Prov., Phu Rua (EMBT.Lep. ๐๐๐๐๘๖), Nakhon Pathom Prov., Nakhon Chaisri (EMBT.Lep. ๐๐๐๐๒๖-๐๐๐๐๒๙, EMBT.Lep. ๐๐๐๐๘๗), Phare Prov., Ban Klang (EMBT.Lep. ๐๐๐๐๐๙), Ratchaburi Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๐๐๕๕, EMBT.Lep. ๐๐๐๐๙๖-๐๐๐๑๐๐) (EMBT.Lep. ๐๐๐๐๐๑-๐๐๐๐๐๔, EMBT.Lep. ๐๐๐๐๐๗-๐๐๐๐๐๘)

เขตการแพร่กระจาย ประเทศไทย : กรุงเทพมหานคร พระนครศรีอยุธยา เชียงใหม่ กาญจนบุรี เลย
นครปฐม ราชบุรี และแพร่

พืชอาหาร มะเขือเปราะ (*Solanum xanthocarpum* Schrad. & Wendl.), มะเขือขาว (*Solanum melongana* Linnaeus), มะเขือพวง (*Solanum torvum* Swartz), มะเขือม่วง (*Solanum melongana* Linnaeus)

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้เป็นสัตรูพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ หนอนกัดกินใบ ยอด และผล สำรวจพบช่วงเดือนมกราคม, กุมภาพันธ์, เมษายน, พฤษภาคม, มิถุนายน, กรกฎาคม, สิงหาคม, กันยายน, ตุลาคม และพฤศจิกายน

๑๖. *Maruca vitrata* (Fabricius, ๑๗๘๗) (Figure ๒ h)

หนอนเจาะฝักถั่ว (maruca bean pod borer)

Botys bifenestralis Mabille, ๑๘๘๐
Crochiphora testulalis Geyer, ๑๘๓๒
Hydrocampe aquitilis Guérin-Méneville, [๑๘๓๒]
Maruca testulalis (Geyer, ๑๘๓๒)

Phalaena vitrata Fabricius, ๑๗๘๗

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนสีน้ำตาลมีแถบสีขาวตรงกลางสีขาว ด้านล่างสีขาว โคนหนวดปกคลุมด้วยขนสีขาว กระหม่อมสีน้ำตาลขอบด้านนอกสีขาว ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๕๗ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างปล้องที่ ๑ สีขาวปล้องที่ ๒ สีขาว ขอบด้านในและส่วนที่ติดกับปล้องที่ ๓ สีน้ำตาล ปล้องสุดท้ายสีน้ำตาลค่อนข้างเรียวยาวส่วนปลายชี้ออกด้านนอก

อก : สีน้ำตาล-เทา บริเวณ tegulae ส่วนโคนสีเทาปลายสีขาว อกปล้องที่ ๒ และ ๓ สีเทาขอบด้านนอกสีขาว ปีกคู่หน้ากว้างของปีก ๒.๑๕+๐.๒๘ (n=๒๐) เซนติเมตร สีน้ำตาล-เทา ส่วนกลางปีกบริเวณเส้น discall cell (R-M) มีแถบสีขาวขอบด้านนอกสีเทา บริเวณเส้น R๔–CuA๒ มีแถบสีขาวขอบสีเทาเรียงในลักษณะตามขวางปีกเป็นแถวยาว ถัดจากเส้น M มีจุดสีขาว ๑ จุด ขนที่ขอบด้านนอกของปีกสีดำ-เทา ปีกคู่หลังสีขาว ปลายปีกสีน้ำตาล-เทา ขนปลายปีกสีดำ สีน้ำตาล และสีขาวเรียงมาถึงขอบด้านล่างของปีก ขาทั้ง ๓ คู่ สีขาวแซมด้วยสีน้ำตาล-เทา

ท้อง : สีน้ำตาลอ่อน

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๑๗๐ ตัวอย่าง

เขตการแพร่กระจาย ประเทศไทย : กรุงเทพฯ, ฉะเชิงเทรา, จันทบุรี, เชียงใหม่, ชลบุรี, กาญจนบุรี, ขอนแก่น, เลย, ลพบุรี, นครนายก, นครสวรรค์, พิษณุโลก, สระบุรี, สุพรรณบุรี, สุรินทร์, ตรัง, อุทัยธานี

พืชอาหาร : แค (*Sesbania grandiflora* Pers.), แคแดง (*Spathodes campanulata* Beaur.), โสกน้ำ (*Saraca pierrcana* Craib.), โสน (*Sesbania roxburghii* Merr.), ถั่วเขียว (*Phaseolus aureus* Roxb.), ถั่วแขก (*Phaseolus vulgaris* Linnaeus), ถั่วแปบ (*Dolichos lablab* Linnaeus), ถั่วฝักยาว (*Vigna simensis* Savi), ถั่วพู (*Psophocarpus tetragonolobus* DC), ถั่วมะแฮะ (*Cajanus cajan* (L.)),
ทองกวาว (*Butea frondosa* Roxb.)

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้เป็นสัตรูพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ หนอนเจาะถั่วฝัก กินดอก และใบ สำรวจพบช่วงเดือนมกราคม, กุมภาพันธ์, เมษายน, พฤษภาคม, สิงหาคม, กันยายน, ตุลาคม และพฤศจิกายน

๑๗. *Meroctena tullalis* Walker, ๑๘๕๙ (Figure ๓ a)

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนสีเหลือง ด้านล่างส่วนที่ติดกับปล้องอกสีขาวด้านนอกสีเหลือง กระหม่อมสีเหลือง โคนหนวดสีเหลือง ปากปกคลุมด้วนขนสีขาวริมฝีปากบนสีขาวสลับเหลืองเข้ม ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๗๑ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างปล้องที่ ๑ สีขาวด้านในสีเหลือง ปล้องที่ ๒ สีเหลืองเข้ม ปล้องที่ ๓ สีเหลืองเข้ม ลักษณะเรียวยาวส่วนปลายชี้ออกด้านนอก

อก : สีเหลือง ปีกคู่หน้าสีเหลือง กว้าง ๓.๑๔±๐.๓๒ (n=๑๗) เซนติเมตร บริเวณโคนปีกและกลางปีกสีเหลือง มีแถบสีน้ำตาลเรียงเป็นแถวพาดขวางปีกสองแถว ขอบปีกด้านบนบริเวณกลางปีกมีแถบสีน้ำตาลเข้มลักษณะคล้ายเม็ดถั่วหนึ่งแถบ มีแถบสีน้ำตาลเข้มขนาดใหญ่บริเวณขอบด้านนอกของปีก ขนบริเวณขอบปีกสีเหลืองสลับน้ำตาล ปีกคู่หลังสีเหลือง พบจุดสีน้ำตาลเข้มหนึ่งจุดบริเวณ discal

cell มีแถบสีน้ำตาลบริเวณกลางปีกพาดยาวจากขอบด้านบนถึงกลางปีก มุมบริเวณขอบปีกด้านนอกสีน้ำตาลเข้ม ขอบปีกด้านนอกสีเหลืองอ่อน ขนบริเวณขอบปีกสีน้ำตาลเข้มสลับสีเหลือง ขาทั้งสามคู่สีน้ำตาลอ่อน

ท้อง : สีน้ำตาลเข้มสลับด้วยสีน้ำตาลอ่อน

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๑๗ ตัวอย่าง

เขตการแพร่กระจาย ประเทศไทย : ฉะเชิงเทรา, เชียงใหม่, เลย, นครนายก, นครราชสีมา, นนทบุรี, สระบุรี

พืชอาหาร : กินใบพิกุลป่า (*Mimusops elengi* Linnaeus)

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้ไม่เป็นสัตรูพืชสำคัญ หนอนกัดกินใบพืช สำรวจพบช่วงเดือนพฤษภาคม, มิถุนายน, กรกฎาคม, กันยายน, ตุลาคม และพฤศจิกายน

๑๘. *Nausinoe geometralis* (Guenée, ๑๘๕๔) (Figure ๓ b)

Lepyrodes geometralis Guenée, ๑๘๕๔

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนสีขาวสลับสีน้ำตาลอ่อน ขอบด้านนอกสีขาว ปากปกคลุมด้วยขนสีขาวแซมด้วยสีน้ำตาลอ่อนเล็กน้อย มีกระจุกขนสีน้ำตาลตรงกลางสีขาวบริเวณกระหม่อม ริมฝีปากล่างขยายกว้าง ปล้องที่ ๑ และ ๒ สีขาว-น้ำตาลอ่อน แซมด้วยสีเทา ปล้องที่ ๓ สีน้ำตาลอ่อน ส่วนปลายชี้ออกด้านนอก

อก : สีเหลือง-น้ำตาลอ่อน ปีกคู่หน้าสีน้ำตาลอ่อนสลับน้ำตาลเข้ม ความกว้างของปีก ๒.๐๙±๐.๑๐ (n=๒๐) เซนติเมตร ปีกคู่หน้าและคู่หลังมีลักษณะใกล้เคียงกันคือพื้นปีกสีน้ำตาลอ่อน มีแถบสีน้ำตาลเข้มกระจายอยู่ทั่วปีก และมีแถบลักษณะเป็นเนื้อเยื่อบางใสไม่มีเกล็ดปีกปกคลุมกระจายทั่วปีก ขอบปีกด้านนอกสีเหลืองน้ำตาลเข้ม โคนขนบริเวณขอบปีกด้านนอกสีน้ำตาลเข้มสลับสีเหลือง ส่วนปลายสีเหลือง ขาคู่ที่หนึ่งและสองสีเหลืองอ่อน คู่ที่สามสีน้ำตาลอ่อนสลับสีน้ำตาลเข้ม

ท้อง : สีน้ำตาลอ่อน-เทา

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๒๐ ตัวอย่าง

เขตการแพร่กระจาย ประเทศไทย : กรุงเทพฯ, เชียงใหม่, สระบุรี

พืชอาหาร : พุทธชาด (*Jasminum auriculatum* Vahl.), มะลิ (*Jasminum sambac* Ait.)

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้เป็นสัตรูพืชสำคัญ หนอนกัดกินดอกและใบพืช สำรวจพบช่วงเดือนพฤษภาคม, กรกฎาคม, สิงหาคม, กันยายน และตุลาคม

๑๙. *Nevrina procopia* (Stoll, ๑๗๘๑) (Figure ๓ c)

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนสีน้ำตาล ด้านล่างสีเหลือง กระจุกขนกลางกระหม่อมสีเหลือง โคนปากปกคลุมด้วยขนสีเหลือง กระหม่อม ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๓๙ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างปล้องที่ ๑ สีเหลืองขอบด้านในสีดำ ปล้องที่ ๒ สีเหลืองขอบด้านในและมุมด้านนอกส่วนที่ติดกับปล้องที่ ๑ สีดำ ปล้องสุดท้ายขนาดเล็กสีเหลืองปลายปล้องชี้ไปด้านหน้า

อก : สีเหลือง ปีกคู่หน้ากว้าง ๓.๕๐±๐.๑๕ (n=๑๔) เซนติเมตร โคนปีกสีเหลืองมีจุดสีดำสองจุด กลางปีกถึงปลายปีกสีน้ำตาลเข้ม-ดำ สลับด้วยแถบสีขาวบริเวณเส้น ปีกคู่หลังโคนปีกสีเหลือง มีแถบสีขาวพาดขวางปีกระหว่างสีเหลืองโคนปีกกับสีน้ำตาลบริเวณปลายปีก ขนบริเวณขอบด้านนอกของปีกสีน้ำตาล-เทา

ท้อง : ปล้องสีน้ำตาลสลับสีเหลือง ด้านข้างลำตัวมีแถบสีเหลืองข้างละ ๑ แถบ ในเพศผู้ท้องปล้องที่ ๘ มีขนสีดำเป็นกระจุกหนาแน่น เพศเมียท้องปล้องสุดท้ายขนสั้นสีเหลือง

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๑๔ ตัวอย่าง

เขตการแพร่กระจาย ประเทศไทย : กาญจนบุรี, ชัยภูมิ, เชียงใหม่, ชลบุรี, เลย และนครนายก

พืชอาหาร : -

วิจารณ์ : สำรวจพบช่วงเดือน มีนาคม, กรกฎาคม, สิงหาคม, กันยายน, ตุลาคม, พฤศจิกายน และธันวาคม

๒๐. *Omiodes diemenalis* (Guenée, ๑๘๕๔) (Figure ๓ d)

หนอนม้วนใบถั่ว (soybean leaf folder)

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนและด้านล่างสีเหลือง ปากปกคลุมด้วยขนสีเหลือง โคนหนวดปกคลุมด้วยขนสีเหลืองสลับน้ำตาลอ่อน กระหม่อมสีเหลือง ริมฝีปากบนขนาดเล็กส่วนโคนสีน้ำตาล ปลายสีเหลือง ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๒๖ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างลักษณะโค้งแบนใหญ่โค้งงอเข้าหาส่วนหัว ปล้องที่ ๑ สีเหลือง ปล้องที่ ๒ สีเหลืองขอบด้านในและส่วนปลายสีน้ำตาล ปล้องที่ ๓ ขนาดเล็กสีเหลือง

อก : สีเหลือง ความกว้างของปีก ๑.๘๖±๐.๑๖ (n=๒๐) เซนติเมตร พื้นปีกสีเหลือง มีแถบสีน้ำตาลตัดขวางปีก ๖ เส้น โดยแถบแรกและแถบที่สองซึ่งพบเยื้องมาทางด้านโคนปีกลักษณะแถบพาดขวางจากขอบด้านบนถึงขอบด้านล่างของปีก แถบที่สามและแถบที่สี่พบบริเวณกึ่งกลางปีกเริ่มจากเส้น R๑ พาดลงมาถึงขอบด้านล่างของปีกโดยส่วนปลายของทั้งสองแถบบรรจบกันบริเวณขอบด้านล่างของปีก แถบที่ห้าเยื้องไปทางขอบด้านนอกของปีกพาดขวางปีกจากขอบด้านบนของปีกถึงเส้น CuA๒ แถบที่หกเป็นแถบสีน้ำตาลขนาดใหญ่บริเวณขอบด้านนอกของปีก ขอบด้านนอกสุดของปีกมีแถบขนาดเล็กสีน้ำตาลเข้มและขนน้ำตาลเข้มสลับสีเหลืองอ่อน ปีกคู่หลังสีเหลืองแซมด้วยสีน้ำตาลอ่อนกระจายอยู่ทั่วปีก มีแถบสีน้ำตาลพาดขวางปีกสามแถบ สองแถบบริเวณกลางปีกมีขนาดเล็ก ส่วนขอบปีกด้านนอกมีแถบสีน้ำตาลเข้มขนาดใหญ่ ขนบริเวณขอบปีกด้านนอกสีน้ำตาลสลับสีเหลือง ขาทั้ง ๓ คู่ สีเหลืองอ่อน

ท้อง : สีเหลืองสลับด้วยเกล็ดสีน้ำตาลเข้ม บริเวณรอยต่อระหว่างปล้องมีขนสีเหลืองปล้องละหนึ่งแถบ ปล้องสุดท้ายในเพศผู้มีกระจุกขนสีดำ ส่วนเพศเมียขนสีเหลือง

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๑๐๕ ตัวอย่าง Thailand: Bangkok Prov., Bangkhen (EMBT.Lep. ๐๐๒๓๖๑, EMBT.Lep. ๐๐๒๓๗๕-๒๓๙๕, EMBT.Lep. ๐๐๒๓๙๙- ๒๔๔๙), Bangkok Noi (EMBT.Lep. ๐๐๒๓๕๓-๒๓๖๐, EMBT.Lep. ๐๐๒๓๖๔-๒๓๖๗, ๐๐๒๓๗๐-๒๓๗๑, EMBT.Lep. ๐๐๒๓๗๓), Chainat Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๒๓๖๒), Chonburi Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๒๓๖๓), Yala Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๒๓๗๒), Kalasin Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๒๔๕๐-๒๔๕๑),

Chiang Mai Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๒๓๗๔), Maejo San Sai (EMBT.Lep. ๐๐๒๓๖๘- ๒๓๙๘, EMBT.Lep. ๐๐๒๔๕๒-๒๔๕๓), Chachoengsao Prov., Phanom Sarakham (EMBT.Lep. ๐๐๒๓๖๙), Saraburi Prov., Phu Kae (EMBT.Lep. ๐๐๒๔๕๔-๒๔๕๗)

เขตการแพร่กระจาย ประเทศไทย : กรุงเทพฯ, ฉะเชิงเทรา, ชัยนาท, จันทบุรี, เชียงใหม่, ชลบุรี, กาฬสินธุ์ และสระบุรี

พืชอาหาร : ถั่วฝักยาว (*Vigna sinensis* Savi.), ถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merr**.)**

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้จัดเป็นสัตรูพืชสำคัญ หนอนม้วนกินใบ สำรวจพบช่วงเดือน มกราคม, กุมภาพันธ์, เมษายน, พฤษภาคม, มิถุนายน, กรกฎาคม, สิงหาคม, กันยายน, ตุลาคม, พฤศจิกายน และธันวาคม

๒๑. *Omiodes indicate* (Fabricius, ๑๗๗๕) (Figure ๓ e)

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนและด้านล่างสีเหลือง ปากปกคลุมด้วยขนสีเหลือง โคนหนวดปกคลุมด้วยขนสีขาว กระหม่อมสีเหลือง ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๖๕ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างลักษณะโค้งแบนใหญ่ ขยายโค้งงอเข้าหาส่วนหัว ปล้องที่ ๑ สีเหลือง ปล้องที่ ๒ ขยายใหญ่ส่วนโคนและกลางปล้องสีเหลือง ส่วนปลายด้านนอกสีเหลืองเข้ม ปล้องที่ ๓ ขนาดเล็กสีเหลือง ริมฝีปากบนขนาดเล็กส่วนโคนสีน้ำตาล ปลายสีเหลืองสี

อก : สีเหลือง ความกว้างของปีก ๑.๙๕±๐.๑๕ (n=๒๐) เซนติเมตร พื้นปีกสีเหลือง มีแถบสีน้ำตาลตัดขวางปีก ๓ เส้น ขนาดแถบสีน้ำตาลเล็กกว่า *Omiodes diemenalis* โดยแถบแรกเยื้องมาทางด้านโคนปีกเส้นพาดขวางจากขอบด้านบนถึงขอบด้านล่างของปีก แถบที่สองพบบริเวณกึ่งกลางปีก เริ่มจากเส้น R๑ พาดลงมาถึงขอบด้านล่างของปีก แถบที่สามเยื้องไปทางขอบด้านนอกของปีก โดยแถบสีน้ำตาลพาดจากขอบด้านบนของปีกถึงเส้น CuA๒ ส่วนปลายของแถบสีน้ำตาบโค้งเข้าหาแถบที่สองบริเวณกลางปีก มีจุดสีน้ำตาลสองจุด ในตำแหน่ง Sc และ R๑ ตำแหน่งละหนึ่งจุด ขอบด้านนอกสุดของปีกมีแถบขนาดเล็กสีน้ำตาลอ่อนและขนสีเหลืองอ่อน ปีกคู่หลังสีเหลืองแซมด้วยสีน้ำตาลอ่อนกระจายอยู่ทั่วปีก มีแถบสีน้ำตาลพาดขวางปีกสองแถบ ขอบปีกด้านนอกมีแถบสีน้ำตาลขนาดเล็ก ขนบริเวณขอบปีกด้านนอกสีเหลืองอ่อน-ขาว ขาทั้ง ๓ คู่ สีเหลืองอ่อน

ท้อง : สีเหลือง บริเวณรอยต่อระหว่างปล้องมีขนสีเหลืองปล้องละหนึ่งแถบ

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๑๘๑ ตัวอย่าง Thailand : (EMBT.Lep. ๐๐๒๔๖๐-๒๔๖๙, EMBT.Lep. ๐๐๒๔๗๗), Phare Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๒๔๗๐), Ban Klang (EMBT.Lep. ๐๐๒๔๗๓-๒๔๗๔), Saraburi Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๒๔๗๕-๒๔๗๖), Chaiyaphum Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๒๔๗๘), Roi et Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๒๕๔๖-๒๕๘๑), Bangkok Prov., Bangkhen (EMBT.Lep. ๐๐๒๔๙๙-๒๕๐๑, EMBT.Lep. ๐๐๒๕๐๙-๒๕๔๕, EMBT.Lep. ๐๐๒๖๒๒-๒๖๓๒), Chiang Mai Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๒๔๗๙-๒๔๘๐), Maejo San Sai (EMBT.Lep. ๐๐๒๔๘๑-๒๔๙๘, EMBT.Lep. ๐๐๒๕๘๒-๒๖๒๑, EMBT.Lep. ๐๐๒๖๓๓-๒๖๓๙), Nakhon Ratchasima Prov., Pak Chong (EMBT.Lep. ๐๐๒๕๐๒-๒๕๐๘), Chachoengsao Prov., Phanom Sarakham (EMBT.Lep. ๐๐๒๔๗๑-๒๔๗๒)

เขตการแพร่กระจาย ประเทศไทย : กรุงเทพฯ, ฉะเชิงเทรา, ชัยนาท, ชัยภูมิ, เชียงใหม่, นครราชสีมา, แพร่, ราชบุรี, ร้อยเอ็ด, สระบุรี

พืชอาหาร : ถั่วแปบ (*Dolichos lablab* Linn.), ถั่วฝักยาว (*Vigna sinensis* Savi.), ถั่วเขียว (*Phasolus ayreus* Roxb), ถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merr.)

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้จัดเป็นสัตรูพืชสำคัญ หนอนม้วนกินใบ สำรวจพบช่วงเดือน มกราคม, กุมภาพันธ์, สิงหาคม, กันยายน, ตุลาคม, พฤศจิกายน และธันวาคม

๒๒. *Omphisa anastomosalis* Guenee, ๑๘๕๔ (Figure ๓ f)

Pionea anastomosalis Guenee, ๑๘๕๔

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนสีน้ำตาลสลับสีขาว ด้านล่างสีขาว หนวดและปากปกคลุมด้วยขนสีขาว กระหม่อมสีขาว ริมฝีปากบนสีน้ำตาลส่วนปลายสีขาว ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๕๐ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างลักษณะเรียวยาว ปล้องที่ ๑ สีขาว ปล้องที่ ๒ สีน้ำตาลอ่อนตรงกลางสีน้ำตาลเข้ม ปล้องสุดท้ายเรียวยาวส่วนปลายชี้ออกด้านนอก

อก : สีเหลืองสลับน้ำตาล patagium สีเหลือง ขอบด้านข้างส่วนที่เชื่อมระหว่างปีกและอก ปล้องแรกสีน้ำตาลเข้ม tegulae สีเทา ความกว้างของปีก ๒.๗๘±๐.๒๘ (n=๒๐) โคนปีกสีน้ำตาล-เทา กลางปีกและปลายปีกมีแถบลักษณะเป็นเนื้อเยื่อใสกระจายสลับกับแถบสีน้ำตาลเข้ม บริเวณเส้น Sc สีน้ำตาลเข้มสลับสีขาว ระหว่างเส้น R๑-R๒ สีเหลืองสลับสีน้ำตาลเทา ระหว่าง R๕-CuA๒ สีน้ำตาลสลับเซลใส ขนปลายปีกสีขาว ปีกคู่หลังสีเหลืองแซมด้วยสีน้ำตาลอ่อนกระจายอยู่ทั่วปีก มีแถบสีน้ำตาลพาดขวางปีกสองแถบ ขอบบริเวณขอบด้านนอกของปีกสีน้ำตาลขนาดเล็ก ขนบริเวณมุมด้านล่างของปีกสีน้ำตาลเทา ขาทั้ง ๓ คู่ สีน้ำตาลอ่อนสลับสีน้ำตาลเข้ม

ท้อง : ปล้องที่ ๑ และ ๒ สีน้ำตาลอ่อน บริเวณด้านบนกลางปล้องเป็นวงสีขาวขอบวงสีน้ำตาล ปล้องที่ ๓-๗ สีน้ำตาลเข้ม ปล้องที่ ค บริเวณรอยต่อระหว่างปล้องมีขนสีเหลืองปล้องละหนึ่งแถบ ปล้องสุดท้ายสีขาว-เหลืองอ่อน

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๑๑๐ ตัวอย่าง Thailand : (EMBT.Lep. ๐๐๓๒๘๘-๓๒๙๑, EMBT.Lep. ๐๐๓๒๙๘-๓๒๙๙), Nakhon Pathom Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๒๖๔๘-๒๔๖๓), Roi Et Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๒๔๖๔-๒๔๖๘, EMBT.Lep. ๐๐๓๓๐๐), Maha Sarakham Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๓๒๙๓), Phra Nakhon Si Ayutthaya Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๓๓๐๒-๓๓๐๓), Chanthaburi Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๓๓๐๔), Nakhon Pathom Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๓๓๑๒-๓๓๗๒), Bangkok Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๓๒๙๕), Bangkhen (EMBT.Lep. ๐๐๒๔๖๙-๒๔๗๕, EMBT.Lep. ๐๐๓๒๙๖, EMBT.Lep. ๐๐๓๓๐๑, EMBT.Lep. ๐๐๓๓๐๙-๓๓๑๐), Bangkok Noi (EMBT.Lep. ๐๐๓๓๑๑), Chiang Mai Prov., Doi Pui Muang ๕๕๐๐ ft (EMBT.Lep. ๐๐๓๒๙๔), Pathum Thani Prov., Muang Ake (EMBT.Lep. ๐๐๒๖๗๖), Chachoengsao Prov., Phanom Sarakham (EMBT.Lep. ๐๐๓๒๙๗), Prae Prov. (EMBT.Lep. ๐๐๓๒๙๒)

เขตการแพร่กระจาย ประเทศไทย : กรุงเทพฯ, ฉะเชิงเทรา, จันทบุรี, เชียงใหม่, มหาสารคาม, นครปฐม, นครปฐม, ปทุมธานี, พระนครศรีอยุธยา, แพร่ และร้อยเอ็ด

พืชอาหาร : มันเทศ (*Ipomoea batatas* Lamk.), คูน (*Cassia fistula* Linn.)

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้จัดเป็นสัตรูพืชสำคัญ หนอนเจาะเถา ฝัก หัว สำรวจพบช่วงเดือน มกราคม, กุมภาพันธ์, มีนาคม, พฤษภาคม, มิถุนายน, กรกฎาคม, ตุลาคม และพฤศจิกายน

๒๓. *Palpita annulata* (Fabricius, ๑๗๙๔) (Figure ๓ g)

Phalaena annulata Fabricius, ๑๗๙๔

Botys celsalis Walker, ๑๘๕๙

Botys partialis Lederer, ๑๘๖๓

Botys ardealis Felder & Rogenhofer, ๑๘๗๕

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนสีขาว ด้านล่างสีขาว หนวดและปากปกคลุมด้วยขนสีขาว กระหม่อมสีขาว ริมฝีปากบนปล้องที่ ๑-๒ สีขาว ปล้องที่ ๓-๔ สีน้ำตาลอ่อน ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๙๘ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างปล้องที่ ๑ สีขาวขอบด้านในสีน้ำตาลเข้ม สีน้ำตาลส่วนปลายสีปล้องที่ ๒ ด้านล่างสีน้ำตาลเข้ม ด้านบนสีเหลืองอ่อน ปล้องสุดท้ายขยายกว้างส่วนปลายชี้ออกด้านนอก

อก : สีขาว patagium สีขาว ขอบด้านข้างส่วนที่เชื่อมระหว่างปีกและอกปล้องแรกสีน้ำตาลเข้ม tegulae สีขาว ความกว้างของปีก ๒.๔๗±๐.๑๘ (n=๒๐) ปีกสีขาว ขอบด้านบนของปีกบริเวณ Sc สี มีแถบสีน้ำตาลเป็นรูปสามเหลี่ยมสามแถบ ขอบด้านล่างบริเวณกลางปีกมีแถบสีน้ำตาลหนึ่งแถบน้ำตาล ส่วนปลายปีกมีเส้นสีน้ำตาลหนึ่งเส้น ขนปลายปีกสีเหลืองอ่อนสลับน้ำตาล ปีกคู่หลังสีขาว มีจุดสีดำกลางปีกหนึ่งจุด ปลายปีกมีแถบสีน้ำตาลจางๆพาดขวางปีกหนึ่งแถบ ขนบริเวณขอบปีกด้านนอกสีน้ำตาลอ่อนสลับขาว ขาทั้ง ๓ คู่ สีขาว

ท้อง : สีน้ำตาล

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๖๖ ตัวอย่าง

เขตการแพร่กระจาย ประเทศไทย : กรุงเทพฯ, ฉะเชิงเทรา, เชียงใหม่, เลย, นครราชสีมา, เพชรบูรณ์, พิษณุโลก, ปราจีนบุรี

พืชอาหาร : -

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้สำรวจพบช่วงเดือน มกราคม, มีนาคม, พฤษภาคม, มิถุนายน, กรกฎาคม, สิงหาคม, กันยายน, ตุลาคม, พฤศจิกายน และธันวาคม

๒๔. *Parotis incurvata* (Figure ๓ h)

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนสีเขียวอ่อน ขอบด้านนอกสีน้ำตาลขอบด้านนอกสุดสีขาว ด้านล่างสีขาว หนวดด้านบนสีเขียวอ่อนด้านล่างสีน้ำตาล ปากปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาลอ่อน กระหม่อมสีเขียวอ่อน ริมฝีปากบนปล้องที่ ๑ สีขาว ปล้องที่ ๒-๓ สีน้ำตาล ปล้องที่ ๔ สีขาวส่วนปลายสีน้ำตาลอ่อน ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๒.๒๐ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างปล้องที่ ๑ สีขาวขอบด้านในสีน้ำตาล ปล้องที่ ๒ สีน้ำตาลเข้มขอบด้านนอกสีขาว ปล้องสุดท้ายมีกระจุกขนสีน้ำตาลหนาแน่นส่วนปลายชี้ออกด้านนอก

อก : สีเขียว patagium สีเขียว tegulae สีเขียวอ่อน ความกว้างของปีก ๒.๘๐±๐.๒๑ (n=๘) ปีกสีเขียว มีจุดสีดำกลางปีกบริเวณ discall cell หนึ่งจุด มุมด้านบนและขอบด้านนอกของปีกสีน้ำตาลเข้ม ปีกคู่หลังเหมือนปีกคู่หน้า ขาทั้ง ๓ คู่ สีขาว-เขียวอ่อน

ท้อง : สีเขียว ปล้องสุดท้ายในเพศผู้มีกระจุกขนสีดำ ส่วนเพศเมียขนสีเขียว

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๘ ตัวอย่าง

เขตการแพร่กระจาย ประเทศไทย : เพชรบูรณ์ และนครราชสีมา

พืชอาหาร : -

วิจารณ์ : : ผีเสื้อชนิดนี้สำรวจพบช่วงเดือน มกราคม และสิงหาคม

๒๕. *Parotis punctiferalis* (Walker, [๑๘๖๖]) (Figure ๔ a)

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนสีเขียวอ่อน-ฟ้าอ่อน ขอบด้านนอกสีน้ำตาลขอบด้านนอกสุดสีขาว ด้านล่างสีขาว หนวดด้านบนสีเขียวอ่อนด้านล่างสีน้ำตาล ปากปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาลอ่อน กระหม่อมสีเขียว-ฟ้าอ่อน ริมฝีปากบนปล้องที่ ๑ สีขาว ปล้องที่ ๒-๓ สีน้ำตาล ปล้องที่ ๔ สีขาวส่วนปลายสีน้ำตาลอ่อน ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๖๒ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างปล้องที่ ๑ สีส้ม ขอบด้านในสีน้ำตาล ปล้องที่ ๒ สีส้มขอบด้านนอกสีขาว ปล้องสุดท้ายมีกระจุกขนสีส้มหนาแน่นส่วนปลายชี้ออกด้านนอก

อก : สีเขียว-ฟ้าอ่อน patagium สีเขียว-ฟ้าอ่อน tegulae สีเขียวอ่อน-ฟ้าอ่อน ความกว้างของปีก -๓.๓๗+๐.๒๑ (n=๑๘) ปีกสีเขียว มีจุดสีดำขนาดเล็กกว่า *Parotis incurvata* กลางปีกบริเวณ discall cell หนึ่งจุด มุมด้านบนและขอบด้านนอกของปีกสีน้ำตาลเข้ม ปีกคู่หลังเหมือนปีกคู่หน้า ขาทั้ง ๓ คู่ สีขาว-เขียวอ่อน

ท้อง : สีเขียว ปล้องสุดท้ายในเพศผู้มีกระจุกขนสีดำ ส่วนเพศเมียขนสีเขียว

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๑๘ ตัวอย่าง

เขตการแพร่กระจาย ประเทศไทย : จันทบุรี, นครราชสีมา, นครนายก, ระนอง, ตรัง

พืชอาหาร : -

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้สำรวจพบช่วงเดือน มกราคม, มีนาคม, พฤษภาคม, มิถุนายน, กันยายน, ตุลาคม และพฤศจิกายน

๒๖. *Prooedema incisalis* Walk (Figure ๔ b)

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนสีน้ำตาลขอบสีเหลือง ด้านล่างสีน้ำตาลอ่อน-เหลือง-สีขาว ริมฝีปากบนสีเหลือง ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๓๑ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างสีเหลือง ปล้องสุดท้ายขยายกว้างส่วนปลายชี้ออกด้านนอกลักษณะค่อนข้างเรียวยาว ปล้องสุดท้ายชี้ออกด้านหน้า

อก : สีน้ำตาลเทา patagium สีน้ำตาล ขอบด้านข้างส่วนที่เชื่อมระหว่างปีกและอกปล้องแรกสีน้ำตาล tegulae สีน้ำตาลอ่อน ความกว้างของปีก ๒.๒๓±๐.๑๙ (n=๑๙) ปีกสีเหลือง ขอบด้านบนของปีกบริเวณ Sc สีเหลือง มีแถบสีน้ำตาลเป็นรูปครึ่งวงกลมบริเวณโคนปีกหนึ่งแถบและที่กลางปีกอีกหนึ่งแถบ ขอบด้านนอกของปีกสีเหลือง ขนปลายปีกสีเหลือง ปีกคู่หลังสีน้ำตาลอ่อน ขนบริเวณขอบปีกด้านนอกสีเหลือง ขาทั้ง ๓ คู่ สีขาว-เหลือง

ท้อง : สีน้ำตาลเข้ม

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๑๙ ตัวอย่าง

เขตการแพร่กระจาย ประเทศไทย : ฉะเชิงเทรา, ชัยภูมิ, จันทบุรี, ชลบุรี, กาญจนบุรี, สระบุรี, ตรัง และยะลา

พืชอาหาร : -

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้สำรวจพบช่วงเดือน มกราคม, กุมภาพันธ์, มีนาคม, เมษายน, พฤษภาคม สิงหาคม และตุลาคม

๒๗. *Pygospila tyres* (Cramer, ๑๗๘๐) (Figure ๔ c)

Phalaena tyres Cramer, ๑๗๘๐

Pygospila tyridia Strand, ๑๙๒๐

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนสีเทาขอบสีเหลือง ด้านล่างสีขาว ขบปกคลุมโคนปากสีน้ำตาลอ่อน-เทา ขนบริเวณรอบโคนหนวดสีขาว กระหม่อมสีน้ำตาลอ่อนแซมด้วนสีขาวและสีดำ ริมฝีปากบนปล้องที่ ๑ และ ๓ สีเทา ปล้องที่ ๒ และ ๔ สีขาว ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๓๔ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างปล้องที่ ๑ สีขาว ปล้องที่ ๒ ขอบด้านในสีขาว ด้านที่ติดกับปล้องที่ ๓ สีเทา ปล้องสุดท้ายขนาดเล็กส่วนปลายชี้ขึ้นด้านบน

อก : น้ำตาล-ดำ patagium และ tegulae สีน้ำตาลมีแถบสีขาวสามแถบ ขอบด้านข้างส่วนที่เชื่อมระหว่างปีกและอกปล้องแรกสีน้ำตาลเข้ม ความกว้างของปีก ๔.๒๒+๐.๔๐ (n=๒๐) ปีกสีดำ มีแถบสีขาวกระจายทั่งทั้งปีก ปีกคู่หลังสีดำ มีแถบสีขวาขนาดใหญ่สองแถบ และแถบสีขาวขนาดเล็กกระจายทั่วทั้งปีก ขนบริเวณขอบปีกด้านนอกน้ำตาลเข้มสลับสีเหลือง ขาทั้ง ๓ คู่ สีเทาสลับน้ำตาลเข้ม

ท้อง : สีน้ำตาลเข้ม-เทา

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๓๘ ตัวอย่าง

เขตการแพร่กระจาย ประเทศไทย : กรุงเทพฯ, เชียงใหม่, ชลบุรี, กาญจนบุรี, เลย, นครศรีธรรมราช,นนทบุรี, เพชรบูรณ์, เพชรบุรี, พิษณุโลก, ร้อยเอ็ด, สระบุรี

พืชอาหาร : โมกมัน (***Wrightia arborea* (Dennst.) Mabb.)**

วิจารณ์ : ผีเสื้อชนิดนี้ไม่จัดเป็นสัตรูพืชสำคัญ หนอนกินใบ สำรวจพบช่วงเดือน มกราคม, เมษายน, พฤษภาคม, มิถุนายน, กรกฎาคม, สิงหาคม, กันยายน, พฤศจิกายน และธันวาคม

๒๘ *Syllepte iophanes* Meyrick, ๑๘๙๔ (Figure ๔ d)

รูปร่างลักษณะ

หัว : ด้านบนสีเหลือง ด้านล่างสีเหลือง ขบปกคลุมโคนปากสีเหลือง ขนบริเวณรอบโคนหนวดสีเหลืองแซมด้วยสีขาว กระหม่อมสีเหลือง ริมฝีปากบนขนาดเล็กสีน้ำตาลอ่อน ปล้องสุดท้ายสีน้ำตาลเข้ม ความยาวของริมฝีปากล่างเท่ากับ ๑.๔๘ เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของตารวม ริมฝีปากล่างค่อนข้างเรียว ปล้องที่ ๑ สีขาวสลับสีน้ำตาล ปล้องที่ ๒ ส่วนปลายสีน้ำตาลเข้ม ปล้องสุดท้ายขนาดเล็กสีน้ำตาล ส่วนปลายชี้เข้าด้าน

อก : น้ำตาล-ดำ patagium และ tegulae สีน้ำตาลมีแถบสีขาวสามแถบ ขอบด้านข้างส่วนที่เชื่อมระหว่างปีกและอกปล้องแรกสีน้ำตาลเข้ม ความกว้างของปีก ๓.๕๕+๐.๑๔ (n=๑๑) ปีกสีดำ มีแถบสีขาว ๖ แถบกระจายบริเวณกลางปีก ปีกคู่หลังจากโคนปีกถึงกลางปีกสีเทา ขอบด้านนอกของปีกสีดำ มีแถบสีขาวขนาดเล็กคั่นระหว่างสีเทาและสีดำ ขนบริเวณขอบปีกด้านนอกน้ำตาลอ่อน ขาทั้ง ๓ คู่ สีเทาสลับน้ำตาลเข้ม

ท้อง : สีน้ำตาลเข้ม-เทา

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา : จำนวน ๑๑ ตัวอย่าง

เขตการแพร่กระจาย ประเทศไทย : นครราชสีมา, ร้อยเอ็ด, พิษณุโลก

พืชอาหาร : -

วิจารณ์ : สำรวจพบช่วงเดือน มิถุนายน และกันยายน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาครั้งนี้ใช้ตัวอย่างผีเสื้อกลางคืนวงศ์ย่อย Pyraustinae จำนวน ๑,๕๗๙ ตัวอย่าง จำแนกได้ ๒ ไทร์บ คือ ไทร์บ Pyraustini พบเพียง ๑ สกุล ๑ ชนิด และไทร์บ Spilomelini พบ ๑๙ สกุล จำนวน ๒๗ ชนิด จัดแบ่งตามความสำคัญต่อพืชอาหารได้ ๓ กลุ่มด้วยกัน คือ

กลุ่มที่เป็นศัตรูของพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ พบ ๑๑ สกุล จำนวน ๑๓ ชนิด ได้แก่ *Ostrinia furnacalis* (Guenée, ๑๘๕๔, *Conogethes pluto* (Butler), *Conogethes punctiferalis* (Guenée, ๑๘๕๔), *Cydalima laticostalis* Gueéne, *Diaphania indica* (Saunders, ๑๘๕๑), *Glyphodes pulverulantis* Hampson, ๑๘๙๖, *Herpetogramma bipunctalis* Guenee, *Leucinodes orbonalis* Guenée, ๑๘๕๔, *Maruca vitrata* (Fabricius, ๑๗๘๗), *Nausinoe geometralis* Guenée, *Omiodes diemenalis* (Guenée, ๑๘๕๔), *Omiodes indicatus* (Fabricius, ๑๗๗๕), *Omphisa anastomosalis* Guenée

กลุ่มที่เป็นศัตรูของพืชไม่สำคัญทางเศรษฐกิจ พบ ๕ สกุล จำนวน ๖ ชนิด ได้แก่ *Agathodes ostentalis* (Geyer, ๑๘๓๗), *Botyodes asialis* Guenée, ๑๘๕๔, *Conogethes evaxalis* Walker, *Glyphodes bivitralis* Guenée, *Glyphodes conclusalis* Walker, *Meroctena tullalis* Walker

กลุ่มที่ไม่ทราบพืชอาหารเนื่องจากเก็บตัวอย่างในระยะตัวเต็มวัยจากกับดักแสงไฟ พบ ๘ สกุล จำนวน ๙ ชนิด ได้แก่ *Glyphodes caesalis* Walker, *Glyphodes ernalis* Swinhoe, *Nevrina procopia* (Stoll, ๑๗๘๑), *Parotis incurvata* Warren, *Palpita annulata* Fabricius, *Pygospila tyres* (Cramer, ๑๗๘๐), *Parotis punctiferalis* Lederer, *Prooedema inscisala* (Walker, ๑๘๖๖), *Syllepte iophanes* Meyrick ซึ่งผีเสื้อในกลุ่มนี้หากทำการศึกษาให้ทราบถึงพืชอาหาร บางชนิดอาจจัดเป็นแมลงศัตรูพืชสำคัญทางเศรษฐกิจได้

เอกสารอ้างอิง

พเยาว์ พรหมพันธุ์ใจ และ ทัศนีย์ แจ่มจรรยา. ๒๕๔๓. ศึกษาฤดูกาลระบาดและการพ่นสารป้องกันกำจัดหนอนเจาะฝักถั่วมารูคา (Maruca vitrata Fabr.) ในถั่วพุ่ม. ใน รายงานการประชุมวิชาการถั่วเขียวแห่งชาติ ครั้งที่ ๘. นครปฐม. หน้า ๑๘๔-๑๙๒.

CABI . ๒๐๐๗. The ๒๐๐๗ Edition of the Crop Protection Compendium. CD-ROM. CAB International,
Wallingford, UK. CD-ROM.

Common,I.F.B. ๑๙๙๐. Moths of Australia. Melbourne University, Australia . ๕๓๕ pp.

Govindan R, Sarayanaswamy TK, Gururajarao MR, Satenahalli SB, ๑๙๘๙. Insects infesting wild mung Vigna vexillata in India. Environment and Ecology, ๗(๒):๕๑๓

GhesquiFre J, ๑๙๔๒. Catalogues raisonnes de la Faune Entomologique du Congo Belge, Lepidoptera, Microlepidoptera (๒nd partie) Annales du Mus, e du Congo Belge C.Zoologie Ser.III(II), Tome VII, fasc.๒, ๑๒๑-๒๔๐.

Pandey PN, ๑๙๗๗. Host preference and selection of Diaphania indica Saunders (Lep., Pyralidae). Deutsche Entomologische Zeitschrift, ๒๔(๑/๓):๑๕๙-๑๗๓

Patel RC, Kulkarny HL, ๑๙๕๖. Bionomics of the pumpkin caterpillar -Margaronia indica Saund. (Pyralidae: Lepidoptera). Journal of the Bombay Natural History Society, ๕๔:๑๑๘-๑๒๗.

Pinese B, Dickinson G, ๑๙๘๙. Banana growers enthusiastic about bunch injections. Queensland Fruit and Vegetable News, ๒๐:๑๕-๑๗.

Wilkie L, ๑๙๙๔. Aspects of the biology, ecology and morphology of banana scab moth Nacoliea octasema (Meyrick) (Lepidoptera: Pyralidae) related to potential control strategies in northern Queensland, PhD Thesis. Townsville, Australia: James Cook University.

Xia SP, Liu JP, Zhang CJ, Chen YN, ๑๙๘๘. A preliminary study on the bionomics of Lamprosema indicata Fabricius. Insect Knowledge, ๒๕(๒):๘๑

ภาคผนวก

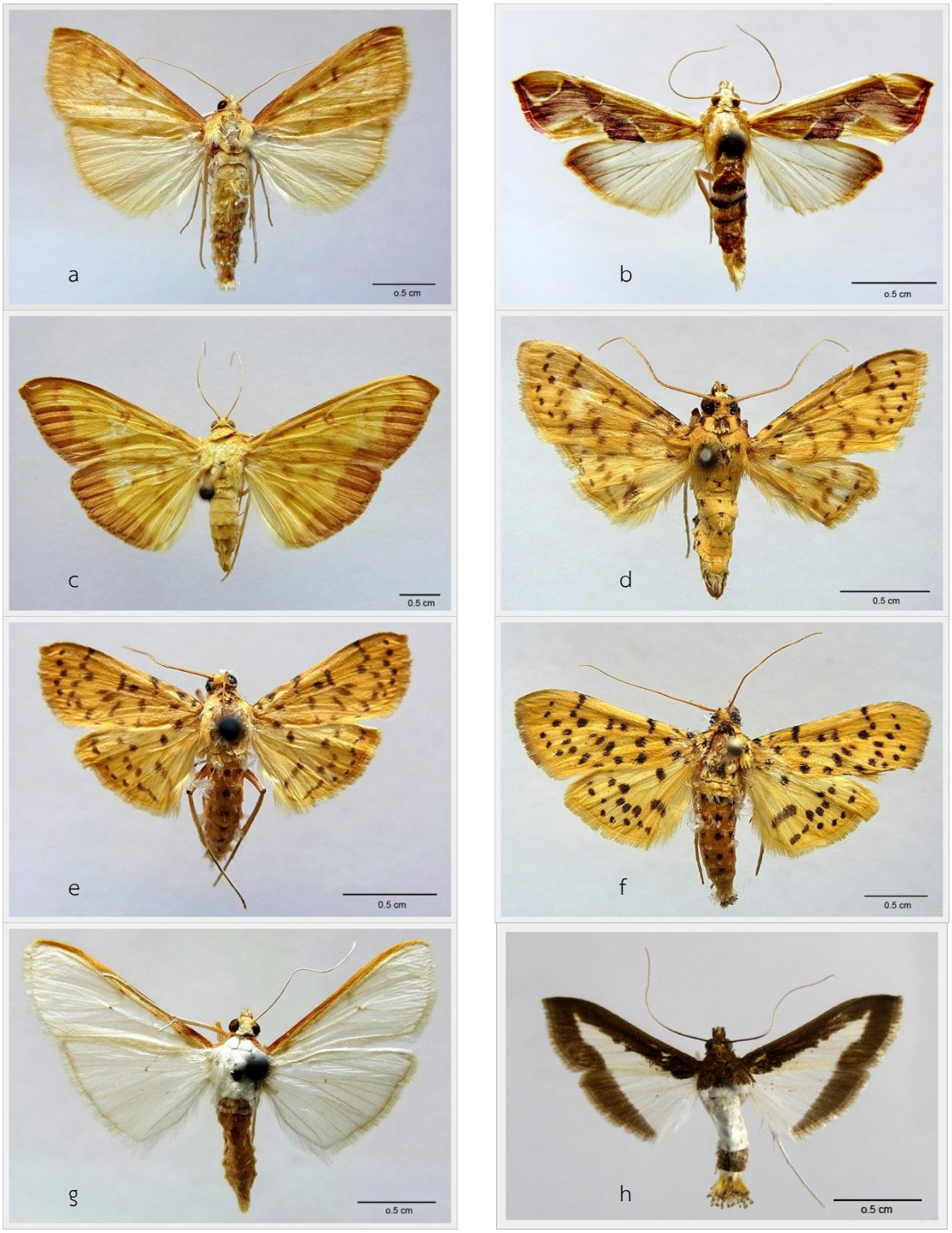


Figure ๑ The Subfamily Pyraustinae

a. *Ostrinia furnacalis* (Guenée)
b. *Agathodes ostentalis* (Geyer)
c. *Botyodes asialis* Guenée
d. *Conogethes evaxalis* Walker
e. *Conogethes pluto* (Butler)
f. *Conogethes punctiferalis* (Guenée)
g. *Cydalima laticostalis* Gueéne
h. *Diaphania indica* (Saunders)

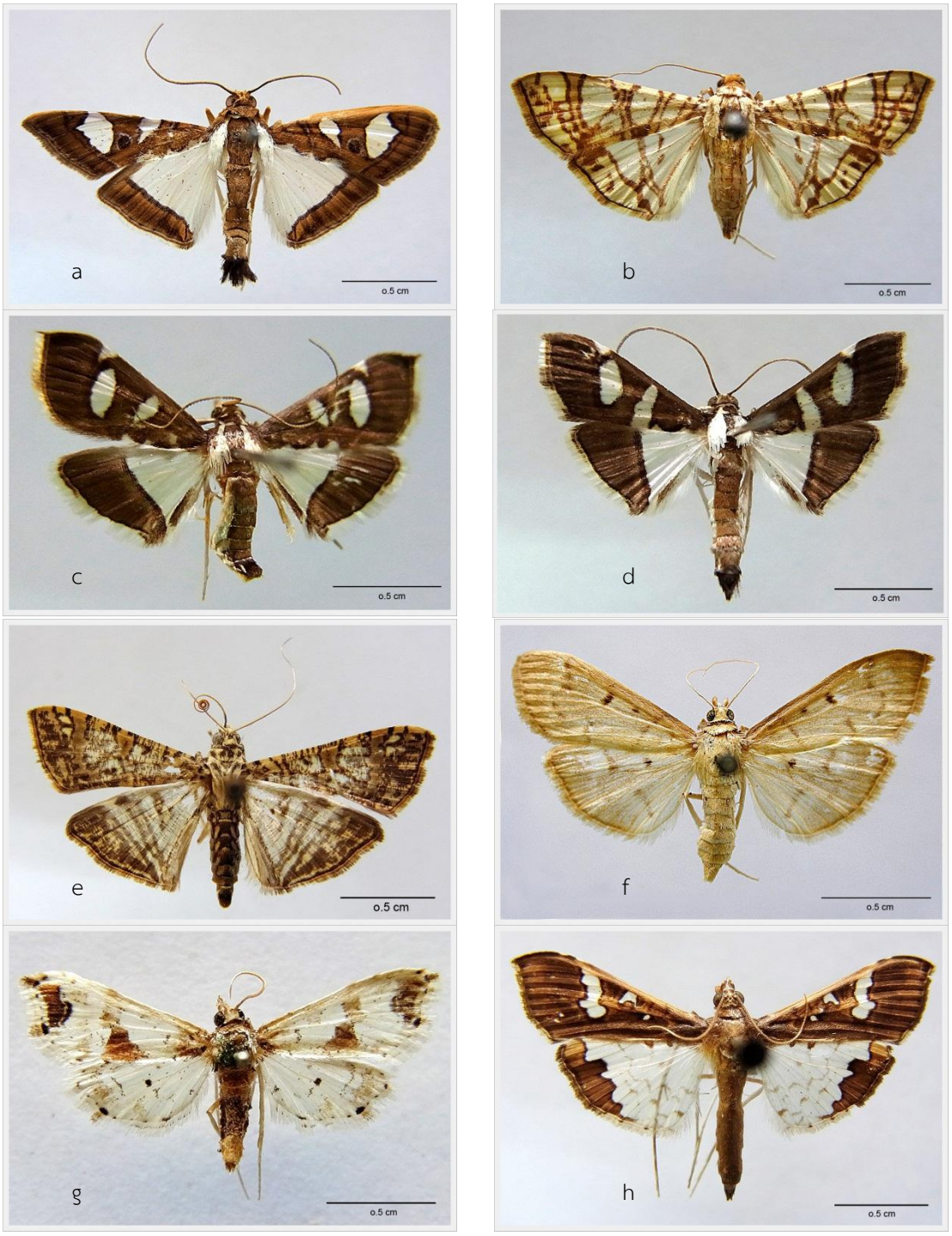


Figure ๒ The Subfamily Pyraustinae

a. *Glyphodes bivitralis* Guenée
b. *Glyphodes caesalis* Walker
c. *Glyphodes conclusalis* Walker
d. *Glyphodes ernalis* Swinhoe
e. *Glyphodes pulverulantis* Hampson
f. *Herpetogramma bipunctalis* (Fabrius)
g. *Leucinodes orbonalis* Guenée
h. *Maruca vitrata* (Fabricius)

Figure ๓ The Subfamily Pyraustinae

a. *Meroctena tullalis* Walker
b. *Nausinoe geometralis* Guenée
c. *Nevrina procopia* (Stoll)
d. *Omiodes diemenalis* (Guenée)
e. *Omiodes indicatus* (Fabricius)
f. *Omphisa anastomosalis* Guenée
g. *Palpita annulata* Fabricius
h. *Parotis incurvata* Warren

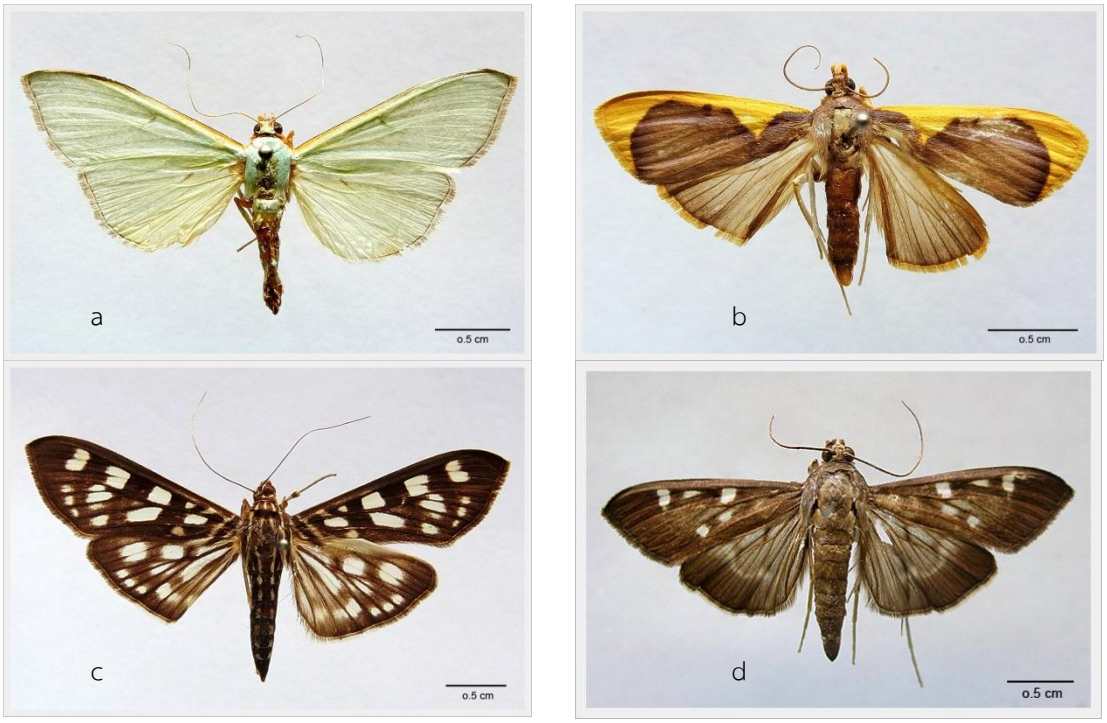


Figure ๔ The Subfamily Pyraustinae

a. *Parotis punctiferalis* Lederer

b. *Prooedema inscisala* (Walker)

c. *Pygospila tyres* (Cramer)

d. *Syllepte iophanes* Meyrick

อนุกรมวิธานแมงมุมสกุล *Argiope*
Taxonomic study on Spider Fauna in Genus *Argiope*.

วิมลวรรณ โชติวงศ์ มานิตา คงชื่นสิน พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์
พลอยชมพู กรวิภาสเรือง
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมงมุมในสกุล *Argiope* ของประเทศไทยบนพื้นที่ 14 จังหวัด เริ่มต้นเดือน ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2556 นำตัวอย่างมาศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานและจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ โดยการใช้ลักษณะที่สำคัญในการจำแนกชนิด เช่น ลักษณะรูปร่างและลวดลายบนส่วนหลัง ลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย ฯลฯ ผลจากการศึกษาพบแมงมุมในสกุล *Argiope* ทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ *A. catenulata* (Doleschall, 1859), *A. dang* Jäger & Praxaysombath, 2009 ซึ่งเป็นแมงมุมที่พบครั้งแรกในประเทศไทย (new record), *A. pulchella* Thorell, 1881, *A. versicolor* (Doleschall, 1859)

Survey of spider in genus *Argiope* from 14 provinces in Thailand from October, 2010 to September, 2013 was conducted. The results of identification revealed that there were 4 species of *Argiope* including *A. catenulata* (Doleschall, 1859), *A. dang* Jäger & Praxaysombath, 2009 (new record), *A. pulchella* Thorell, 1881 and *A. versicolor* (Doleschall, 1859). The taxonomic character are used for identification such as shape, pattern and marking on abdomen, the shape of palpus and epigyne etc.

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-12-54

คำนำ

ปัจจุบันนักวิจัยได้ให้ความสนใจต่อศัตรูธรรมชาติมากขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งแมงมุม ดังเช่นในโครงการป้องกันกำจัดข้าวแบบผสมผสาน เพื่อลดการใช้สารเคมีหรือเลือกใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์เฉพาะทาง (Selective insecticide) (Kenmor, 1979) และนักวิจัยจากหลายประเทศต่างก็ลงความเห็นว่าแมงมุมเป็นตัวห้ำที่มีปริมาณมากในไร่ นา ป่า และสวนที่ไม่ใช้สารฆ่าแมลงหรือใช้สารฆ่าแมลงน้อยและมีบทบาทสำคัญในการลดจำนวนประชากรศัตรูพืชต่างๆ เช่น เพลี้ยไฟ, ไร, หนอนผีเสื้อ, แมลงวันผลไม้และเพลี้ยหอย เป็นต้น (Mansour et.al., 1980) แมงมุมวงศ์ Araneidae เป็นแมงมุมวงศ์ใหญ่มีมากถึง 163 สกุล และมากกว่า 4,000 ชนิดทั่วโลก (Daxing et.al., 1999) ซึ่งสกุล *Argiope* จัดเป็นแมงมุมใยกลมที่มีชื่อเสียงทางด้านความสวยงามของลวดลายและสีสันที่ฉูดฉาดที่บริเวณส่วนท้อง แต่ละชนิดจะมีสีสันและขนาดตัวที่แตกต่างกัน (Levi, 1983) เกือบทุกชนิดสร้างใยกลมดักเหยื่อตามต้นไม้พุ่มไม้ หญ้า มักไม่พบอาศัยตามพื้นดิน ใยดักเหยื่อมีลักษณะสวยงามและประดับด้วยแถบซิกแซกที่บริเวณกลางใย แต่ละชนิดมีลักษณะของใยแตกต่างกันบ้าง ซึ่งสกุล *Argiope* พบได้มากในนาข้าว แมงมุมวงศ์นี้มีบทบาทในการกำจัดแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจ เช่น เพลี้ยไก่แจ้ส้ม เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน ผีเสื้อตั๊กแตน แมลงวันผลไม้ (วิภาดา, 2548)

Argiope เป็นแมงมุมสกุลหนึ่งของแมงมุมใยกลมที่มีการศึกษามากที่สุด ปัจจุบันทั่วโลกพบ 85 ชนิด พบที่จุดศูนย์กลางในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมทั้งนิวกินีและหมู่เกาะใกล้เคียงมากที่สุดคือ 44 ชนิด ซึ่งในเขตอื่นๆพบเพียงไม่กี่ชนิด ได้แก่ ออสเตรเลีย 15 ชนิด, แอฟริกา 11 ชนิด, อเมริกา 8 ชนิด, ยุโรป 3 ชนิด, เอเชียกลาง 1 ชนิด และไทย 3 ชนิด (Jäger, 2012) ในปี 1982 Tikader ได้เริ่มสำรวจแมงมุมสกุลนี้ในประเทศอินเดีย ต่อมาในปี 1983 Levi ได้ทำการสำรวจแมงมุมสกุล *Argiope* ในเขตแปซิฟิก ซึ่งเขาพบสกุลนี้ทั้งหมด 49 ชนิด ในปี 1995 Barrion and Litsinger ได้เริ่มสำรวจและรวบรวมแมงมุมสกุลนี้ในประเทศฟิลิปปินส์ ในปี 1997และ 1999 Yin et.al. และ Song et.al. ได้สำรวจและรวบรวมหนังสือคู่มือวินิจฉัยในจีนตามลำดับ ในปี 1997 BjØrn ได้ทำการปรับปรุงแก้ไขหนังสือคู่มือวินิจฉัย *Argiope* ในเขตแอฟริกา ในปี 1989 และ 2009 Chikuni และ Tanikawa ได้สำรวจและรวบรวมแมงมุมสกุลนี้ในประเทศญี่ปุ่นตามลำดับ และในปี 2004 Levi ได้ค้นพบ *Argiope* ชนิดใหม่จากบราซิลและอาร์เจนตินา ต่อมาในปี 2009 Motta and Levi ได้ค้นพบ *Argiope* ชนิดใหม่จากบราซิล ในปี 2009 Jäger and Praxaysombath ได้สำรวจและค้นพบ *Argiope dang* จากลาว ปี 2010 Ono ได้ค้นพบ *Argiope* ชนิดใหม่จากเวียดนาม และ นอกจากนี้ในปี 2012 Jäger ยังได้สำรวจแมงมุมสกุล *Argiope* จาก 63 ประเทศพบตัวอย่างทั้งหมด 47 ชนิด และพบ 3 ชนิดในประเทศไทย ได้แก่ *A. bayeri spec.nov, A. jinghongensis* และ *A. pulchella* (Table 1)

สำหรับในประเทศไทยวิภาดาและคณะ (2548) ได้รายงานว่าพบแมงมุม *Argiope aemula* ในนาข้าวอินทรีย์ และแปลงหม่อน *Argiope catenulata* ในนาข้าว มันเทศ มะม่วง สวนฝรั่ง และสวนส้มโอ *A. versicolor* ในสวนกล้วยไม้ (Yano et.al., 1997)

เนื่องจากในประเทศไทยยังไม่มีผู้รวบรวมชนิด พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย ของแมงมุมในสกุลนี้อย่างแท้จริง ดังนั้นในการศึกษาอนุกรมวิธานของแมงมุมในสกุล *Argiope* จึงนับว่าเป็นประโยชน์ในการนำข้อมูลไปใช้อ้างอิงทางวิชาการสำหรับงานอนุกรมวิธานและจัดทำแนวทางการวินิจฉัยชนิด เขตการแพร่กระจาย พืชอาศัย เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์เพื่อเป็นแหล่งสืบค้นและเปรียบเทียบตัวอย่างต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง หลอดแก้วทดลอง ขวดดองตัวอย่างแมงมุมขนาดต่างๆ กัน กล่องพลาสติกใสขนาดต่างๆ กัน กระดาษทิชชู่ ปากคีบ พู่กัน ถุงพลาสติกใสขนาดต่าง ๆ กัน สารเคมี ได้แก่ alcohol 95% ethyl acetate
- อุปกรณ์ในการจำแนกชนิด ได้แก่ กรดแล็กติก จานแก้ว petridish ทรายละเอียด กล้องจุลทรรศน์ (stereomicroscope) tube ขนาดเล็ก ดินสอ ปากกา rotring เบอร์ 1, 2, 3 เอกสารด้านอนุกรมวิธานแมงมุมที่เกี่ยวข้อง

- อุปกรณ์ในการเขียนผลงานวิจัยและเผยแพร่ ได้แก่ อุปกรณ์ในการถ่ายภาพ กล้องจุลทรรศน์ติดตั้งด้วยกล้องถ่ายภาพ อุปกรณ์คอมพิวเตอร์ วัสดุสำนักงาน

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างแมงมุม ในสกุล *Argiope*

การจับแมงมุมโดยตรง โดยวิธีนี้ทำได้โดยจับแมงมุมโดยใช้มือหรือหลอดทดลองช่วยในการจับ ทำการเก็บรักษาตัวอย่างแมงมุมในขวดที่บรรจุแอลกอฮอล์ 75% บันทึกข้อมูลของตัวอย่าง ได้แก่ วันที่จับ, สถานที่จับ, ลักษณะที่อยู่อาศัย และชื่อผู้จับ ลงในป้ายกระดาษขาวแผ่นเล็ก ๆ แล้วใส่ลงในหลอดแก้วที่ดองแมงมุมไว้ แต่ถ้าตัวอย่างที่จับได้เป็นตัวอ่อนให้นำกลับมาเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการ

2 การศึกษาอนุกรมวิธาน

นำตัวอย่างแมงมุมที่เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์มาแช่ใน กรดแล็กติก ประมาณ 3-5 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างวางลงในจานแก้ว petridish ที่มีแอลกอฮอล์ 100%และมีทรายละเอียด จากนั้นศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานภายใต้กล้อง stereo microscope จำแนกชนิดโดยใช้ตำราต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง ถ่ายรูปและบรรยายลักษณะทางอนุกรมวิธานพร้อมทำ key สำหรับใช้ในการจำแนกชนิดของแมงมุมสกุล *Argiope* ในประเทศไทย บันทึกข้อมูลของตัวอย่าง ได้แก่ชื่อของแมงมุม, วันที่จับ , สถานที่จับ, ลักษณะที่อยู่อาศัย และชื่อผู้จำแนก ลงในป้ายกระดาษขาวแผ่นเล็ก ๆ แล้วใส่ลงในหลอดแก้วที่ดองแมงมุมไว้ จากนั้นเก็บและรักษาตัวอย่างแมงมุมไว้ในพิพิธภัณฑ์กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาอารักขาพืช

เวลาและสถานที่

ทำการศึกษาระหว่างเดือน ตุลาคม 2553-กันยายน 2556 โดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างบนพื้นที่ 15 จังหวัด ได้แก่ นครปฐม เพชรบุรี ชัยนาท นครนายก กาญจนบุรี นครราชสีมา ระยอง พะเยา ลำปาง เชียงใหม่ ตาก เลย สุราษฎร์ธานี สงขลา และ จันทบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างแมงมุม ในสกุล *Argiope*

ผลจากการสำรวจและจำแนกชนิดแมงมุมในสกุล *Argiope* ของประเทศไทยในพืชชนิดต่างๆ

และสถานที่ต่างๆ ได้แก่ นาข้าว สวนชมพู่ สวนปาล์มน้ำมัน แปลงมันสำปะหลัง ป่าเต็งรัง น้ำตก บริเวณที่อยู่อาศัย (Table 1) บนพื้นที่ 15 จังหวัด เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2553-กันยายน 2556 พบแมงมุมในสกุล *Argiope* ทั้งหมด 4 ชนิดได้แก่ *A. catenulata* (Doleschall, 1859), *A. dang* Jäger & Praxaysombath, 2009 (new record), *Argiope pulchella* Thorell, 1881 และ*A. versicolor* (Doleschall, 1859) (Table 1) อย่างไรก็ตามแมงมุมในสกุล *Argiope* ของประเทศไทย ยังมีรายงานพบอีก 3 ชนิด โดย วิภาดา, 2548 พบ *Argiope aemula* (Walckenaer, 1841) (Table 2) ในนาข้าวทั่วประเทศไทย และ Jäger, 2012 ได้รายงานพบแมงมุมในสกุลนี้ 2 ชนิดด้วยกันคือ *A. bayeri spec.nov*, *A. jinghongensis* Yin, Peng & Wang, 1994 (Table 1)

Table 1 Spider Fauna in Genus *Argiope* found in Thailand between 2010 until 2013

Scientific name	Habitus	Location	GPS	Reference
Argiope bayeri *spec. nov.*	secondary forest near the beach	Trat	12°04'46.2", 102°16'48.2"	P. Jäger & S. Bayer
Argiope catenulata	paddy field	Phayao	19°11'45.9630", 100°3'45.2628"	
(Doleschall, 1859)	paddy field	Chainat	15°18'39.2652", 100°0'18.5826"	
	near dam	Nakronrachasima		
Argiope dang Jäger & Praxaysombath, 2009	house	Phayao	19°11'45.9440", 100°3'45.2552"	
	rose apple orchard	Petchaburi	12°51'17.9418", 99°48'25.3584"	
	coffee shop	Loei	16°37'40.3", 100°56'23.7"	
	palm plantation	Suratthani	9°8'45.0234", 99°38'17.7720"	
	house	Chainat	15°16'45.3468", 99°58'59.6892"	
	cassava field	Rayong		
	insect dome	Nakhon Pathom		
	house	Kanchanaburi	14°14'23.0856", 99°30'40.3446"	
	restaurant	Tak	16°44'23.7006", 98°34'25.5282"	

Table 1 Spider Fauna in Genus *Argiope* found in Thailand between 2010 until 2013

Scientific name	Habitus	Location	GPS	Reference
Argiope jinghongensis Yin, Peng & Wang, 1994	waterfall	Trat	12°00'27.6", 102°21'09.2"	P. Jäger & S. Bayer
	rubber plantation and forest	Songkhla	6°59'43", 100°19'50"	
Argiope pulchella Thorell, 1881	house	Lampang		
	coffee shop	Loei	16°37'40.3", 100°56'23.7"	
	Dry Evergreen Forest	Nakronrachasima	14°30'26.6580", 101°55'39.3312"	
	mountain, Maejo Univresity	Chiang Mai	18°32'35.1", 98°31'5.5"	
	rose apple orchard	Petchaburi	12°51'17.9418", 99°48'25.3584"	
	cassava field	Nakhon Pathom		
	waterfall	Nakhon Nayok		
	Insect dome	Chiang Mai	18°37'20.5", 98°31'17.5"	
	waterfall	Chanthaburi	12°31'33.8", 102°10'32.9"	
	forest	Kanchanaburi		
	waterfall	Songkhla	7°0'23.1084", 100°18'10.6056"	
Argiope versicolor (Doleschall, 1859)	mountain	Chiang Mai	18°53'11.9", 98°49'24.2"	

Table 2 Spider Fauna in Genus *Argiope* in museum between 1966 until 2006

Scientific name	Habitus	Location
Argiope aemula (Walckenaer, 1841)	Mulberry	Phetchabun
	paddy field	Khonkan
		Chainat
Argiope catenulata	paddy field	Chainat
(Doleschall, 1859)		Prachuap Khiri Khan
	paddy field	Chachoengsao
		Ubon Ratchathani
	paddy field	Pathumthani
		Phatthalung
	paddy field	Khon kaen
Argiope dang *	Mango orchard	Pathumthani
Jäger & Praxaysombath, 2009	paddy field	Chachoengsao
Argiope versicolor	Orchid orchard	Bangkok
(Doleschall, 1859)		

2 การศึกษาอนุกรมวิธาน

จากการศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานของแมงมุมในสกุล *Argiope* ในพิพิธภัณฑ์โดยใช้หนังสือคู่มือจำแนกของ Jäger & Praxaysombath, 2009 พบว่า แมงมุม *Argiope catenulata* ที่พบในสวนมะม่วง จ.ปทุมธานี และนาข้าว จ. ฉะเชิงเทรา ได้ถูกเปลี่ยนมาเป็น *Argiope dang* (Table2)

จากการจำแนกชนิดแมงมุมที่เก็บรวบรวมมาในห้องปฏิบัติการโดยการใช้ลักษณะที่สำคัญในการจำแนกชนิด เช่น จำนวนของซี่ฟัน ลักษณะรูปร่างและลวดลายบนส่วนหลัง ลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย ฯลฯ พบแมงมุมในสกุล *Argiope* ทั้งหมด 4 ชนิด สามารถจำแนกชนิดได้ 4 ชนิด สำหรับคู่มือการวินิจฉัยชนิดที่ใช้ในการจำแนกและลักษณะอนุกรมวิธานของแมงมุมในสกุล *Argiope* แต่ละชนิดมีดังนี้

Key to species of *Argiope* in Thailand

1. Abdomen oval with large lobes all around

- Abdomen various shapes, without lopes or only shallow lobes.....2

2(1) Abdomen bright silver with dark color marking especially in the posterior.....7
- Abdomen otherwise.....3

3(2) Epigynum with septum constricted anteriorly forming a scape
- Epigynym without such space.....4

4(3) Dorsum of abdomen with one to three wide, transverse white bands separated by black bands which on the posterior of the abdomen are about equal width or wider than white bands; abdomen pentagonal or shield-shaped, widest in middle or in posterior half.....5
- Abdomen rounded behind spinnerets, with at most a slight overhang.....6

5(4) Epigynal rim as thick as septum width or narrower.....7

6(4) Abdomen widest posteriorly with a median longitudinal band of white scales breaking transverse black and white marks ; epigynum with thick V-shaped rim and septum; septum width one third that of epigynum, Epigynum with rim entire
.....*catenulata* (Fig.1)

7(5) Epigynum long and projecting ventrally.....*dang* (Fig.2)
- Anterior bulge of epigynum very large, almost hiding posteriorly- or laterally facing depression.....8

8(7) Anterior bulge rectangular to oval, wider than long; depression facing Posteriorly (Fig.4); depressions containing large piece of palpal embolus
.....*versicolor* (Fig.4)
- Anterior bulge subcircular, depressions facing posterolaterally depressions containing small tip of embolus.....*pulchella* (Fig.3)

Argiope catenulata (Doleschall, 1859)

วงศ์ Araneidae

ชื่อพ้อง *Epeira catenulata* Doleschall, 1859
Argiope opulenta Thorell, 1859
Epeira stellata Stoliczka, 1869
Argiope pelewensis Keyserling, 1886
Argiope catenulata Roewer, 1942

ชื่อสามัญ

<u>รูปร่างลักษณะ</u>

ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย เพศผู้ 5.4 มิลลิเมตร เพศเมีย 15.2 มิลลิเมตร

หัวและอก สีน้ำตาลปนสีเงิน มีแผงขนสีขาวอยู่ทั่วไป มีความยาวมากกว่าความกว้าง ตา 8 ตา เรียงเป็น 2 แถว แถวละ 4 ตา โดยตาแถวหน้าเรียงแบบ recurve และแถวหลังแบบ procurve chelicerae มีฟันแถวหน้า 4 ซี่ แถวหลัง 3 ซี่ ขาสีเหลืองมีจุดสีดำ ขนและหนามอยู่ทั่วไป

ท้อง สีเหลือง มีลายสีเงินสลับกับสีน้ำตาลด้านหลัง มีความยาวมากกว่าความกว้าง**เขตการแพร่กระจาย** พบทั่วไปในนาข้าวจังหวัด พะเยา, ชัยนาท, นครราชสีมา, ประจวบคีรีขันธ์, ขอนแก่น, อุบลราชธานี และ พัทลุง

Argiope dang Jäger & Praxaysombath, 2009

วงศ์ Araneidae

ชื่อพ้อง *Argiope dang* Jäger & Praxaysombath, 2009
Argiope dang Jäger & Praxaysombath, 2011
Argiope dang Jäger, 2012

ชื่อสามัญ

<u>รูปร่างลักษณะ</u>

ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย เพศผู้ 9.13 มิลลิเมตร เพศเมีย 13.47 มิลลิเมตร

หัวและอก มีขนอ่อนสีเงินปกคลุม ความยาวมากกว่าความกว้าง ส่วนหัวและอกแบนแต่ส่วนหัวนูนกว่าเล็กน้อย เห็น cervicle groove แยกส่วนหัวและอกชัดเจน ตา 8 ตา แบบ diurnal eyes เรียง 2 แถว (4-4) แถวหน้าเรียงแบบ recurve เล็กน้อย แถวหลังแบบ procurve ตาข้างแถวหน้าและหลังติดกัน clypeus แคบ chelicerae เห็น boss ชัด มีฟันแถวหน้า 4 ซี่ แถวหลัง 3 ซี่ sternum สีน้ำตาลเหลืองอ่อน (ในแอลกอฮอล์) เขี้ยวมีสีน้ำตาลเหลืองอ่อนและมีสีดำลาย (ในแอลกอฮอล์) Labium ความกว้างมากกว่าความยาว

ท้อง สีเงินสดใส ในช่วงด้านหลังทางตอนท้ายจะมีสีเข้มแต้ม มีความยาวมากกว่าความกว้าง

เขตการแพร่กระจาย พบทั่วไปในประเทศไทย ได้แก่ ปทุมธานี, นครปฐม, กาญจนบุรี, ชัยนาท, เพชรบุรี, ระยอง, เลย, พะเยา, ตาก, ฉะเชิงเทรา และสุราษฎร์ธานี

Argiope pulchella Thorell, 1881

วงศ์ Araneidae

ชื่อพ้อง *Argiope pulchella* Thorell, 1881
Argiope undulata Thorell, 1887
Argiope pulchella Thorell, 1887
Argiope undulata Thorell, 1895
Argiope pulchella Gravely, 1921
Argiope pulchella Dyal, 1935
Argiope pulchella Tikader, 1970
Argiope pulchella Tikader & Biswas, 1981

Argiope pulchella Tikader, 1982
Argiope pulchella Levi, 1983
Argiope pulchella Yin et al., 1989
Argiope pulchella Yin et al., 1997
Argiope pulchella Song, Zhu & Chen, 1999
Argiope pulchella Jäger & Praxaysombath, 2009
Argiope pulchella Jäger, 2012

ชื่อสามัญ

<u>รูปร่างลักษณะ</u>

ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย เพศผู้ 6.9 มิลลิเมตร เพศเมีย 17.9 มิลลิเมตร

หัวและอก มีขนอ่อนสีเงินปกคลุม ความกว้างเท่ากับความยาว ส่วนหัวและอกแบน แต่ส่วนหัวนูนกว่าเล็กน้อย เห็น cervicle groove แยกส่วนหัวและอกชัดเจน ตา 8 ตา แบบ diurnal eyes เรียง 2 แถว (4-4) แถวหน้าเรียงแบบ recurve เล็กน้อย แถวหลังแบบ procurve ตาข้างแถวหน้าและหลังติดกัน clypeus แคบ chelicerae เห็น boss ชัด มีฟันแถวหน้า 3 ซี่ แถวหลัง 4 ซี่

ท้อง มีรูปร่างของส่วนท้องและสีสันคล้าย *A. versicolor* มาก แต่มีขนาดรูปร่างที่แตกต่างกันมากซึ่งปกติจะมีขนาดใหญ่กว่า *A. versicolor* อวัยวะเพศของเพศเมียจะมีลักษณะหนากว่าเป็นรูปตัว V หรือ ตัว U

เขตการแพร่กระจาย พบทั่วไปในประเทศไทยได้แก่ จังหวัดนครนายก, นครปฐม, กาญจนบุรี, เพชรบุรี, เลย, ลำปาง, เชียงใหม่, นครราชสีมา, จันทบุรีและสงขลา

***Argiope* versicolor (Doleschall, 1859)**

วงศ์ Araneidae

ชื่อพ้อง *Epeira* versicolor Doleschall, 1859
Argiope succincta L. Koch, 1871
Argiope versicolor Thorell, 1890
Argiope versicolor Workman, 1896
Argiope succincta Pocock, 1897
Argiope versicolor Levi, 1983
Argiope versicolor Yin et al., 1989
Argiope versicolor Chen & Gao, 1990
Argiope versicolor Yin et al., 1997
Argiope versicolor Song, Zhu & Chen, 1999
Argiope versicolor Jäger & Praxaysombath, 2009

ชื่อสามัญ

<u>รูปร่างลักษณะ</u>

ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย เพศผู้ 4.9 มิลลิเมตร เพศเมีย 12.0 มิลลิเมตร

หัวและอก มีขนอ่อนสีเงินปกคลุม ความกว้างเท่ากับความยาว ส่วนหัวและอกแบน แต่

ส่วนหัวนูนกว่าเล็กน้อย เห็น cervicle groove แยกส่วนหัวและอกชัดเจน มีฟันแถวหน้า 4 ซี่ แถวหลัง 3 ซี่ maxillae มีความกว้างเท่ากับความยาว sternum มีความกว้างเท่ากับความยาว ด้านหน้าตรง ด้านปลายแหลม

ท้อง มีรูปร่างของส่วนท้องและสีสันคล้าย *A. pulchella* มาก แต่มีขนาดรูปร่างเล็กกว่า *A. pulchella* อวัยวะเพศของเพศเมียจะมีลักษณะหนา และจะมีขอบที่บางกว่า เมื่อมองทางด้านหลังจะเห็นว่าอวัยวะเพศมีขนาดกว้างกว่าใน *A. pulchella*

เขตการแพร่กระจาย จังหวัดกรุงเทพฯ**และ**เชียงใหม่

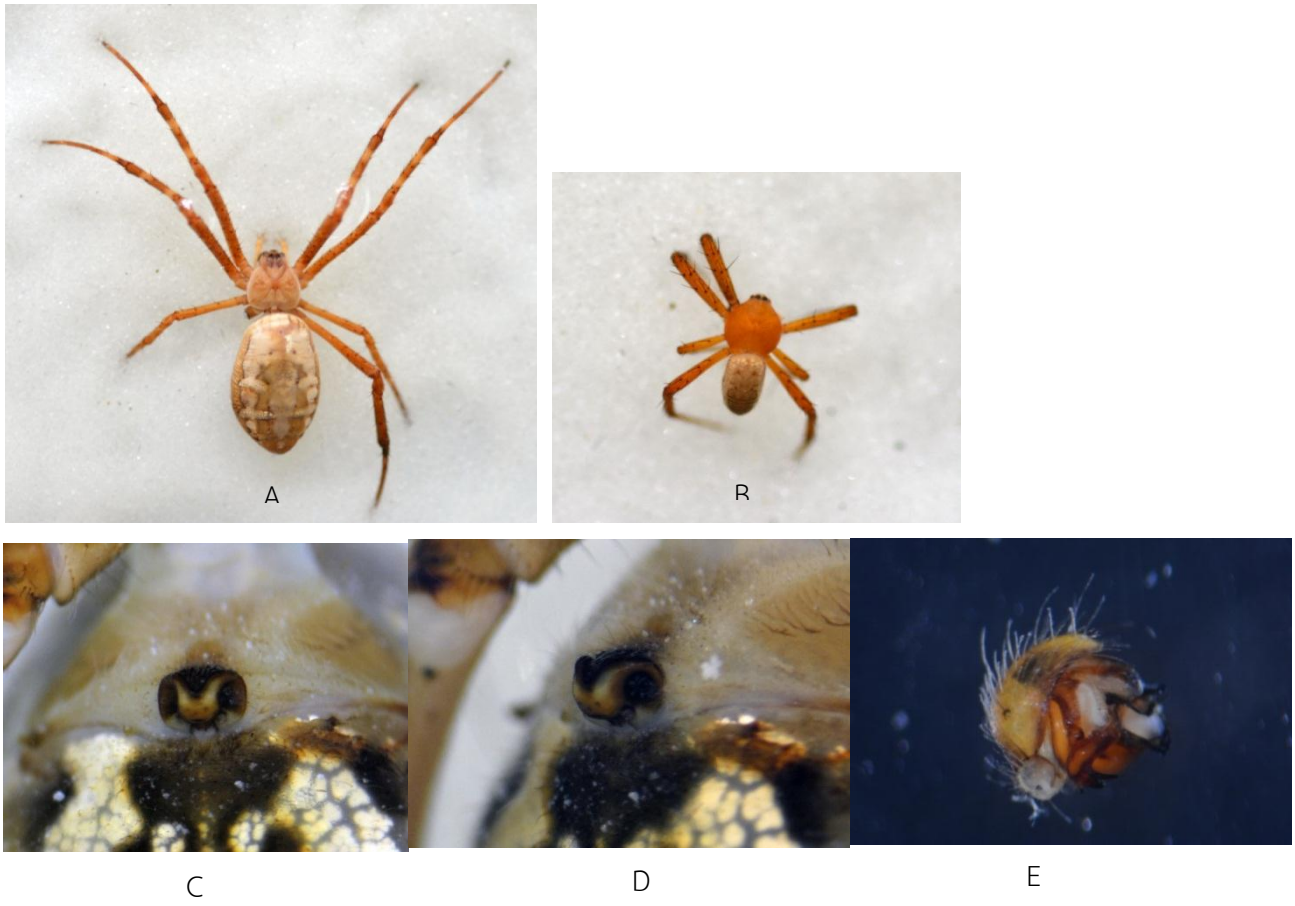
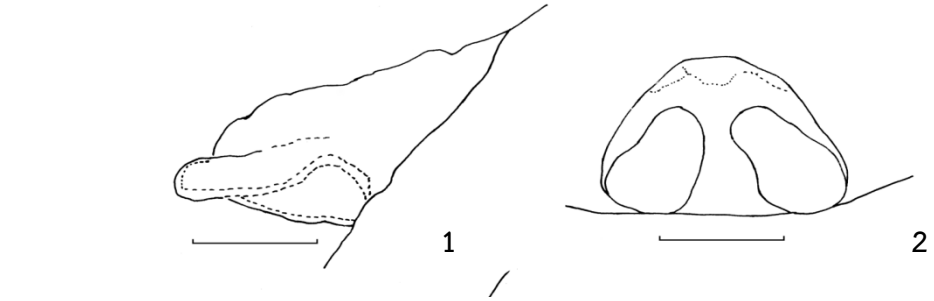


Fig 1. *Argiope catenulata* (Doleschall 1859); Female (A), male (B), Epigyne ventral view (C), Epigynum lateral view (D), Left male palpus (E)

New record

Fig 2. *Argiope dang* Jäger & Praxaysombath, 2009; Female (A), male (B), Epigyne ventral view (C), Epigynum lateral view (D), Left male palpus (E)



Scales = 0.25 mm

Fig 3. *Argiope pulchella* Thorell, 1881; Female (A), male (B), Epigyne ventral view (C), Epigynum lateral view (D), Left male palpus (E)

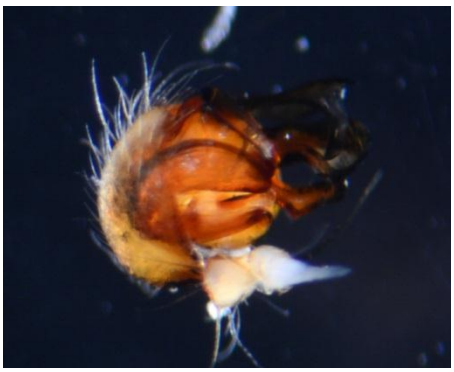
A

B

C

D

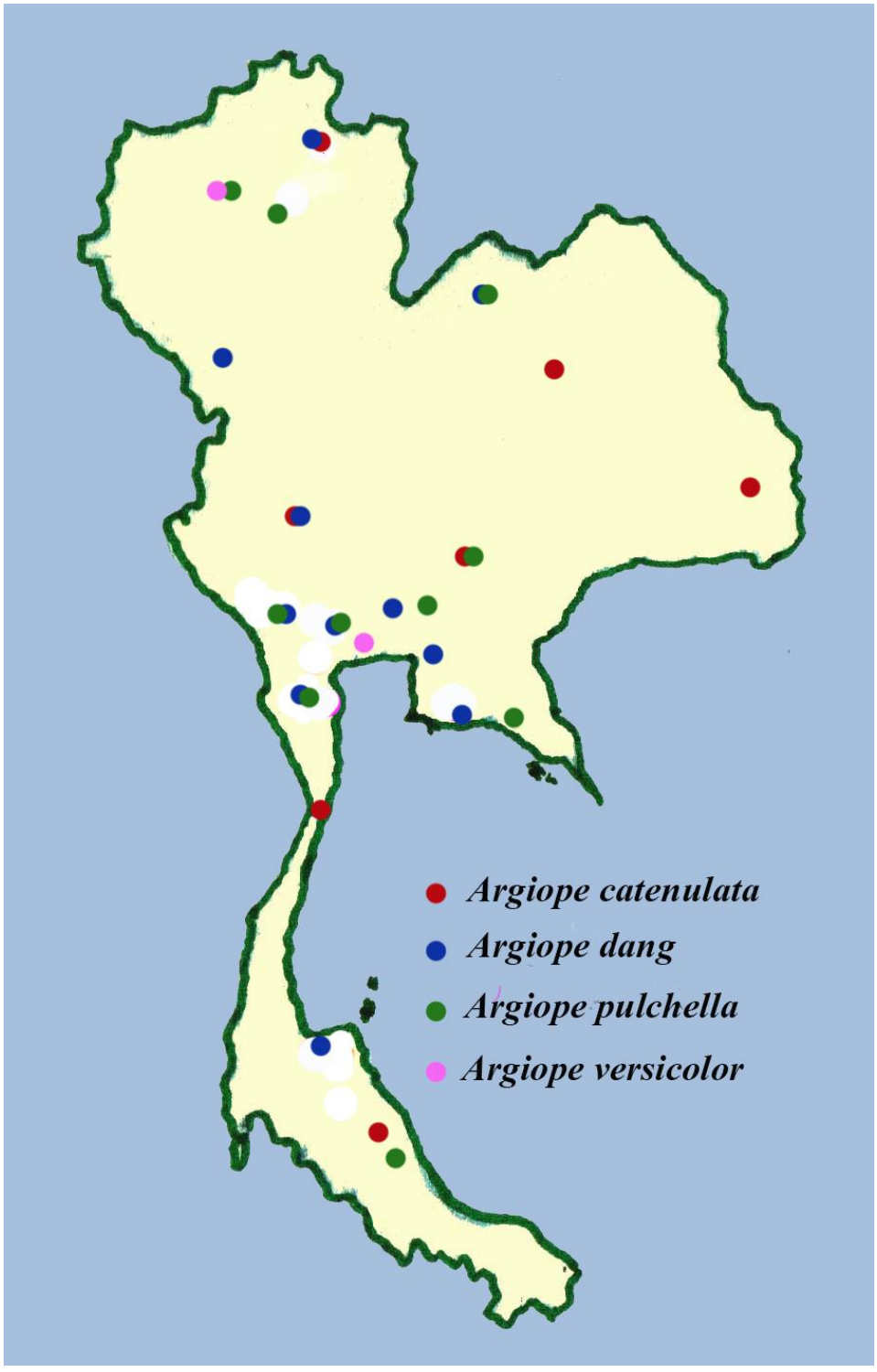
E



F

Fig 4. *Argiope* versicolor (Doleschall, 1859); Female (A), male (B), Epigyne ventral view (C), Epigyne lateral view (D), Right male palpus (E), Left male palpus (F)

Distribution map of *Argiope* in Thailand



สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการจำแนกแมงมุมสกุล *Argiope* โดยการใช้ลักษณะที่สำคัญในการจำแนกชนิด เช่น จำนวนซี่ฟัน ลักษณะรูปร่างและลวดลายบนส่วนหลัง ลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ลักษณะของ

อวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย ฯลฯ ผลจากการศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานพบแมงมุมในสกุล *Argiope* ทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ *A. catenulata* (Doleschall 1859), *A. dang* Jäger & Praxaysombath, 2009 (new record), *Argiope pulchella* Thorell, 1881, *A. versicolor* (Doleschall, 1859) ทั้งนี้ *A. dang* เป็นแมงมุมที่มีการรายงานครั้งแรกในประเทศไทย นอกจากนี้ *Argiope pulchella* นับว่าเป็นแมงมุมชนิดใหม่ที่เก็บเพิ่มเติมไว้ในพิพิธภัณฑ์

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุมที่มีส่วนช่วยให้ผลงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

วิภาดา วังศิลาบัตร มานิตา คงชื่นสิน เทวินทร์ กุลปิยวัฒน์ และพิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์. 2548. การศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุมในข้าวอินทรีย์. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม 2548 เล่มที่ 1. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 471- 513.

Barrion, A.T. & Litsinger, J.A. (1995) *Riceland Spiders of South and Southeast Asia*. CAB International, Wallingford, UK, xix + 700 pp.

Bjørn, P.P. (1997) A taxonomic revision of the African part of the orb-weaving genus *Argiope* (Araneae: Araneidae). *Entomologica scandinavica*, 28, 199–239.

Chikuni, Y. (1989) *Pictorial Encyclopedia of Spiders in Japan*. Kaisei-sha Publishing, Tokyo, 310 pp.

Daxiang, S. , Z. Mingsheng and C. Jun. 1999. The spiders of China. Hebei Science and Technology Publishing House. 640 p.

Jäger, P. & Praxaysombath, B. (2012) A review on the spider genus *Argiope* Audouin 1826 with special emphasis on broken emboli in female epigynes (Araneae: Araneidae: Argiopinae). *Beitr. Araneol.*, 272-331 p.

Jäger, P. & Praxaysombath, B. (2009) Spiders from Laos: new species and new records (Arachnida: Araneae). *Acta Arachnologica*, 58 (1), 27–51.

Kenmore, P.E. 1979. Limits of the brown planthopper problem : implications for integrated pest management. Saturday Seminar, June 30, 1979. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines. 78p.

Levi, H.W. 1983. The Orb-weaver genera *Argiope*, *Gea*, and *Neogea* from the western pacific region (Araneae, Argiopinae). Bulletin Museum of Comparative Zoology, Vol. 150, No. 5, 247-337.

Levi, H.W. (2004) Comments and new records for the American genera *Gea* and *Argiope* with the description of new species (Araneae: Araneidae). *Bulletin of The Museum of comparative Zoology*, 158, 47–65

Mansour, F. , Rosen, D. , Shulov, A. and Plaut, H. N. 1980. Evaluation of spiders as biological control agents of *Spodoptera littoralis* (Boisd) larvae on apple in Israel. Acta. Ecol. , Appl. 1: 225 – 232.

Motta, P.C. & Levi, H.W. (2009) A new species of *Argiope* (Araneae: Araneidae) from Brazil. *Zoologia (Curitiba)*, 26, 334–336.

Ono, H. (2010) Four new spiders (Arachnida, Araneae) of the families Liphistiidae, Ctenizidae, Araneidae and Ctenidae from Vietnam. *Memoirs of the National Museum of Nature and Science*, 46, 1–12.

Sebastian, P.A. & Peter K.V. (2009) *Spiders of India*. Universities Press, Hyderabad, 614 pp. + 170 pl.

Song, D.X., Zhu, M.S. & Chen, J. (1999) *The Spiders of China*. Hebei Science and Technology Publishing House, Shijiazhuang, 640 pp.

Tanikawa, A. (2009) Araneidae. *In:* Ono, H. (ed.) *The Spiders of Japan with keys to the families and genera and illustrations of the species*. Tokai University Press, Kanagawa, pp. 420–463.

Tikader, B.K. (1982) Family Araneidae (=Argiopidae), typical orbweavers. *Fauna of India (Araneae)*, 2, 1–293.

Yin, C.M., Wang, J.F., Zhu, M.S., Xie, L.P., Peng, X.J. & Bao, Y.H. (1997) *Fauna Sinica: Arachnida: Araneae: Araneidae*. Science Press, Beijing, xiii + 460 pp.

Yano, K., W. Vungsilabutr and B. Napompeth. 1997. Spider associated with orchid plants in Thailand. Thai Journal of Agricultural Science, Vol. 30, No.1, 111-145.

อนุกรมวิธานแมงมุมวงศ์ Tetragnathidae ในประเทศไทย
Taxonomic study on Spider Fauna in Family Tetragnathidae in Thailand.

วิมลวรรณ โชติวงศ์ มานิตา คงชื่นสิน พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์
พลอยชมพู กรวิภาสเรือง
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากการจำแนกชนิดตัวอย่างแมงมุม สำรวจและเก็บรวบรวมแมงมุมวงศ์ Tetragnathidae ณ จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ระยอง จันทบุรี ตราด นครราชสีมา และ ตาก จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้มาจำแนกชนิดภายใต้กล้องสเตอริโอ พบแมงมุมทั้งหมด 10 ชนิด ได้แก่ *Tetragnatha* sp. จำนวน 1 ตัวอย่าง *Tetragnatha maxillosa* จำนวน 7 ตัวอย่าง , *Tetragnatha ceylonica* จำนวน 2 ตัวอย่าง *Tetragnatha virescens* จำนวน 3 ตัวอย่าง , *Tetragnatha nitens* จำนวน 2 ตัวอย่าง *Leucauge sp.* จำนวน 3 ตัวอย่าง *Tylorida ventralis* จำนวน 10 ตัวอย่าง *Opadometa grata* จำนวน 2 ตัวอย่าง และ *Tetragnatha madibulata* จำนวน 2 ตัวอย่าง *Tetragnatha haselti* จำนวน 1 ตัวอย่าง และสำหรับตัวอย่างที่เป็นตัวอ่อนจะนำไปเลี้ยงต่อที่ห้องปฏิบัติการจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัยจึงจะสามารถนำมาจำแนกชนิดได้

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-21-55

คำนำ

แมงมุมเป็นตัวห้ำที่มีประสิทธิภาพสามารถกินเหยื่อได้หลากหลาย และเป็นตัวห้ำที่มีปริมาณมากในไร่ นา ป่า สวนผัก และสวนผลไม้ โดยเฉพาะสวนที่ไม่ได้ใช้ยาฆ่าแมลง หรือใช้ยาฆ่าแมลงน้อย จะพบว่าแมงมุมมีบทบาทที่สำคัญในการควบคุมศัตรูพืชต่างๆ เช่น เพลี้ยไฟ, ไร, หนอนผีเสื้อ, แมลงวันผลไม้และเพลี้ยหอย เป็นต้น (Mansour *et.al*., 1980) นอกจากนี้ยังพบว่าเป็นตัวห้ำที่สำคัญในการควบคุมแมลงศัตรูในนาข้าว (Chu and Okuma, 1970) ซึ่งสกุล *Tetragnatha* นับว่าเป็นสกุลที่มีความสำคัญในควบคุมประชากรเพลี้ยจักจั่นสีเขียวในนาข้าว วิภาดา , 2544 ได้ศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุมในสวนส้มพบแมงมุมวงศ์ Tetragnathidae จำนวน 9 ชนิด ซึ่งปัจจุบันพบทั่วโลก 48 สกุล 866 ชนิด ดังนั้นแมงมุมในวงศ์นี้จึงนับว่ามีความสำคัญที่ควรจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงจำนวนชนิดที่พบในประเทศไทย ซึ่งข้อมูลที่ได้จะเป็นพื้นฐานสามารถนำไปใช้อ้างอิงทางวิชาการสำหรับงานอนุกรมวิธานและจัดทำแนวทางการวินิจฉัยชนิดและลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธานของแมงมุมเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ทันสมัยเป็นประโยชน์ให้กับหน่วยราชการที่เกี่ยวข้อง และเกษตรกร

วิธีการดำเนินการ

อุปกรณ์

1.1 อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง หลอดแก้วทดลอง ขวดดองตัวอย่างแมงมุมขนาดต่างๆ กัน กล่องพลาสติกใสขนาดต่างๆ กัน กระดาษทิชชู่ ปากคีบ พู่กัน ถุงพลาสติกใสขนาดต่าง ๆ กัน สารเคมี ได้แก่ alcohol 75% ethyl acetate

1.2 อุปกรณ์ในการจำแนกชนิดและภาพวาด ได้แก่ จานแก้ว petridish ทรายละเอียด กล้อง stereomicroscope กระดาษกราฟ กระดาษลอกลาย ดินสอ ปากกา rotring เบอร์ 1, 2, 3 เอกสารด้านอนุกรมวิธานแมงมุมที่เกี่ยวข้อง

1.3 อุปกรณ์ในการเขียนผลงานวิจัยและเผยแพร่ ได้แก่ อุปกรณ์ในการถ่ายภาพ กล้อง stereomicroscope ติดตั้งด้วยกล้องถ่ายภาพ อุปกรณ์คอมพิวเตอร์ วัสดุสำนักงาน

วิธีการ

2.1 สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมงมุมโดยวิธีจับโดยตรง และ การใช้สวิงโฉบหากตัวอย่างแมงมุมที่รวบรวมได้อยู่ในระยะตัวอ่อน ต้องนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย บันทึกพฤติกรรมต่าง ๆ ของแมงมุมแต่ละชนิดในสภาพธรรมชาติ เช่น วิธีจับเหยื่อ ชนิดของเหยื่อ เวลาที่ออกหากิน ลักษณะใยดักเหยื่อ เป็นต้น

2.2 ฆ่าแมงมุมโดยใส่ก้อนสำลีในกล่องพลาสติกที่เลี้ยงแมงมุมหยด ethyl acetate 2 – 3 หยดลงบนก้อนสำลีเพื่อทำให้แมงมุมสลบ

2.3 ดองแมงมุมในขวดที่บรรจุแอลกอฮอล์ 75 % เพื่อเก็บรักษาตัวอย่างและนำไปจำแนกชนิดต่อไป

2.4 นำแมงมุมมาตรวจวิเคราะห์จำแนกชนิดใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereomicroscope ที่มีกำลังขยายสูง โดยอาศัยหลักการทางด้านอนุกรมวิธาน และเอกสารตำราต่างๆโดยเฉพาะจากเอกสารเกี่ยวกับการศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุมในแถบทวีปเอเชีย

2.5 วาดรูป/ถ่ายภาพ แสดงลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธานที่ใช้ในการจำแนกแมงมุมแต่ละชนิด และจัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิดแมงมุมวงศ์ Tetragnathidae

2.6 การบันทึกรายละเอียดของแมงมุมชนิดต่างๆที่สำรวจพบ และข้อมูลอื่นที่สำคัญ รวมถึงบันทึกรายละเอียดบนแผ่นป้าย ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ วัน เดือน ปี สถานที่ และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

2.7 จัดเก็บตัวอย่างแมงมุมในขวดดองและนำเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาอารักขาพืชโดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามหลักสากล

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาทำการวิจัยรวมทั้งสิ้น 3 ปี

ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2554 ถึง 30 กันยายน 2557

สถานที่

นาข้าวและสวนไม้ผลของเกษตรกรทั่วประเทศ ป่าไม้ น้ำตก

กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว

เขตจตุจักร กรุงเทพฯ10900

โทร. 579-4128 ต่อ 176 wimolwanc@hotmail.com และ

โทรศัพท์ (02) 579-3053 ต่อ 120 โทรสาร (02) 9405396

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการจำแนกชนิดตัวอย่างแมงมุม สำรวจและเก็บรวบรวมแมงมุมวงศ์ Tetragnathidae ตั้งแต่ ตุลาคม 2554 ถึง มีนาคม 2557 พบแมงมุมทั้งหมด 10 ชนิด แมงมุมที่พบปริมาณมากที่สุด ได้แก่ *Tylorida ventralis* พบที่แปลงมันสำปะหลัง และพบว่าแมงมุมวงศ์นี้ส่วนใหญ่ชอบอาศัยอยู่บริเวณที่ร่มและแหล่งน้ำไหลผ่าน นอกจากนี้ยังพบปริมาณมากในนาข้าวอินทรีย์ อย่างไรก็ดีแมงมุมชนิด *Tylorida ventralis* และ *Opadometa grata* พบได้ในบริเวณป่าแต่กลับพบปริมาณในแปลงมันสำปะหลังน่าจะเป็นข้อบ่งบอกได้ว่าปัจจุบันได้มีการถางหญ้าบุกรุกพื้นป่ากันมากขึ้นส่งผลให้แมงมุมชนิดนี้ย้ายเข้ามาสู่บริเวณแหล่งปลูกพืชแทน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

เอกสารอ้างอิง

วิภาดา วังศิลาบัตร. 2544. แมงมุมในสวนส้ม. เอกสารวิชาการ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กกส-ว-010-2544. ISBN 974-436-053-4. 108 หน้า.

Chu, Y. –I. and C. Okuma. 1970. Priliminary survey on the spider-fauna of the paddy fields in Taiwan. Mushi 44 : 29 – 49. (In Chinese.)

Mansour, F. , Rosen, D. , Shulov, A. and Plaut, H. N. 1980. Evaluation of spiders as biological control agents of *Spodoptera littoralis* (Boisd) larvae on apple in Israel. Acta. Ecol. , Appl. 1: 225 – 232.

ชีววิทยา การเข้าทำลาย ฤดูกาลระบาดของแมลงวันทองชนิด *Bactrocera cucurbitae* (Coquillet)

Biology Infestation and Season Abandons of *Bactrocera cucurbitae* (Coquillet)

สัญญาณี ศรีคชา[1/] วิภาดา ปลอดครบุรี[1/] ยุวรินทร์ บุญทบ[2/]
[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมผลพืชตระกูลแตงที่ถูกแมลงวันทองเข้าทำลาย ในจังหวัดกาญจนบุรี นครราชสีมา และสุพรรณบุรี พบแมลงวันทอง 2 ชนิด ลงทำลาย คือ *B. cucurbitae* และ *B. tau* การศึกษาวงจรชีวิตของแมลงวันทองชนิด *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ในห้องปฏิบัติการโดยมีอุณหภูมิเฉลี่ย 23.10±1.27 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพันธ์เฉลี่ย 91.07±0.25 เปอร์เซ็นต์ พบว่าตัวเต็มวัยเพศเมียจะเริ่มจับคู่ผสมพันธุ์เมื่ออายุ 14 วัน โดยวางไข่เป็นฟองเดี่ยวๆ หรือกลุ่มๆ ละ 2-3 ฟอง ตัวเมีย 1 ตัว สามารถวางไข่ได้ 376-453 ฟอง มีเปอร์เซ็นต์การฟัก 78% ระยะไข่ 3-4 วัน หนอนมี 3 ระยะ ระยะหนอน 8-9 วัน ระยะดักแด้ 9-10 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมียอายุ 79-120 วัน และตัวเต็มวัยเพศผู้มีอายุ 86-132 วัน การศึกษาช่วงฤดูการระบาดของแมลงวันทองชนิด *B. cucurbitae* ในแปลงปลูกแตงกวา บวบหอม และมะระ โดยใช้สารล่อชนิด Cur-lure ในกับดักแบบ Steiner พบว่าแมลงวันทองชนิด *B. cucurbitae* เข้าทำลายพืชทั้งสามชนิดได้

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-14-54

คำนำ

แมลงวันทองชนิด *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) เป็นศัตรูพืชที่สำคัญของพืชผักหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพืชตระกูลแตง (Family Cucurbitaceae) ซึ่งเป็นพืชผักที่สำคัญทางเศรษฐกิจ มีพื้นที่ปลูกประมาณ 534,000 ไร่ พืชที่สำคัญได้แก่ แตงโม แตงกวา มะระ ฟักทอง ฟักเขียว บวบ และแคนตาลูป ในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์แตงโมคิดเป็นมูลค่ากว่า 340 ล้านบาท การผลิตพืชผักตระกูลนี้มีทั้งเพื่อบริโภคเองภายในประเทศ และเพื่อการส่งออก เช่น แตงกวามีทั้งการผลิตเพื่อบริโภคผลสด และแปรรูปเป็นผักดองส่งขายต่างประเทศ เช่นญี่ปุ่น นอกจากนี้ยังมีมะระที่ผลิตสำหรับการส่งออก จะเห็นได้ว่าพืชตระกูลแตงเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญทำรายได้ดี และมีศักยภาพในการส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ แต่เนื่องจากการปลูกพืชตระกูลแตงในประเทศไทย มักประสบกับปัญหาจากการทำลายของแมลงวันทอง ซึ่งชนิดที่สำคัญคือ Melon fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) ซึ่งเป็นแมลงวันทองที่มีขนาดใกล้เคียงกับ แมลงวันทองชนิด *Bactrocera dorsalis* (Hendel) แต่ลำตัวมีสีน้ำตาลอ่อนอมส้ม มีแถบสีเหลืองบนอกด้านสันหลัง จำนวน 3 แถบ ปีกมีแถบสีดำตามแนวขวางของปีก ปลายปีกมีแถบสีดำหนาจนดูเป็นจุดที่ปลายปีก แมลงชนิดนี้มีการเคลื่อนไหวเชื่องช้า และมีระดับการบินต่ำ สูงจากพื้นดิน ประมาณ 0.5-1.5 เมตร เป็นแมลงวันทองที่มีเขตแพร่กระจายทั่วไปในทุกภาคของประเทศไทย ทำลายพืชผักตระกูลแตง มีพืชอาหารกว่า 28 ชนิด เป็นแมลงที่พบการแพร่กระจายเกือบตลอดทั้งปีในประเทศไทย มีพืชอาศัยมากกว่า 21 ชนิด ได้แก่ ชะมดต้น ฟัก มะละกอ แตงโม ตำลึง แตงกวา ฟักทอง ตะโกนา กะดอม ขี้กาดง บวบเหลี่ยม บวบกลม มะเขือเทศ มะระขี้นก กะทกรก บวบงู ขี้กาแดง กระดึงช้าง ขี้กาดิน ถั่วฝักยาว พุทราจีน (กองกีฏและสัตววิทยา, 2544) นอกจากนี้ แสน (2529) รายงานว่า *B. curcubitae* (Coquillett) สามารถลงทำลายพืชตระกูลแตงได้ 10 ชนิด คือ ฟัก แตงโม ตำลึง แตง แตงกวา ฟักทอง บวบเหลี่ยม บวบกลม บวบงู และมะระขี้นก

B. cucurbitae จะเข้าทำลายทำให้ผลผลิตเสียหาย คุณภาพต่ำ เกษตรกรจึงต้องทำการป้องกันกำจัดทั้งก่อนและหลังเก็บเกี่ยว ซึ่งเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต และการป้องกันกำจัดแมลงวันทองโดยใช้สารฆ่าแมลงอย่างต่อเนื่องจนเก็บเกี่ยว ก่อให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างในผลผลิตและสภาพแวดล้อม นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดปัญหาด้านกักกันพืช และถูกใช้เป็นเครื่องมือกีดกันทางการค้าของต่างประเทศ เช่น ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา กลุ่มสหภาพยุโรป ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ เกาหลีใต้ ไต้หวัน และจีน จะเห็นได้ว่าแมลงวันทองเป็นปัญหาในระดับประเทศที่ต้องให้ความสำคัญ ในการศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับแมลงวันทอง ทั้งทางด้านชีววิทยา นิเวศน์วิทยา ช่วงฤดูการแพร่ระบาด และการเข้าทำลายของแมลงวันทอง เพื่อจะได้ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับหาทางป้องกันกำจัดเป็นการช่วยลดความเสียหายของผลผลิต และให้ผลผลิตมีคุณภาพตรงตามความต้องการของตลาด

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กล่องพลาสติก ถุงผ้า
2. กรงเลี้ยงแมลงขนาด 19x30x20 เซนติเมตร
3. ตะแกรงรอนเบอร์ 20, จานเลี้ยงเชื้อ
4. Cur-lure, malathion, กับดักแบบ Steiner

5. ตาชั่ง

วิธีการ

1. สำรวจชนิดแมลงวันทองที่ลงพืชตระกูลแตง

โดยเก็บรวบรวมผลพืชตระกูลแตงเช่น ฟัก ฟักทอง แตงกวา มะระ แตงโม เมล่อน ที่ถูกแมลงวันทองทำลายจากแหล่งปลูกต่างๆ โดยนำมาชั่งน้ำหนัก และนับจำนวน บันทึกวัน/เดือน/ปี ระยะพืช และสถานที่เก็บตัวอย่าง จากนั้นนำมาเลี้ยงต่อในห้องปฏิบัติการ โดยนำผลใส่ในกล่องพลาสติกขนาด 22x29x10 เซนติเมตร ที่รองก้นกล่องด้วยขี้เลื่อยที่มีความชื้น สูงประมาณ 1 นิ้ว รอจนหนอนแมลงวันทองออกมาเข้าดักแด้ในขี้เลื่อยประมาณ 10 วัน จากนั้นใช้ตะแกรงรอนเบอร์ 20 ร่อนแยกดักแด้ออกจากขี้เลื่อย แล้วนำดักแด้ใส่ในกล่องพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 เซนติเมตร สูง 5 เซนติเมตร คลุมทับด้วยขี้เลื่อยที่มีความชื้น สูงประมาณ ½ นิ้ว จากนั้นนำไปไว้ในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 0.35x0.35x0.50 เมตร ที่ภายในมีน้ำและอาหารสำหรับตัวเต็มวัย (Brewer's yeast และน้ำตาลไอซ์ซิ่ง อัตรา 1:4) เมื่อตัวเต็มวัยมีอายุประมาณ 7-10 วัน ทำการฆ่าโดยนำตัวเต็มวัยใส่ในหลอดแก้วแช่ในช่องทำน้ำแข็ง (freezer) นาน 4-5 ชั่วโมง แล้วนำไปจำแนกชนิดและตรวจนับจำนวน

2. การศึกษาชีววิทยาของแมลงวันทองชนิด *B. cucurbitae*

ทำการเก็บรวบรวมผลพืชตระกูลแตงที่ถูกแมลงวันทองเข้าทำลายจากแหล่งปลูก จากนั้นนำมาเลี้ยงต่อในห้องปฏิบัติการ เมื่อได้แมลงวันทองชนิด *B. cucurbitae* จึงนำมาเลี้ยงขยายพันธุ์ต่อจนได้รุ่นที่ 1 (F1) จากนั้นทำการศึกษาวงจรชีวิตของแมลงวันทองชนิด *B. cucurbitae* โดยดำเนินการศึกษาวงจรชีวิตในระยะต่างๆ ดังนี้

ระยะไข่ ศึกษาอายุของไข่ด้วยการทำ Hatching Rate โดยเขี่ยไข่ลงบนกระดาษกรองเบอร์ 91 ที่ให้ความชื้นตลอดเวลา แล้วเก็บไว้ในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จากนั้นตรวจนับและบันทึกจำนวนหนอนที่ฟักออกจากไข่ทุก 6 ชั่วโมง ทำ 5 ซ้ำๆ ละ 100 ฟอง

ระยะหนอน ศึกษาอายุและลักษณะของหนอนวัยต่างๆ โดยเลี้ยงหนอนในผลแตงกวา บันทึกขนาด ลักษณะ และการตายของหนอนวัยต่างๆ โดยศึกษาจากหนอน 100 ตัว

ระยะดักแด้ ศึกษาอายุและลักษณะของดักแด้ โดยทำการบันทึกขนาด และลักษณะของดักแด้ โดยศึกษาจากดักแด้ 100 ดักแด้

ระยะตัวเต็มวัย ศึกษาอายุขัย การผสมพันธุ์ การวางไข่ และลักษณะของตัวเต็มวัย โดยเลี้ยงแมลงวันทองชนิด *B. cucurbitae* เพศผู้ 1 ตัวและเพศเมีย 1 ตัว ในกล่องพลาสติกขนาด 21x15x8 เซนติเมตร ที่ภายในมีน้ำ อาหาร และกระบอกพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร สูง 4.5 เซนติเมตร เจาะรูขนาดเล็กจำนวน 20 รู ภายในกระบอกใส่ชิ้นฟักเพื่อล่อให้แมลงวางไข่ บันทึกปริมาณการวางไข่ทุกวันจนตัวเต็มวัยเพศเมียตาย นอกจากนี้ทำการบันทึกลักษณะตัวเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมีย ลักษณะการจับคู่ผสมพันธุ์ และการตายของตัวเต็มวัย โดยศึกษาจากแมลงวันทองจำนวน 10 คู่

3. การศึกษาช่วงฤดูการระบาดของแมลงวันทองชนิด *B. cucurbitae* ทำการติดตั้งกับดักแมลงวันทองแบบ Steiner ซึ่งภายในแขวนก้อนสำลีชุบสาร Cur-lure ผสมสารฆ่าแมลง malathion (ไดมาร์ค 83% EC) ในอัตรา 4:1 โดยปริมาตร จำนวน 8 กับดักต่อพื้นที่ 1 ไร่ โดยนำไปแขวนในแปลงปลูกแตงกวาของเกษตรกร อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา แปลงปลูกบวบหอมของเกษตรกร อ.สามพราน จ.นครปฐม และในแปลงปลูกมะระของเกษตรกร อ.อู่ทอง จ.สุพรรณบุรี เก็บแมลงวันทองในกับดักออกทุกสัปดาห์ หลังจากนั้นทำการจำแนกชนิดและบันทึกจำนวนที่พบ

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2553 – กันยายน 2556

ห้องปฏิบัติการกลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

แปลงปลูกพืชตระกูลแตง จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม นครราชสีมา และสุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สำรวจชนิดแมลงวันทองที่ลงทำลายพืชตระกูลแตง

สำรวจชนิดแมลงวันทองที่ลงทำลายในพืชตระกูลแตง จากการสำรวจและเก็บรวบรวมผลแตงร้าน แตงกวา มะระหวาน ฟักทอง บวบหอม ที่ถูกแมลงวันทองเข้าทำลายในแหล่งปลูกจังหวัดกาญจนบุรี นครราชสีมา และสุพรรณบุรี พบว่ามีแมลงวันทอง 2 ชนิดลงทำลายพืชตระกูลแตง คือ *B. cucurbitae* และ *B. tau* (Table 1)

2. การศึกษาชีววิทยาของแมลงวันทองชนิด *B. cucurbitae*

วงจรชีวิตของแมลงวันทอง *B. cucurbitae* ดำเนินการศึกษาในปี พ.ศ. 2554 ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพมหานคร โดยมีอุณหภูมิเฉลี่ย 23.10±1.27 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพันธ์เฉลี่ย 91.07±0.25 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาชีววิทยาของ *B. cucurbitae* บนผลแตงกวาสด พบว่าการเจริญเติบโตของแมลงชนิดนี้แบ่งออกเป็น 4 ระยะ คือ

ระยะไข่ ตัวเต็มวัยเพศเมียจะวางไข่เป็นฟองเดี่ยวๆ หรือเป็นกลุ่มๆ ละ 2-3 ฟอง บนผลแตงกวา ไข่มีสีขาวผิวเป็นมันสะท้อนแสง รูปร่างคล้ายผลกล้วย มีขนาดเล็ก เมื่อใกล้ฟักจะมีสีขาวขุ่น ระยะไข่ 3-4 วัน ไข่มีเปอร์เซ็นต์การฟักสูงถึง 78%

ระยะหนอน หนอนมีลักษณะหัวแหลม ท้ายป้าน ไม่มีขา ส่วนหัวมีลักษณะเป็นตะขอแข็งสีดำ เมื่อฟักออกจากไข่ใหม่ๆ ลำตัวใสส่วนหัวที่เป็นตะขอมีสีน้ำตาล ตัวหนอนเคลื่อนที่โดยการยืดหดลำตัว หนอนมี 3 วัย ระยะหนอน 8-9 วัน

ระยะดักแด้ ดักแด้มีลักษณะกลมรีคล้ายถังเบียร์ ลำตัวเป็นปล้องๆ ตามแนวขวาง ดักแด้ในระยะแรกมีสีขาวและค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อนแล้วสีจะค่อยๆ เข้มขึ้นเมื่อดักแด้ใกล้ฟัก ระยะนี้แมลงไม่มีการเคลื่อนไหว ดักแด้อาศัยในดินลึกประมาณ 2.0-5.0 เซนติเมตร ระยะดักแด้ 9-10 วัน

ระยะตัวเต็มวัย ตัวเต็มวัยเป็นแมลงวันมีสีน้ำตาลแดงทั้งลำตัวและขา มีแถบสีเหลืองที่ส่วนอก ปีกบางใสสะท้อนแสงที่ปลายปีกมีจุด ระยะนี้จะไม่ทำลายพืช กินน้ำหวาน โปรตีน และวิตามิน ที่ได้จากสิ่งขับถ่ายจากแมลง นก น้ำยางจากแผลของต้นไม้ น้ำหวานจากพืช และเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นดิน ตัวเต็มวัยหลังจากออกจากดักแด้ประมาณ 14 วัน จึงเริ่มจับคู่ผสมพันธุ์และเริ่มวางไข่ โดย

วางไข่ในผลของพืชอาศัย ตัวเต็มวัยเพศเมียมีความสามารถในการวางไข่ตลอดอายุขัยได้ 376-453 ฟอง ตัวเต็มวัยเพศเมียมีอายุ 79-120 วัน ตัวเต็มวัยเพศผู้มีอายุ 86-132 วัน

3. การศึกษาช่วงฤดูการระบาดของแมลงวันทองชนิด *B. cucurbitae* ทำการศึกษาระหว่างปี พ.ศ. 2555 - 2556 โดยติดตั้งกับดักแมลงวันทองแบบ Steiner ซึ่งภายในแขวนก้อนสำลีชุบสาร Cur-lure: malathion (ไดมาร์ค 86% EC) อัตรา 4:1 จากนั้นนำกับดักแขวนในแปลงปลูกที่ระดับความสูงประมาณ 1 เมตร จำนวน 8 กับดักต่อพื้นที่ 1 ไร่ โดยทำการติดตั้งกับดักในแหล่งปลูกพืชตระกูลแตง จำนวน 3 แห่ง คือ แปลงที่ 1 แปลงปลูกแตงกวา ที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา ดำเนินการติดตั้งกับดักระหว่างเดือนกรกฎาคม 2555 ถึงเดือนสิงหาคม 2555 แปลงที่ 2 แปลงปลูกบวบหอม ที่อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ดำเนินการติดตั้งกับดักระหว่างเดือนสิงหาคม 2555 ถึง เดือนพฤศจิกายน 2555 และแปลงที่ 3 แปลงปลูกมะระ ที่อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรีดำเนินการติดตั้งกับดักระหว่างเดือนธันวาคม 2555 ถึงเดือนมกราคม 2556 จากการตรวจจำแนกชนิดและนับจำนวนแมลงวันทองในกับดักทุกสัปดาห์ แปลงที่ 1 แปลงปลูกแตงกวา ที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา พบแมลงวันทอง 4 ชนิด คือ *B. cucurbitae, B. tau*, *B. cilifer* และ *B. isolats* จากการตรวจนับแมลงวันทองในกับดักทุกสัปดาห์ พบว่าแมลงวันทองชนิด *B. cucurbitae* มีปริมาณเฉลี่ยต่อกับดักมากที่สุด เท่ากับ 6.91 ตัว/กับดัก/วัน ในช่วงที่พืชเริ่มติดผลอ่อน (ภาพที่ 1)

ส่วนแปลงที่ 2 แปลงปลูกบวบหอม ที่อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม พบแมลงวันทอง 4 ชนิด คือ *B. cucurbitae, B. tau*, *B. cilifer* และ *B. isolats* จากการตรวจนับแมลงวันทองในกับดักทุกสัปดาห์ พบว่าแมลงวันทองชนิด *B. cucurbitae* มีปริมาณเฉลี่ยต่อกับดักมากที่สุด เท่ากับ 0.35 ตัว/กับดัก/วัน ในช่วงที่บวบหอมเริ่มทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตส่งตลาดได้ (ภาพที่ 2)

แปลงที่ 3 แปลงปลูกมะระ ที่อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี พบแมลงวันทอง 2 ชนิด คือ *B. cucurbitae,* และ *B. isolats* จากการตรวจนับแมลงวันทองในกับดักทุกสัปดาห์ พบว่าแมลงวันทองชนิด *B. cucurbitae* มีปริมาณเฉลี่ยต่อกับดักมากที่สุด เท่ากับ 9.25 ตัว/กับดัก/วัน ในช่วงที่มะระเริ่มทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตส่งตลาดได้ (ภาพที่ 3)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสำรวจและเก็บรวบรวมผลแตงร้าน แตงกวา มะระหวาน ฟักทอง บวบหอม ที่ถูกแมลงวันทองเข้าทำลายในแหล่งปลูกจังหวัดกาญจนบุรี นครราชสีมา และสุพรรณบุรี พบแมลงวันทอง 2 ชนิด ลงทำลาย คือ *B. cucurbitae* และ *B. tau*

การศึกษาวงจรชีวิตในห้องปฏิบัติการโดยมีอุณหภูมิเฉลี่ย 23.10$\pm$1.27 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพันธ์เฉลี่ย 91.07$\pm$0.25 เปอร์เซ็นต์ พบว่าตัวเต็มวัยเพศเมียจะเริ่มจับคู่ผสมพันธุ์เมื่ออายุ 14 วัน โดยวางไข่เป็นฟองเดี่ยวๆ หรือกลุ่มๆ ละ 2-3 ฟอง ตัวเมีย 1 ตัว สามารถวางไข่ได้ 376-453 ฟอง มีเปอร์เซ็นต์การฟัก 78% ระยะไข่ 3-4 วัน หนอนมี 3 ระยะ ระยะหนอน 8-9 วัน ระยะดักแด้ 9-10 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมียอายุ 79-120 วัน และตัวเต็มวัยเพศผู้มีอายุ 86-132 วัน

การศึกษาช่วงฤดูการระบาดของแมลงวันทองชนิด *B. cucurbitae* ในแปลงปลูกแตงกวา บวบหอม และมะระ โดยติดตั้งกับดักแมลงวันทองแบบ Steiner ซึ่งภายในแขวนก้อนสำลีชุบสาร Cur-lure พบว่าแมลงวันทองชนิด 4 ชนิด คือ *B. cucurbitae, B. tau*, *B. cilifer* และ *B. isolats*

เอกสารอ้างอิง

กองกีฏและสัตววิทยา. 2544. แมลงวันทองในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 244 หน้า.

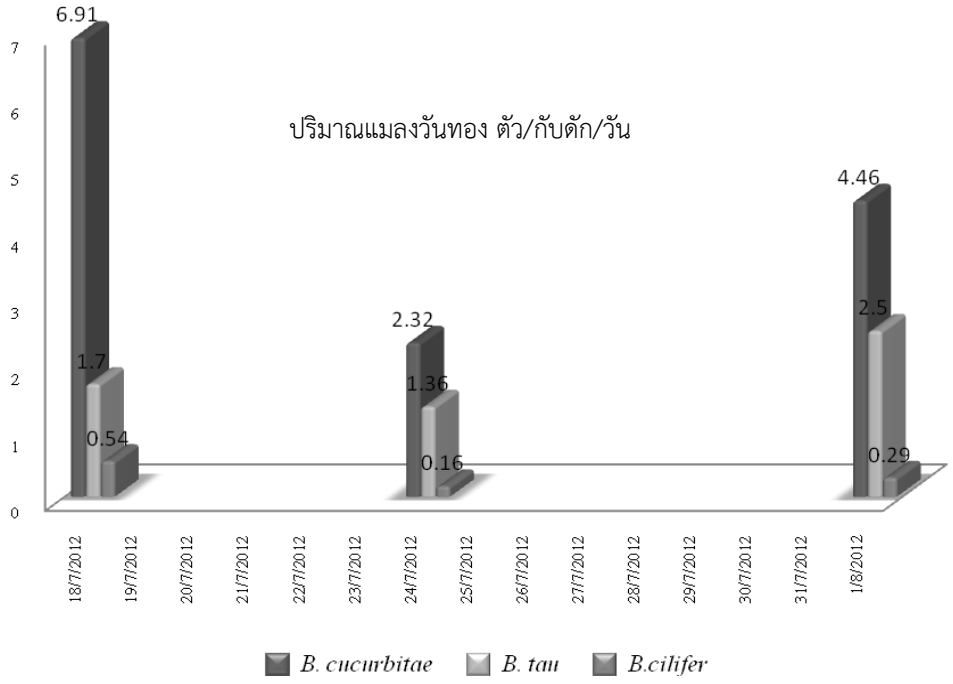
แสน ติกวัฒนานนท์. 2529. พืชอาหารของแมลงวันทองชนิดต่างๆในประเทศไทย. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า ปีที่ 4 ฉบับที่ 1 มกราคม – เมษายน 2529. หน้า 1-15

Southwood, T.R.E. 1966. Ecological Methods with Particular Reference to the Study of Insect Population. London. 361 pp.

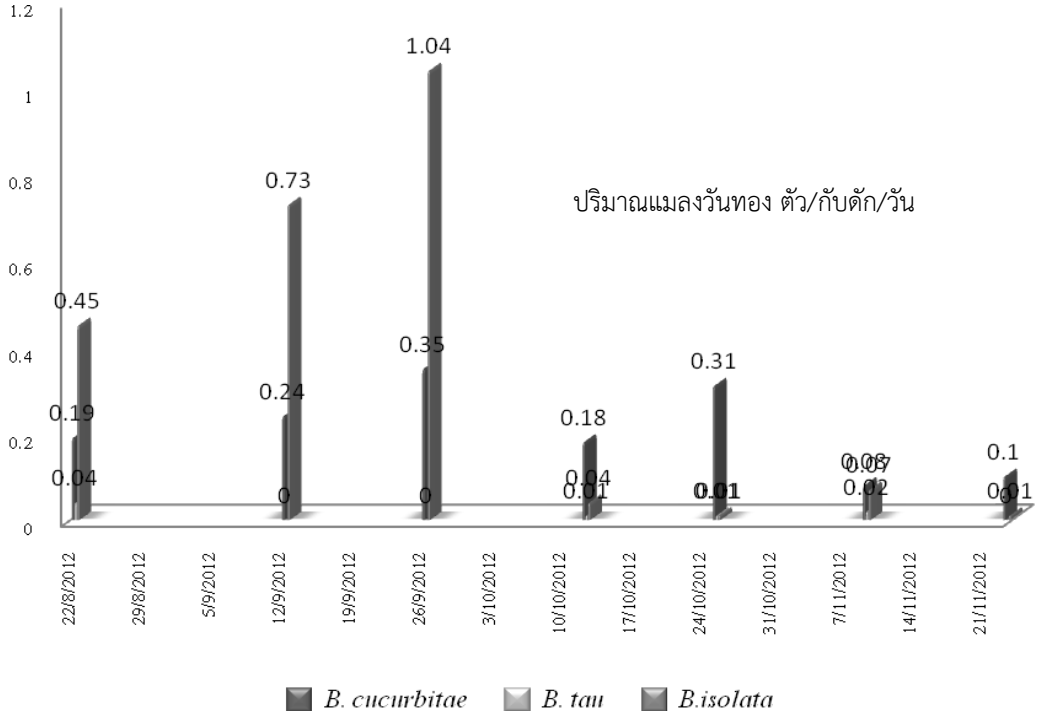
ภาคผนวก

Table 1. Number and species of fruit fly on Cucurbitae

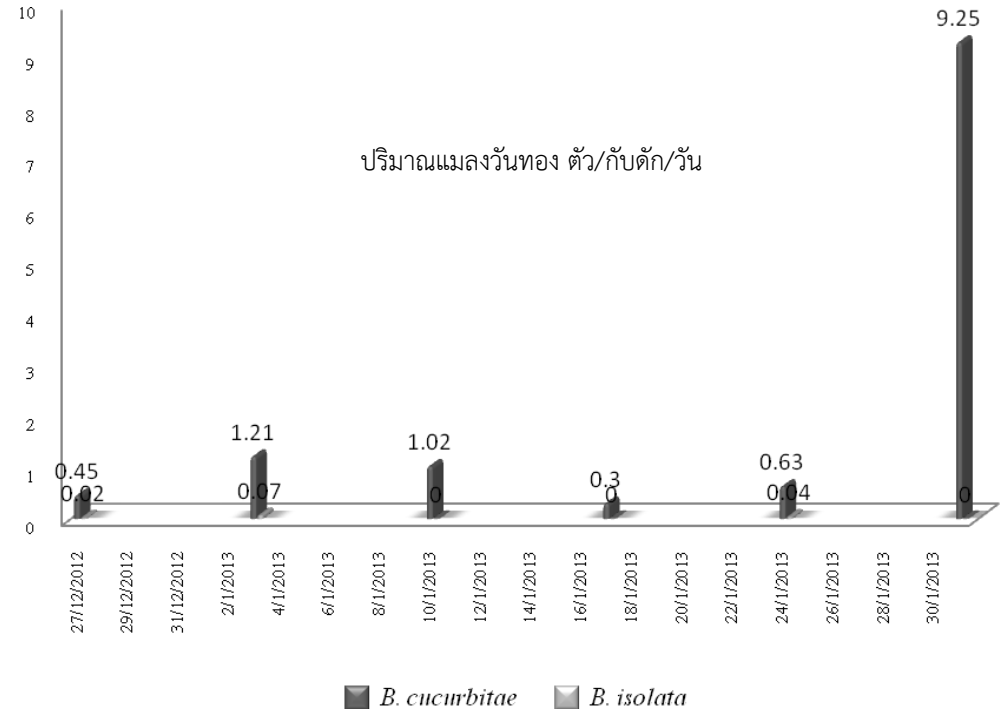
Location	Plants	No. of fruits	No. of pupae	Emergence (%)	Adult (%)	
					B. cucurbitae	*B. tau*
Nakhon Ratchasima	แตงร้าน, *Cucumis sativus*	15	314	97.45	100	0
Kanchnaburi	แตงกวา, cucumber *Cucumis sativus*	42	696	51.15	34.83	65.17
	ฟักทอง, pumpkin *Cucurbita moschata*	32	23,420	87.54	0	100
	มะระหวาน,	44	99	68.31	0	100
	บวบหอม,sponge gourd: *Luffa aegypiaca*	11	44	90.91	95.24	4.76
Suphan Buri	มะระจีน, balsam pear; *Momordica charantia*	26	44	93.18	100	0



ภาพที่ 1 จำนวนตัวเต็มวัยเพศผู้ของแมลงวันทองชนิด *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett)) และ *Bactrocera tau* (Walker) ที่ติดกับดักต่อวันในแปลงแตงกวา อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา



ภาพที่ 2 จำนวนตัวเต็มวัยเพศผู้ของแมลงวันทองชนิด *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett)) และ *Bactrocera tau* (Walker) ที่ติดกับดักต่อวันในแปลงบวบ อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม



ภาพที่ 3 จำนวนตัวเต็มวัยเพศผู้ของแมลงวันทองชนิด *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett)) และ *Bactrocera isolata* ที่ติดกับดักต่อวันในแปลงมะระ อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี

ความชุกชุมและแหล่งอาศัยของนกแสก (*Tyto alba javanica* (Gmelin, 1788) ในพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

Abundance and habitat use of barn owl (*Tyto alba javanica* (Gmelin, 1788) in the central, northern and north-eastern Thailand

เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ ปิยาณี หนูกาฬ ทรงทัพ แก้วตา
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ประชากรนกแสกในพื้นที่ที่ทำการสำรวจส่วนใหญ่มีประชากรน้อย บางพื้นที่ไม่พบนกแสกและแหล่งสร้างรังแต่บางพื้นที่มีความชุกชุมสูง เช่น อำเภอเมืองและอำเภอบางปลาม้า จังหวัดสุพรรณบุรี อำเภอหล่มเก่า จังหวัดเพชรบูรณ์ ความชุกชุมของนกแสกดังกล่าวมีความเกี่ยวข้องกับสภาพการใช้ประโยชน์ที่ดินและเกี่ยวข้องกับความชุกชุมของสัตว์ที่เป็นอาหารของนกแสก สถานที่หลบพักนอนและแหล่งสร้างรัง ชนิดของสถานที่ทำรังส่วนใหญ่เป็นโพรงใต้หลังคาโบสถ์ โพรงไม้ตามต้นไม้ขนาดใหญ่ หลืบหินและถ้ำเล็กๆบนภูเขา ชนิดสัตว์ที่นกแสกล่าเป็นอาหารมีความแตกต่างกัน ขึ้นกับสภาพการใช้ประโยชน์ที่ดินและพืชที่เพาะปลูก สัตว์ที่นกแสกล่าเป็นอาหารส่วนใหญ่เป็นหนูศัตรูพืชในนาข้าว พืชไร่ และในชุมชน เช่น หนูท้องขาว หนูหริ่ง หนูนาเล็กและหนูนาใหญ่ มีบางพื้นที่ที่พบนกแสกล่าค้างคาวกินแมลง หนูผีนาและกบเขียดเป็นอาหาร ซึ่งเป็นพื้นที่ที่เป็นป่าไม้ สวนป่า พื้นที่ปลูกพืชไร่ ซึ่งมีความชุกชุมของหนูน้อยกว่าสัตว์กลุ่มอื่นๆ

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-16-54

คำนำ

ในบรรดาสัตว์ผู้ล่าที่กินหนูเป็นอาหาร นกกลางคืนโดยเพาะนกแสก เป็นศัตรูธรรมชาติที่มีศักยภาพสูงที่สุดในการควบคุมประชากรหนู เนื่องจากเป็นนกที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อเหยื่อสูง มีการปรับตัวเพื่อออกล่าเหยื่อในเวลากลางคืน ซึ่งสอดคล้องกับพฤติกรรมการหากินของหนู ตลอดจนปรับตัวให้สามารถอยู่อาศัยหรือหาอาหารในสภาพพื้นที่เกษตรกรรม พื้นที่ชุมชน ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีกิจกรรมของมนุษย์ได้ดี และยังถูกมนุษย์ล่าเป็นอาหารน้อยกว่าสัตว์ผู้ล่ากลุ่มอื่นๆ (Lenton,1980) นกแสกในประเทศไทยถูกจัดอยู่ในสถานภาพใกล้ถูกคุกคาม (Near Threatened species) ตามบัญชีรายชื่อใน Thailand Red Data สาเหตุการคุกคามเนื่องจากการฆ่าเพราะความเชื่อที่ผิดๆ (Sanguansombat, 2005) สำหรับประชากรนกแสกชนิดย่อยที่อยู่ทางภาคใต้ (*Tyto alba stertens* Hartert, 1929)นั้น ได้มีการฟื้นฟูประชากรกลับคืนมาจนมีจำนวนประชากรจำนวนมาก และได้มีการนำปล่อยคืนสู่ธรรมชาติหลายแห่งแล้ว แต่นกแสกชนิดย่อยที่มีเขตการแพร่กระจายในเขตภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ (*Tyto alba javanica* Gmelin, 1788) ในปัจจุบันได้ลดจำนวนลงอย่างมาก จากการคุกคามต่อนกแสกโดยตรง การทำลายแหล่งสร้างรังและการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ล่าเหยื่อ ดังนั้นจึงควรที่จะมีการฟื้นฟูประชากรนกแสกชนิดย่อยนี้ให้กลับมา เพื่อที่จะนำไปสู่การอนุรักษ์และใช้ประโยชน์นกแสกในการควบคุมประชากรหนูศัตรูพืช ลดการใช้สารเคมีกำจัดหนู และควบคุมการระบาดของหนูศัตรูพืชอย่างยั่งยืน จึงมีความจำเป็นที่จะต้องทราบถึงประชากร แหล่งสร้างรัง และถิ่นที่อยู่อาศัยในปัจจุบันของนกแสกกลุ่มนี้ให้แน่ชัด รวมทั้งเพื่อเตรียมหาแหล่งพันธุกรรมที่จะนำมาเป็นกลุ่มประชากรตั้งต้นในการขยายพันธุ์ เพื่อให้มีประชากรมากพอที่จะควบคุมประชากรหนูให้อยู่ในสภาวะสมดุลทางนิเวศต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องกำหนดตำแหน่งทางภูมิศาสตร์ (GPS)
2. กล้องส่องทางไกลแบบสองตา (Binocular)
3. กล้องส่องทางไกลแบบตาเดียว (Scope)
4. กล้องถ่ายรูป
5. แผนที่ภูมิประเทศ ภาพถ่ายทางอากาศ

วิธีการ

1. ดำเนินการสำรวจตามพื้นที่ๆตรวจสอบจากเอกสารรายงานการพบเห็น หรือจากการสอบถาม โดยเน้นในบริเวณวัด ป่าชุมชน หมู่ไม้และอาคารที่ถูกปล่อยทิ้งร้าง ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคกลาง สำรวจนับจำนวนประชากรนกแสกที่พบในแต่ละแหล่งอาศัย รวมทั้งทำการสำรวจนับโดยการใช้เสียงล่อในเวลากลางคืนในพื้นที่เกษตรกรรม ตามวิธีการของปริญญา (2551) ทำพิกัดจุดที่สำรวจพบด้วยเครื่อง GPS เพื่อจัดทำแผนที่การกระจาย

2. เก็บตัวอย่างก้อนสำรอกที่นกแสกคายทิ้งจากแต่ละแหล่ง นำมาตรวจวิเคราะห์ชนิดและสัดส่วนสัตว์ที่ถูกนกแสกแต่ละแหล่งล่าเป็นอาหารในห้องปฏิบัติการ

3. บันทึกภาพถ่ายสถานที่ที่พบนกแสกและแหล่งอาศัยของนกแสก บันทึกข้อมูลทางภูมิศาสตร์และข้อมูลการใช้ประโยชน์ที่ดินโดยรอบบริเวณสถานที่เก็บตัวอย่างก้อนสำรอกที่นกแสกคายทิ้ง บันทึกชนิดและจำนวนของสัตว์ที่พบซากในก้อนสำรอกของนกแสก

เวลาและสถานที่

เก็บรวบรวมข้อมูลระหว่างเดือนตุลาคม 2553-กันยายน 2556 ในพื้นที่ชุมชน พื้นที่เกษตรกรรม และป่าไม้ข้างเคียงชุมชน ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 12 จังหวัด ได้แก่ กาฬสินธุ์ ขอนแก่น มหาสารคาม ร้อยเอ็ด สุรินทร์ บุรีรัมย์ ศรีสะเกษ นครราชสีมา หนองคาย หนองบัวลำภู ยโสธร อุดรธานี ในภาคกลาง 18 จังหวัดได้แก่ ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี กาญจนบุรี ราชบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี อยุธยา สิงห์บุรี ชัยนาท นครสวรรค์ กำแพงเพชร พิจิตร พิษณุโลก เพชรบูรณ์ ลพบุรี สระบุรี นครนายก และปราจีนบุรี ในภาคเหนือ 4 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดน่าน แพร่ อุตรดิตถ์ และเชียงราย รวมทั้งหมด 34 จังหวัด

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจพบนกแสกและแหล่งสร้างรังวางไข่ในแต่ละพื้นที่ของทั้ง 3 ภาคแตกต่างกัน ส่วนใหญ่พบในพื้นที่เกษตรกรรมที่เป็นนาข้าวที่อยู่ใกล้เคียงชุมชน มีที่เป็นพื้นที่ปลูกพืชไร่ ผสมสวนและป่าไม้บ้าง แต่ก็ไม่ไกลจากที่ตั้งชุมชน มีที่พบในป่าไม้และสวนป่าไม้เพียงส่วนน้อย ชนิดสัตว์ที่นกแสกแต่ละแหล่งอาศัยล่ามาเป็นอาหารมีความคล้ายคลึงกันในตามประเภทแหล่งอาศัย ตัวอย่าง เช่น แหล่งอาศัยที่เป็นนาข้าว สัตว์ที่ถูกล่าเป็นอาหารส่วนใหญ่ คือ หนูหริ่ง และหนูในสกุลท้องขาว มีบางแห่งพบหนูพุกใหญ่ถูกล่าเป็นอาหารด้วย มีสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกและนกถูกล่ามาเป็นอาหารปะปนอยู่เล็กน้อย ในพื้นที่อาศัยที่เป็นชุมชนเมือง ป่าไม้และสวนป่า พบนกแสกล่าหนูผีนาและค้างคาวกินแมลงขนาดเล็กเป็นอาหารหลัก ซึ่งได้สรุปอำเภอที่สำรวจพบแหล่งสร้างรังวางไข่ และแหล่งเกาะพักนอน รวมทั้งชนิดสัตว์ที่นกแสกล่าเป็นอาหารที่วิเคราะห์และจำแนกจากก้อนสำรอกไว้ในตารางที่ 1

จากผลการสำรวจจะเห็นได้ว่าประชากรนกแสกในแต่ละพื้นที่มีความชุกชุมแตกต่างกัน ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับสภาพการใช้ประโยชน์ที่ดิน แหล่งพักอาศัย แหล่งสร้างรังวางไข่ และความชุกชุมของสัตว์ที่นกสามารถล่าเป็นอาหาร ชนิดโพรงรังส่วนใหญ่เป็นโพรงใต้หลังคาโบสถ์ในวัด รองลงมาคือโพรงไม้ในวัด ในไร่นาและในป่า มีที่ใช้หลืบหินและถ้ำเล็กๆบนภูเขาบ้างไม่มาก ชนิดสัตว์ที่นกแสกล่าเป็นอาหารก็มีความผันแปรแตกต่างกันตามสภาพการใช้ประโยชน์ที่ดิน ส่วนใหญ่เป็นหนูศัตรูพืชในนาข้าว พืชไร่ และในชุมชน มีบางพื้นที่ที่พบนกแสกล่าค้างคาวกินแมลง หนูผีนาและกบเขียดเป็นอาหาร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยวิทยานิพนธ์ของ Niyomsaeng (1982) ที่เก็บตัวอย่างสำรอกของนกแสกในจังหวัดอ่างทองพบว่านกแสกกินหนูเป็นอาหารร้อยละ 95 ได้แก่ หนูนาเล็ก หนูนาใหญ่ หนูพุกเล็ก หนูพุกใหญ่และหนูหริ่ง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ประชากรนกแสกในพื้นที่ที่ทำการสำรวจมีความชุกชุมแตกต่างกัน ส่วนใหญ่มีประชากรค่อนข้างน้อยบางพื้นที่ไม่พบนกแสกและแหล่งสร้างรังของนกแสก แต่บางพื้นที่มีความชุกชุมของประชากรนกแสกสูง เช่น อำเภอเมือง อำเภอบางปลาม้า จังหวัดสุพรรณบุรี อำเภอหล่มเก่า จังหวัดเพชรบูรณ์ เป็นต้น ซึ่งความชุกชุมของนกแสกดังกล่าวมีความเกี่ยวข้องกับสภาพการใช้ประโยชน์ที่ดินซึ่งเกี่ยวข้องกับความชุกชุมของสัตว์ที่เป็นเหยื่อของนกแสก รวมทั้งสถานที่หลบพักนอนและแหล่งสร้างรังวางไข่

ชนิดของโพรงรังส่วนใหญ่เป็นโพรงใต้หลังคาโบสถ์ในวัด โพรงไม้ตามต้นไม้ขนาดใหญ่ หลืบหินและถ้ำเล็กๆบนภูเขา ส่วนชนิดสัตว์ที่นกแสกล่าเป็นอาหารมีความแตกต่างกัน ขึ้นกับสภาพการใช้ประโยชน์ที่ดินและพืชที่เพาะปลูก สัตว์ที่เป็นอาหารส่วนใหญ่เป็นหนูศัตรูพืชในนาข้าว พืชไร่ และในชุมชน เช่น หนูท้องขาว หนูหริ่ง หนูนาเล็ก หนูนาใหญ่ มีบางพื้นที่ที่พบนกแสกล่าค้างคาวกินแมลง หนูผีนาและกบเขียดเป็นอาหาร ซึ่งเป็นพื้นที่ที่เป็นป่าไม้ สวนป่า พื้นที่ปลูกพืชไร่ ซึ่งมีความชุกชุมของหนูน้อยกว่าสัตว์กลุ่มอื่นๆ

เอกสารอ้างอิง

Lenton, G.M. 1980. The ecology of barn owls (*Tyto alba*) in the Malay Peninsula with Reference to their use in biological control. PhD thesis, University of Kuala Lumper.

Niyomsaeng, S. 1982. Food habits of barn owl (*Tyto alba* (Scopoli)). Master Thesis. Kasetsart University, Bangkok (*in Thai*).

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 พื้นที่สำรวจ ลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดิน จำนวนนกแสก จำนวนรังและชนิดสัตว์ที่นกแสกล่าเป็นอาหาร

จังหวัด	อำเภอที่สำรวจ	ลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดินในพื้นที่ที่ทำการสำรวจ	จำนวนตัว/รัง	สัตว์ที่เป็นอาหารของนกแสก
		ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ		
กาฬสินธ์	ฆ้องชัย	นาข้าวและชุมชน	1/1	หนูนาใหญ่
	ชื่นชม	นาข้าวและชุมชน	2/1	หนูหริ่ง,หนูท้องขาว
	กมลาไสย	นาข้าวและชุมชน	1/0	หนูหริ่ง,หนูท้องขาว
ขอนแก่น	กระนวน	นาข้าว ไร่อ้อย ป่าเต็งรัง ชุมชน	6/3	หนูหริ่ง,หนูท้องขาว
	น้ำพอง	หย่อมป่า นาข้าว แหล่งน้ำ ไร่อ้อย	1/0	หนูหริ่ง,หนูท้องขาว
อุดรธานี	หนองวัวซอ	นาข้าว พืชไร่ ชุมชน แหล่งน้ำ	3/0	-
มหาสารคาม	เมือง	นาข้าวและชุมชนริมแม่น้ำ	1/2	หนูนาใหญ่
ร้อยเอ็ด	ธวัชบุรี	นาข้าว ชุมชน ป่าไม้ในวัดป่าและริมแม่น้ำ	0/2	หนูนาใหญ่
	โพนทอง	พื้นที่ปลูกพืชไร่ นาข้าวและป่าเต็งรัง	3/2	หนูท้องขาว
	กิ่งอ.ทุ่งเขาหลวง	นาข้าว ชุมชน ป่าไม้ริมแม่น้ำและในวัด	2/2	หนูท้องขาว
หนองบัวลำภู	โนนสัง	นาข้าว ป่าไม้บนภูเขา	1/0	-
บุรีรัมย์	สตึก	นาข้าวริมแม่น้ำ สวนป่าและชุมชน	2/0	-
สุรินทร์	ท่าตูม	นาข้าวและชุมชน	1/3	หนูหริ่งหนูท้องขาว
	รัตนบุรี	นาข้าวและชุมชน	1/2	หนูท้องขาว
หนองคาย	สังคม	นาข้าว พืชไร่ ป่าไม้ สวน	2/1	หนูหริ่ง หนูท้องขาว
ยโสธร	เลิงนกทา	นาข้าว ไร่อ้อย ป่าชุมชน ป่าละเมาะ	5/0	หนูหริ่ง หนูท้องขาว ค้างคาว
ศรีสะเกษ	เมือง	ชุมชนเมือง พื้นที่ปลูกพืชไร่และนาข้าว	2/2	ค้างคาว
นครราชสีมา	ปักธงชัย	นาข้าว ป่าละเมาะ พืชไร่	1/0	หนูหริ่ง หนูท้องขาว

ตารางที่ 1(ต่อ) พื้นที่สำรวจ ลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดิน จำนวนนกแสก จำนวนรังและชนิดสัตว์ที่นกแสกล่าเป็นอาหาร

จังหวัด	อำเภอที่สำรวจ	ลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดินในพื้นที่ที่ทำการสำรวจ	จำนวนตัว/รัง	สัตว์ที่เป็นอาหารของนกแสก
		ภาคกลาง		
ราชบุรี	เมือง	ชุมชนเมือง	1/0	ค้างคาว
	ปากท่อ	พื้นที่ปลูกพืชไร่ สวน และป่าไม้บนภูเขา	1/0	หนูผีนา ค้างคาว
เพชรบุรี	เขาย้อย	นาข้าว ป่าไม้บนภูเขาและชุมชน	3/1	หนูหริ่ง
เพชรบูรณ์	หล่มเก่า	นาข้าวและชุมชน	8/5	หนูหริ่งหนูท้องขาว
ประจวบคีรี-ขันธ์	ทับสะแก	สวนมะพร้าว ปาล์มน้ำมัน	1/0	หนูท้องขาว
	กุยบุรี	ป่าละเมาะและที่รกร้าง	2/0	หนูท้องขาว
สุพรรณบุรี	เมือง	ชุมชนและนาข้าว	10/3	หนูนาเล็ก,หนูหริ่ง
	อู่ทอง	ไร่อ้อย นาข้าว ป่าไม้ และชุมชน	0/0	-
	บางปลาม้า	นาข้าวและชุมชน	5/3	หนูนาเล็ก’หนูหริ่ง ค้างคาว
	สามชุก	นาข้าวและชุมชน	2/2	หนูหริ่ง,หนูนาเล็ก
	เดิมบางนางบวช	นาข้าวและชุมชน	3/2	หนูนาเล็ก
อยุธยา	บางปะอิน	นาข้าว ชุมชน โรงงานอุตสาหกรรม	3/1	หนูนาใหญ่
	มหาราช	นาข้าว ชุมชน		หนูนาใหญ่
สมุทรปราการ	บางพลี	นาข้าว ทุ่งหญ้า ที่รกร้าง	5/0	หนูนาใหญ่ หนูพุกใหญ่ นกเอี้ยง
นครนายก	เมือง	นาข้าว	2/0	-
นครสวรรค์	บรรพตพิสัย	นาข้าว ชุมชน	1/2	หนูนาใหญ่ หนูหริ่ง
ปราจีนบุรี	บ้านสร้าง	นาข้าว	2/0	-
ลพบุรี	บ้านหมี่	นาข้าว	1/0	-
กาญจนบุรี	ห้วยกระเจา	สวนป่ายูคาลิปตัสและป่าละเมาะบนภูเขา	2/1	หนูหริ่ง หนูผีนา ค้างคาว
ปทุมธานี	ลำลูกกา	ชุมชน นาข้าว	4/2	หนูท้องขาว ค้างคาว
นครปฐม	กำแพงแสน	ไร่อ้อย นาข้าว ชุมชน	6/2	หนูท้องขาว ,ค้างคาว หนูหริ่ง

ตารางที่ 1(ต่อ) พื้นที่สำรวจ ลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดิน จำนวนนกแสก จำนวนรังและชนิดสัตว์ที่นกแสกล่าเป็นอาหาร

จังหวัด	อำเภอที่สำรวจ	ลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดินในพื้นที่ที่ทำการสำรวจ	จำนวนตัว/รัง	สัตว์ที่เป็นอาหารของนกแสก
		ภาคเหนือ		
เชียงราย	พาน	หย่อมป่าในวัด นาข้าว ชุมชน	4/2	หนูท้องขาว,หนูหริ่ง
	เทิง	หย่อมป่าในวัด นาข้าว ชุมชน	2/1	หนูท้องขาว,หนูหริ่ง
แพร่	สูงเม่น	นาข้าวและชุมชน	2/2	หนูท้องขาว
น่าน	เมือง	ชุมชนเมือง หมู่บ้านสวนผลไม้ ป่าไม้ ป่าละเมาะและสวนป่า	2/0	หนูท้องขาว หนูหริ่ง
	ภูเพียง	พืชไร่ สวนผลไม้ สวนป่า และป่าไม้	1/3	หนูหริ่ง
	ท่าวังผา	ข้าวไร่ นาข้าว พืชไร่ ป่าไม้และชุมชน	2/2	หนูท้องขาว กบ เขียด
	บ่อเกลือ	พื้นที่ปลูกพืชไร่นาข้าวและชุมชน	1/2	หนูท้องขาว
	สองแคว	พื้นที่ปลูกพืชไร่ และป่าไม้	1/0	-
อุตรดิตถ์	เมือง	นาข้าว ป่าละเมาะ	2/0	-
เชียงราย	พาน	หย่อมป่าในวัด นาข้าว ชุมชน	4/2	หนูท้องขาว,หนูหริ่ง
	เทิง	หย่อมป่าในวัด นาข้าว ชุมชน	2/1	หนูท้องขาว,หนูหริ่ง
แพร่	สูงเม่น	นาข้าวและชุมชน	2/2	หนูท้องขาว

ศึกษาชีววิทยาหอยดักดาน (*Cryptozona siamensis* ,Pfeiffer)

Biological studies of Land snail *Cryptozona siamensis* (Pfeiffer)

สมเกียรติ กล้าแข็ง ดาราพร รินทะรักษ์ ปราสาททอง พรหมเกิด
ปิยาณี หนูกาฬ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

หอยดักดาน หรือบางครั้งเรียกว่า หอยทากสยาม (*Cryptozona siamensis* , Pfeiffer) เป็นศัตรูพืชที่สำคัญเพราะกินและทำลายพืชผักได้เกือบทุกชนิด และมีเขตการแพร่กระจายทั่วประเทศไทย ไม่ว่าจะเป็นพื้นที่เกษตรกรรม ตามป่าเขา หรือแม้กระทั่งตามเกาะต่าง ๆ จากการศึกษาเกี่ยวกับชีววิทยาในห้องปฏิบัติการ พบว่า หอยทากดักดานซึ่งมีสองเพศในตัวเดียวกันนั้น มีการผสมพันธุ์ข้ามโดยถ่าย sperm ให้แก่กันและกัน การผสมพันธุ์ของหอยทากดักดานใช้เวลาโดยเฉลี่ย 45 - $1^{1/2}$ ชั่วโมง และจะวางไข่เป็นกลุ่ม เฉลี่ย 57 ฟอง/กลุ่ม (N = 60) โดยหอยจะทำโพรงเล็กๆ ลึกลงไปใต้ผิวดินประมาณ 3-5 เซนติเมตร ลักษณะของไข่เป็นสีขาวขุ่น นิ่ม รูปทรงกลม หัวท้ายมุ่ม ขนาดเฉลี่ย 3.1 x 3.5 มิลลิเมตร และหนักเฉลี่ย 0.028 กรัม เมื่อได้รับความชื้น ลักษณะของไข่จะเป็นทรงกลมรี ใช้เวลาในการฟักประมาณ 7-18 วัน ลูกหอยหนักเฉลี่ย 0.0187 กรัม มีขนาดเฉลี่ย 3.7982 มิลลิเมตร โดยมีอัตราการฟักเป็นตัว 60.72 % อุณหภูมิ 27±3 องศาเซลเซียส

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-22-55

คำนำ

หอยทากบก เป็นสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลัง และมีบทบาทที่สำคัญอย่างยิ่งในระบบนิเวศ เนื่องจากเป็นสัตว์ที่มีกระบวนการที่สำคัญที่ทำให้สภาพของดินในป่าอุดมสมบูรณ์ กำจัดซากพืชซากสัตว์ ตลอดจนเศษซากอื่นๆ ในระบบนิเวศให้เป็นแร่ธาตุที่สำคัญต่อพืช จัดเป็นหอยฝาเดียวที่มีเปลือกห่อหุ้ม ลำตัวอ่อนนุ่ม มีเมือก อาศัยอยู่ในบริเวณที่มีความชื้นสูงจึงออกหากินเวลากลางคืน ในเวลากลางวันจะหลบ ซ่อนตัวใต้กองวัสดุ ขอนไม้หรือฝังตัวใต้ผิวดิน ในประเทศไทย เริ่มมีรายงานหอยทากบกมาตั้งแต่ทศวรรษที่ 19 โดย Martens (1860) ได้รายงานว่าในประเทศไทย มีหอยทากบกกลุ่มที่ไม่มีฝาปิด หรือหอยทบกกลุ่มพัลโมเนท (pulmonate snail) จำนวน 17 ชนิด (species) จากการศึกษาของ Panha (1996) พบว่าปัจจุบันประเทศไทยมีหอยทากบกกลุ่มที่ไม่มีฝาปิด มากถึง 15 วงศ์ (family) 50 สกุล (genus) และมีจำนวนมากกว่า 136 ชนิด มีทั้งชนิดที่อยู่ตามพื้นและชนิดที่อยู่บนต้นไม้ ทักษิณและคณะ (2532) ได้สำรวจชนิดหอยทากและทากในพืชชนิดต่างๆ พบหอยทาก 11 ชนิดที่เป็นศัตรูพืช ชมพูนุทและคณะ (2542) พบว่าหอยทาก ชนิดที่เป็นศัตรูพืชในประเทศไทย มีอยู่ 6 ชนิด ได้แก่หอยทากยักษ์อาฟริกา (*Achatina fulica*) หอยดักดาน *(Cryptozona siamensis)* หอยทากสาริกา (*Sarika* sp.) นอกจากนั้นยังมีหอยทากขนาดเล็ก ได้แก่หอยเจดีย์ *(Lamellaxis gracilis*) หอยอำพัน, (*Succinea* sp.) และหอยเลขหนึ่ง *(Ovachlamys fulgens)*

ประเทศไทยจัดได้ว่าเป็นประเทศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง และเป็นประเทศเกษตรกรรมที่มีการปลูกพืชหลายชนิด เพื่อบริโภคภายในประเทศและเพื่อส่งออกทำรายได้ให้แก่ประเทศ เช่น พืชไร่ ไม้ผล ไม้ดอกไม้ประดับ ตลอดจนผักต่าง ๆ เป็นต้น และเนื่องจากประเทศไทย มีลักษณะทางภูมิประเทศและภูมิอากาศที่หลากหลาย อุดมสมบูรณ์ แต่การศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิตในหลายๆ ชนิด โดยเฉพาะสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังนั้นยังมีน้อย โดยเฉพาะหอยทากบก (land snail) พบว่าข้อมูลทั้งด้านชนิด ชีววิทยา อนุกรมวิธาน และนิเวศวิทยาของหอยทากในประเทศไทยยังมีน้อย รวมถึงการศึกษาถึงความหลากชนิด ข้อมูลชีววิทยา ขอบเขตการแพร่กระจาย และข้อมูลในด้านทำลายพืชยังมีน้อยมากเช่นกัน ทั้งที่สัตว์กลุ่มนี้เป็นสัตว์อาศัยอยู่ร่วมกับมนุษย์มายาวนาน และยังสามารถพบเห็นได้ทั่วไป ทั้งตามแหล่งเกษตรกรรม สถานที่ท่องเที่ยวตามธรรมชาติ ป่าไม้ หรือแม้กระทั่งตามบ้านเรือน หอยทากดักดาน *Cryptozona siamensis* (Pfeiffer) เป็นศัตรูพืชสำคัญชนิดหนึ่งที่พบระบาดทำความเสียหายแก่เกษตรกรอย่างรุนแรง โดยเฉพาะในพื้นที่ที่มีความชื้นสูง เช่น แปลงไม้ดอกไม้ประดับ พืชผักต่างๆ และสวนกล้วยไม้ เป็นต้น โดยจะกัดทำลายต้นพืช ทั้งราก ลำต้น ใบ และดอก ทำให้เสียหาย หรือผลผลิตลดลง

ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษา เพื่อให้รู้ถึงข้อมูลพื้นฐานด้านชีววิทยาต่างๆ ของหอยทากดักดาน เช่น ข้อมูลทางด้านชีววิทยา นิเวศวิทยา เพื่อประโยชน์ในการเป็นแหล่งสืบค้นข้อมูลและเป็นแนวทางในการนำไปใช้วางแผนการจัดการหอยทากศัตรูพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หอยทากดักดาน *Cryptozona siamensis* (Pfeiffer)
2. กล่องพลาสติกขนาด 15 x 22 x 7.5 เซนติเมตรและขนาด 6.5 x 9.5 x 2 เซนติเมตร
3. ตู้กระจกขนาด 25 x 40 x 26 เซนติเมตร สำลี ขุยมะพร้าว ดิน สเปรย์ฉีดน้ำ ถุงมือแพทย์ คีมคีบ พู่กัน กระดาษทิชชู
4. เครื่องชั่งน้ำหนัก เวอร์เนีย ไม้บรรทัด ไฟฉายและแบตเตอรี่ กล้องถ่ายรูป เครื่องวัดพิกัดตำแหน่งภูมิประเทศ (GPS)
5. อาหารเลี้ยงหอยทากดักดาน เช่น อาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ด แตงกวา ผักกาดขาว ผักกาดหอม เป็นต้น

วิธีการ

1. สำรวจและรวบรวม พร้อมเก็บตัวอย่างหอยทากดักดานที่พบในพื้นที่เพาะปลูกในสวนผัก สวนผลไม้ของเกษตรกร ตลอดจนแหล่งที่พบการแพร่ระบาด แล้วนำมาเพาะเลี้ยงในตู้กระจกขนาด 25 x 40 x 26 เซนติเมตร รองพื้นตู้กระจก ด้วยดินผสมขุยมะพร้าว อัตรา 1 : 1 ให้สูงจากพื้นตู้กระจกประมาณ 5 เซนติเมตร ในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร และให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำทุกวัน ให้ผักต่างๆ และอาหารปลาอัดเม็ดเป็นอาหาร
2. ศึกษาการผสมพันธุ์ของหอย โดยเลือกหอยตัวเต็มวัย มาแยกเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 15 x 22 x 7.5 เซนติเมตร 2 ตัว/ กล่อง จำนวน 20 กล่อง เมื่อหอยผสมพันธุ์กันแล้ว แยกหอยใส่กล่อง ๆ ละ หนึ่งตัว เพื่อสังเกตการออกไข่
3. ศึกษาการวางไข่ และจำนวนไข่จากตัวแม่ 30 ตัว นำไข่ที่ได้มาเลี้ยงในกล่องพลาสติก ที่มีขนาดกล่อง 6.5 x 9.5 x 2 เซนติเมตร บันทึกขนาดไข่ จำนวนไข่หอยในแต่ละกลุ่ม และลักษณะของไข่ พร้อมถ่ายภาพ
4. ศึกษาระยะเวลาการฟักจากไข่ของหอยดักดาน โดยแยกไข่หอยแต่ละกลุ่มมาเลี้ยงในกล่องพลาสติก ขนาด 6.5 x 9.5 x 2 เซนติเมตร ที่รองด้วยดินผสมขุยมะพร้าว อัตรา 1 : 1 สูง 1.5 เซนติเมตร ฉีดพ่นน้ำ เพื่อให้ความชื้น บันทึกระยะเวลาที่ลูกหอยฟักออกจากไข่ วัดขนาดลูกหอยและถ่ายภาพ
5. ศึกษาการเจริญเติบโต โดยแยกลูกหอยมาเลี้ยงในกล่องพลาสติกและให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำทุกวัน ให้อาหารปลาอัดเม็ดและผักต่าง ๆ เป็นอาหาร

เวลาและสถานที่

- ระยะเวลาดำเนินการวิจัย เริ่มต้น ตุลาคม 2555 สิ้นสุด กันยายน 2556
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชและแปลงเกษตรกรรมของเกษตรกรทั่วทุกภาคของประเทศไทย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างหอยทากดักดาน หรือบางครั้งเรียกว่า หอยทากสยาม (*Cryptozona siamensis* , Pfeiffer) ในพื้นที่เกษตรกรรมของเกษตรกรนั้น พบกระจายได้ทั่วไป

ของพื้นที่ประเทศไทย ในหลากหลายภูมิประเทศ ไม่ว่าจะเป็นพื้นที่เกษตรกรรม สวนผลไม้ เรือน เพาะชำกล้าไม้ ตามป่าเขาตามหมู่เกาะต่างๆ หรือแม้กระทั่งตามสวนหย่อมและสวนผักใกล้บ้านเรือน ที่อยู่อาศัย โดยจัดเป็นหอยฝาเดียวที่อาศัยอยู่บนบกที่หายใจด้วยปอด มักออกหากินในเวลากลางคืน พบซุกซ่อนอยู่ตามกองเศษวัสดุ ใต้กองเศษใบไม้หรือตามต้นไม้ต่างๆ ซึ่งรูปร่างลักษณะของหอยนั้น เป็นท่อม้วนขดแบน (Tubular coiled flat) เป็นหอยที่ไม่มีฝาปิด แต่จะผลิตแผ่นเมือก ที่เรียกว่า epiphragm มาปิดปากเปลือก เมื่อหอยอยู่ในสภาพอากาศที่แห้งแล้ง เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำ โดยเปลือกหอยจะมีลักษณะบิดเวียนขวาหรือตามเข็มนาฬิกา (dextral) ส่วนหัวและเท้าจะยื่นออก จากเปลือก ส่วนของเปลือกจะทำหน้าที่ป้องกันความชื้นและอันตรายให้กับอวัยวะภายใน หอย เคลื่อนที่ไปข้างหน้าด้วยการหดตัวของกล้ามเนื้อตามความยาวจากส้นเท้ามาด้านหน้า ความเร็วในการ เคลื่อนที่จะขึ้นกับการหดตัวของกล้ามเนื้อและความสูงของคลื่น (Miller, 1974)

<u>การผสมพันธุ์</u> หอยทากดักดาน เป็นหอยที่มีเพศ 2 เพศ ในตัวเดียวกัน (hermaphrodite) ไม่ สามารถที่จะผสมตัวเองได้ จำเป็นต้องอาศัย sperm จากอีกตัวหนึ่ง โดยเมื่อโตเต็มวัยจะจับคู่ผสม พันธุ์กันถ่าย sperm (copulation) ให้แก่กันและกันนั้น โดยจะยื่นอวัยวะเพศที่อยู่ส่วนหัวด้านขวา ถ่ายอสุจิและสอดอวัยวะสืบพันธุ์เข้าช่องสืบพันธุ์ของอีกตัว ที่ทำหน้าที่เป็นเพศเมีย อสุจิจะถูกเก็บไว้ ในถุงเก็บอสุจิของเพศเมีย เมื่อไข่ตกจากรังไข่จะมาเก็บสะสมอยู่ที่มดลูก แล้วจะมีการขับอสุจิมาผสม กับไข่ก่อนที่จะวางไข่ หอยเริ่มจับคู่และผสมพันธุ์กันนั้น ใช้เวลาประมาณ 45 - $1^{1/}_{2}$ ชั่วโมง การ จับคู่ผสมพันธุ์กันนั้นอาจจะเป็นช่วงกลางวันหรือกลางคืนก็ได้ ขึ้นอยู่กับสภาพความชื้นและอากาศ ในธรรมชาตินั้น หอยทากดักดานจะเริ่มผสมพันธุ์ในช่วงฤดูฝนหรือในช่วงที่มีความชื้นสูง หรือหลังฝน ตก (ภาพที่ 1)

<u>การวางไข่</u> เมื่อหอยทากดักดานมีการจับคู่และผสมพันธุ์กันแล้วนั้น หอยจะเริ่มวางไข่ โดย ตัวแม่จะทำโพรงเล็กๆ และวางลึกลงไปใต้ผิวดินประมาณ 3-5 เซนติเมตร หรือวางใต้เศษวัสดุต่างๆ เช่น ใบไม้ โดยที่หอยทากดักดานจะวางไข่เป็นกลุ่ม เฉลี่ย 57 ฟอง (N = 60) ปริมาณของไข่หอยนั้น จะมากหรือน้อยจะขึ้นอยู่กับขนาดของตัวแม่ที่วางไข่ ถ้าขนาดใหญ่ ปริมาณไข่ก็จะมากกว่าตัวแม่ที่มี ขนาดเล็ก ไข่หอยมีลักษณะ นิ่ม ขาวขุ่น รูปทรงกลม หัวท้ายบุ๋ม ขนาดเฉลี่ย 3.1 x 3.5 มิลลิเมตร หนักเฉลี่ย 0.028 กรัม เมื่อไข่ได้รับความชื้น ลักษณะของไข่จะเป็นรูปทรงกลมรี เมื่อใกล้ฟักเป็นตัว ไข่จะเริ่มเป็นสีขุ่นเข้มขึ้นและมีลักษณะบุ๋มรูปทรงเป็นเหลี่ยม ซึ่งสอดคล้องกับ Tompa (1984) ที่ได้ รายงานว่า การเปลี่ยนแปลงของไข่ที่เกิดขึ้นดังกล่าวนั้น ไข่มีการพัฒนาและมีการดึงแคลเซียมจาก สภาพแวดล้อมมาเป็นองค์ประกอบของไข่ และใช้เวลาในการฟักเป็นตัว 7-18 วัน โดยมีอัตราการฟัก เป็นตัว 60.72 % อุณหภูมิ เฉลี่ย 27±3 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 2)

<u>การเจริญเติบโต</u> ลักษณะของลูกหอยเมื่อฟักออกมาแล้วจะมีลักษณะที่เหมือนกับตัวแม่ เพียงแต่มีขนาดที่เล็กกว่า การเจริญเติบโตของลูกหอยนั้น จะไม่มีระยะ metamorphosis และการ ลอกคราบ ลูกหอยมีการเจริญเติบโตและต้องการแคลเซียมจากอาหารเพื่อการสร้างเปลือก และถ้า เปลือกแตกก็จะสามารถสร้างขึ้นมาใหม่ได้ การเพิ่มขนาดนั้น หอยจะสร้างสารเพิ่มเข้าไปที่ริมขอบ ของเปลือก ทำให้วง (whorl) ขยายขนาดและเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม พบว่าถ้าหากเลี้ยงหอยโดยที่ หอยมีการขาดแคลเซียม จะทำให้เปลือกบางและไม่แข็งแรงและมีโอกาสตายสูง เมื่อลูกหอยที่ฟัก ออกมาใหม่นั้น จะมีน้ำหนักเฉลี่ย 0.0187 กรัม และมีขนาดเฉลี่ย 3.7982 มิลลิเมตร และสามารถ กินพืชผักต่างๆ ได้ เช่น ผักกาดหอม ผักกาดขาว รวมทั้งอาหารเม็ดที่ใช้เลี้ยงปลาได้ จากการเลี้ยง ในห้องปฏิบัติการ พบว่า ในระยะเวลา 1 เดือน ลูกหอยสามารถเจริญเติบโต เฉลี่ย 6.9833

มิลลิเมตร (N = 50) หนักเฉลี่ย 0.1230 กรัม (N = 50) และภายในระยะเวลา 4 เดือน ลูกหอยสามารถเจริญเติบโต เฉลี่ย 20.2733 มิลลิเมตร (N =30) หนักเฉลี่ย 2.3949 กรัม (ภาพที่ 3)

การกินอาหาร หอยทากดักดาน สามารถกินพืชได้เกือบทุกชนิด ที่มีลักษณะที่อ่อนนุ่ม และสามารถกินได้ทั้งกลางวันและกลางคืน ขึ้นอยู่กับสภาพของอากาศที่มีความชื้นที่เพียงพอหรือไม่ แต่โดยส่วนมากหอยมักจะออกหาอาหารตอนกลางคืน เนื่องจากมีสภาพของอากาศที่เย็น ไม่ร้อน ส่วนในตอนกลางวันนั้น หอยยังสามารถที่จะออกหาอาหารกินได้เช่นกัน ถ้าหากสภาพอากาศในขณะนั้นมีความชื้นหรือมีฝนตก ซึ่งเวลาที่หอยกินอาหารนั้น หอยจะยื่นส่วนที่เรียกว่า แผ่นลิ้นหรือแผ่นฟัน (radula) ซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นที่ประกอบด้วยแผ่นฟันที่เป็นสารไคตินออกไปขูดตัดอาหารแล้วส่งไปยังหลอดอาหาร (Baker, 2001 ; Cook, 1895) จากการเลี้ยงหอยในห้องปฏิบัติการ ในหนึ่งคืนหอยหนึ่งตัวสามารถที่จะกินผักกาดขาว เฉลี่ย 0.2821 กรัม ผักกาดหอม 0.1156 กรัม และผักคะน้า 0.1362 กรัม (ภาพที่ 4)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาชีววิทยาหอยดักดาน (*Cryptozona siamensis* , Pfeiffer) ในห้องปฏิบัติการ พบว่า หอยดักดานมีสองเพศในตัวเดียวกัน ไม่สามารถที่จะผสมพันธุ์ตัวเองได้ จำเป็นต้องอาศัยอีกตัวหนึ่ง เพื่อผสมพันธุ์และถ่าย sperm จากอีกตัวหนึ่ง (copulation) การผสมพันธุ์นั้นจะใช้เวลานานเฉลี่ย 45 - $1^{1/2}$ ชั่วโมง หลังจากนั้นจะวางไข่ในโพรงดิน ลึกประมาณ 3-5 เซนติเมตร โดยจะวางไข่เป็นกลุ่ม เฉลี่ย 57 ฟอง ไข่หอยมีลักษณะนิ่ม ขาวขุ่น รูปทรงกลมหัวท้ายบุ๋ม โดยไข่มีความกว้างเฉลี่ย 3.1 มิลลิเมตร ความยาวเฉลี่ย 3.5 มิลลิเมตร มีน้ำหนักเฉลี่ย 0.028 กรัม เมื่อไข่ได้รับความชื้นจากสภาพอากาศข้างนอก ไข่จะมีลักษณะเป็นรูปทรงกลมรี ใช้ระยะเวลาในการฟักออกเป็นตัว 7-18 วัน โดยมีอัตราการฟัก 60.72 % ที่อุณหภูมิเฉลี่ย 27±3 องศาเซลเซียส ลูกหอยเมื่อฟักออกมาแล้วจะมีลักษณะที่เหมือนกับตัวแม่ จะมีน้ำหนักเฉลี่ย 0.0187 กรัม และมีขนาดเฉลี่ย 3.7982 มิลลิเมตร และสามารถกินพืชผักต่างๆ ได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางทัศวรรณ พุ่มกาหลง นายปรีชา มีนาค ที่ช่วยเลี้ยงและบันทึกข้อมูลบางประการของหอยดักดานในห้องปฏิบัติการ รวมทั้งพนักงานและเจ้าหน้าที่ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จึงขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

ชมพูนุท จรรยาเพศ ปราสาททอง พรหมเกิด ธีระเดช เจริญรักษ์ เสริมศักดิ์ หงส์นาค และปิยาณี หนูกาฬ. 2542. ชีววิทยา การแพร่กระจายและการป้องกันกำจัดหอยทากและทากไม้ผลส่งออก *ใน* รายงานผลการค้นคว้าวิจัยประจำปี 2542. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

ดาราพร รินทะรักษ์ ชมพูนุท จรรยาเพศ และปิยาณี หนูกาศ. 2548. ชีววิทยาหอยเลขหนึ่ง . *ใน* รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2550 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เล่ม 3. หน้า 1500 - 1505

ทักษิณ อาชวาคม ชมพูนุท จรรยาเพศ ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐและ เกษม ทองทวี. 2532. สำรวจชนิดหอยทากศัตรูพืช. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 101-114.

Baker,G.M. (2001). The biology of terrestrial mollusks. Cromwell Pres, UK, 1-513.

Cook, A.H. (1895). Mollusca. In Harmer, S.F. and Shipley, A.E. (Editors). The Cambrigde Natural History, 1-459.

Martens, E.V. 1860. Die Preussische Expedition nach Ost - Asian. Zool. Theil. pp. 66-68.

Miller , S. L. 1974 . Adaptive design of locomotion and foot form in prosobranch gastropods. J. EXP. Marine Bio. And Eco. 14: 99 – 156

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

ภาคผนวก

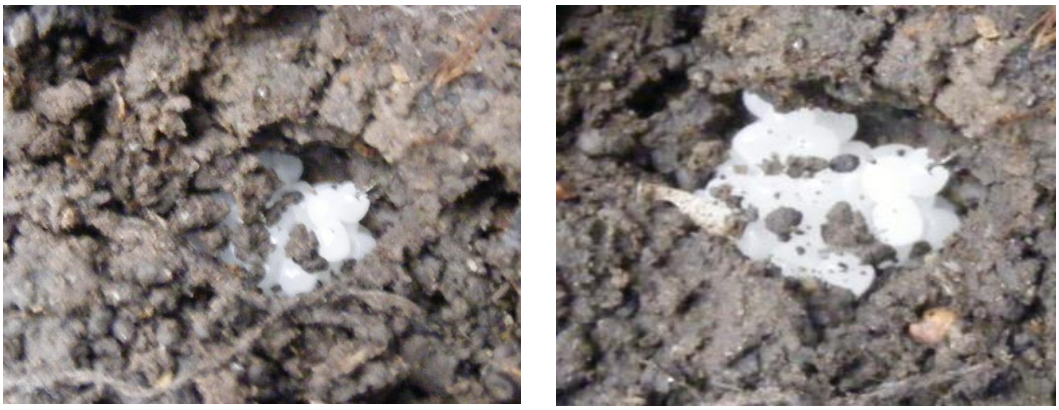
ก

ข

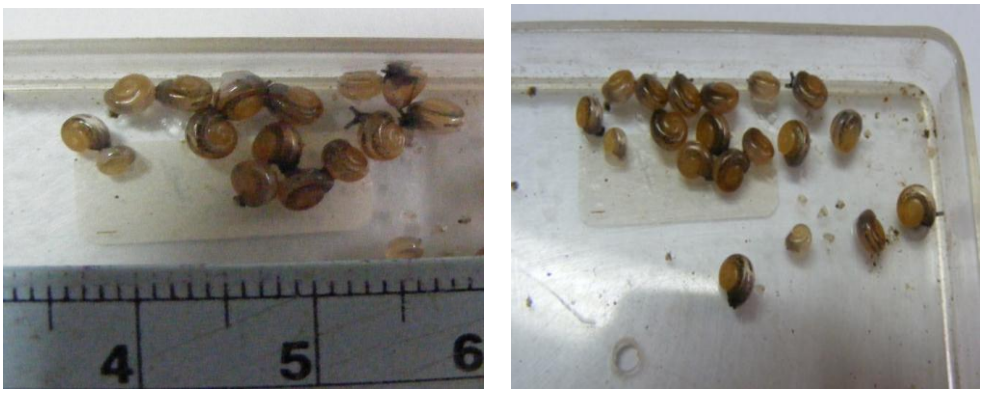
ภาพที่ 1 แสดงการจับคู่ผสมพันธุ์ของหอยทากดักดาน (*Cryptozona siamensis* , Pfeiffer)

ก : เริ่มจับคู่ผสมพันธุ์

ข : จับคู่ผสมพันธุ์ แลกเปลี่ยน sperm ใช้เวลาประมาณ 45 - $1^{1/}_{2}$ ชั่วโมง



ภาพที่ 2 ลักษณะการวางไข่ของหอยทากดักดาน (*Cryptozona siamensis* , Pfeiffer) จะวางลึกลงในดินเป็นกลุ่มไข่สีขาว เฉลี่ย 57 ฟอง/กลุ่ม



ภาพที่ 3 ลักษณะและขนาดของลูกหอยทากดักดาน (*Cryptozona siamensis* ,Pfeiffer) ที่ฟักออกจากไข่ 1 วัน

ภาพที่ 4 ลักษณะการกัดกินทำลายพืชของหอยทากดักดาน (*Cryptozona siamensis* , Pfeiffer)

จับคู่ผสมพันธุ์ใช้เวลา 45 - $1^{1/}_{2}$ ชั่วโมง

ตัวเต็มวัย

วางไข่เฉลี่ย 57 ฟอง/กลุ่ม

ฟักเป็นตัว 7 – 18 วัน (ลูกหอยอายุ 1 วัน)

ภาพที่ 5 วงจรชีวิตของหอยทากดักดาน (*Cryptozona siamensis* , Pfeiffer)

การแพร่กระจายและความหลากหลายทางชีวภาพของหนูนาใหญ่, *Rattus argentiventer* (Robinson and Kloss, 1916) ในประเทศไทย

Distribution and Biodiversity of Ricefield Rat, *Rattus argentiventer* (Robinson and Kloss, 1916) in Thailand

สมเกียรติ กล้าแข็ง วิชาญ วรรธนะไกวัล เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์
ปราสาททอง พรหมเกิด ทรงทัพ แก้วตา
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษา การแพร่กระจายและความหลากหลายทางชีวภาพของหนูนาใหญ่ *Rattus argentiventer* (Robinson and Kloss, 1916) ในประเทศไทย ได้ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างหนูนาใหญ่ ในพื้นที่ทำนาของเกษตรกรภาคใต้ในปี 2556 จากการเก็บตัวอย่างหนูนาใหญ่ที่ศึกษาเป็นตัวเต็มวัย (N = 118, เพศผู้ 65 ตัว เพศเมีย 53 ตัว) พบว่า ลักษณะสีขนบริเวณส่วนท้องสีขาวนวลสีขาวเงิน และขนท้องขาวนวลมีแถบเส้นน้ำตาลถึงสีดำพาดกลางอก 10 , 39 และ 51 % ตามลำดับ ส่วนหนูเพศเมียมีนมที่หน้าอก 3 คู่ และที่หน้าท้อง 3 คู่ เหมือนกัน มีน้ำหนัก (Wt.) เฉลี่ย 226.32 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย 202.84 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 187.89 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 37.56 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 22.08 มิลลิเมตร และจากการศึกษาลักษณะสัณฐานของกะโหลกและกระดูกรยางค์ ทั้ง 24 ลักษณะ มีค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ดังนี้ BR 8.20 LR 14.06 ONL 43.54 IB 5.78 BBC 17.31 ZB 20.43 BIF 2.73 BM1 2.11 LD 12.24 LIF 8.16 LBP 9.09 PPL 15.22 LB 7.77 BMF 3.49 BBP 4.29 CLM1-3 7.48 HBC 12.82 BZP 5.36 LM 23.94 HM 13.72 LLM 6.84 HL 25.96 FL 35.79 TL 38.35 มิลลิเมตร ตามลำดับ การศึกษาครั้งนี้ยังไม่เสร็จ ยังต้องดำเนินการศึกษาและวิเคราะห์ทางสถิติเปรียบเทียบหนูแต่ลาภูมิภาค รวมทั้งศึกษาและเก็บตัวอย่างหนูนาใหญ่ในภาคต่างๆ ในปีถัดไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-23-55

คำนำ

หนู เป็นสัตว์ที่มีวิวัฒนาการมาช้านาน ตั้งแต่ยุคไมโอซีนตอนปลาย มีถิ่นกำเนิดในประเทศจีนตอนใต้ และแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดย Lekagul and Jeffrey (1977) รายงานว่า หนูจัดอยู่ใน Phylum Chordata , Subphylum Vertebrata , Class Mammalia , Order Rodentia , Family Muridae (Rats and Mice) โดยกินพืชเป็นอาหารหลัก เช่น ข้าว ข้าวโพด ไม้ผล ปาล์มน้ำมัน มะพร้าว และธัญพืชต่าง ๆ เป็นต้น ทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตต่างๆ มากมาย และเป็นสัตว์ที่พบมากทั้งจำนวนและชนิด คือประมาณ 65 % ของสัตว์ฟันแทะทั้งหมด

หนูนาใหญ่ Ricefield Rat; *Rattus argentiventer* (Robinson and Kloss, 1916) จัดเป็นหนูศัตรูพืชที่สำคัญในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ข้าว อ้อย ข้าวโพด ถั่วเหลือง ถั่วลิสง โกโก้ ปาล์มน้ำมัน เป็นต้น นอกจากเป็นศัตรูพืชแล้ว หนูนาใหญ่ ยังเป็นที่นิยมบริโภคเป็นอาหารของเกษตรกรทั่วทั้งเอเชียอาคเนย์ และมีเขตการแพร่กระจายตั้งแต่ เวียดนาม กัมพูชา ไทย ลาว มาเลเซีย หมู่เกาะสุมาตรา อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ตลอดจนถึงนิวกินี (Suyanto *et al*, 1998) ในประเทศไทยมีรายงานว่า หนูนาใหญ่ พบเฉพาะในแหล่งปลูกพืชในภาคกลางและภาคใต้ และส่วนใหญ่พบในนาข้าว ได้แก่ สุพรรณบุรี นครปฐม ลพบุรี สิงห์บุรี อ่างทอง อยุธยา ปทุมธานี ชุมพร นครศรีธรรมราช ปัตตานี ฯลฯ (Lekagul and Jeffrey, 1977) แต่จากรายงานข่าวหนูที่เข้าทำลายข้าวและธัญพืชอื่นๆ ที่ปลูกตั้งแต่ปี พ.ศ. 2552 เป็นต้นมา โดยเฉพาะภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในพื้นที่ที่มีการทำเกษตรกรรมและมีการทำนาปรัง ในจังหวัดแถบลุ่มน้ำชี เช่นจังหวัดร้อยเอ็ด มหาสารคาม กาฬสินธุ์ (วัชรินทร์, 2553) พบว่า ส่วนใหญ่เป็นหนูนาใหญ่ แต่ลักษณะภายนอกและขนาดของตัวหนูนั้น มีความแตกต่างกัน จึงอาจเป็นไปได้ว่าในแต่ละสภาพแวดล้อม อาจทำให้ลักษณะภายนอกของหนูนาใหญ่เกิดการเปลี่ยนแปลงได้ โดยหนูนาใหญ่เป็นหนูขนาดกลาง มีความยาวหางสั้นกว่าความยาวหัวรวมกับลำตัว สีขนลำตัวด้านบนมีน้ำตาลเหลืองปนดำ มีขนแข็งสีขาวแทรก ด้านท้องสีขาวเงินและบางตัวมีสีเทาจนถึงสีน้ำตาลเป็นแถบเล็ก ๆ สั้น ๆ จากใต้คอลงมาจนถึงท้อง การขยายพันธุ์ค่อนข้างรวดเร็วและมีจำนวนลูกต่อครอกมากกว่าหนูนาชนิดอื่น ๆ ประมาณ 8-13 ตัว/ครอก (เสริมศักดิ์, 2543) และประเทศไทย จัดได้ว่าเป็นประเทศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง และเป็นประเทศเกษตรกรรมที่มีการปลูกพืชหลายชนิด เพื่อบริโภคภายในประเทศและเพื่อส่งออกทำรายได้ให้แก่ประเทศ เช่น ข้าว พืชไร่ ไม้ผล ไม้ดอกไม้ประดับ ตลอดจนผักต่าง ๆ เป็นต้น เนื่องจากมีลักษณะทางภูมิประเทศและภูมิอากาศที่หลากหลาย อุดมสมบูรณ์ แต่การศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิตหลาย ๆ ชนิด โดยเฉพาะหนูนาใหญ่ยังมีน้อย พบว่าข้อมูลทั้งด้านชนิดย่อยอนุกรมวิธาน ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของหนูนาใหญ่ในประเทศไทย รวมถึงการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพทางด้านอนุกรมวิธาน ขอบเขตการแพร่กระจายยังมีไม่เพียงพอเช่นกัน ทั้งที่หนูชนิดนี้อาศัยอยู่ร่วมกับมนุษย์มายาวนาน และยังทำลายพืชผลเกษตรกรรมทุกครั้ง ดังนั้น จึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษา เพื่อให้รู้ถึงข้อมูลพื้นฐานด้านนิเวศวิทยา เช่น การแพร่กระจาย

พฤติกรรมการดำรงชีวิต ตลอดจนความหลากหลายทางชีวภาพทางด้านอนุกรมวิธานของหนูนาใหญ่ เพื่อประโยชน์ในการเป็นแหล่งสืบค้นข้อมูลด้านนิเวศวิทยา และอนุกรมวิธานต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หนูนาใหญ่ Ricefield Rat; *Rattus argentiventer* (Robinson and Kloss, 1916)
2. กรงดักหนู กรงเลี้ยงหนูสเตนเลส ขนาด 40 x 26 x 15 เซนติเมตร
3. ขี้เลื่อยสำหรับรองพื้นกรงเลี้ยงหนู สำลี ถังหรือขวดดองตัวอย่างหนู ลวดดักหนู เข็มเย็บผ้าและด้ายเย็บผ้า
4. ขวดพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างกะโหลกหนู ถุงพลาสติกขนาดต่าง ๆ
5. เครื่องชั่งน้ำหนัก เครื่องมือผ่าตัด เวอร์เนีย ไม้บรรทัด ไฟฉายและแบตเตอรี่ ถุงมือแพทย์ ผ้าปิดจมูก กระดาษทิชชู่ ถุงผ้าดิบสำหรับจับหนู ขนาด 20 x 30 เซนติเมตร หม้อสเตนเลสสำหรับต้มกะโหลกหนู
6. สารเคมี เช่น บอแร็กซ์ ไดเอธิลอีเทอร์ โซเดียมไฮดร็อกไซด์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และแอลกอฮอล์ 70 %
7. เครื่องวัดพิกัดตำแหน่งภูมิประเทศ (GPS) และแผนที่จังหวัดที่ทำการสำรวจเก็บตัวอย่าง
8. อาหารเลี้ยงหนู เช่น อาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ด แตงกวา มันแกว และเหยื่อดักหนู เช่น ปลาช่อนสด ขี้ไต้ ข้าวโพดหวานสด เป็นต้น

วิธีการ

1. การดักหนู โดยใช้กรงดักชนิดจับเป็น บ่วงลวดดักหนูและตัวอย่างหนูนาใหญ่ที่เกษตรกรช็อตด้วยไฟฟ้า จำนวนไม่น้อยกว่า 50 ตัว ที่สำรวจเป็นตัวแทนหนูนาใหญ่ของแต่ละภาค โดยใน ปี 2556 สำรวจและเก็บตัวอย่างภาคใต้ ในจังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช สงขลา พัทลุง กระบี่ ตรัง เป็นต้น

2. ศึกษาพฤติกรรมบางประการของหนูนาใหญ่ในสภาพธรรมชาติ

2.1 ขนาดขุยดินของรูหนูนาใหญ่ ทำการสุ่มวัดขนาดของขุยดิน โดยสุ่มวัดขนาดกว้าง x ยาว จำนวน 30 ก้อน ต่อ 1 รู มีหน่วยวัดเป็นมิลลิเมตร

2.2 ทำการบันทึกการหากิน เวลาออกหาอาหาร ลักษณะการกัดกินและการทำลายของต้นพืช เป็นต้น

3. ศึกษาลักษณะภายนอกของหนูนาใหญ่ (external characters) ดังนี้

3.1 เตรียมสัตว์ทดลอง

สำรวจและดักจับหนูนาใหญ่ ด้วยกรงดักชนิดจับเป็น (Life trap) และบ่วงลวดดักหนู จากแปลงนาเกษตรกร ในแต่ละภาค นำมาเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร แล้วคัดเลือกหนูนาใหญ่ที่โตเต็มวัย ภาคละไม่น้อยกว่า 50 ตัว และที่จากเกษตรกรทำการช็อตด้วยไฟฟ้า บันทึกลักษณะของสีขน นำมาชั่งน้ำหนัก วัดขนาด ความยาวหัวลำตัว (Head Body Length : HB) โดยวัดตั้งแต่ปลายสุดของ

หัว คือ ตั้งแต่ปลายจมูกถึงช่องอวัยวะขับถ่าย ความยาวหาง (Tail Length : T) วัดตั้งแต่ช่องเปิดของอวัยวะขับถ่ายจนถึงปลายสุดของหาง ความยาวตีนหลัง (Hind Foot Length : HF) วัดตั้งแต่ปลายสุดของตีนหลังจนถึงเนื้อปลายของนิ้วที่ยาวที่สุดไม่รวมเล็บ ความยาวหู (Ear Length : E) วัดตั้งแต่ขอบหูล่างถึงปลายสุดของหู หน่วยการวัดเป็นมิลลิเมตร เป็นต้น (รูปที่ 1)

3.2 การเก็บโครงร่างสัตว์ทดลอง (Specimen)

นำหนูนาใหญ่ตัวเต็มวัย มาทำให้สลบด้วยไดเอธิลอีเทอร์ และบันทึกลักษณะภายนอก เช่น น้ำหนัก ลักษณะสีขน วัดขนาดความยาวหัวลำตัว (Head Body Length : HB) ความยาวหาง (Tail Length : T) ความยาวตีนหลัง (Hind Foot Length : HF) ความยาวหู (Ear Length : E) ทำการผ่าตัดเก็บส่วนโครงร่างของหนูนาใหญ่ ทั้งส่วนที่เป็นหนัง (strave) และกระดูก (skeleton)

3.2.1 การเก็บส่วนที่เป็นหนัง โดยลอกส่วนของหนังออกจากลำตัวให้มี ขน หาง และหู ติดอยู่อย่างสมบูรณ์ ใช้บอแรกซ์ทาผนังด้านในของหนังจนทั่ว จึงนำสำลีมาปั้นเป็นหุ่นใส่ข้างในหนังหนูที่ลอกออก เพื่อตรึงและคงสภาพของตัวหนู และเย็บให้สนิท ติดรหัสที่ตัวหนู แล้วนำไปอบในตู้อบความร้อน ที่อุณหภูมิ 70 ^{0}C นาน 2 – 3 วัน จนหนังแห้งจึงเก็บใส่กล่องเก็บตัวอย่างที่บรรจุแนบทาลีนป้องกันแมลงทำลาย

3.2.2 การเก็บชิ้นส่วนกระดูกหนูนาใหญ่ หลังจากลอกเอาหนังออกไปแล้ว นำส่วนลำตัวมาตัดเอากระดูกรยางค์ คือ กระดูกท่อนบนของขาหน้า (Humerus) กระดูกขาหลังท่อนบน (Femur)และท่อนล่าง (Tibia) ตัดส่วนของกระดูกกะโหลกมาชำแหละเอาเนื้อออก แล้วนำไปต้มด้วยโซเดียมไฮดร็อกไซด์ จนได้ชิ้นส่วนของกระดูกที่ขาวสะอาด และครบสมบูรณ์ ติดรหัสเดียวกับส่วนของหนังที่เป็นตัวเดียวกัน แล้วจึงนำไปอบจนแห้ง เพื่อนำไปศึกษาลักษณะสัณฐานของกะโหลกต่อไป

4. การวัดขนาดกระดูกรยางค์และกระดูกกะโหลก (รูปที่ 2, 3)

การวัดขนาดกระดูกทั้งความยาวและความกว้างของกระดูกรยางค์และกระดูกกะโหลก รวมทั้งสิ้น 24 ลักษณะ ด้วยเวอร์เนีย โดยมีหน่วยวัดเป็นมิลลิเมตร (millimeter) ตามวิธีการของ Musser *et. al* (2006) และ Lin L. *et. al* (1992) ดังนี้

4.1 วัดขนาดกระดูกระยางค์ (Appendage bone)

1. ความยาวกระดูกขาหน้าท่อนบน (Humerus length ; HL.)
2. ความยาวกระดูกขาหลังท่อนบน (Femur length ; FL.)
3. ความยาวกระดูกขาหลังท่อนล่าง (Tibia length ; TL.)

4.2 ศึกษาลักษณะสัณฐานของกะโหลก (Skull bone) 21 ลักษณะ

1. Breadth of Rostrum (BR)
2. Length of Rostrum (LR)
3. Occipitonasal Length (ONL)
4. Interorbital Breadth (IB)
5. Breadth of Brain Case (BBC)
6. Zygomatic Breadth (ZB)
7. Breadth of Incisive Foramina (BIF)
8. Breadth of First Upper Molar (BM1)
9. Length of Diastema (LD)
10. Length of Incisive Foramina (LIF).
11. Length of Bony Palate (LBP).
12. Postpalatal Length (PPL)
13. Length of Auditory Bulla (LB)

14. Breadth of Mesopterygoid Fossa (BMF)
15. Breadth of Bony Palate at First Molars (BBP)
16. Crown Length of Maxillary Molar Row (CLM1-3)
17. Height of Brain Case (HBC) 18. Breadth of Zygomatic (BZP)
19. Length of Mandible (LM). 20. Height of Mandible (HM)
21. Length of Lower Molar Series (LLM)

เวลาและสถานที่ เริ่ม ตุลาคม 2555 ถึง กันยายน 2556
ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร และแปลงนาเกษตรกรภาคใต้

การบันทึกข้อมูล

1. วัดพิกัดตำแหน่งและแหล่งที่ได้หนูนาใหญ่ด้วยเครื่อง GPS
2. ขนาดขุยดิน การหากิน เวลาการออกหาอาหาร ลักษณะการกัดกินและทำลายพืช
3. ลักษณะของขน และสีขน น้ำหนักตัว ความยาวหัว-ลำตัว หาง หู และตีนหลัง ความยาวและความกว้างของกระดูกระยางค์และกระดูกกะโหลก รวม 24 ลักษณะ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาการแพร่กระจายและความหลากหลายทางชีวภาพของหนูนาใหญ่ (*Rattus argentiventer* (Robinson and Kloss, 1916) ในประเทศไทย จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างหนูนาใหญ่พื้นที่ทำนาของเกษตรกรภาคใต้ ในจังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช สงขลา พัทลุง กระบี่ ตรัง ทำการบันทึกสภาพนิเวศ พิกัดทางภูมิศาสตร์ ศึกษาพฤติกรรมบางประการของหนูนาใหญ่ ลักษณะภายนอกของหนูที่โตเต็มวัย และศึกษาลักษณะสัณฐานกระดูกระยางค์และกะโหลก ส่วนหนูนาใหญ่ที่ยังไม่เป็นตัวเต็มวัย จะนำมาเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการเพื่อให้เจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย และนำมาศึกษาลักษณะสัณฐานกะโหลกและกระดูกระยางค์ต่อไป

จากตัวอย่างหนูนาใหญ่ที่ศึกษา (N= 118, เพศผู้ 65 ตัว เพศเมีย 53 ตัว) ทำการบันทึกลักษณะภายนอก พบว่า ตัวเต็มวัย ลักษณะสีขนลำตัวด้านบนมีน้ำตาลเหลืองปนดำ มีขนแข็งสีขาวแทรก จากตัวอย่างลักษณะของสีขนของหนูที่เจริญเป็นตัวเต็มวัย พบว่า สีของขนบริเวณท้องเป็นสีขาวนวล สีของขนบริเวณท้องสีขาวเงิน และสีของขนบริเวณท้องสีขาวนวลมีแถบเส้นสีน้ำตาลถึงสีดำพาดกลางอก 10, 39, 51 % ตามลำดับ มีน้ำหนัก (Wt.) เฉลี่ย 226.32 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย 202.84 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 187.89 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 37.56 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 22.08 มิลลิเมตร

<u>หนูนาใหญ่เพศผู้</u> (N= 65) มีน้ำหนัก (Wt.) เฉลี่ย 243.98 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย 207.82 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 190.70 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 38.40 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 22.51 มิลลิเมตร

<u>หนูนาใหญ่เพศเมีย</u> (N= 53) มีน้ำหนัก (Wt.) เฉลี่ย 204.25 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย 196.62 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 184.30 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 36.52 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 21.54 มิลลิเมตร

จากการศึกษาลักษณะสัณฐานของกระดูกรยางค์และกะโหลกของหนูนาใหญ่ ได้ผลดังตาราง การศึกษาครั้งนี้ยังไม่แล้วเสร็จ ยังต้องศึกษาพฤติกรรมบางประการ ตลอดจนการทำลายพืชและการแพร่กระจายในภูมิภาคอื่นๆ อีก ในปีถัดไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นายชาติศักดิ์ สังขวัฒน์และนายโยฆินทร์ โพธิ์ศรี ที่ช่วยเลี้ยงและดูแลหนูนาใหญ่ในห้องปฏิบัติการ รวมทั้งพนักงานและเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จึงขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

วัชรินทร์ เขจรวงศ์. 2553. การป้องกันกำจัดหนูในนาข้าวได้ผลเกือบร้อยเปอร์เซ็นต์โดยวิธีล้อมหนูตกถังที่ร้อยเอ็ด. [ออนไลน์]. แหล่งข้อมูล : http://76.nationchannel.com/playvideo.php?id=82404 (1 มีนาคม 2553)

เสริมศักดิ์ หงส์นาค. 2543 ประวัติการป้องกันกำจัดหนูในประเทศไทย.หน้า 1-35. *ใน* เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาเรื่องหนูศัตรูพืชและมนุษย์ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

Lekagul, B., and Jeffery A. M.. 1977. Mammal of Thailand. Printed at Kurusapha Ladprao Press by Nai kamthon Sathirakul, Bangkok. 758 p.

Lin. L. and Shiraishi S.. 1992. Skull Growth and Variation in the Formosan Wood Mouse, *Apodemus semotus J. fac. Agr., Kyushu Univ.,* 37(I), 51-69 p.

Musser G.G., and Lunde D. P., and Son N. T., 2006. Description of a New Genus and Species of Rodent (Murinae, Muridae, Rodentia) from the Tower Karst Region of Northeastern Vietnam. American Museum Novitates. 1-41 p.

Suyanto, A., Yoneda, M., Maryanto, I., Maharadatunkamsi, and Sugarjito, J. (1998). Chechlist of the Mammals of Indonesia. Scitific name and Distribution area table in Indonesia including CITES, IUCN and Indonesia category for conservation. LIPI-JICA 34 p.

ภาคผนวก

Table 1 : Cranial Measurements (In Millimeters) of The Holotype of Ricefield Rat; *Rattus argentiventer* (N = 118)

Characters	Max.	Min.	Mean	SD.
Weight (Wt.)	329.00	129.10	226.32	43.43
Head Body Length (HB)	235.00	170.00	202.84	12.16
Tail Length (T)	210.00	160.00	187.89	11.07
Hind Foot Length (HF)	43.00	32.00	37.56	1.88
Ear Length (E)	24.00	20.00	22.08	1.18
Breadth of Rostrum (BR)	9.60	6.94	8.20	0.46
Length of Rostrum (LR)	15.48	12.00	14.06	0.77
Occipitonasal Length (ONL)	47.92	16.10	43.54	3.11
Interorbital Breadth (IB)	6.72	5.24	5.78	0.28
Breadth of Brain Case (BBC)	19.12	14.35	17.31	0.63
Zygomatic Breadth (ZB)	23.26	17.15	20.43	0.89
Breadth of Incisive Foramina (BIF)	3.51	2.21	2.73	0.24
Breadth of First Upper Molar (BM1)	2.37	1.94	2.11	0.08
Length of Diastema (LD)	13.62	10.23	12.24	0.68
Length of Incisive Foramina (LIF)	9.17	6.87	8.16	0.46
Length of Bony Palate (LBP)	58.22	7.69	9.09	4.62
Postpalatal Length (PPL)	24.09	12.82	15.22	1.12
Length of Auditory Bulla (LB)	8.50	6.84	7.77	0.33
Breadth of Mesopterygoid Fossa (BMF)	7.50	2.80	3.49	0.46
Breadth of Bony Palate at First Molars (BBP)	5.15	3.46	4.29	0.32
Crown Length of Maxillary Molar Row (CLM1-3)	8.09	6.88	7.48	0.23
Height of Brain Case (HBC)	14.37	5.75	12.82	0.79
Breadth of Zygomatic (BZP)	12.84	4.46	5.36	0.80
Length of Mandible (LM)	26.91	20.49	23.94	1.07
Height of Mandible (HM)	15.44	11.78	13.72	0.68
Length of Lower Molar Series (LLM)	7.56	5.84	6.84	0.26
Humerous Length (HL)	29.49	20.50	25.96	1.65
Femur Length (FL)	41.36	25.63	35.79	2.36
Tibia Length (TL)	43.87	30.94	38.35	2.28

Table 2 : Cranial Measurements (In Millimeters) of The Holotype of Ricefield Rat; *Rattus argentiventer* (♂ = 65)

Characters	Max.	Min.	Mean	SD.
Weight (Wt.)	329.00	129.10	243.98	46.91
Head Body Length (HB)	235.00	170.00	207.82	12.44
Tail Length (T)	210.00	160.00	190.70	11.54
Hind Foot Length (HF)	43.00	34.00	38.40	1.60
Ear Length (E)	24.00	20.00	22.51	1.12
Breadth of Rostrum (BR)	9.60	6.94	8.28	0.47
Length of Rostrum (LR)	15.48	12.00	14.39	0.72
Occipitonasal Length (ONL)	47.92	16.10	43.97	3.99
Interorbital Breadth (IB)	6.72	5.24	5.82	0.29
Breadth of Brain Case (BBC)	18.64	14.35	17.34	0.67
Zygomatic Breadth (ZB)	23.26	17.15	20.53	0.98
Breadth of Incisive Foramina (BIF)	3.51	2.21	2.73	0.25
Breadth of First Upper Molar (BM1)	2.37	2.00	2.14	0.08
Length of Diastema (LD)	13.62	10.23	12.41	0.69
Length of Incisive Foramina (LIF)	9.17	7.09	8.24	0.43
Length of Bony Palate (LBP)	58.22	7.70	9.50	6.25
Postpalatal Length (PPL)	24.09	12.82	15.51	1.34
Length of Auditory Bulla (LB)	8.40	6.95	7.87	0.29
Breadth of Mesopterygoid Fossa (BMF)	7.50	2.84	3.53	0.56
Breadth of Bony Palate at First Molars (BBP)	5.15	3.61	4.32	0.31
Crown Length of Maxillary Molar Row (CLM1-3)	8.05	6.88	7.53	0.22
Height of Brain Case (HBC)	14.37	5.75	12.83	1.02
Breadth of Zygomatic (BZP)	12.84	4.46	5.47	1.02
Length of Mandible (LM)	26.91	20.49	24.11	1.15
Height of Mandible (HM)	15.42	11.78	13.81	0.67
Length of Lower Molar Series (LLM)	7.56	5.84	6.89	0.28
Humerous Length (HL)	29.49	20.50	26.75	1.59
Femur Length (FL)	41.36	25.63	36.92	2.30
Tibia Length (TL)	43.87	30.94	39.59	2.06

Table 3 : Cranial Measurements (In Millimeters) of The Holotype of Ricefield Rat; *Rattus argentiventer* (♀ = 53)

Characters	Max.	Min.	Mean	SD.
Weight (Wt.)	250.20	151.30	204.25	25.18
Head Body Length (HB)	210.00	180.00	196.62	8.44
Tail Length (T)	205.00	165.00	184.30	9.36
Hind Foot Length (HF)	40.00	32.00	36.52	1.69
Ear Length (E)	24.00	20.00	21.54	1.04
Breadth of Rostrum (BR)	9.20	7.23	8.10	0.43
Length of Rostrum (LR)	15.03	12.38	13.66	0.62
Occipitonasal Length (ONL)	45.92	40.16	43.03	1.38
Interorbital Breadth (IB)	6.31	5.28	5.73	0.27
Breadth of Brain Case (BBC)	19.12	16.13	17.29	0.58
Zygomatic Breadth (ZB)	22.25	18.91	20.29	0.74
Breadth of Incisive Foramina (BIF)	3.24	2.32	2.74	0.24
Breadth of First Upper Molar (BM1)	2.24	1.94	2.08	0.07
Length of Diastema (LD)	13.61	10.80	12.03	0.60
Length of Incisive Foramina (LIF)	9.01	6.87	8.06	0.48
Length of Bony Palate (LBP)	9.56	7.69	8.60	0.45
Postpalatal Length (PPL)	16.30	13.84	14.88	0.63
Length of Auditory Bulla (LB)	8.50	6.84	7.66	0.34
Breadth of Mesopterygoid Fossa (BMF)	4.19	2.80	3.45	0.29
Breadth of Bony Palate at First Molars (BBP)	5.03	3.46	4.25	0.34
Crown Length of Maxillary Molar Row (CLM1-3)	8.09	7.07	7.43	0.22
Height of Brain Case (HBC)	13.59	11.85	12.81	0.38
Breadth of Zygomatic (BZP)	6.08	4.59	5.23	0.36
Length of Mandible (LM)	25.89	22.08	23.73	0.94
Height of Mandible (HM)	15.44	12.39	13.60	0.69
Length of Lower Molar Series (LLM)	7.47	6.36	6.78	0.22
Humerous Length (HL)	26.86	22.03	24.98	1.13
Femur Length (FL)	36.83	30.75	34.41	1.59
Tibia Length (TL)	39.55	33.92	36.83	1.47

อนุกรมวิธานเพลี้ยหอย สกุล *Coccus*
Taxonomy of Scale Insect in Genus *Coccus*

ชมัยพร บัวมาศ จารุวัตถ์ แต้กุล สุนัดดา เชาวลิต
อิทธิพล บรรณาการ เกศสุดา สนศิริ สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยหอยสกุล *Coccus* ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2555 ถึงเดือนกันยายน 2556 เพื่อทราบชนิด พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย ของเพลี้ยหอยสกุล *Coccus* ที่มีอยู่ในประเทศไทย ได้เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยหอยจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ในเขตภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ นำตัวอย่างที่รวบรวมได้มาทำสไลด์ถาวรและตรวจจำแนกชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการตรวจจำแนกชนิด พบเพลี้ยหอยสกุล *Coccus* จำนวน 2 ชนิด คือ เพลี้ยหอยกาแฟสีเขียว *Coccus viridis* (Green) พบใน กาแฟ มะม่วง มะเม่า มะนาว และ เพลี้ยหอยสีน้ำตาล *Coccus hesperidum* Linnaeus พบในมะม่วง ฝรั่ง การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อไปในปี 2557

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-24-56

คำนำ

เพลี้ยหอยเป็นแมลงปากดูด ที่ทำความเสียหายให้กับพืชได้หลายชนิด ทั้งพืชสวนและพืชไร่ โดยดูดน้ำเลี้ยงจากส่วนต่าง ๆ ของพืช ทำให้บริเวณที่ถูกทำลายมีลักษณะผิดปกติ นอกจากนี้เพลี้ยหอยยังขับถ่ายของเหลว มีลักษณะเป็นน้ำเหนียวๆ เรียกว่า มูลน้ำหวาน (honeydew) ซึ่งเป็นอาหารของราดำ ทำให้ราดำเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว และพืชสังเคราะห์แสงได้น้อยลง ส่งผลให้ผลผลิตลดลง สำหรับผลิตผลที่ได้ยังด้อยคุณภาพ กระทบต่อการส่งออกผลผลิตทางการเกษตร ดังเช่นการทำลายของเพลี้ยหอยสกุล *Coccus* ปัจจุบันเพลี้ยหอยสกุล *Coccus* มีเขตการแพร่กระจายเกือบทั่วโลก เพลี้ยหอยสกุลนี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพภูมิอากาศค่อนข้างอบอุ่น พื้นที่การเกษตรที่มีสภาพภูมิอากาศดังกล่าว มักจะประสบปัญหาการระบาดของเพลี้ยหอยสกุล *Coccus* มีหลายชนิดสร้างความเสียหายอย่างรุนแรงให้กับพืชที่เพลี้ยหอยอาศัยอยู่ ดังในกรณีเพลี้ยหอย *Coccus pseudomagnoliarum* (Kuwana) เข้าทำลายต้นส้ม (citrus) ในมลรัฐแคลิฟอร์เนียสร้างความเสียหายอย่างรุนแรง เมื่อ ค.ศ.1945 และยังพบเพลี้ยหอยชนิดนี้เป็นศัตรูของกล้วยไม้อีกด้วย (Gill, 1988) บางประเทศพบเพลี้ยหอยหลายชนิดที่ไม่เคยมีรายงานในประเทศมาก่อน ทำให้ไม่สามารถหาแนวทางในการป้องกันกำจัดได้ทันเวลา สำหรับในประเทศไทยยังไม่มีข้อมูล รายละเอียดต่าง ๆ ของเพลี้ยหอยสกุลนี้ ดังนั้นการศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยหอยสกุล *Coccus* จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อทราบชนิดและชื่อวิทยาศาสตร์ พืชอาหาร และเขตแพร่กระจายของเพลี้ยหอยสกุล *Coccus* แต่ละชนิด นำตัวอย่างที่ได้เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลงเพื่อเป็นหลักฐานอ้างอิง และ สำหรับเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาแนวทางการป้องกันกำจัดเพลี้ยหอยดังกล่าว

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเพลี้ยหอยสกุล *Coccus*

2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างเพลี้ยหอย ได้แก่ แอลกอฮอล์ 70 – 80% ขวดดองตัวอย่างแมลง คัตเตอร์ กรรไกรตัดกิ่ง กล่องพลาสติก ถุงกระดาษและถุงพลาสติก

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวรเพลี้ยหอย ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น alcohol 70 %, potassium hydroxide 10%, hydrochloric acid, glacial acetic acid, xylene, carbolic acid, acid fuchsin, N-butyl alcohol, clove oil และ Canada balsam เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล่องใส่สไลด์ถาวร ตู้อบสไลด์ถาวร

4. กล้องจุลทรรศน์ compound microscope และ stereo microscope และ กล้องถ่ายภาพ

5. อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotting และกระดาษไขเขียนแบบ

6. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดเพลี้ยหอย

วิธีการ

1.สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยหอยจากแหล่งปลูกพืชทุกภาคของประเทศ ตัดชิ้นส่วนของพืชที่มีเพลี้ยหอยอาศัยอยู่ ใส่ในถุงกระดาษหรือห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์แล้วใส่ในถุงพลาสติก บันทึกสถานที่ พิกัดทางภูมิศาสตร์ วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่าง ชนิดและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งชื่อผู้เก็บ

2. นำตัวอย่างเพลี้ยหอยที่เก็บรวบรวมได้ มาตรวจดูลักษณะภายนอกด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope ถ่ายภาพ บันทึกรายละเอียด เช่น ขนาด รูปร่างลักษณะและสีของเพลี้ยหอย ก่อนทำสไลด์ถาวรแล้วดองในแอลกอฮอล์ 80%

3. สำหรับตัวอย่างอีกส่วนหนึ่งโดยเฉพาะตัวอ่อนจะถูกกนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยใส่ตัวอย่างพร้อมพืชอาหารในกล่องพลาสติกใสที่มีฝากล่องเป็นตาข่าย พร้อมบันทึกรายละเอียดตามข้อ 1 เพื่อศึกษาแมลงศัตรูธรรมชาติและวงจรชีวิตต่อไป

4. นำตัวอย่างเพลี้ยหอยจากขวดดองตัวอย่างในข้อ 2 มาทำสไลด์ถาวร โดยดัดแปลงวิธีการของ Williams and Watson (1990) มีขั้นตอนดังนี้

4.1 ใช้เข็มเขี่ยเจาะบริเวณกลางส่วนอกด้านบนของตัวอย่างเพลี้ยหอย นำไปใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุด้วยสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 10% จากนั้นนำหลอดทดลองไปต้มด้วยวิธีวอเตอร์บาท ใช้เวลาประมาณ 15 นาที (เริ่มนับตั้งแต่น้ำในบีคเกอร์เดือด) โดยระวังไม่ให้สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่อยู่ในหลอดทดลองเดือด เพราะจะทำให้ตัวอย่างเกิดความเสียหายได้

4.2 นำตัวอย่างเพลี้ยหอยที่ต้มแล้วมาล้างในน้ำกลั่น กดเบา ๆ บนลำตัวด้วยเข็มดัดปลายโค้ง เพื่อทำให้ไข่ ตัวอ่อน และของเหลวที่อยู่ในลำตัวหลุดออกมาทางรอยที่เจาะไว้ ถ้ายังมีก้อนไขมันตกค้างอยู่ให้นำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 95% ประมาณ 2 – 3 นาที

4.3 ย้ายลงในคาร์บอลไซลีน (carbol xylene) แช่ทิ้งไว้ 10 นาทีจนกระทั่งตัวอย่างใส นำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 95%

4.4 ย้ายลงในกรดแอลกอฮอล์ (acid alcohol) ซึ่งเป็นสารละลายของกรดแกลเซียลอะซิติก 1 ส่วน และแอลกอฮอล์ 50% 4 ส่วน แช่ทิ้งไว้ 2 – 3 นาที

4.5 ย้อมสีตัวอย่างโดยแช่ในน้ำยาย้อมสี ซึ่งเป็นสารละลายของแอซิดฟุชซิน (acid fuchsin) กรดเกลือ (hydrochloric acid) และน้ำกลั่น แช่ทิ้งไว้นาน 30 - 60 นาที

4.6 ย้ายลงในแอลกอฮอล์ 95% แช่ทิ้งไว้ 2 – 3 นาที เพื่อกำจัดสีส่วนเกิน

4.7 ย้ายลงในสารละลายเอ็น-บิวทิลแอลกอฮอล์ (N-butyl alcohol) กับ แอลกอฮอล์ 95 % ในอัตราส่วน 1:1 แช่ทิ้งไว้ 10 นาที

4.8 ย้ายลงในเอ็น-บิวทิลแอลกอฮอล์ แช่ทิ้งไว้ 10 นาที

4.9 ย้ายลงในโคล์ฟออย (clove oil) แช่ทิ้งไว้ 20 นาที

4.10 นำตัวอย่างเพลี้ยหอยวางบนแผ่นสไลด์แก้ว ใช้กระดาษกรองซับโคล์ฟออยส่วนที่เกินออก หยดแคนาดาบัลซัม (canada balsam) 1 หยดบนตัวอย่างแมลงจัดรูปร่าง ให้สวยงามไม่บเบี้ยวหรือทับซ้อนกัน ปิดทับด้วยแผ่นแก้วปิดสไลด์

4.11 นำไปอบให้แห้ง ในตู้อบที่อุณหภูมิ 40 - 50 องศาเซลเซียส ใช้เวลาประมาณ 1-2 เดือน

5. ตรวจจำแนกชนิดเพลี้ยหอยบนแผ่นสไลด์ถาวร ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ที่มีกำลังขยายสูง ตรวจดูลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนก ได้แก่ หนวด (antennae) ขน (setae) รู (pores) ท่อ (tubular ducts) และแผ่นแข็งที่อยู่บริเวณปลายส่วนท้อ (anal plate)

6. วาดรูปแสดงลักษณะทางอนุกรมวิธานของเพลี้ยหอยแต่ละชนิด โดยวาดลงบนกระดาษกราฟและลอกลงบนกระดาษไขเขียนแบบและจัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิดเพลี้ยหอยสกุล *Coccus*

7. การบันทึกรายละเอียดบนแผ่นสไลด์ที่อบแห้งแล้วโดยวางแผ่นสไลด์หันด้านหัวของเพลี้ยหอยเข้าหาตัว ด้านขวาเขียนรายละเอียดเกี่ยวกับพืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ด้านซ้ายมือเขียนชื่อวิทยาศาสตร์ เพศ วันเดือนปี ที่ทำสไลด์และชื่อผู้จำแนก ควรลงรายละเอียดดังกล่าวเป็นภาษาอังกฤษ

8. จัดเก็บตัวอย่างเพลี้ยหอยในกล่องใส่สไลด์ถาวรและนำเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามหลักสากล

เวลาสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2555 **ถึง** เดือนกันยายน 2556

สถานที่ 1. แหล่งปลูกพืชจังหวัดต่างๆ

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยหอยจากแหล่งปลูกพืชๆต่างๆ ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศ ระหว่าง เดือนตุลาคม 2555 ถึงเดือนกันยายน 2556 พบเพลี้ยหอยสกุล *Coccus* เพศเมีย จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยหอยกาแฟสีเขียว: Green coffee scale; *Coccus viridis* (Green) ซึ่งพบในกาแฟ มะม่วง มะเม่า มะนาว ที่ จ.ชุมพร นครราชสีมา นครสวรรค์ กำแพงเพชร เชียงราย และเพลี้ยหอยสีน้ำตาล *Coccus hesperidum* Linnaeus พบในมะม่วง ฝรั่ง ที่ จ.เชียงราย และนราชสีมา

การศึกษานี้จะต้องดำเนินต่อไปในปี 2557 โดยสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยหอยสกุล *Coccus* จากแหล่งปลูกพืชอื่นๆ ทั้ง ผัก ไม้ดอกไม้ประดับ พืชไร่ และไม้ผลให้ครอบคลุมทุกภูมิภาคของประเทศ และจัดทำแนวทางวินิจฉัยเพลี้ยหอยสกุล *Coccus* พร้อมบันทึกรายละเอียดของเพลี้ยหอยแต่ละชนิด และจัดเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยหอยสกุล *Coccus* ระหว่างเดือนตุลาคม 2555 ถึงกันยายน 2556 พบเพลี้ยหอยสกุล *Coccus* เพศเมีย จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยหอยกาแฟสีเขียว: Green coffee scale; *Coccus viridis* (Green) ซึ่งพบในกาแฟ มะม่วง มะเม่า มะนาว และเพลี้ยหอยสีน้ำตาล *Coccus hesperidum* Linnaeus พบในมะม่วง ฝรั่ง การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อไปในปี 2557

เอกสารอ้างอิง

บุปผา เหล่าสินชัย. 2540. การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยหอยศัตรูมะม่วง. **วารสารกีฏและสัตววิทยา** 19 (4): 196 -211.

Gill, R.J. 1988. **The Scales Insect of California Part 1, The Soft Scales (Homoptera: Coccoidea: Coccidae).** California Department of Food and Agriculture, California. 132 pp.

Smith, D., G.A.C. Beettie and R. Broadley (eds.). 1997. **Citrus pests and their natural enemies**. Sttate of Queenstand. Department of Primary Industries, and Horticultural Research and Development Corporation. 272 pp.

Williams, D.J. and G.W. Watson. 1990. **The Scale Insects of the Tropical South Pacific Region Part 3, the Soft Scales (Coccidae) and Other Families**. CAB Intemational Institute of Entomology, Wallingford. 267 pp.

อนุกรมวิธานแมลงหวี่ขาวในวงศ์ย่อย Aleyrodinae
Taxonomy of Whitefly in Subfamily Aleyrodinae

สุนัดดา เชาวลิต ชมัยพร บัวมาศ อิทธิพล บรรณาการ
เกศสุดา สนศิริ สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานแมลงหวี่ขาวในวงศ์ย่อย Aleyrodinae ให้ทราบชนิด พืชอาหาร และเขตการแพร่กระจาย เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานศึกษาวิจัย การวินิจฉัยชนิดแมลงศัตรูพืช รวมถึงการจำทำรายชื่อแมลงศัตรูพืช ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2556 ถึงเดือนกันยายน 2558 พื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่าของประเทศ นำตัวอย่างที่สำรวจได้มาจำแนกชนิด ใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และ Stereo microscope ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช การศึกษาครั้งนี้ใช้แมลงหวี่ขาวในวงศ์ย่อย Aleyrodinae จำนวน 57 ตัวอย่าง จำแนกได้ 5 ชนิด ได้แก่ แมลงหวี่ขาวส้ม (Citrus Blackfly); *Aleurocanthus woglumi* Ashby เป็นศัตรูสำคัญของมะพร้าว อะโวคาโด้, แมลงหวี่ขาวอ้อย (Sugarcane Whitefly); *Neomaskellia bergii* (Singnoret) เป็นศัตรูสำคัญของอ้อย, *Aleurolobus barodensis* (Maskell) เป็นศัตรูสำคัญของอ้อย, แมลงหวี่ขาวยาสูบ (Tobacco Whitefly); *Bemisia tabaci* (Gennadius) เป็นศัตรูสำคัญของอ้อยกะเพรา โหรพา ผักชีฝรั่ง กุหลาบ มะเขือเปราะ ยาสูบ มันฝรั่ง ฝ้าย และพืชตระกูลถั่ว, แมลงหวี่ขาว citrus blackfly; *Aleurocanthus* sp. เป็นศัตรูของมะตาด

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-25-56

คำนำ

แมลงหวี่ขาว (whitefly) ในวงศ์ย่อย Aleyrodinae เป็นศัตรูพืชที่มีความสำคัญชนิดหนึ่ง ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นพืชแล้วถ่ายมูลเหนียวที่เป็นน้ำหวานออกมาตามส่วนต่าง ๆ ของพืชที่มันอาศัย ซึ่งมูลเหนียวนี้เป็นอาหารของราดำ เมื่อเกิดราดำในปริมาณมากทำให้ปริมาณและคุณภาพของผลผลิตลดลง Mound และ Halsey (1978) ได้รายงานชนิดแมลงหวี่ขาวที่สำรวจพบในประเทศไทย ไม่น้อยกว่า 50 ชนิด Hutacharern et al. (2007) รวบรวมรายชื่อแมลงหวี่ขาวที่พบในประเทศไทยมี จำนวน 93 ชนิด เป็นแมลงหวี่ขาวในวงศ์ย่อย Aleurodicinae 90 ชนิด สมชัย (2550) รายงานชนิดแมลงหวี่ขาวศัตรูพืชในประเทศไทยไว้ 9 ชนิด เป็นแมลงหวี่ขาวในวงศ์ย่อย Aleyrodinae 8 ชนิด สุนัดดา (2552) รายงานชนิดแมลงหวี่ขาววงศ์ย่อย Aleyrodinae เพิ่มอีก 1 ชนิด ในเอเชีย Mound และ Halsey (1978) รายงาน แมลงหวี่ขาว *Bemisia* ไว้ 38 ชนิด พบทำลาย มันสำปะหลัง ฝ้าย มันฝรั่ง มันเทศ ยาสูบ และ มะเขือเทศ ชนิดที่มีความสำคัญได้แก่ แมลงหวี่ขาว *Bemisia tabaci* (Gennadius) เป็นพาหะของเชื้อไวรัสใบหด (tabacco leaf curl virus) ซึ่งเป็นโรคสำคัญของใบยาสูบ และยังพบว่าแมลงหวี่ขาวชนิดนี้ก่อให้เกิดความเสียหายในฝ้าย ทำให้ใบและปุยฝ้ายเสียหาย ผลผลิตของฝ้ายลดลง และยังพบในพืชอาหารหลายชนิด ได้แก่ มะเขือ พืชตระกูลแตง มะเขือเทศ มันฝรั่ง และพืชผักต่างๆ รวมถึงวัชพืชหลายชนิด เป็นต้น (สิริวัฒน์, 2526; Ohno, 1992) แมลงหวี่ขาว *Aleurocanthus woglumi* มีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้จากนั้นแพร่ระบาดไปยังประเทศต่างๆทั่วโลก (CIE, 1995) เป็นศัตรูสำคัญของส้ม ในเม็กซิโก รายงานพืชที่แมลงหวี่ขาวชนิดนี้เข้าทำลาย 75 ชนิด ใน 38 วงศ์ (Shaw, 1950) และเป็นสำคัญที่เพิ่งสำรวจพบในกาแฟ Le Pelley (1968) แมลงหวี่ขาว Aleurolobus barodensis เป็นสำคัญของอ้อย พบแพร่ระบาดในอินเดีย อินโดนีเซีย ปากีสถาน และไทย (CABI, 2007

สำหรับในประเทศไทยข้อมูลของแมลงหวี่ขาววงศ์ย่อย Aleyrodinae ยังมีน้อยมาก ดังนั้นในเบื้องต้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานเพื่อได้ทราบชนิด ลักษณะความแตกต่างพืชอาหาร และเขตการแพร่กระจายของแมลงหวี่ขาวในวงศ์ย่อยนี้ได้อย่างถูกต้อง เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นด้านกีฏวิทยานำไปสู่การหาวิธีป้องกันกำจัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเป็นพื้นฐานในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเพื่อการนำเข้า ส่งออกผลผลิตการเกษตรต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1) ตัวอย่างแมลงหวี่ขาว ที่รวบรวมได้จากแหล่งปลูกพืชทั่วไป ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่าทั่วทุกภาคของประเทศไทย

2) อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ขวดดองแมลงซึ่งบรรจุแอลกอฮอล์ 80% ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ซองกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง ถังรักษาความเย็น

3) อุปกรณ์และสารเคมีต่างๆ สำหรับใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ potassium hydroxide 10 %, alcohol 70-95 %, aetic acid gacial, Chloral-phenol, ammonia solution, hydrogen peroxide, acid fuchsin strain, clove oil และ canada balsam บีคเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร แผ่นสไลด์แก้วและแผ่นแก้วปิดสไลด์ ตู้อบสไลด์ถาวร

4) กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereomicroscope ,compound microscope และกล้องถ่ายภาพ

5) อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา roting และกระดาษไขเขียนแบบ

6) เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของแมลงหวี่ขาว

วิธีการ

1) สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงหวี่ขาวศัตรูพืชในแปลงเพาะปลูก โดยตัดส่วนของพืชที่มีตัวอ่อน ดักแด้ หรือตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวเกาะอยู่ด้วยกรรไกรตัดกิ่ง นำตัวอย่างแมลงหวี่ขาวที่เก็บรวบรวมพร้อมพืชอาศัยห่อกระดาษแล้วนำใส่ถุงพลาสติก หรือกล่องพลาสติก หากตัวอย่างแมลงหวี่ขาวที่รวบรวมได้อยู่ในระยะตัวอ่อน ต้องนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นดักแด้ บันทึกข้อมูลเบื้องต้น เช่น พืชอาหาร สถานที่ วัน เดือน ปี และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ทุกครั้งที่เก็บตัวอย่าง

2) นำตัวอย่างดักแด้และตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวที่เก็บรวบรวม มาตรวจลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope บันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น ขนาด รูปร่าง ลักษณะ สี ฯลฯ พร้อมทั้งถ่ายภาพแมลงหวี่ขาวแต่ละระยะ

3) นำตัวอย่างดักแด้ที่สำรวจได้ในข้อ 12.2 บางส่วนมาทำสไลด์ถาวร โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Martin (1987) โดยตัดชิ้นส่วนของพืชเฉพาะที่มีดักแด้ติดอยู่ แช่ในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 10 % ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง หรือแช่ในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 10 % ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-20 นาที จะช่วยให้แยกดักแด้ออกจากพืชอาศัยได้ง่าย โดยไม่ทำให้ตัวอย่างเสียหาย (ขั้นตอนนี้ระวังไม่ให้สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เดือด) ดูดสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ออก เติมกรดแกลเซียลอะซิติก แช่ทิ้งไว้ 2-3 นาที แล้วดูดกรดแกลเซียลอะซิติกออก เติมสารละลายคลอรอล-ฟีนอล (chloral-phenol) แช่ทิ้งไว้ 2-3 นาทีเช่นกัน แล้วดูดสารผสมนี้ออก วิธีนี้นอกจากจะช่วยกำจัดคราบไขมันที่ห่อหุ้มดักแด้แล้ว ยังช่วยในการย้อมสีทำให้ตัวอย่างติดสีได้ดีขึ้น การย้อมสีแมลงหวี่ขาวปฏิบัติตามขั้นตอนดังนี้

- ดักแด้ที่มีสีเข้มหรือสีดำ ให้ล้างตัวอย่างด้วยแอลกอฮอล์ 95% แล้วย้ายตัวอย่างลงในสารละลายที่เป็นส่วนผสมของแอมโมเนีย (Ammonia) กับไฮโดรเยนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) ในอัตราส่วน 80: 20 โดยปริมาตร แช่ทิ้งไว้ 2-3 นาที สารละลายนี้จะช่วยทำให้ตัวอย่างที่มีสีเข้มใสขึ้น

- ดักแด้ที่มีสีจางหรือสีชีด ให้ล้างตัวอย่างด้วยกรดแกลเซียลอะซิติก ย้ายตัวอย่างลงในสารละลายแอซิกฟุชซินสเตน ใช้เพียง 2-3 หยดเพื่อย้อมสีตัวอย่าง แช่ทิ้งไว้ 2 -3 นาที ดูดสารละลาย หรือสีย้อมออก ล้างด้วยกรดแกลเซียลอะซิติก และแช่ในกรดแกลเซียลอะซิติก ทิ้งไว้ 2-3 นาที แล้วดูดสารละลายนี้ออก เติมโคลฟอออยหรือไซลีน แช่ทิ้งไว้ 2-3 นาที เมาท์ตัวอย่างบนแผ่นสไลด์แล้วนำไปอบให้แห้งใช้เวลา 5 สัปดาห์

4) นำสไลด์ที่ผ่านการอบจนแห้งแล้วมาตรวจวิเคราะห์จำแนกชนิดใต้กล้องจุลทรรศน์ compound microscope ตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของแมลงหวี่ขาว ลักษณะสำคัญที่ใช้จำแนกชนิดได้แก่ ขนและหนาม (setae & spine) ขอบลำตัว (margin) อวัยวะที่ใช้ในการขับไข เช่น รูชนิดต่างๆ(pores) vesiform orifice lingula และ operculum เป็นต้น

5) บันทึกรายละเอียดของแมลงหวี่ขาวชนิดต่างๆที่สำรวจพบ และข้อมูลอื่นที่สำคัญ ถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ รวมถึงบันทึกรายละเอียดบนแผ่นป้ายที่ต้องติดไว้กับสไลด์แมลงหวี่ขาวแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ที่จำแนกได้ วัน/เดือน/ปี สถานที่จับ และ วัน/เดือน/ปีที่ทำสไลด์ถาวร ชื่อน้ำยาที่ใช้เมาท์ (mount) สไลด์

6) จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษา โดยนำตัวอย่างแมลงหวี่ขาวพร้อมตัวอย่างพืชที่มีดักแด้เกาะอยู่และสไลด์ถาวรที่ทำเสร็จแล้ว เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากล เพื่อตรวจสอบ สืบค้น และอ้างอิงในภายหลัง

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2556 – สิ้นสุด เดือนกันยายน 2558

สถานที่ แหล่งปลูกพืชสำรวจจากพื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่าของประเทศไทย และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลงกลุ่มกีฏและสัตวิวทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาอนุกรมวิธานแมลงหวี่ขาวในวงศ์ย่อย Aleyrodinae ในแหล่งปลูกพืช ทั่วทุกภาคของประเทศไทย ได้ตัวอย่างแมลงหวี่ขาวในวงศ์ย่อย Aleyrodinae จำนวน 57 ตัวอย่าง ผลการตรวจวิเคราะห์ โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยตามหลักอนุกรมวิธานแมลง รวมทั้งเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่มีในพิพิธภัณฑ์แมลงของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร สามารถวิเคราะห์ชนิด ได้ 5 ชนิด โดยมีรายละเอียด ดังนี้

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	พืชอาหาร	แหล่งที่สำรวจพบ	จำนวนตัวอย่าง
Aleurocanthus woglumi Ashby (Figure 1)	แมลงหวี่ขาวส้ม (Citrus Blackfly)	มะพร้าว อะโวคาโด้	จังหวัดตาก, อุทัยธานี	2
Neomaskellia bergii (Singnoret) (Figure 2)	แมลงหวี่ขาวอ้อย (Sugarcane Whitefly)	อ้อย	จังหวัดนครราชสีมา, ประจวบคีรีขันธ์, กาฬสินธุ, ร้อยเอ็ด	26
Aleurolobus barodensis (Maskell) (Figure 3)	แมลงหวี่ขาวอ้อย (Sugarcane Whitefly)	อ้อย	จังหวัดนครราชสีมา, อุดรธานี, เชียงใหม่	12
Bemisia tabaci (Gennadius) (Figure 4)	แมลงหวี่ขาวยาสูบ (Tobacco Whitefly)	กะเพรา โหรพา ผักชีฝรั่ง กุหลาบ มะเขือเปราะ ยาสูบ มันฝรั่ง ฝ้าย และพืชตระกูลถั่ว	กรุเทพ ระยอง สระแก้ว ฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี บุรีรัมย์ สุรินทร์ นครราชสีมา นครพนม	18
Aleurocanthus sp. (Figure 5)	citrus blackfly	มะตาด	เชียงใหม่	2

สรุปผลการวิจัยและคำแนะนำ

การศึกษาครั้งนี้ใช้แมลงหวี่ขาวในวงศ์ย่อย Aleyrodinae ใช้ตัวอย่างจากการสำรวจและตัวอย่างที่มีอยู่เดิมในพิพิธภัณฑ์แมลง จำนวน 57 ตัวอย่าง จำแนกได้ 5 ชนิด ได้แก่ แมลงหวี่ขาวส้ม (Citrus Blackfly); *Aleurocanthus woglumi* Ashby เป็นศัตรูสำคัญของมะพร้าว อะโวคาโด้, แมลงหวี่ขาวอ้อย (Sugarcane Whitefly); *Neomaskellia bergii* (Singnoret) เป็นศัตรูสำคัญของอ้อย, *Aleurolobus barodensis* (Maskell) เป็นศัตรูสำคัญของอ้อย, แมลงหวี่ขาวยาสูบ (Tobacco Whitefly); *Bemisia tabaci* (Gennadius) เป็นศัตรูสำคัญของอ้อยกะเพรา โหรพา ผักชีฝรั่ง กุหลาบ มะเขือเปราะ ยาสูบ มันฝรั่ง ฝ้าย และพืชตระกูลถั่ว, แมลงหวี่ขาว citrus blackfly; *Aleurocanthus* sp. เป็นศัตรูของมะตาด ตัวอย่างแมลงหวี่ขาวในวงศ์ย่อย Aleyrodinae ทั้งหมดที่จำแนกชนิดแล้วนำเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

สมชัย สุวงศ์ศักด์ศรี. 2550 แมลงหวี่ขาว. เอกสารวิชาการ ประกอบการอบรมหลักสูตร การเก็บรักษาและจำแนกตัวอย่างแมลงจำพวกปากดูดและไรศัตรูพืชนำเข้าและส่งออก. สำนักวิจัย-พัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 24 หน้า

สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ. 2526. แมลงศัตรูพืชทางการเกษตรของประเทศไทย. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์ กรุงเทพฯ. 424 น.

สุนัดดา เชาวลิต. 2552. เอกสารวิชาการ ประกอบการอบรมหลักสูตร การเก็บรักษาและจำแนกตัวอย่างแมลงจำพวกปากดูดและไรศัตรูพืชนำเข้าและส่งออก. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 29 หน้า

CABI . 2007. Crop Protection Compendium. CD-ROM. CAB International, Wallingford, UK. CD-ROM.

Hutacharern , C. , T. Nopachon and Chutima D. 2007. Checklists of Insects and Mites in Thailand. Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation Minisrty of Natural Resources and environment. 77-80.

IIE, 1995. Distribution Maps of Plant Pests, No. 91. Wallingford, UK: CAB International.

Le Pelley RH, 1968. Pests of Coffee. London and Harlow, UK: Longmans, Green and Co Ltd.

Mound, L. A. and Halsey, S. H. 1978. Whitefly of the World; A systemic catalogue of the Aleyrodidae (Homoptera) with Host Plant and natural Enemy Data. British Museum (Natural History) and John Wiley & Sons. Chichester. 340 pp.

Ohno, I. 1992. Whiteflies Problem in the United States of America. JAPAN Pesticid Information no. 60 : 19-20.

Wen HungChich, Hsu TungChing, Chen ChiouNan, 1994. Supplementary description and host plants of the spiralling whitefly, Aleurodicus dispersus Russell. Chinese Journal of Entomology, 14(2):147-161.

ภาคผนวก

Figure 1 *Aleurocanthus woglumi* Ashby

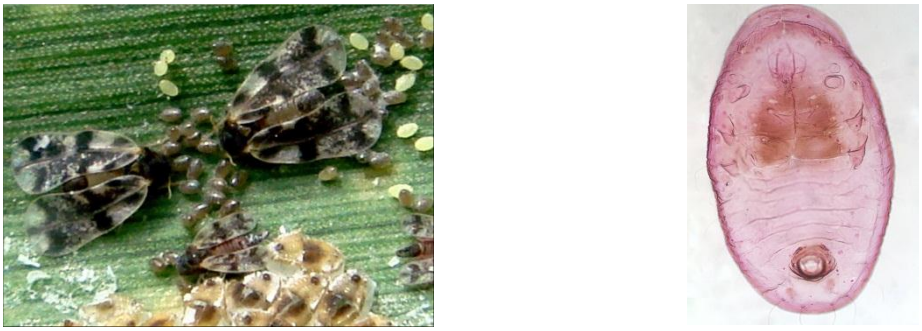


Figure 2 *Neomaskellia bergii* (Singnoret)

Figure 3 *Aleurolobus barodensis* (Maskell)

Figure 4 *Bemisia tabaci* (Gennadius)

Figure 5 *Aleueocanthus* sp.

อนุกรมวิธานเพลี้ยไฟ สกุล *Haplothrips*
Taxonomy of Thrips in Genus *Haplothrips*

เกศสุดา สนศิริ สุนัดดา เชาวลิต ชมัยพร บัวมาศ อิทธิพล บรรณาการ
สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานเพลี้ยไฟสกุล *Haplothrips* ให้ทราบชนิด พืชอาหาร และเขตการแพร่กระจาย เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานศึกษาวิจัย การวินิจฉัยชนิดแมลงศัตรูพืช รวมถึงการจัดทำรายชื่อแมลงศัตรูพืช ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2555 ถึงเดือนกันยายน 2558 โดยสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างในพื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่าของประเทศ นำตัวอย่างที่สำรวจได้นำมาจัดรูปร่างและทำสไลด์ถาวร จำแนกชนิด และวิเคราะห์ชนิดตัวอย่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ Compound และ Stereo microscope ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากตัวอย่างเพลี้ยไฟสกุล *Haplothrips* จำนวน 250 ตัวอย่าง พบว่า เป็นเพลี้ยไฟชนิด *Haplothrip gowdeyi (Franklin*, 1908) จำนวน 35 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นศัตรูของข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าวบาร์เล่ย์ และ ดาวเรือง

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-26-56

คำนำ

เพลี้ยไฟเป็นศัตรูสำคัญของพืชหลายชนิด ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยสามารถทำลายพืชได้ โดยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากเซลล์พืชในส่วนยอดอ่อน ตาอ่อน ใบ ดอก และผล ทำให้ใบเกิดรอยด่าง สีซีด หรือทำให้ขอบใบแห้ง ตาอ่อนชะงักการเจริญเติบโต เพลี้ยไฟแบ่งเป็น 2 อันดับย่อย (suborder) คือ Terebrantia และ Tubulifera ซึ่ง Terebrantia แบ่งออกเป็น 7 วงศ์ พวกที่เป็นศัตรูพืชเกือบทั้งหมดอยู่ในวงศ์ Thripidae มีเขตแพร่กระจายทั่วโลก และ Tubulifera ซึ่งมีเพียง 1 วงศ์ คือ Phlaeothripidea ซึ่งพบว่าบางชนิดเป็นศัตรูของไม้ยืนต้นและไม้พุ่ม โดยทำให้เกิดปุ่มปม บางชนิดลงทำลายพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น เพลี้ยไฟในสกุล *Haplothrips* เป็นเพลี้ยไฟอีกสกุลหนึ่งที่จัดอยู่ในอันดับย่อย Tubulifera เป็นศัตรูพืชที่สำคัญของพืชหลายชนิด เช่น พืชในวงศ์ Poaceae ได้แก่ ข้าว อ้อย ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ฯลฯ และในไม้ดอกในวงศ์ Asteraceae ได้แก่ ดาวเรือง ดาวกระจาย เบญจมาศ เบญจมาศสวน ทานตะวัน เยอรบีรา บานชื่น ฯลฯ (Mound and Minael, 2007) เพลี้ยไฟในสกุล *Haplothrips* มีประมาณ 250 ชนิด เพลี้ยไฟในสกุลนี้ส่วนมากจะทำลายในส่วนดอกของพืช สร้างความเสียหายให้กับพืชโดยการดูดกินโดยตรงและสร้างความเสียหายทางอ้อมจากสิ่งขับถ่ายที่เพลี้ยไฟถ่ายออกมา ซึ่งมีลักษณะคล้ายหยดน้ำเล็กๆ ติดอยู่ตามส่วนต่างๆของพืช หยดน้ำเหล่านี้เมื่อแห้งจะทำให้พืชเกิดรอยตำหนิเป็นจุดดำ (ศิริณี, 2544) การศึกษาอนุกรมวิธานเพลี้ยไฟในสกุล *Haplothrips* นั้น จะได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์อย่างมาก ในการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการจัดการเพลี้ยไฟในสกุล *Haplothrips* ที่ถูกต้องและเหมาะสมต่อไป

วิธีดำเนินการ

1) สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยไฟจากแหล่งปลูกพืชทั่วไป ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่าทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย โดยใช้วิธีการตีหรือเขย่าส่วนของพืชให้เพลี้ยไฟตกลงบนกระดาษขาวที่รองรับ และใช้พู่กันเขี่ยเพลี้ยไฟแต่ละตัวลงในขวดที่บรรจุน้ำยา AGA ซึ่งเป็นส่วนผสมของแอลกอฮอล 60% 10 ส่วน กลีเซอรีน (glycerine) 1 ส่วน และกรดน้ำส้ม (glacial acetic acid) 1 ส่วน รวมทั้งเก็บตัวอย่างที่มีชีวิตด้วย บันทึกรายละเอียดของเพลี้ยไฟที่เก็บได้ เช่น พืชที่เก็บ ส่วนของพืชที่เก็บ สถานที่เก็บตัวอย่าง พิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ลงในขวดที่ใช้ดองเพลี้ยไฟ นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอก นอกจากตัวอย่างเพลี้ยไฟที่ได้จากสภาพธรรมชาติแล้ว มีตัวอย่างเพลี้ยไฟอยู่เดิมในพิพิธภัณฑ์ กรมวิชาการเกษตร ตัวอย่างที่ได้รับจากนักวิชาการ และตัวอย่างจากผู้มาขอรับบริการตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิดเพื่อใช้ในการศึกษาครั้งนี้ด้วย

2) นำตัวอย่างเพลี้ยไฟที่รวบรวมได้มาตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด โดยดูลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ compound microscope และนำเพลี้ยไฟบางส่วนไปทำสไลด์ถาวรเพื่อการจำแนกชนิด

วิธีการทำสไลด์ถาวรของเพลี้ยไฟ

- ย้ายตัวอย่างเพลี้ยไฟจากขวดลงเก็บรักษาในแอลกอฮอล์ 60 % แช่ทิ้งไว้อย่างน้อย 24 ชั่วโมง

- ย้ายลงในโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) 5% เพื่อทำให้สีของเพลี้ยไฟจางลง เวลาที่ใช้ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่างเพลี้ยไฟ เจาะส่วนท้องของเพลี้ยไฟบริเวณต้นขาของขาหลังด้วยเข็มแหลมขนาดเล็ก เพื่อให้ของเหลวภายในออกจากตัวเพลี้ยไฟ
- ย้ายเพลี้ยไฟที่เจาะแล้วลงในน้ำกลั่น จากนั้นนำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 50 %ทิ้งไว้ 2 – 3 นาที
- ย้ายลงในแอลกอฮอล์ 60 % อีกครั้ง ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง
- ย้ายลงในแอลกอฮอล์ 70 % อีกครั้ง ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง
- ย้ายลงในแอลกอฮอล์ 80 % อีกครั้ง ทิ้งไว้ 20 นาที
- ย้ายลงในแอลกอฮอล์ 95 % อีกครั้ง ทิ้งไว้ 10 นาที
- ย้ายลงในแอลกอฮอล์ 100 % อีกครั้ง ทิ้งไว้ 5 นาที ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง
- ย้ายลงในโคลฟออย (clove oil) เพื่อให้ตัวอย่างของเพลี้ยไฟใส แช่ทิ้งไว้ 20 – 30 นาที
- หยดแคนาดาบัลซัม (Canada balsam) ซึ่งเป็นน้ำยาเมาท์สไลด์ (mounting media) เพียงเล็กน้อยลงบนแผ่นแก้วปิดสไลด์ ป้ายเพลี้ยไฟลงในหยดแคนาดาบัลซัมลงบนกึ่งกลางของแผ่นสไลด์แก้ว ค่อยๆคว่ำแผ่นสไลด์ช้าๆ จนกระทั่งจรดแผ่นแก้วปิดสไลด์ รีบพลิกแผ่นสไลด์แก้วให้ด้านแผ่นแก้วปิดสไลด์กลับขึ้นด้านบน นำไปอบให้แห้ง

3) นำสไลด์ที่ผ่านการอบจนแห้งแล้วมาตรวจวิเคราะห์จำแนกชนิดใต้กล้องจุลทรรศน์ compound microscope ที่มีกำลังขยายสูง ตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางวินิจฉัยชนิดของเพลี้ยไฟ ลักษณะสำคัญที่ใช้จำแนกชนิดได้แก่ ลักษณะของปีก การเรียงตัวของเส้นปีก ลักษณะของอวัยวะรับความรู้สึกที่ปล้องหนวด (sense cone) จำนวน sense cone เป็นต้น และจัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิดเพลี้ยไฟสกุล *Haplothrip*

4) บันทึกรายละเอียดของเพลี้ยไฟชนิดต่าง ๆ ที่สำรวจพบ และข้อมูลอื่นที่สำคัญ ถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ รวมถึงบันทึกรายละเอียดบนแผ่นป้ายที่ต้องติดไว้กับสไลด์เพลี้ยไฟแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ที่จำแนกได้ วัน/เดือน/ปี สถานที่พบ และวัน/เดือน/ปีที่ทำสไลด์ถาวร ชื่อน้ำยาที่ใช้เมาท์ (mound) สไลด์

5) จับเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาในกล่องสไลด์ถาวรและเก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากล เพื่อตรวจสอบ สืบค้น และอ้างอิงในภายหลัง

การบันทึกข้อมูล

บันทึกรายละเอียดของแมลง/ ไร/ หอยศัตรูพืช ส่วนของพืชที่พบตัวอย่าง ลักษณะการทำลาย วัน /เดือน /ปี สถานที่ แหล่งที่พบ พิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งบันทึกโดยการถ่ายภาพ

เวลาและสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2555 ถึง เดือนกันยายน 2558

สถานที่ 1. แหล่งปลูกพืชทั่วไป ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่า ทั่วทุกภาคของประเทศไทย

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาอนุกรมวิธานเพลี้ยไฟสกุล *Haplothrips* ในแหล่งปลูกพืช ทั่วทุกภาคของประเทศไทย ได้ตัวอย่างเพลี้ยไฟสกุล *Haplothrips* จำนวน 250 ตัวอย่าง ผลการตรวจวิเคราะห์ โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยตามหลักอนุกรมวิธานแมลง รวมทั้งเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่มีในพิพิธภัณฑ์แมลงของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร สามารถวิเคราะห์ชนิด ได้ 1 ชนิด คือ เพลี้ยไฟชนิด *Haplothrip gowdeyi (Franklin*, 1908) จำนวน 35 ตัวอย่าง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานเพลี้ยไฟสกุล *Haplothrips* ในแหล่งปลูกพืชทั่วภูมิภาคของประเทศไทย ผลการตรวจสอบจำแนกชนิด โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยตามหลักอนุกรมวิธานแมลง รวมทั้งเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่มีในพิพิธภัณฑ์แมลงของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร สามารถวิเคราะห์ชนิดได้ 1 ชนิด จากจำนวน 250 ตัวอย่าง ได้แก่ เพลี้ยไฟชนิด *Haplothrip gowdeyi (Franklin*, 1908) จำนวน 35 ตัวอย่าง มีพืชอาหาร 4 ชนิด ได้แก่ ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าวบาร์เล่ย์ และ ดาวเรือง พบแพร่กระจายทั่วทุกภาคของประเทศไทย

เอกสารอ้างอิง

ศิริณี พูนไชยศรี. 2548. แมลง การจำแนกและการเก็บตัวอย่าง. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

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

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

CABI. 2003. Crop Protection Compendium. CAB International. Wallingford, UK.

CABI. 2007. The 2007 Edition of The Crop Protection Compendium. CD-ROM. CAB International, Wallingford, UK. CD-ROM.

Flint, M.L. 1991. Integrated Pest Management for Citrus (Second edition). University of California Statewide Integrated Pest Management Project, Division of Agriculture and Natural Resources. Publication 3303.

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

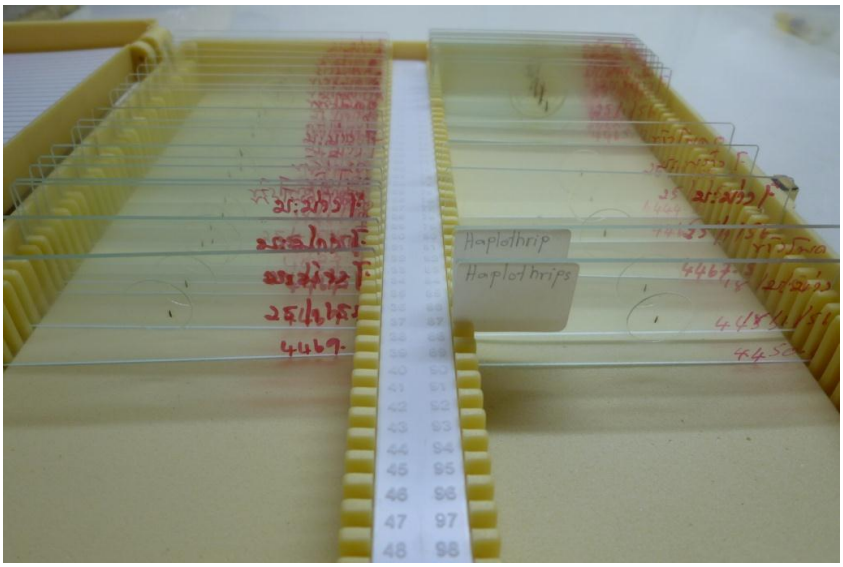
Panha, S. 1996. A Checklist and classification of the terrestrial Pulmonate snails of Thailand. Walkerana. 8 (19): 11-64.

Pholboon, P. 1965. A Host List of The Insects of Thailand. Department of Agriculture. Thailand.

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

Wongsiri, N. 1991. List of Insect, Mite and Other Zoological Pests of Economic Plants in Thailand. Entomology and Zoology Division. Department of Agriculture. Bangkok. Thailand.

ภาคผนวก



สไลด์ถาวรเพลี้ยไฟสกุล *Haplothrips*

Haplothrip gowdeyi (Franklin, 1908)

อนุกรมวิธานมวนปีกแก้วในสกุล *Stephanitis*
Taxonomy of Lace bug in Genus *Stephanitis*

เกศสุดา สนศิริ สุนัดดา เชาวลิต ชมัยพร บัวมาศ
อิทธิพล บรรณาการ สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานมวนปีกแก้วในสกุล *Stephanitis* ให้ทราบชนิด พืชอาหาร และเขตการแพร่กระจาย เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานศึกษาวิจัย การวินิจฉัยชนิดแมลงศัตรูพืช รวมถึงการจัดทำรายชื่อแมลงศัตรูพืช ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2555 ถึงเดือนกันยายน 2556 โดยสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างในพื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่าของประเทศ นำตัวอย่างที่สำรวจได้มาจำแนกชนิด ใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ Stereo microscope ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการสำรวจและเก็บรวบรวมได้ตัวอย่างมวนปีกแก้วในสกุล *Stephanitis* จำนวน 710 ตัวอย่าง พบว่าเป็นมวนปีกแก้ว (coconut lacebug) *Stephanitis typica* Distant จำนวน 660 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นศัตรูของกล้วย มะพร้าว ข่า ปทุมมา และคล้าน้ำ

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-27-56

คำนำ

มวนปีกแก้ว (Lace bug) ในสกุล *Stephanitis* เป็นศัตรูพืชที่มีความสำคัญชนิดหนึ่ง ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบพืชหลายชนิด เช่น มะพร้าว ปาล์มน้ำมัน อินทผลัม หวาย ชนิดต่าง ๆ ขิง ข่า กระชาย ดาหลา และกล้วย ทำให้ใบพืชที่ถูกทำลายจะเกิดจุดสีขาวขนาดเล็กปรากฏให้เห็นชัดทางด้านหลังใบ ต่อมาใบเหี่ยวและตาย ทำให้ปริมาณและคุณภาพของผลผลิตลดลง (Tigvattnanont, 1990) มวนปีกแก้วในสกุล *Stephanitis* มีมากกว่า 60 ชนิด ที่เป็นศัตรูพืชสำคัญในเขตร้อน (Howard *et al*., 2001) สำหรับในประเทศไทยข้อมูลของมวนในสกุล *Stephanitis* นี้ยังมีน้อยมาก ดังนั้น ในเบื้องต้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานเพื่อได้ทราบชนิด ลักษณะความแตกต่าง พืชอาหาร และเขตการแพร่กระจายของมวนในสกุลนี้ได้อย่างถูกต้อง เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นด้านกีฏวิทยานำไปสู่การหาวิธีป้องกันกำจัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเหมาะสมต่อไป

วิธีดำเนินการ

1) สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างมวนปีกแก้วในแปลงเพาะปลูกพืชทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยตัดส่วนของพืชที่มีตัวอ่อน หรือตัวเต็มวัยมวนปีกแก้วเกาะอยู่ด้วยกรรไกรตัดกิ่ง นำตัวอย่างมวนปีกแก้วที่เก็บรวบรวมพร้อมพืชอาศัยห่อกระดาษแล้วนำใส่ถุงพลาสติก หรือกล่องพลาสติก หากตัวอย่างมวนปีกแก้วที่รวบรวมได้อยู่ในระยะตัวอ่อน ต้องนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย พร้อมทั้งถ่ายภาพมวนปีกแก้วแต่ละระยะ บันทึกรายละเอียด พืชอาหาร สถานที่เก็บตัวอย่าง วัดค่าพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) ซึ่งประกอบด้วยค่าละติจูด (Latitude) ค่าลองติจูด (Longitude) ระดับความสูงจากระดับน้ำทะเล Altitude) วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่างและชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ทุกครั้งที่เก็บตัวอย่าง สำหรับตัวเต็มวัยของมวนปีกแก้วจะทำการฆ่าโดยใช้ขวดฆ่า (killing jar) ซึ่งบรรจุน้ำยา ethyl acetate หลังจากมวนปีกแก้วตายให้เก็บตัวเต็มวัยในกระดาษรูปสามเหลี่ยมใส่ในกล่องพลาสติกเพื่อป้องกันการเสียหาย นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการ นอกจากตัวอย่างมวนปีกแก้วที่ได้จากสภาพธรรมชาติแล้ว มีตัวอย่างมวนปีกแก้วที่มีอยู่เดิมในพิพิธภัณฑ์ กรมวิชาการเกษตร ตัวอย่างที่ได้จากนักวิชาการ และตัวอย่างจากผู้มาขอรับบริการตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด เพื่อใช้ในการศึกษาครั้งนี้ด้วย

2) นำตัวอย่างมวนปีกแก้วที่ได้จากการสำรวจ มาจัดรูปร่างโดยนำไปติดบนกระดาษรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง หรือวางตะแคงข้างให้ส่วนอกติดอยู่บนปลายแหลมของกระดาษแข็งรูปสามเหลี่ยม นำไปอบแห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 15-30 วัน

3) นำตัวอย่างของมวนปีกแก้วที่รวบรวมได้มาตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด โดยดูลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น ขนาดลำตัว รูปร่าง ลักษณะ และสี เป็นต้น โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิด มวนปีกแก้วที่เป็นศัตรูพืชสำคัญของโลก ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์

4) จัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) สกุลและชนิดของมวนปีกแก้วสกุล *Stephanitis* ที่รวบรวมได้พร้อมภาพประกอบ

5) จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษา เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของการเก็บรักษาตัวอย่างแมลง เพื่อตรวจสอบ สืบค้น และอ้างอิงในภายหลัง

การบันทึกข้อมูล

บันทึกรายละเอียดของแมลง/ ไร/ หอยศัตรูพืช ส่วนของพืชที่พบตัวอย่าง ลักษณะการทำลาย วัน /เดือน /ปี สถานที่ แหล่งที่พบ พิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งบันทึกโดยการถ่ายภาพ

เวลาและสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2555 ถึง เดือนกันยายน 2556

สถานที่ 1. แหล่งปลูกพืชทั่วไป ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่า ทั่วทุกภาคของประเทศไทย

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาอนุกรมวิธานมวนปีกแก้วในสกุล *Stephanitis* ในแหล่งปลูกพืช ทั่วทุกภาคของประเทศไทย ได้ตัวอย่างมวนปีกแก้วในสกุล *Stephanitis* จำนวน 710 ตัวอย่าง ผลการตรวจวิเคราะห์โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยตามหลักอนุกรมวิธานแมลง รวมทั้งเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่มีในพิพิธภัณฑ์แมลงของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร สามารถวิเคราะห์ชนิด ได้ 1 ชนิด คือ มวนปีกแก้วมะพร้าว (coconut lacebug) *Stephanitis typica* Distant ดังรายละเอียด

ลำตัว (Body) ขนาดเล็ก เมื่อมองทางด้านสันหลังเห็นเป็นมันเงาสะท้อนแสง มีสีขาวใสคล้ายกระจก ขอบของเซลล์ปีกมีสีน้ำตาลเข้มประปรายแต่ไม่มีแถบสี ลำตัวด้านใต้ปีกมีสีน้ำตาล ขนาดลำตัวยาวเฉลี่ย 1.91±0.14 มม. (n=20) (วัดจากปลายสุดของหัวถึงปลายสุดของท้อง) กว้างเฉลี่ย 0.76±0.05 มม. (n=20) (วัดจากส่วนที่กว้างที่สุดของลำตัว) ด้านบนของสันหลังอกปล้องแรกมีส่วนที่ขยายขึ้นมาเป็นกระเปาะยาวรีภายในกลวง (hood) และถัดจาก hood มีสันเป็นแนวยาวตรงกลาง (medial carina) 1 สัน ประกอบด้วยเซลล์ (areolae) จำนวน 2 เซลล์ ในส่วนที่กว้างที่สุด และสันด้านข้าง (lateral carina) อีกด้านละสัน สีขาวครีม ยาวเฉลี่ย 0.11±0.1 mm. (n=20)

หัว (Head) สั้น มีสีเหลืองอมน้ำตาล ตามีสีน้ำตาลเข้ม เมื่อมองทางด้านสันหลัง (dorsal view) บางครั้งอาจจะเห็นส่วนของตาและปล้องที่ 1 ของหนวด เนื่องจาก hood ขยายไปคลุมส่วนหน้าของหัวไม่มิด ปากอยู่ใต้ส่วนหัวและอก ชี้โน้มลงด้านล่าง ขยายยาวถึงระหว่างขาคู่ที่สอง (mesosternum) ปาก (rostrum) มีสีเหลือง ยกเว้นปลายปากมีสีดำ ปากยาวเฉลี่ย 0.77±0.01 mm. (n=20)

หนวด (Antennae) มีลักษณะเรียวยาว มีสีเหลืองอ่อน ประกอบด้วย 4 ปล้อง แต่ละปล้องยาวเฉลี่ย 0.31, 0.11, 1.14 และ 0.58 มม. ตามลำดับ โดยปล้องที่สามมีลักษณะแบบปล้องไฝ่ (pilose) เนื่องจากมีขนละเอียดสั้นๆแทรกอยู่ระหว่างปล้อง หนวดปล้องที่สี่มีลักษณะแบบกระบอง (clavate) โดยส่วนปลายหนวดค่อย ๆ ขยายใหญ่ และมีขนละเอียดสั้นๆ สีใสขึ้นปกคลุม

อกปล้องแรก (Pronotum) แผ่นแข็งด้านบน (disc) มีลักษณะเป็นจุดหรือหลุมของขนขนาดเล็ก (punctuate) สีน้ำตาลมันเงา มีขนสีใส ขนาดสั้นขึ้นปกคลุมประปราย มีสันแนวยาวตรงกลาง (medial carina) หนึ่งสัน และสันด้านข้าง (lateral carina) อีกด้านละสัน ซึ่ง medial carina มีลักษณะยาวและสูง ประกอบด้วย 2 เซลล์ปีก(areolae)ในส่วนที่กว้างที่สุด hood มีขนาดปานกลาง มีรูปร่างยาวรี สูงเท่า medial carina ประกอบด้วยเซลล์ปีก(areolae)ขนาดใหญ่ ด้านข้างของสันหลังอกปล้องแรก จะขยายเป็นแผ่น เรียก พาราโนตัม (paranotum) มีลักษณะกว้าง โค้งขึ้น ขอบด้านข้างกลม ประกอบด้วยเซลล์ปีกจำนวน 3 แถว

ปีก (Hemelytra) ปีกคู่ที่หนึ่งมีลักษณะยาวรี ส่วนปลายโค้งมน ประกอบด้วยเส้นปีกที่มาประสานกันเป็นร่างแหหรือตาข่าย ทำให้เกิดเป็นเซลล์ขึ้นเป็นจำนวนมาก เรียก areolate เส้นปีกมีสีน้ำตาล มีลักษณะยาวและกว้างกว่าส่วนท้อง ปีกแต่ละข้างยาวเฉลี่ย 2.63$\pm$0.10 mm. costal area ส่วนที่กว้างที่สุดมี 4 เซลล์ subcostal area ประกอบด้วยเซลล์ 1 แถว มีลักษณะลาดเอียงลงเล็กน้อย discoidal area สั้น มีลักษณะยกสูงขึ้นเล็กน้อยประกอบด้วย 3 แถว ขอบด้านนอกของปีก, paranotum, เส้นขอบด้านบนของ hood และ medial carina มีลักษณะเป็นซี่ฟันปลาละเอียด และมีขนขนาดสั้น สีเหลืองอ่อน ปีกคู่ที่สองสั้นมาก มีลักษณะเป็นแผ่นบางใสไม่มีเซลล์ที่ปีก ยาวเฉลี่ย 1.68 mm. (n=20)

ขา (Leg) มีลักษณะเรียวยาว สีเหลืองอ่อน ยกเว้นส่วนปลาย (tarsi) มีสีน้ำตาล

ความสำคัญและพืชอาหาร : ตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบพืช เช่น กล้วย มะพร้าว ข่า ปทุมมา และ ต้นคล้าน้ำ

แหล่งที่สำรวจพบ : ทุกภูมิภาคของประเทศไทย

การตรวจวินิจฉัย (Diagnosis) : *Stephanitis typica* Distant, 1903 ด้านบนของสันหลังอกปล้องแรกมีสันแนวยาวตรงกลาง (medial carina) 1 สัน และสันด้านข้าง (lateral carina) 2 สัน (tricarinate) ปีกไม่มีแถบสี

เขตการแพร่กระจาย : จีน ญี่ปุ่น อินเดีย อินโดนีเซีย มาเลเซีย มองโกเลีย เกาหลี ปาปัวนิวกินี หมู่เกาะสุมาตรา พม่า ฮ่องกง เนปาล และไทย

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา (Material examined) Chiang Rai : 6 males, 4 females, EMBT.Hem. 000071-0000073, 000076, 000079-000080. Nakhon Pathom : 3 males, 7 females EMBT.Hem. 000456-000457, 000460, 000458-000459, 000461-000465

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานมวนปีกแก้วสกุล *Stephanitis* ในแหล่งปลูกพืชทั่วภูมิภาคของประเทศไทย ผลการตรวจสอบจำแนกชนิด โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยตามหลักอนุกรมวิธานแมลง รวมทั้งเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่มีในพิพิธภัณฑ์แมลงของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร สามารถวิเคราะห์ชนิดได้ 1 ชนิด จากจำนวน 710 ตัวอย่าง ได้แก่ มวนปีกแก้ว *Stephanitis typica* Distant, 1903 จำนวน 660 ตัวอย่าง มีพืชอาหาร 5 ชนิด ได้แก่ กล้วย มะพร้าว ข่า คล้าน้ำ และปทุมมา พบแพร่กระจายทั่วทุกภาคของประเทศไทย

เอกสารอ้างอิง

Tigvattnanont, S. 1990. Studies on the bionics and local distribution of some lace bugs in Thailand *Urentius echinus* Distant (Hemiptera:Tingidae). Kaen Kaset Khon Kaen Agriculture Journal. 18(5): 251-260.

Howard F.W., D. Moore, R.M. Giblin-Davis and R.G. Abad. 2001. Insect on Palms. CABI Publishing is a division of CAB International, USA. 381 p.

ภาคผนวก

Figgure 1-4 *Stephanitis typica* Distant, 1903 Female (EMBT.Hem.000070). 1- Dorsal habitus; 2, lateral habitus; 3, Head and pronotum, dorsal view; Head and pronotum, lateral view.

อนุกรมวิธานผีเสื้อกลางคืนสกุล *Parapoynx*

Taxonomy of Moth in Genus *Parapoynx*

สุนัดดา เชาวลิต ชมัยพร บัวมาศ อิทธิพล บรรณาการ
เกศสุดา สนศิริ สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานผีเสื้อกลางคืนสกุล *Parapoynx* ให้ทราบชนิด พืชอาหาร และเขตการแพร่กระจาย เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานศึกษาวิจัย การวินิจฉัยชนิดแมลงศัตรูพืช รวมถึงการจำทำรายชื่อแมลงศัตรูพืช ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2556 ถึงเดือนกันยายน 2558 พื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่าของประเทศ นำตัวอย่างที่สำรวจได้มาจำแนกชนิด ใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และ Stereo microscope ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช การศึกษาครั้งนี้ใช้ผีเสื้อกลางคืนสกุล *Parapoynx* จำนวน 68 ตัวอย่าง จำแนกได้ 2 ชนิด ได้แก่ *Parapoynx stagnalis* (Zeller, 1852) เป็นศัตรูสำคัญของจอกหูหนู (*Salvinia cucullata* Roxb. ex Bory) สำรวจพบที่จังหวัด กรุงเทพฯ เชียงใหม่ ฉะเชิงเทรา ชลบุรี กาญจนบุรี และจันทบุรี ; *Parapoynx* sp.1 เก็บตัวอย่างโดยใช้กับดักแสงไฟจากกรุงเทพมหานคร ตัวอย่างผีเสื้อกลางคืนสกุล *Parapoynx* ทั้งหมดที่จำแนกชนิดแล้วนำเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-28-56

คำนำ

ผีเสื้อในสกุล *Parapoynx* เป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดเล็ก จัดอยู่ใน วงศ์ Pyralidae วงศ์ย่อย Nymphulinae เป็นแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญของข้าวและไม้น้ำหลายชนิด หนอนกัดกินส่วนต่างๆ ของพืชที่เจริญเติบโตอยู่ในน้ำ เช่น เหง้า ลำต้น ใบและดอก ทำให้ปริมาณและคุณภาพการผลิตลดลง ส่งผลกระทบต่อเกษตรกรที่ประกอบอาชีพเลี้ยงไม้น้ำเพื่อการค้าในประเทศ รวมถึงการส่งออกไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศ Habeck (1982) รายงานไว้ว่าหนอนในสกุลนี้สามารถกัดกินทำลายไม้น้ำได้ 25 ชนิด ใน 17 วงศ์ เช่น ตาลปัตรฤาษี (Alismataceae) บัวบา (Menyanthaceae) บัวชนิดต่าง ๆ (Nymphaceae) สาหร่าย (Hydrocharitaceae) ผักไผ่น้ำ (Polygonaceae) ฯลฯ ซึ่งเป็นพรรณไม้น้ำที่นิยมเลี้ยงเพื่อการค้าและเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศ การแพร่ระบาดของผีเสื้อสกุลนี้เป็นไปอย่างกว้างขวางไปทั่วโลก เนื่องจากทั้งตัวอ่อน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ติดไปกับไม้น้ำที่มีการขนส่งเพื่อการค้าระหว่างประเทศ โดยหนอนสามารถอาศัยและเจริญเติบโตได้ทั้งในพืชที่อยู่ในน้ำนิ่งและน้ำไหล (McGaha,1972) เนื่องจากระยะหนอนมีการพัฒนาโครงสร้างลำตัวให้มีอวัยวะช่วยในการหายใจ (gill) จึงสามารถอาศัยและเจริญเติบโตในน้ำได้ดี Habeck (1982) ได้รายงานว่า *Parapoynx allionealis* และ *P. obscuralis* ทำลายพืชน้ำได้หลายชนิด ในขณะที่ *P. maculalis* ทำลายเฉพาะพืชในวงศ์ Nymphaceae และ *P. seminealis* ทำลายเฉพาะพืชในวงศ์ Nymphoides ผีเสื้อชนิดนี้พบว่ามีการแพร่ระบาดไปในพื้นที่ที่มีการปลูกข้าวทั่วโลก (Agassiz, 1982) ในออสเตรเลีย พบผีเสื้อในสกุลนี้ 13 ชนิด (Common, 1990) ในรัฐฟลอริดา สหรัฐอเมริกา พบผีเสื้อสกุลนี้ 4 ชนิดที่พบได้บ่อย และอีก 6 ชนิดค่อนข้างหายาก (Munroc, 1972 และ Kimball, 1965) ส่วนในภูมิภาคเอเชีย สำรวจพบที่ จีน ญี่ปุ่น ไต้หวัน บังคลาเทศ ภูฏาน เนปาล ปากีสถาน ศรีลังกากัมพูชา อินเดีย อินโดนีเซีย มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ สิงคโปร์ เวียดนามและประเทศไทย (CABI, 2007)

ดังนั้น ในเบื้องต้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานเพื่อได้ทราบชนิด ลักษณะความแตกต่าง พืชอาหาร และเขตการแพร่กระจายของผีเสื้อในวงศ์ย่อยนี้ เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นด้านกีฏวิทยานำไปสู่การหาวิธีป้องกันกำจัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเป็นพื้นฐานในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเพื่อการนำเข้า ส่งออกผลผลิตการเกษตรต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1) ตัวอย่างผีเสื้อกลางคืน ที่รวบรวมได้จากแปลงปลูกพืช

2) อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ขวดฆ่า ขวดดอง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ซองกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง ถังรักษาความเย็นและเครื่องวัดค่าพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS)

3) สารเคมีต่างที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง เช่น เอทิลอะซีเตท แอลกอฮอล์ 80%

4) อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิม เข็มหมุดหัวกลม ไม้จัดรูปร่างแมลง ปากคีบโหลชื้น ตู้อบแมลง ฯลฯ

5) อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น น้ำกลั่น alcohol 50-100%, sodium hydroxide 10%, clove oil และ canabalsam เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล่องสไลด์ถาวร ตู้อบสไลด์ถาวร

6) กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereomicroscope ,compound microscope และกล้องถ่ายภาพ

7) อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา roting และกระดาษไขเขียนแบบ

8) เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของผีเสื้อกลางคืนในสกุล Parapoynx

วิธีการ

1) สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างผีเสื้อจากแหล่งปลูกพืชทั่วไป ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่าทั่วทุกภาคของประเทศไทย ใช้สวิงจับแมลง (insect net) โฉบ เพื่อเก็บตัวอย่างผีเสื้อในช่วงเวลากลางวัน และติดตั้งกับดักแสงไฟ (light trap) เพื่อดึงดูดผีเสื้อช่วงเวลากลางคืน ฆ่าโดยใช้ขวดฆ่า (killing jar) ซึ่งบรรจุน้ำยา ethyl acetate หลังจากผีเสื้อตายแล้ว ใช้เข็มไร้สนิม (stainless steel) ปักกลางอกด้านบนเพื่อรักษาตัวอย่างไม่ให้เสียหาย บันทึกรายละเอียด พืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่เก็บตัวอย่างวัดค่าพิกัดภูมิศาสตร์ และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง นำตัวอย่างใส่กล่อง เก็บรวมไว้ในกล่องรักษาความเย็นเพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างเน่าเสีย นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการ นอกจากตัวอย่างผีเสื้อที่ได้จากสภาพธรรมชาติแล้ว มีตัวอย่างผีเสื้อที่มีอยู่เดิมในพิพิธภัณฑ์ กรมวิชาการเกษตร ตัวอย่างที่ได้รับจากนักวิชาการ และตัวอย่างจากผู้มาขอรับบริการตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด เพื่อใช้ในการศึกษาครั้งนี้ด้วย

2) นำตัวอย่างผีเสื้อที่ได้จากการสำรวจ มาจัดรูปร่าง บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) จัดปีกให้กางออกโดยให้ขอบล่างของปีกคู่หน้าตั้งฉากกับลำตัว ขอบบนของปีกคู่หลังอยู่ใต้ขอบล่างของปีกคู่หน้า นำไปอบให้แห้งในตู้อบ (oven) ปรับอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 15-30 วัน ขึ้นกับขนาดตัวอย่าง

3) นำตัวอย่างผีเสื้อที่รวบรวมได้มาตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด โดยดูลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น ขนาดลำตัว รูปร่าง ลักษณะและสี เป็นต้น โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิด ผีเสื้อกลางคืนสกุล Parapoynx ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ ในผีเสื้อบางชนิดซึ่งมีลักษณะภายนอกใกล้เคียงกันมากต้องใช้อวัยวะสืบพันธุ์เพศในการจำแนก ซึ่งมีขั้นตอนการทำสไลด์ดังนี้

- ตัดส่วนท้องของผีเสื้อ แช่ในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 10 % ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง หรือต้มในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 10 % ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 – 20 นาที

- ดูดสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ออก เติมน้ำกลั่นเพื่อล้างโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ยังหลงเหลืออยู่ออกให้หมด ทำซ้ำอีก 1-2 ครั้ง ย้อมสีด้วยเกจส์สเตน (Gage’s slain) ซึ่งเป็นสารละลายของแอซิตฟุซซิน 0.5 กรัม กรดเกลือ 10% 25 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร แช่ทิ้งไว้ นาน 2-3 นาทีหรือนานถึง 12 ชั่วโมง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์ของตัวอย่างผีเสื้อที่จะติดสีได้ง่ายหรือยาก

- ย้ายตัวอย่างลงในน้ำกลั่นเพื่อทำการผ่าเอาอวัยวะสืบพันธุ์ออกจากท้อง ถ้าเป็นเพศผู้ใช้ปากคีบปลายแหลมดึงอวัยวะสืบพันธุ์ออกจากท้องได้เลย แต่ถ้าเป็นเพศเมียใช้มีดผ่าตัดผ่าผนังลำตัว

ด้านข้างออกเพื่อป้องกันการเสียหายของอวัยวะสืบพันธุ์ ใช้พู่กันและปากคีบปลายแหลมทำความสะอาดไขมันส่วนเกินออกให้หมด

- ย้ายตัวอย่างลงแอลกอฮอล์ 30% จัดรูปร่างอวัยวะสืบพันธุ์ ให้ได้ตามลักษณะที่ต้องการ ย้ายตัวอย่างแช่ในแอลกอฮอล์ 100% กำจัดน้ำออกให้หมด

- เมาท์ลงบนแผ่นสไลด์แก้ว โดยนำอวัยวะสืบพันธุ์ วางบนสไลด์ที่หยดน้ำยา canada balsam แล้วปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ นำไปอบให้แห้งในตู้อบอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 4 - 6 สัปดาห์ จึงนำออกมาศึกษา

4) บันทึกลักษณะสัณฐานวิทยาพร้อมทั้งถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope วาดรูปโดยใช้เครื่องมือ camera lucida ช่วยทำให้ทราบสัดส่วนที่แท้จริงได้ บันทึกรายละเอียดบนแผ่นป้ายบันทึกของผีเสื้อ แต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ วัน/เดือน/ปี สถานที่พบตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

5) จัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) สกุลและชนิดของผีเสื้อกลางคืนสกุล Parapoynx ที่รวบรวมได้พร้อมภาพประกอบ

6) จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของการเก็บรักษาตัวอย่างแมลง (ผีเสื้อกลางคืนสกุล Parapoynx ทุกชนิดที่รายงานไว้ต้องเก็บรักษาตัวอย่างจริงไว้เพื่อการตรวจสอบ สืบค้น และอ้างอิงในภายหลัง)

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2556 – สิ้นสุด เดือนกันยายน 2558

สถานที่ แหล่งปลูกพืชสำรวจจากพื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่า ของประเทศไทย และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลงกลุ่มกีฏและสัตว์วิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาอนุกรมวิธานผีเสื้อกลางคืนสกุล *Parapoynx* ผลการตรวจวิเคราะห์ตามหลักอนุกรมวิธาน รวมทั้งเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่มีในพิพิธภัณฑ์แมลงของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร สามารถวิเคราะห์ชนิด ได้ 68 ชนิด โดยมีรายละเอียด ดังนี้

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	พืชอาหาร	ส่วนที่ถูกทำลาย	เขตการแพร่กระจาย	จำนวนตัวอย่าง
Parapoynx stagnalis (Zeller, 1852) (Figure 1)	หนอนห่อใบข้าว (The Rice Caseworm)	จอกหูหนู (*Salvinia cucullata* Roxb. ex Bory)	ใบ	กรุงเทพฯ, เชียงใหม่, ฉะเชิงเทรา, ชลบุรี, กาญจนบุรี, จันทบุรี	59
Parapoynx sp.1 (Figure 2)	-	-	-	กรุงเทพฯ	9

สรุปผลการวิจัยและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานผีเสื้อกลางคืนสกุล *Parapoynx* ครั้งนี้ใช้ผีเสื้อที่ได้จากการสำรวจและตัวอย่างที่มีอยู่เดิมในพิพิธภัณฑ์แมลง จำนวน 68 ตัวอย่าง จำแนกได้ 2 ชนิด ได้แก่ *Parapoynx stagnalis* (Zeller, 1852) ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดเล็กเก็บตัวอย่างได้โดยใช้กับดักแสงไฟ การทำลายพืชเกิดในระยะหนอน ซึ่งเป็นศัตรูสำคัญของจอกหูหนู (*Salvinia cucullata* Roxb. ex Bory) โดยหนอนอาศัยกัดกินอยู่ใต้ใบพืชที่จมอยู่ในน้ำ สำรวจพบที่จังหวัด กรุงเทพฯ เชียงใหม่ ฉะเชิงเทรา ชลบุรี กาญจนบุรี และจันทบุรี; *Parapoynx* sp.1 เก็บตัวอย่างโดยใช้กับดักแสงไฟจากกรุงเทพมหานคร ตัวอย่างผีเสื้อกลางคืนสกุล *Parapoynx* ทั้งหมดที่จำแนกชนิดแล้วนำเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

Agassiz D., 1982. Parapoynx stagnalis (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae): acorrection. Entomologist' Gaztte, 33(2): 122. View Abstract

CABI . 2007. The 2007 Edition of the Crop Protection Compendium. CD-ROM. CAB International, Wallingford, UK. CD-ROM.

Common,I.F.B. 1990. Moths of Australia. Melbourne University, Australia . 535 pp.

Habeck D.H., 1982. Caterpillas Of Parapoynx In Relation To Aquatic Plants In Florida. Hyacinth Control J. 12:15-18

Kimball, C.P. 1965. Lepidoptera of Floridae. Pl. Ind., Fla., Dep. Agr. Gainesville, 363 pp.

Magaha,Y.J. 1954. The Contribution to the biology of some Lepidoptera wich feed on certain aquatic flowering plants, Trans. Amer. Micr. Soc. 73: 167-177

Munroc E. 1972. Fascicle I3.I.A. Pyraloidea (in part) in Dominick, R.B.,et al. 1972. The Moths of America Nroth of Mexioco. London, 134 pp.

ภาคผนวก

Figure 1 ตัวเต็มวัย *Parapoynx stagnalis*

Figure 2 ตัวเต็มวัย *Parapoynx* sp.1

อนุกรมวิธานของแตนเบียนไข่วงศ์ใหญ่ Platygastroidea ที่เข้าทำลายหนอนกอข้าว มวนเขียวข้าว และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

Taxonomy and identification of the superfamily Platygastroidea (Hymenoptera, Platygastroidea) attacking rice stem borers, rice stink bugs, and brown plant hoppers

จารุวัตถ์ แต้กุล[1/] ชมัยพร บัวมาศ[1/] เกศสุดา สนศิริ[1/] สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์[1/]
จินตนา ไชยวงค์[2/] วันทนา ศรีรัตนศักดิ์[2/]
[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว

รายงานความก้าวหน้า

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจหลักที่สำคัญของประเทศ ทั้งในแง่การส่งออกและบริโภคภายในประเทศ ปัญหาหลักในระบบการปลูกข้าวในปัจจุบันคือ การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชส่งผลเสียโดยตรงต่อระบบนิเวศเกษตร การใช้แตนเบียนไข่ศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูข้าว ถือเป็นควบคุมแมลงศัตรูข้าวโดยชีววิธีที่สำคัญและมีประโยชน์ การทราบถึงชนิดของแตนเบียนไข่สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อการนำมาใช้ประโยชน์ในอนาคต แต่ทั้งนี้งานอนุกรมวิธานแมลงเพื่อระบุชนิดของแตนเบียนไข่ในแปลงปลูกข้าวในประเทศไทยค่อนข้างน้อย แตนเบียนไข่วงศ์ใหญ่ Platygastroidea เป็นแตนเบียนที่มีความสำคัญเข้าทำลายแมลงอาศัยได้สูงถึง 9 อันดับแต่ยังไม่มีการวิจัยในระดับชนิดของแมลงในกลุ่มนี้ แนวทางการวินิจฉัยในระดับชนิดถือว่าสำคัญยิ่ง เป็นการขยายขอบเขตงานวิจัยในสาขาอื่น ทั้งนี้ความก้าวหน้าของผลการทดลองในระยะเวลา 1 ปี ประกอบด้วยการได้ตัวอย่างแตนเบียนในกลุ่ม Platygastroidea จำนวน 130 ตัวอย่าง แตนเบียนนอกเหนือจากกลุ่ม Platygastroidea จำนวน 200 ตัวอย่าง นำตัวอย่างที่เก็บทั้งหมด มาทำการจัดจำแนกในระดับ วงศ์ วงศ์ย่อย พบว่า วงศ์ย่อย Selioninae จำนวน 98 ตัวอย่าง สกุล *Gryon* จำนวน 35 ตัวอย่าง วงศ์ย่อย Telenominae พบจำนวนสูงถึง 255 ตัวอย่าง ซึ่งส่วนใหญ่แล้วเป็นแตนเบียนไข่ในสกุล *Telenomus* และ *Trissolcus* ขณะนี้กำลังดำเนินการจัดจำแนกในระดับ สกุลและชนิด จัดทำบาร์โค้ดและแทคป้ายชื่อรายละเอียดของแต่ละตัวอย่างเพื่อเป็นฐานข้อมูล จัดเก็บในพิพิธภัณฑ์แมลง

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-29-56

คำนำ

แมลงในกลุ่ม ผึ้ง ต่อ และแตน (Hymenoptera) จัดว่าเป็นแมลงกลุ่มที่มีความสำคัญมากที่สุดในแง่แมลงที่มีประโยชน์ ความหลากชนิดของแมลงในกลุ่มนี้มีมากกว่า 115,000 ชนิด (LaSalle and Gauld, 1993) จากการศึกษาถึงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (phylogenetic position) พบว่า Hymenoptera มีวิวัฒนาการความสัมพันธ์ใกล้เคียงมากที่สุด (sister group) ต่อกลุ่มแมลงที่มีการเจริญเติบโตแบบครบวงจรหรือ Holometabola (Sharkey, 2007; Savard *et al*., 2006) โดยทั่วไปแล้วแมลงในกลุ่มผึ้ง ต่อ แตน แบ่งเป็น 2 กลุ่มหลักได้แก่ กลุ่มกินพืช paraphyletic Symphyta (sawflies, woodwasps) และแมลงผสมเกสร มด และ แตน monophyletic Apocrita ซึ่งประกอบด้วย 2 กลุ่มย่อย monophyletic Aculeata และ polyphyletic Parasitica กลุ่มย่อย Aculeata และ Parasitica เป็นแมลงที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในแง่ใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มแตนเบียน (parasitoids wasps) พบว่าการนำเข้าแตนเบียนเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช (classical biological control) ประสบความสำเร็จสูงถึง 87% จากการนำเข้าแมลงศัตรูธรรมชาติทั้งหมด(Greathead, 1986; Lasalle and Gauld, 1993)แมลงในกลุ่มแตนเบียนมีความน่าสนใจมากที่สุดในกลุ่มแมลงศัตรูธรรมชาติในแง่ของชีววิทยา แมลงในกลุ่มนี้สามารถอาศัยบริโภคอาหารทั้งในตัวเหยื่อ (endoparasitoids) และบนตัวเหยื่อ (ectoparasitoids) แตนเบียนแตกต่างจาก ตัวห้ำและตัวเบียนกล่าวคือ ตัวห้ำ (predator) เข้าทำลายและฆ่าเหยื่อโดยทางตรงและครั้งละหลายตัว ตัวเบียน (parasite) สร้างความรำคาญหรือบาดเจ็บให้กับเหยื่อแต่จะไม่ฆ่าเหยื่อในทางกลับกันแตนเบียน (parasitoids) เข้าทำลายเหยื่อครั้งละ 1 ตัว ตัวอ่อนกัดกินอวัยวะภายในเหยื่อและทำให้เหยื่อตายในที่สุด จำนวนของแตนเบียนภายในเหยื่ออาจแตกต่างกัน มีเพียงแค่ 1 ตัว (solitary) หรือหลายตัว (gregarious)

ความสำคัญของแตนเบียนประกอบไปด้วย 1) ช่วยรักษาสมดุลของระบบนิเวศ แตนเบียนเข้าทำลายเหยื่อจัดเป็นการรักษาระดับการระบาดของแมลง 2) สามารถใช้ในการวัดระดับการแพร่กระจายของแมลง พบว่าหากมีแตนเบียนชนิดใดอยู่เป็นจำนวนมาก อาจมีผลมาจากความอุดมสมบูรณ์ของเหยื่อ 3) การใช้แตนเบียนควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี พบว่าเป็นวิธีการที่ประสบความสำเร็จทั้งแมลงศัตรูทางการเกษตร ป่าไม้ และทางการแพทย์ และยังช่วยลดระดับการใช้สารเคมีควบคุมแมลงศัตรูพืช 4) แมลงศัตรูพืชลดระดับความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลง และในที่สุดแล้ว 5) ช่วยส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม

แตนแบนไข่ คือแตนเบียนที่เข้าทำลายไข่ของเหยื่อ พบว่ามีการใช้แตนเบียนไข่ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีถึง 7 วงศ์ และมี 1 ชนิด ผลิตเพื่อเป็นการค้าและประสบความสำเร็จในการควบคุมแมลงศัตรูพืช ได้แก่ *Trichogramma* (Mills, 2010) ทั้งนี้จากแตนเบียนไข่ที่ถูกค้นพบ แต่ยังมีแตนเบียนไข่อีกหลายชนิดที่อยู่ในธรรมชาติที่ยังไม่มีการค้นพบและศึกษา เห็นได้ชัดจากการค้นพบแตนเบียนไข่ชนิดใหม่ในกลุ่ม Platygastroidea พบว่ามีสูงกว่าเดิมประมาณ 2-20 เท่าของที่มีการค้นพบมาก่อน ตัวอย่างเช่น ในกลุ่ม *Trichoteleia* Kieffer ค้นพบ 42 ชนิดจากเดิมมีรายงานแค่ 2 ชนิด (Talamas *et al*., 2011), ในgenus *Fusicornia* Risbec รายงานว่ามีแมลงชนิดใหม่ถึง 14 ชนิดจากเดิมมีการค้นพบ 6 ชนิด (Taekul *et al*., 2008) จากจำนวนแตนเบียนไข่ที่เพิ่มขึ้นนี้ อาจมีกลุ่มที่มีศักยภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืชที่ยังไม่มีการศึกษาอยู่

แตนเบียนวงศ์ใหญ่ Platygastroidea จัดเป็นแตนเบียนไข่ที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่ง มีการจัดจำแนกสายบรรพบุรุษในกลุ่มเดียวกันกับวงศ์ใหญ่ Prototrupoidea และ Cynipoidea สร้างเครือข่ายความสัมพันธ์ชนิด monophyly (Sharkey, 2007) ระดับการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธาน มีการรวบรวมข้อมูลปัจจุบันใน Hymenoptera On-line database โดย Johnson (2011) มีเพียง 1 วงศ์ได้แก่ Platygastridae ประกอบด้วย 5 วงศ์ย่อยและมีความหลากชนิดดังต่อไปนี้ Platygastrinae (43 genera, 1,491 species), Sceliotrachelinae (28 genera, 119 species), Scelioninae (152 genera, 2,308 species), Teleasinae (12 genera, 504 species), และ Telenominae (20 genera, 886 species) มีเขตการแพร่กระจายครอบคลุมทั่วโลก จากรายงานการศึกษาแมลงในกลุ่มนี้เขตร้อนชื้นเป็นเขตที่ได้มีการศึกษาน้อยที่สุด (Austin *et al.*, 2005) แตนเบียนไข่ Platygastroidea มีศักยภาพสูงในการเข้าทำลายแมลงเหยื่อ พบว่าสามารถเข้าทำลายแมลงถึง 9 อันดับ (Austin *et al.*, 2005) เป็นแตนเบียนไข่กลุ่มที่มีความสำคัญกลุ่มหนึ่งที่ใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีอย่างมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะในวงศ์ย่อย Telenominae สามารถใช้ในการควบคุมแมลงทางชีววิธีในทุกกรรมวิธี (classical, augmentation และ conservation biological control) มีการนำเข้าแตนเบียนไข่ Telenomines มากกว่า 30 ชนิด (classical biological control) และประสบความสำเร็จในการควบคุมแมลงศัตรูพืช (Orr, 1988)

ปัญหาหลักที่ต้องทำการวิจัยนอกจากปัญหาโดยตรงของแมลงศัตรูข้าว ซึ่งนับว่าเป็นพืชเศรษฐกิจหลักของประเทศแล้ว ยังมีปัญหาด้านความหลากชนิดของแมลงในกลุ่มนี้ จากการศึกษาวิจัยในระยะเวลา 5 ปีที่ผ่านมา มีการค้นพบแมลงชนิดใหม่ในวงศ์ Platygastridae มากกว่า 1,000 ชนิด โดยประมาณ โดยเฉพาะจากภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ถึงแม้ว่าศัตรูหลักของแตนเบียนไข่ชนิดนี้คือมวนและเพลี้ยจักจั่น แต่ยังไม่มีรายงานความหลากชนิดทางอนุกรมวิธานในเชิงลึก ของแมลงศัตรูธรรมชาติในกลุ่ม Platygastroidea ในนาข้าวในประเทศไทยมาก่อน

ผลของงานวิจัยนี้ทำให้มีข้อมูลของแตนเบียนศัตรูธรรมชาติ ของแมลงศัตรูข้าว ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อ ประกอบเป็นแนวทางในการควบคุมการระบาดของแมลงศัตรูข้าวในอนาคต ทั้งยังช่วยลดการนำเข้าแตนเบียนจากต่างประเทศเมื่อพบการระบาด นักวิจัยที่ทำงานเกี่ยวข้องกับการควบคุมแมลงศัตรูข้าวโดยชีววิธี สามารถจัดจำแนกชนิดของแตนเบียนไข่ ศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญและพัฒนาเพื่อลดการใช้สารเคมีควบคุมแมลงศัตรูข้าว ทั้งยังส่งผลในการลดความต้านทานต่อสารเคมีของแมลงศัตรูข้าว นอกจากนี้ทำให้เกษตรกรตระหนักถึงแมลงที่มีประโยชน์ที่มีอยู่แล้วตามธรรมชาติในแปลงปลูกข้าว ทั้งนี้หากมีการค้นพบแตนเบียนไข่ของแมลงศัตรูข้าวคาดว่าจะนำประโยชน์อย่างใหญ่หลวงมาสู่ประเทศไทย

วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้คือ เพื่อทราบชนิด ชื่อวิทยาศาสตร์ ลักษณะความแตกต่างทางสัณฐานวิทยา ของแตนเบียนไข่วงศ์ใหญ่ Platygastroidea รวมทั้งการได้ตัวอย่างแตนเบียนไข่เก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กับดักแมลงประกอบไปด้วย Yellow pan trap, Malaise trap, Slam trap, สวิง
2. ethanol ความเข้มข้น 95% เพื่อใช้ในการจัดเก็บตัวอย่างสดของแมลง
3. กระดาษคุณภาพสูงเพื่อการจดบันทึก specimens
4. อุปกรณ์บันทึกเขตการแพร่กระจายในระดับละเอียด (GPS)
5. Forceps ขนาดเล็ก
6. ขวดแก้วขนาดเล็กสำหรับตัวอย่างสด
7. กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope แว่นขยายขนาด 10 เท่าขึ้นไป
8. สารเคมีในการทำแห้งตัวอย่างแมลง
9. พัดลมดูดอากาศ (Laminar Flow Clean Air Bench)
10. โรงเรือนด้านข้างเป็นตาข่ายตาถี่ หลังคาคลุมพลาสติก สำหรับเพาะเลี้ยงเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และมวนเขียวข้าว
11. โรงเรือนทดลอง
12. กล้องจุลทรรศน์สเตริโอแบบกำลังขยายสูงสำหรับงานทางอนุกรมวิธานแมลง Leica M205 C พร้อมเลนซ์ Planapo Objective 1.0x

วิธีการ

<u>การเก็บและรักษาตัวอย่างแตนเบียนไข่ (Acquisition of research material)</u>

ตัวอย่างแมลงจะถูกเก็บโดย 2 กรรมวิธีประกอบไปด้วย การเก็บตัวอย่างแห้งและการเก็บตัวอย่างสดเพื่องานวิจัยทางชีวโมเลกุล ใช้ 4 วิธีพื้นฐานทางกีฏวิทยาในการเก็บตัวอย่างได้แก่ สวิงโฉบแมลง yellow pan traps, Malaise trap และ Slam trap. การใช้ yellow pan trap จะทำการเก็บแมลงทุกวัน สำหรับ Malaise trap และ Slam trap สามารถเว้นระยะเวลา 5-10 วัน นำแมลงออกจากกับดักโดยใช้ ตาข่ายความละเอียดพิเศษ (fine-mesh aquarium net) เก็บใน 95% ethanol หลังจากนั้นเก็บรักษาตัวอย่างในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -15 องศาเซลเซียส รอเพื่อเตรียมตัวอย่างแห้ง หรือทั้งนี้สำหรับตัวอย่างบางส่วน สามารถนำมาสกัด ดี เอ็น เอ ต่อไป

<u>การจัดจำแนกโดยศึกษาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา</u>

แมลงที่เก็บได้จากแปลงปลูกข้าวทั้งในและนอกฤดูปลูก จะถูกจัดจำแนกในระดับอันดับ (order) นับจำนวนของแมลงในแต่ละอันดับในแต่ละครั้งที่ทำการเก็บตัวอย่าง ทั้งนี้เพื่อศึกษาถึงศักยภาพของกับดัก วิธีการเก็บแมลง แมลงในกลุ่มเป้าหมาย Hymenoptera จะถูกแยกกลุ่มในระดับ Superfamily การจัดแบ่งในหมวด วงศ์และสกุล (Family และ genus) ดำเนินการเฉพาะในกลุ่มที่ต้องการศึกษา Chalcidoidea (Trichogrammatidae) และ Platygastroidea (Platygastridae) เอกสารหลักที่ใช้ในการจัดจำแนกได้แก่ “Hymenoptera of the world: an identification guide to families” (Masner 1993) และความร่วมมือจากนักวิจัยจากประเทศแคนนาดา (*CNCI*:*Canadian* National *Collection* of *Insects)* การศึกษาภายใต้กล้อง stereo microscope ใช้โปรแกรมการถ่ายภาพ AutoMontage หรือ Cartograph extended-focus โดยใช้ JVC KY-F75U digital camera, Leica Z16 APOA สำหรับการถ่ายภาพและการวัดระยะโดยได้รับความร่วมมือจาก Platygastroid PBI project ประเทศ สหรัฐอเมริกา

ลักษณะทางสันฐานวิทยาที่ใช้ในการทดลอง

ลักษณะและคำศัพท์ทางสันฐานวิทยาที่ใช้ในการทดลอง: A1, A2, ... A12: antennomere 1, 2, ...12; claval formula (ลักษณะเฉพาะของแมลงในกลุ่มนี้คือ multiporous basiconic sensilla ส่วนล่างหนวดของแมลงเพศเมีย (Bin, 1982); POL: posterior ocellar line, ระยะที่สั้นที่สุดระหว่าง inner margins of posterior ocelli; OOL: ocular ocellar line, ระยะที่สั้นที่สุดจาก inner orbit และ outer margin ของ lateral ocellus (Masner, 1980); T1, T2, ... T7: metasomal tergite 1, 2, ... 7. ลักษณะทาสัณฐานวิทยานอกเหนือจากนี้อ้างอิงจาก Masner (1980) และ Mikó *et al*. (2007).

การลงทะเบียนและระบบฐานข้อมูลแตนเบียนไข่ในประเทศไทย

หากมีการค้นพบชื่อวิทยาศาสตร์ชนิดใหม่ของโลกจะมีการตีพิมพ์และขึ้นทะเบียนกับ IZCN-Zoobank (Polaszek et al. 2005) รวมถึงสถานที่ ที่ค้นพบ รูปแบบการเขียนตีพิมพ์ผลงานวิจัย (taxonomic description) ดำเนินการตามแบบมาตรฐานของ Pyle *et al*. (2008) และ Johnson *et al*. (2008) ตัวอย่างแมลงทั้งหมดจะถูกเก็บรวบรวม พร้อมทั้ง ลงบันทึกเขตการแพร่กระจาย แหล่งที่เก็บ แมลงอาศัย ณ พิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร

เวลาและสถานที่

เริ่มดำเนินการตั้งแต่ ตุลาคม 2555 – กันยายน 2556 โดยทำการเก็บตัวอย่าง ณ พื้นที่ปลูกข้าวที่สำคัญของประเทศไทยอาทิ จังหวัดสุพรรณบุรี สิงห์บุรี ชัยนาท ทั้งฤดูที่มีการปลูกข้าวและไม่มีการปลูกข้าว ทั้งนี้ในนอกฤดูจะทำการเก็บตัวอย่างจากพื้นที่ใกล้เคียงแปลงปลูก เพื่อศึกษาถึง alternative hosts ของแตนเบียน

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ได้เอกสารที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย เกี่ยวกับแตนเบียนศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแตนเบียนในกลุ่ม Ichneumonoidea (Braconidae และ Ichneumonidae) ส่วนในวงศ์ใหญ่ Platygastroidea มีรายงานเพียง 2 ชนิดคือ แตนเบียนไข่และดักแด้ของแมลงบั่ว *Platygaster oryzae* Cameron และ แตนเบียนไข่แมลงหล่า *Psix* sp.

นอกจากนี้ได้ทำการทดลองใช้กับดักแตนเบียนเพื่อศึกษาถึง ลักษณะการนำไปใช้และความเหมาะสมต่อพื้นที่เก็บ พบว่ากับดักแตนเบียนชนิด Malaise trap มีศักยภาพในการดักจับแตนเบียนมากกว่าชนิดอื่น เหมาะสำหรับการติดตั้งตลอดฤดูการปลูกข้าว แต่มีข้อจำกัดในแง่ของการติดตั้งและดูแลรักษาจึงทำให้ไม่เหมาะสมในแง่การสำรวจแตนเบียนไข่ในระยะเวลาสั้น ทั้งนี้กับดักสีเหลือง (yellow pan trap) มีความเหมาะสมในการสำรวจแตนเบียนในระยะเวลาสั้น และครอบคลุมพื้นที่การแพร่กระจายมากกว่า Malaise trap เพื่อทราบถึงระยะเวลาที่เหมาะสมของการปลูกข้าว ในการสำรวจแตนเบียน ทำการติดตั้ง Malaise trap ณ แปลงปลูกข้าวอินทรีย์ สวนเฉลิมพระเกียรติ กรมวิชาการเกษตร ตลอดระยะเวลาปลูก ทำการเก็บแตนเบียน 2 วันต่อสัปดาห์ พบว่าระยะที่ข้าวตั้งท้องเป็นระยะที่มีการระบาดของแมลงศัตรูข้าวสูงและพบปริมาณของแตนเบียนกลุ่ม Platygastroidea สูงเช่นกัน จึงใช้ระยะการปลูกข้าวระยะนี้เป็นระยะมาตรฐานในการสำรวจต่อไป

ดำเนินการเก็บตัวอย่างในแปลงปลูกข้าวระยะตั้งท้อง เขตจังหวัด สุพรรณบุรี ชัยนาท อยุทธยา อ่างทอง โดยใช้กับดักสีเหลือง Yellow Pan Trap ดำเนินการ 20 จุด จุดละ 10-15 กับดัก จากเดือน มีนาคม – มิถุนายน 56 พบว่าส่วนใหญ่เป็นแตนเบียนในวงศ์ย่อย Scelioninae และแตนเบียนไข่ในวงศ์ใหญ่ Chalcidoidea แตนเบียนส่วนใหญ่พบในแหล่งปลูกข้าวที่ไม่ใช้สารเคมีควบคุมศัตรูพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแหล่งปลูกข้าวติดกับพื้นที่ป่าดิบชื้น

วาง Malaise Trap ในแปลงเฝ้าระวังศัตรูพืช ในระยะก่อนฤดูปลูกข้าวจำนวน 1 จุด และในแปลงทดลองปลูกปกติจำนวน 1 จุด ดำเนินการ ณ ศูนย์วิจัยข้าว กรมการข้าว จังหวัดชัยนาท พบว่าแตนเบียนส่วนใหญ่อยู่ในวงศ์ย่อย Telenominae ทั้งนี้ยังพบแตนเบียนวงศ์ใหญ่ Evanoidea ซึ่งเป็นแตนเบียนไข่ของแมลงในกลุ่มแมลงสาบ (Orthoptera) ซึ่งตรงกับแมลงแกลบซึ่งเป็นแมลงส่วนใหญ่ที่พบในกับดัก

ความก้าวหน้าผลการทดลองกล่าวคือ ได้ตัวอย่างแตนเบียนในกลุ่ม Platygastroidea จำนวน 130 ตัวอย่างแตนเบียนนอกเหนือจากกลุ่ม Platygastroidea จำนวน 200 ตัวอย่าง นำตัวอย่างที่เก็บทั้งหมด มาทำการจัดจำแนกในระดับสูง (Higher level Classification) ประกอบด้วยระดับ วงศ์ วงศ์ย่อย ได้ผลการทดลองกล่าวคือ วงศ์ย่อย Selioninae จำนวน 98 ตัวอย่าง สกุล *Gryon* จำนวน 35 ตัวอย่าง และสกุลอื่นๆ เช่น *Calliscelio*, *Idris*, *Calloteleia*, *Triteleia* ในวงศ์ย่อย Telenominae จำนวน 255 ตัวอย่าง ซึ่งส่วนใหญ่แล้วเป็นแตนเบียนไข่ในสกุล *Telenomus* และ *Trissolcus* พบแตนเบียนซึ่งส่วนใหญ่เป็นศัตรูพืชในวงศ์ใหญ่ Cynipoidea จำนวน 26 ตัวอย่าง ขณะนี้กำลังดำเนินการจัดจำแนกในระดับ สกุลและชนิดต่อไป จัดทำบาร์โค้ดและแทคป้ายชื่อรายละเอียดของแต่ละตัวอย่างเพื่อจัดเก็บในระบบฐานข้อมูลท้องถิ่นของพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร (local database)

จากรายงานโดย Yasumatsu *et al*. (1975) เกี่ยวกับการสำรวจแมลงศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญและพบว่าในวงศ์ใหญ่ Platygastroidea รายงานการพบแตนเบียนกลุ่มนี้ถึง 5 ชนิดได้แก่ *Telenomus rowani* Gahan, *Telenomus dignoides* Nixon, *Platyscelio abnormis* Crawford, *Gryon nixoni* Masner, และ *Platygaster oryzae* (Cameron) ทั้งนี้จากการสำรวจและเก็บรวมแตนเบียนไข่ พบว่ามีสกุลและชนิดที่ไม่เคยมีการค้นพบมาก่อนในประเทศไทย อาทิเช่น *Calliscelio* sp. Ashmead, *Trissolcus* sp. Ashmead, *Psix* sp. Kozlov ขณะนี้กำลังศึกษาเกี่ยวกับอนุกรมวิธานของแตนเบียนไข่ในสกุลที่สำคัญในแปลงปลูกข้าว ซึ่งประกอบไปด้วย *Gryon*, *Telenomus*, และ *Trissolcus* ได้ลักษณะเฉพาะของสกุลโดยสรุปดังนี้

Gryon ลักษณะโดยรวมใบหน้าหรือ Frons ส่วนใหญ่ไม่มีรอยกดยุบลงไป (depression) ในบางตัวอย่างพบรอยนูนตรงกลางใบหน้า Palpal furmula 2-1 หรือ 2-2 ปล้องหนวดทั้งเพศผู้และเพศเมียมีทั้งสิ้น 12 ปล้อง ไม่มี Prepectus และ Skaphion เส้น submarginal vein ในปีกคู่หลังสมบูรณ์บรรจบส่วนที่เรียกว่า frenal hooks ลักษณะลำตัวใหญ่ หนา มีขนาดโดยเฉลี่ย 5 มิลลิเมตร ส่วนท้องปล้องที่ 2 (T2) มีขนาดยาวกว่าท้องปล้องที่ 3 (T3) ส่วนท้งทั้งหมดสั้นป้อม ปล้องท้องด้านข้างลำตัว (laterotergites) สั้นและฝังลงไปในส่วนของปล้องท้องด้านล่าง (sternites) ตาเดี่ยวด้านข้าง 1 คู่ (lateral ocelli) ตั้งอยู่ไกล้หรือแนบชิดติดกับขอบด้านนอกของตารวม (inner orbits) scutellum มีลักษระมนไม่มีส่วนยื่น (unarmed) mesoscutellum มีหลายรูปร่างลักษณะ

สกุล *Telenomus* และ *Trissolcus* เป็นสกุลหลักในวงศ์ย่อย Telenominae ซึ่งสามารถแยกออกจากสกุลย่อยอื่นได้จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญคือ ปล้องท้องด้านข้าง metasomal

laterotergites เกาะยึดติดกับปล้องท้องส่วนล่าง sternite อย่างหลวมหลวม ดังนั้นจึงทำให้ไม่มีสันด้านข้างลำตัวเหมือนกับวงศ์ย่อยอื่นๆ ปล้องท้องปล้องที่ 2 (T2) มีขนาดใหญ่และยาวที่สุดของปล้องท้องทั้งหมด ปล้องหนวดเพศเมียมี 11 ปล้อง มีน้อยชนิดมากที่มี 10 ปล้อง เพศผู้มีปล้องหนวดทั้งสิ้น 12 ปล้อง

Telenomus ลักษณะพื้นผิวผนังบนส่วนหน้า Frons ส่วนใหญ่เรียบและสะท้อนแสง ปราศจากผิวขรุขระ มีขนแซมอยู่ในตารวม เส้น parapsidal line บางหรือบางครั้งมองไม่เห็น ส่วนของปล้องท้องมีมากกว่า 3 ปล้อง ปล้องท้องปล้องที่ 3 (T3) คอดเข้าตามแนวขวาง ส่วนหัวป้อม

Trissolcus ลักษณะพื้นผิวผนังบนส่วนหน้า Frons ส่วนใหญ่แล้วขรุขระอาจมีขนหรือไม่มีขน ตารวมเรียบไม่มีขนในตา เส้น parapsidal line เป็นร่องลึกเห็นได้อย่างชัดเจน ส่วนท้องส่วนใหญ่เป็นสีดำเกือบทั้งหมด เพศผู้ส่วน scape ของปล้องหนวดขนาดปกติไม่แผ่ขยายออก

Trissolcus sp. Ashmead

Telenomus sp. Haliday

Gryon sp. Haliday

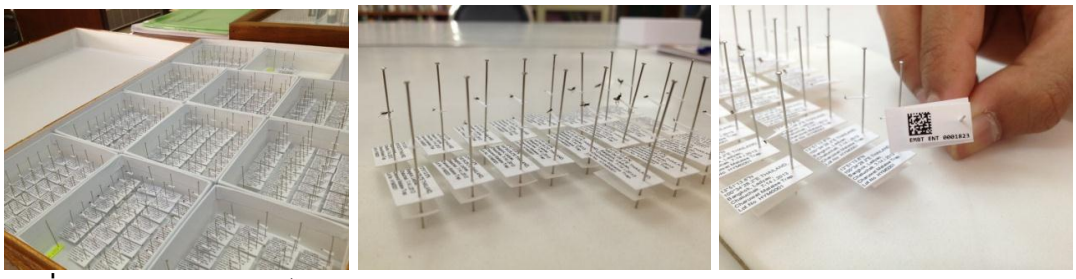
Calliscelio sp. Ashmead

Psix sp. Kozlov

รูปที่ 1 แตนเบียนไข่วงศ์ใหญ่ Platygastroidea สกุลที่สำคัญและมีแนวโน้มที่สามารถนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูที่สำคัญในแปลงปลูกข้าว

รูปที่ 2 ลักษณะและทิศทางการวางกับดักสีเหลือง (Yellow Pan Trap) ในแปลงปลูกข้าวเกษตรกร แถบจังหวัดสุพรรณบุรี ชัยนาท

รูปที่ 3 ลักษณะการวาง Malaise Trap ในแปลงเฝ้าระวังศัตรูพืช ในระยะก่อนฤดูปลูกข้าว ณ ศูนย์วิจัยข้าว กรมการข้าว จังหวัดชัยนาท



รูปที่ 4 ตัวอย่างแตนเบียนไข่หลังจากจัดจำแนกในระดับสูง (Higher level Classification) การจัดทำบาร์โค้ดและแทคป้ายชื่อรายละเอียดของแต่ละตัวอย่างเพื่อจัดเก็บในระบบฐานข้อมูลท้องถิ่นของพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร (local database)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

งานวิจัยในระดับพื้นฐานถึงชนิด ของแตนเบียนในแปลงปลูกข้าวในประเทศไทยค่อนข้างน้อย ถึงแม้ข้าวจะเป็นพืชเศษฐกิจส่งออกที่สำคัญของประเทศ และมีการรณรงค์ลดการใช้สารเคมีในแปลงปลูกข้าวอย่างกว้างขวาง งานอนุกรมวิธานในระดับชนิดของแตนเบียนไข่ในแปลงปลูกข้าวในประเทศไทย ถูกสำรวจและวิจัยโดย Yasumatsu *et al*. (1975) พบว่าศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญในวงศ์ใหญ่ Platygastroidea มีถึง 5 ชนิดได้แก่ *Telenomus rowani* Gahan, *Telenomus dignoides* Nixon, *Platyscelio abnormis* Crawford, *Gryon nixoni* Masner, และ *Platygaster oryzae* (Cameron) ส่วนกรมการข้าวศึกษาเพียงระดับสกุลและการนำไปใช้ประโยชน์ ศึกษาจากงานวิจัยและแนวทางการวินิจฉัยจากเอกสารวิชาการจากต่างประเทศ ผลการทดลองในครั้งนี้ถือว่ามีบทบาทที่สำคัญยิ่ง ในการขยายและสนับสนุนขอบเขตงานวิจัย ทั้งนี้ความก้าวหน้าผลการทดลองในระยะเวลา 1 ปี ประกอบด้วยการได้ตัวอย่างแตนเบียนในกลุ่ม Platygastroidea จำนวน 130 ตัวอย่าง แตนเบียนนอกเหนือจากกลุ่ม Platygastroidea จำนวน 200 ตัวอย่าง นำตัวอย่างที่เก็บทั้งหมด มาทำการจัดจำแนกในระดับสูง (Higher level Classification) ประกอบด้วยระดับวงศ์ วงศ์ย่อย พบว่า วงศ์ย่อย Selioninae จำนวน 98 ตัวอย่าง สกุล *Gryon* จำนวน 35 ตัวอย่าง และสกุลอื่นๆ เช่น *Calliscelio*, *Idris*, *Calloteleia*, *Triteleia* อย่างละ 2 – 3 ตัวอย่าง ส่วนในวงศ์ย่อย Telenominae พบจำนวนสูงถึง 255 ตัวอย่าง ซึ่งส่วนใหญ่แล้วเป็นแตนเบียนไข่ในสกุล *Telenomus* และ *Trissolcus* พบแตนเบียนซึ่งส่วนใหญ่เป็นศัตรูพืชในวงศ์ใหญ่ Cynipoidea จำนวน 26 ตัวอย่าง ขณะนี้กำลังดำเนินการจัดจำแนกในระดับ สกุลและชนิดต่อไป จัดทำบาร์โค้ดและแทคป้ายชื่อรายละเอียดของแต่ละตัวอย่างเพื่อจัดเก็บในระบบฐานข้อมูลท้องถิ่นของพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร (local database)

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณชัยรัตน์ จันทร์หนู ศูนย์วิจัยข้าวชัยนาท กรมการข้าว จังหวัดชัยนาท ผู้ช่วยนักวิจัย กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง ทั้งในแง่การติดตั้งเก็บตั้งกับดัก Malaise trap การวางกับดักสีเหลือง Yellow Pan Trap (YPT)

เอกสารอ้างอิง

Austin, A. D., N. F. Johnson, and M. Dowton. 2005. Systematics, evolution, and biology of scelionid and platygastrid wasp (Hymenoptera). Annual Review of Entomology. 50: 553–582.

Bin, F. and N.F. Johnson. 1982. Potential of Telenominae in biocontrol with egg parasitoids (Hym.,Scelionidae). pp. 275–287. *In*: Institut National de la Recherche Agronomique. 1982. Les trichogrammes. Ier symposium international, Antibes, 20–23 avril 1982. Les Colloques de l'INRA.

Greathead, D.J. 1986. Parasitoids in classical biological control. pp. 289–318. *In*: Waage, J. and Greathead, D.J. (Eds), *Insect Parasitoids.* Academic Press, London.

Johnson, N. F. 2011. Hymenoptera (Online). Available. http://hol.osu.edu/ (5 May, 2011).

Johnson, N.F., L. Masner, L. Musetti, L., S. Van Noort, K. Rajmohana, D.C. Darling, A.E. Guidotti and A. Polaszek. 2008. Revision of world species of the genus *Heptascelio* Kieffer (Hymenoptera: Platygastroidea, Platygastridae). Zootaxa. 1776: 1–51.

LaSalle, J. and I.D. Gauld 1993. Hymenoptera: their diversity, and their impact on the diversity of other organisms. pp. 1–26. *In*: LaSalle J., Gauld I.D. (Eds), Hymenoptera and Biodiversity. CAB International, Wallingford, UK.

Masner, L. 1980. Key to genera of Scelionidae of the Holarctic region, with descriptions of new genera and species (Hymenoptera: Proctotrupoidea). Memoirs of the Entomological Society of Canada. 1(13): 1–54.

Masner, L. 1993. Superfamily Platygastroidea, pp. 559-563. *In*: Goulet H., and J.T. Huber [eds.], Hymenoptera of the World: An Identification Guide to Families. Ottawa, Agric. Canada.

Mikó, I., L. Vilhelmsen, N.F. Johnson, L. Masner and Z. Pénzes 2007. Skeletomusculature of Scelionidae (Hymenoptera: Platygastroidea): head and mesosoma. Zootaxa. 1571: 1–78.

Mills, N. 2010. Egg parasitoids in biological control and integrated pest management. pp. 389–409. *In*: Consoli, F.L. et al. (Eds), Egg parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on *Trichogramma*. Springer Science & Business Media B.V. US.

Orr, D. B. 1988. Scelionid wasps as biological control agents: a review. The Florida Entomologist. 71(4): 506-528.

Polaszek, A., D. Agosti, M. Alonso-Zarazaga, G. Beccaloni, P. de Place Bjørn, P. Bouchet, D.J. Brothers Earl of Cranbrook, N.L. Evenhuis, H.C.J. Godfray, N.F. Johnson, F-K Krell, D. Lipscomb, C.H.C. Lyal, G.M. Mace, S. Mawatari, S.E. Miller, A. Minelli, S. Morris, P.K.L. Ng, D.J. Patterson, R.L. Pyle, N. Robinson, L. Rogo, J. Taverne, F.C. Thompson, J. van Tol, Q.D. Wheeler and E.O. Wilson. 2005. A universal register for animal names. Nature 437: 477.

Pyle, R.L., J.L. Earle and B.D. Greene. 2008. Five new species of the damselfish genus *Chromis* (Perciform es: Labroidei: Pomacentridae) from deep coral reefs in the tropical western Pacific. Zootaxa. 1671: 3–31.

Savard, J., T. Diethard, S. Richards, G.M. Weinstock, R.A. Gibbs, J.H. Werren, H. Tettelin and M.J. Lercher. 2006. Phylogenetic analysis reveals bees and wasps (Hymenoptera) at the base of the radiation of holometabolous insects. Genome Research. 16:1334–1338.

Sharkey, M.J. 2007. Phylogeny and classification of Hymenoptera. Zootaxa. 1668: 521–548.

Taekul, C., N.F. Johnson, L. Masner, K. Rajmohana, and C. Shu–pei. 2008. Revision of the world species of the genus *Fusicornia* Risbec (Hymenoptera: Platygastridae, Scelioninae). Zootaxa. 1966: 1–52.

Talamas, E.J., L. Masner, and N.F. Johnson. 2011. Revision of the Malagasy genus *Trichoteleia* Kieffer (Hymenoptera, Platygastroidea, Platygastridae). ZooKeys. 80: 1–126.

Yasumatsu, K., T. Wongsiri, S. Navavichit, and C. Tirawat. 1975. Approach toward an integrated control of rice pests; Part 1: Survey of natural enemies of important rice pests in Thailand. Plant Protection Service Technical Bulletin No. 24. 22 pp.

สัณฐานวิทยาและลำดับพันธุกรรมของเพลี้ยไฟดอกไม้ *Frankliniella schultzei* (Trybom)

Morphology and DNA Sequence of Common Blossom Thrips; *Frankliniella schultzei* (Trybom)

อิทธิพล บรรณาการ จารุวัตถ์ แต้กุล สุนัดดา เชาวลิต ชมัยพร บัวมาศ ชฎาภรณ์ เฉลิมวิเชียรพร เกศสุดา สนศิริ สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจ รวบรวมเพลี้ยไฟในแหล่งปลูกพืชต่างๆ เช่น มะเขือ ข้าวโพด หอม พืชตระกูลแตง และไม้ดอก ไม้ประดับ ในพื้นที่ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ ระหว่างเดือนตุลาคม 2555 ถึง เดือนกันยายน 2556 นำตัวอย่างเพลี้ยไฟที่รวบรวมได้มาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน เพื่อตรวจจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สามารถจำแนกชนิดเพลี้ยไฟดอกไม้ได้ 125 ตัวอย่าง ซึ่งอยู่ในอันดับ Thysanoptera วงศ์ Thripidae ชื่อวิทยาศาสตร์ *Frankliniella schultzei* Trybom ทำให้ทราบถึงพืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย และได้ตัวอย่างเพลี้ยไฟดอกไม้ที่ถูกต้องสำหรับใช้ทำการทดลองหาลำดับพันธุกรรมต่อไป การทดลองเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุดต้องดำเนินการต่อในปี 2557

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-30-56

คำนำ

ปัจจุบันความรู้ทางด้านอณูชีววิทยาได้ก้าวหน้าไปอย่างมาก และมีบทบาทสำคัญในการวินิจฉัยด้านต่างๆ มากขึ้นเรื่อยๆ ให้ผลการวินิจฉัยที่รวดเร็วและถูกต้องกว่า ทำให้เทคนิคทางอณูชีววิทยาได้ถูกพัฒนานำมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ มากมาย รวมทั้งด้านการหาลำดับพันธุกรรม (DNA Sequencing) ของแมลง และ Phylogeny ของแมลง เช่น แมลงสาบ ตั๊กแตน และปลวก (Srinivas, 1995) เพลี้ยไฟดอกไม้ (Common Blossom Thrips) เป็นเพลี้ยไฟชนิดที่เป็นศัตรูพืชสำคัญของพืชหลายชนิด อาทิ ข้าวฟ่าง ถั่วลิสง ฝ้าย พริก หอมใหญ่ และไม้ดอกหลายชนิด บางชนิดเป็นพาหะนำโรค TSWV มาสู่พืชจำพวกถั่วเหลือง (ศิริณี, 2544) แต่จากการเก็บสำรวจรวบตัวอย่างเพลี้ยไฟชนิดนี้ พบว่า เพลี้ยไฟดอกไม้ในเขตภาคเหนือจะมีลำตัวสีเข้ม ในขณะที่เพลี้ยไฟดอกไม้ในเขตภาคกลางจะมีลำตัวสีเหลือง แต่เมื่อนำมาทำสไลด์ถาวรเพื่อจำแนกชนิดแล้วพบว่า เป็นชนิดเดียวกัน การศึกษาลำดับพันธุกรรมจะทำให้ทราบถึงความแปรปรวนของลำดับยีนของเพลี้ยไฟดอกไม้ในแต่ละพื้นที่ ฉะนั้นการศึกษาลำดับพันธุกรรมของเพลี้ยไฟดอกไม้จึงมีบทบาทสำคัญในการช่วยวินิจฉัยชนิด และให้ผลการจำแนกชนิดถูกต้องแม่นยำ มีความสะดวกรวดเร็ว อีกทั้งผลการศึกษายังเป็นที่ยอมรับในระดับสากล การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) ควบคู่กับการศึกษาลำดับพันธุกรรม จะช่วยแก้ปัญหาในการตรวจวินิจฉัยชนิดเพลี้ยไฟดอกไม้ที่มีสีของลำตัวแตกต่างกัน และมีข้อได้เปรียบเรื่องการได้มาของข้อมูลซึ่งไม่มีหน่วยงานอื่นในประเทศทำวิจัยเชิงลึกเช่นนี้ อีกทั้งยังเป็นการริเริ่มการวิเคราะห์ชนิดศัตรูพืชโดยวิธีใหม่ที่ทันสมัย สามารถเผยแพร่วิธีการและผลการศึกษาให้กับเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชสำหรับใช้ตรวจวินิจฉัยชนิดแมลงทั้งในระยะไข่และตัวอ่อนได้อย่างทันต่อเหตุการณ์ ช่วยลดระยะเวลาการกักเก็บสินค้าเพื่อตรวจสอบ สร้างความน่าเชื่อถือและไม่ส่งผลเสียในภาพรวม ทั้งนี้การหาลำดับพันธุกรรมของเพลี้ยไฟดอกไม้ ที่วิเคราะห์ได้นี้สามารถนำมาศึกษา phylogeny กับเพลี้ยไฟชนิดอื่นๆ ได้ในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ตัวอย่างเพลี้ยไฟที่รวบรวมได้จากแปลงปลูกพืช อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ปากคีบ พู่กัน ขวดดอง กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ถังรักษาความเย็น ฯลฯ อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น น้ำกลั่น แอลกอฮอล์ 50-100%, AGA, โซเดียมไฮดรอกไซด์ 10%, โคลฟออย และ แคนาดาบัลซัม เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล่องสไลด์ถาวร ตู้อบสไลด์ถาวร อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำ PCR ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น แอลกอฮอล์ 99% กรดอะซิติก dNTP mixtures, 10X PCR buffer, Automatic pipette บีกเกอร์ หลอดไมโครเซนตริฟิวจ์ DNA Thermal Cycle เครื่องElectrophoresis, Gel Documentary, Gene Amp PCR กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope ที่ติด camera lucida เป็นอุปกรณ์เสริมช่วยในการวาดภาพแมลงที่พบ กล้องถ่ายภาพ อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotring และกระดาษไขเขียนแบบ

วิธีการ

การศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน

สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยไฟในแหล่งปลูกพืชต่างๆ ทุกภูมิภาคของประเทศไทย เพื่อศึกษาความแปรปรวนของลำดับพันธุกรรมของเพลี้ยไฟดอกไม้ ในพื้นที่ภูมิภาคเดียวกันและระหว่างภูมิภาค โดยใช้วิธีการตีหรือเขย่าส่วนของพืชเช่น ใบ และดอก ให้เพลี้ยไฟตกลงบนกระดาษขาวที่รองรับ และใช้พู่กันเขี่ยเพลี้ยไฟแต่ละตัวลงในขวดที่บรรจุน้ำยา AGA สำหรับศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและ แอลกอฮอล์ 95% สำหรับศึกษาลำดับพันธุกรรม รวมทั้งเก็บตัวอย่างที่มีชีวิตด้วย บันทึกรายละเอียดของเพลี้ยไฟที่เก็บได้ เช่น พืชที่เก็บ ส่วนของพืชที่เก็บ สถานที่เก็บ ค่าพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) และชื่อผู้เก็บ ลงในขวดดองเพลี้ยไฟ นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาพฤติกรรมและการเจริญเติบโต และนำตัวเต็มวัยไปทำสไลด์ถาวร

วิธีการทำสไลด์ถาวรของเพลี้ยไฟ มีขั้นตอนดังนี้

- ย้ายตัวอย่างเพลี้ยไฟจากขวดลงเก็บรักษาในแอลกอฮอล์ 60 % แช่ทิ้งไว้อย่างน้อย 24 ชั่วโมง
- ย้ายลงในโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) 5% เพื่อทำให้สีของเพลี้ยไฟจางลง เวลาที่ใช้ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่างเพลี้ยไฟ เจาะส่วนท้องของเพลี้ยไฟบริเวณต้นขาของขาหลังด้วยเข็มแหลมขนาดเล็ก เพื่อให้ของเหลวภายในออกจากตัวเพลี้ยไฟ
- ย้ายเพลี้ยไฟที่เจาะแล้วลงในน้ำกลั่น จากนั้นนำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 50 %ทิ้งไว้ 2 – 3 นาที
- ย้ายลงในแอลกอฮอล์ 60 % ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง
- ย้ายลงในแอลกอฮอล์ 70 % ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง
- ย้ายลงในแอลกอฮอล์ 80 % ทิ้งไว้ 20 นาที
- ย้ายลงในแอลกอฮอล์ 95 % ทิ้งไว้ 10 นาที
- ย้ายลงในแอลกอฮอล์ 100 % ทิ้งไว้ 5 นาที ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง
- ย้ายลงในโคลฟออย (clove oil) เพื่อให้ตัวอย่างของเพลี้ยไฟใส แช่ทิ้งไว้ 20 – 30 นาที
- หยดแคนาดาบัลซัม (Canada balsam) ซึ่งเป็นน้ำยาเมาท์สไลด์ (Mounting media) เพียงเล็กน้อยลงบนแผ่นแก้วปิดสไลด์ ป้ายเพลี้ยไฟลงในหยดแคนาดาบัลซัมลงบนกึ่งกลางของแผ่นสไลด์แก้ว ค่อยๆคว่ำแผ่นสไลด์ช้าๆ จนกระทั่งจรดแผ่นแก้วปิดสไลด์ รีบพลิกแผ่นสไลด์แก้วให้ด้านแผ่นแก้วปิดสไลด์กลับขึ้นด้านบน นำไปอบให้แห้ง

3. วาดภาพลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธานของแมลงที่ได้ศึกษา

13.1.2 การศึกษาลำดับพันธุกรรม

1. นำตัวอย่างเพลี้ยไฟที่ได้จำแนกชนิดเบื้องต้นภายใต้ stereo microscope (ตัวอย่างกลุ่มเดียวกับตัวอย่างที่ใช้ทำสไลด์ถาวร)

2. ศึกษาลำดับพันธุกรรม

วิธีการหาลำดับพันธุกรรมปรับปรุงจากวิธีการศึกษายีน COI ของ Tada (2004)

ขั้นตอนการสกัด ดีเอ็นเอ

- บดตัวอย่างเพลี้ยไฟ 1 ตัวอย่างใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ด้วย sterilized polypropylene pestle ในสารละลาย STE buffer [100 mM NaCl, 10 mM Tris- HCL (pH 8.0), 1 mM EDTA (pH 8.0)] 100 ไมโครลิตร
- นำสารละลายที่ได้ incubated ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส 10 นาที หลังจากนั้นนำเข้าเครื่อง ปั่นแรงเหวี่ยง (centrifuge) ที่ 14,000 รอบ/นาที เวลา 2 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
- ดูดสารละลายส่วนใสที่ได้ 2 ไมโครลิตร เพื่อใช้เป็น DNA Template ในขั้นตอน PCR (polymerase chain reaction)

การศึกษายีน COI โดยเทคนิค PCR

- ศึกษายีน COI (cytochrome oxidase subunit I) ซึ่งมีขนาด 642 bp และเป็น conserved region ของแมลงทุกชนิด (บาร์โค้ด) โดยใช้ primer UEA 7 และ UEA 10 ลำดับของ primer คือ

UEA 7	5’-TACAGTTGGAATAGACGTTGATAC-3’
UEA 10	5’-TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA-3’

- นำสารละลายส่วนใสที่ได้จากข้อ 3 ทำปฏิกิริยากับ 20 µl reaction volumes [12.5 µl ddH_20, 2 µl 10X PCR buffer (Promega), 2 µl 25 mM $MgCl_2$, 0.5 µl dNTP (10 mM each), 0.5 µl 20 mM forward and reverse primers และ *Tag* DNA polymerase 1 unit (Promega) ขั้นตอนและอุณหภูมิของขั้นตอนการทำ PCR คือ

Initial denaturation	ที่ 94 °C	3 นาที	
Denaturation	ที่ 94 °C	1 นาที	35 cycles
Annealing	ที่ 55 °C	1 นาที	
Extension	ที่ 72 °C	1 นาที	
Final extension	ที่ 72 °C	30 นาที	

- หลังจากขั้นตอน PCR นำสารที่ได้ 10 ไมโครลิตรทดสอบใน 1% w/v agarose gel เปรียบเทียบ กับ 100 bp DNA ladder เพื่อหาขนาดของ DNA ที่ได้จากการทำ PCR ว่ามีขนาดประมาณ 700 bp หรือไม่

การหาและวิเคราห์ลำดับเบสของ ยีน COI

- วิเคราะห์ลำดับเบสด้วยเครื่องวิเคราะห์ลำดับเบส นำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ยีนของ NCBI

เวลาและสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2555 ถึง เดือนกันยายน 2556

สถานที่ 1. แปลงปลูกพืชในพื้นที่ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืช ทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและผลวิจารณ์การทดลอง

ได้ตัวอย่างเพลี้ยไฟดอกไม้ 125 ตัวอย่าง ซึ่งอยู่ในอันดับ Thysanoptera วงศ์ Thripidae ชื่อวิทยาศาสตร์ *Frankliniella schultzei* Trybom ทำให้ทราบถึงพืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย และได้ตัวอย่างเพลี้ยไฟดอกไม้ที่ถูกต้องสำหรับใช้ทำการทดลองหาลำดับพันธุกรรมต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาสัณฐานวิทยาและลำดับพันธุกรรมของเพลี้ยไฟดอกไม้ *Frankliniella schultzei* (Trybom) โดยการรวบรวมเพลี้ยไฟในแหล่งปลูกพืชต่างๆ เช่น มะเขือ ข้าวโพด หอม พืชตระกูลแตง และไม้ดอกไม้ประดับ ในพื้นที่ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ ระหว่างเดือนตุลาคม 2555 ถึง เดือนกันยายน 2556 นำตัวอย่างเพลี้ยไฟที่รวบรวมได้มาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน เพื่อตรวจจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สามารถจำแนกชนิดเพลี้ยไฟดอกไม้ได้ 125 ตัวอย่าง ซึ่งอยู่ในอันดับ Thysanoptera วงศ์ Thripidae ชื่อวิทยาศาสตร์ *Frankliniella schultzei* Trybom ทำให้ทราบถึงพืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย และได้ตัวอย่างเพลี้ยไฟดอกไม้ที่ถูกต้องสำหรับใช้ทำการทดลองหาลำดับพันธุกรรมต่อไป การทดลองเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุดต้องดำเนินการต่อในปี 2557

เอกสารอ้างอิง

ศิริณี พูนไชยศรี. 2544. เพลี้ยไฟ *Terebrantia*. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว. กรุงเทพฯ. 75 หน้า.

Palmer, J. M., L. A. Mound and G. J. du Heaunme. 1989. Cie Guides to Insects of Importance to Man. 2. Thysanoptera. C.A.B International Institute of Entomology. British Museum Natural History. 69 p.

ภาคผนวก

ตัวเต็มวัยของ *Frankliniella schultzei* Trybom

ภาพสไลด์ถาวรของ
Frankliniella schultzei Trybom

อนุกรมวิธานไรสี่ขาวงศ์ Eriophyidae ของประเทศไทย
Taxonomic Study of Mite Family Eriophyidae in Thailand.

พลอยชมพู กรวิภาสเรือง มานิตา คงชื่นสิน พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์
วิมลวรรณ โชติวงศ์ อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างไรสี่ขาบนพืชชนิดต่าง ๆ 16 ชนิด ได้แก่ วัชพืช (*Paederia foetida* L.) ตำลึง สะอึก มะพร้าว สะแกนา แฝกหอม ชะพลู บอระเพ็ด ปีบ ผักหวาน ส้ม ส้มเสี้ยว ลำไย สมุนไพรได้แก่ หนามพุงดอ ว่านหางจระเข้ และ ตีนเป็ดน้ำ ในพื้นที่จังหวัดต่าง ๆ ทั้งหมด 10 อำเภอ 9 จังหวัด ได้แก่จาก อ. วังน้ำเขียว จ. นครราชสีมา อ. บ้านแพ้ว จ. สมุทรสาคร อ. บางละมุง อ. สัตหีบ จ. ชลบุรี อ. พุทธมณฑล จ. นครปฐม อ. ด่านมะขามเตี้ย จ. กาญจนบุรี อ. เขาสมิง จ. ตราด อ. เมือง จ. ขอนแก่น อ. บางคล้า จ. ฉะเชิงเท อ. กำแพงแสน จ. นครปฐม และ กรุงเทพฯ จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ มาทำสไลด์ถาวร ด้วยน้ำยา Hoyer 's solution ต้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส แล้วนำมาจำแนกชนิด พบไรสี่ขาในวงศ์ Eriophyidae 7 ชนิด ได้แก่ *Aceria neopaederiae* Konvipasruang et al., *Thacra piperasia* Keifer, *Aceria sarmentosae* Chandrapatya, *Epitrimerus tinosporus* Chandrapatya and Boczek, *Calacarus mellingtoniae* Mohanasundaram, *Abacarus pennatus* Chandrapatyaม *Aceria aloinis* Keifer โดยพบว่า *A. neopaederiae* เป็นไรชนิดใหม่ (new species)

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-31-56

คำนำ

พืชเศรษฐกิจของประเทศไทยหลายชนิดเช่น ลำไย ลิ้นจี่ มะม่วง ส้ม กระท้อน องุ่น อ้อย มะละกอ ถั่วพู ฯลฯ ประสบปัญหาทั้งโรค แมลง และไรเข้าทำลาย โดยส่วนใหญ่การทำลายของโรคและแมลง จะเห็นได้อย่างชัดเจน แต่สำหรับไรในไม้ผลเศรษฐกิจบางชนิด ไม่สามารถทราบได้ หรือเห็นได้อย่างชัดเจนว่าเกิดจากการเข้าทำลายของไร โดยเฉพาะไรสี่ขาซึ่งมีขนาดเล็กมากไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าต้องใช้กล้องที่มีกำลังขยายสูงจึงจะมองเห็น อย่างไรก็ตามจะพบอาการที่เกิดจากการเข้าทำลายของไรบางชนิดได้อย่างชัดเจน เช่น อาการพุ่มแจ้ในลำไย ที่เกิดจากการเข้าทำลายของไร อาการใบเป็นกำมะหยี่ในลิ้นจี่ อาการสนิมที่เกิดในส้ม ซึ่งเมื่อไรเข้าทำลายไม้ผลต่าง ๆ จะทำให้เกิดอาการผิดปกติต่าง ๆ ที่ตามมาคือทำให้ใบพืชที่เกิดการผิดปกติของใบ ผล และผลผลิตลดลง นอกจากนี้ไรสี่ขาอีกหลายชนิดยังนำโรคมาสู่พืชและแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว สร้างความเสียหายให้กับพืชเศรษฐกิจอย่างมาก เช่น ไร *Acaria guerronis* Keifer เป็นไรที่สำคัญในมะพร้าวนำโรคไวรอยด์ที่มีชื่อว่า Cadang Cadangและไร *Aculops lycopersici* (Massee) เป็นไรศัตรูที่สำคัญในมะเขือเทศ มะเขือม่วง มันฝรั่ง ยาสูบ แบ็คเบอรี่ และพืชอื่น ๆ อีกหลายชนิด (Ronald and Stephan, 1994) โดยไรสี่ขาทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นไรศัตรูพืชกักกันที่เป็นสิ่งต้องห้าม ตามพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 (อุดร, 2551) อีกด้วย ดังนั้นการศึกษาอนุกรมวิธานไรสี่ขาในครั้งนี้จึงสามารถทำให้ทราบชื่อวิทยาศาสตร์ของไรสี่ขาในพืชเศรษฐกิจต่าง ๆ ที่อยู่ในวงศ์ Eriophyidae เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางด้านอนุกรมวิธานของไรและมีประโยชน์ในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช และการป้องกันกำจัดในอนาคต

วิธีการดำเนินการ

อุปกรณ์

<u>อุปกรณ์ที่มีอยู่แล้ว</u>

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างไร :ได้แก่ ถุงพลาสติกใสขนาดต่าง ๆ กล่องพลาสติกพู่กันเบอร์ 0, ขวดดองตัวอย่างไร ขนาด 1 แดรม บรรจุแอลกอฮอล์ 70% พู่กัน กล่องพลาสติกรักษาความเย็นขนาด 68 ควอทซ์ แว่นขยาย (กำลังขยาย 20x)

2. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเตรียมตัวอย่างไร เพื่อการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน: ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ (stereo microscope) , โคมไฟ พู่กันเบอร์ 0 เข็มเขี่ยปลายแหลม และปลายงอ สำลี ตู้อบ/เครื่องอุ่นสไลด์ ตั้งอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส แป้นหมุนสำหรับผนึกขอบสไลด์ น้ำยาผนึกขอบสไลด์

3. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการตรวจจำแนกชนิดของไร: ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope สำหรับใช้จำแนกชนิดของไรสี่ขา

<u>อุปกรณ์การวิจัยที่ต้องการเพิ่มเติม</u>

1. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเก็บตัวอย่างไร ได้แก่ ถุงกระดาษ ถุงพลาสติกใสขนาดต่าง ๆ แอลกอฮอล์ 95% และสารเคมีสำหรับดองตัวอย่าง

2. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเตรียมตัวอย่างไร เพื่อการศึกษาลักษณะชนิดของไรศัตรูพืช ได้แก่ แผ่นslide, coverglass, กล่องใส่สไลด์, สารเคมี สำหรับใช้เตรียมน้ำยาเมาท์สไลด์ สำลี น้ำยาสำหรับผนึกขอบสไลด์แผ่นพลาสติกเจาะรู จานแก้ว

วิธีการ

การเก็บตัวอย่างไร

1. โดยเก็บใบ กิ่ง ผล หรือส่วนต่าง ๆ ของพืช ที่แสดงอาการผิดปกติ ลงในกล่องพลาสติกหรือถุงกระดาษพับปากถุง บันทึกข้อมูลเกี่ยวกับตัวอย่างไร เช่น ชื่อพืช ผู้เก็บ สถานที่ที่เก็บตัวอย่างไร บันทึกข้อมูลพิกัด จากนั้นนำตัวอย่างแช่ลงในกระติกน้ำแข็งก่อนนำกลับมายังห้องปฏิบัติการ

2. การทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereomicroscope หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้ชัดเจน โดยจัดท่าทางของไรสี่ขาให้อยู่ในท่าคว่ำ และท่าตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ที่ใช้ในการจำแนก จากนั้นปิดสไลด์ด้วย coverglass ใช้ปากกาเขียนแก้ววงกลมล้อมรอบตัวไรทันที หลังจากทำสไลด์เรียบร้อยแล้ว เพื่อสะดวกในการหาตัวไรได้ง่ายขึ้น นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ coverglass ด้วยน้ำยา ทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บและพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

การศึกษาอนุกรมวิธาน

นำตัวอย่างไรที่ทำสไลด์ถาวรแล้วมาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานภายใต้กล้อง compound microscope จำแนก ชนิด จากตำราต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง วาดรูปแสดงลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนกชนิดพร้อมทั้งทำ key สำหรับใช้ในการจำแนกชนิดของไรสี่ขาในในวงศ์ Eriophyidae ในพืชเศรษฐกิจของประเทศไทยปิดป้ายบันทึกผลการจำแนกไว้ด้านซ้ายมือของแผ่นสไลด์ก่อนที่จะนำเข้าเก็บในพิพิธภัณฑ์

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาทำการวิจัยรวมทั้งสิ้น 3 ปี

ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2555 ถึง 30 กันยายน 2558

สถานที่

กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว

เขตจตุจักร กรุงเทพฯ10900

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและจำแนกชนิดไรสี่ขาพบไรสี่ขาในวงศ์ Eriophyidae 7 ชนิด ได้แก่ *Aceria neopaederiae* Konvipasruang et al. *Thacra piperasia* Keifer, *Aceria sarmentosae* Chandrapatya, *Epitrimerus tinosporus* Chandrapatya and Boczek, *Calacarus mellingtoniae* Mohanasundaram, *Abacarus pennatus* Chandrapatya *Aceria aloinis* Keifer ไรสี่ขาทั้ง 7 ชนิด มีทั้งชนิดที่อาศัยอยู่บนใบพืชโดยไม่ได้เข้าทำลายพืช (free living) ไม่ก่อให้เกิดอาการผิดปกติใด ๆ บนพืชที่อาศัย จากการจำแนกพบไรในกลุ่มนี้จำนวน 3 ชนิดได้แก่

T. piperasia E. tinosporus, C. mellingtoniae, และชนิดที่เข้าทำลายใบพืช ก่อให้เกิดอาการผิดปกติบนใบพืชในแบบต่าง ๆ กัน พบ 4 ชนิดได้แก่ *A. sarmentosae* ทำให้เกิดอาการผิดปกติบนใบโดยเกิดเป็นปุ่มปมบนพืชสมุนไพรที่มีชื่อว่าหนามพุงดอ A. *pennatus* ทำให้เกิดอาการผิดปกติบนยอดชะอม เกิดเป็นปม เป็นก้อน หรือที่ชนิยมนำมารับประทานและเรียกว่าชะอมไข่ A. *neopaederiae* เป็นไรชนิดใหม่ (new speies) ไม่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเนื่องจากเข้าทำลายวัชพืช (*Paederia foetida* L.) ทำให้เกิดลักษณะเป็นปุ่มปมบนใบวัชพืช และไรชนิดนี้เข้าอาศัยอยู่ภายในปุ่มปมนั้น สำหรับชนิดสุดท้ายพบว่ามีความสำคัญทางเศรษฐกิจเนื่องจากเข้าทำลายพืชปลูกประดับจำพวกว่านหางจระเข้ ซึ่งมีการปลูกเป็นการค้า พบว่าไรชนิดนี้เข้าดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณจุดเจริญ และ ตาดอก กระตุ้นทำให้พืชแสดงอาการผิดปกติแคระแกรน หงิกงอ เป็นก้อนปุ่มปม

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

เอกสารอ้างอิง

อุดร อุณหวุฒิ. 2551. การควบคุมการนำเข้าพืชเข้ามาในราชอาณาจักร ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักกพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551. ใน: เอกสารประกอบการสัมมนา “พระราชบัญญัติกักพืชและแนวปฏิบัติที่ใช้ในปัจจุบัน” 6-8 พฤษภาคม 2551 ณ โรงแรมมารวยการ์เด้น กรุงเทพฯ.

Ronald F. L. and Stephan G. L. 1994. *Aculops lycopersici* (Massee). http://www.extento. hawaii.edu/kbase/crop/Type/a_lycope.htm

ศึกษาโครโมโซมและเขตการกระจายของหอยเชอรี่ *Pomacea* spp. ในประเทศไทย

Chromosomal Studies and the Distribution of Golden Apple Snail; *Pomacea* sp. in Thailand

ดาราพร รินทะรักษ์ อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข ณัฐฐิญา กาญจนนิธิพัฒน์
ปราสาททอง พรหมเกิด
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ดำเนินการสำรวจการระบาด/เก็บตัวอย่างและบันทึกพิกัดภูมิศาสตร์พื้นที่ๆเก็บตัวอย่างตามแผนการสำรวจ พบว่าหอยเชอรี่สกุล *Pomacea* มีเขตการกระจายอยู่ทุกภาคของประเทศไทย เมื่อศึกษา feeding behavior พบว่าหอยเชอรี่สามารถกินได้ตลอดเวลา คิดเป็นน้ำหนักอาหารที่กินโดยเฉลี่ย 49.66 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว/ วัน (n=30) หอยเชอรี่จะวางไข่สีชมพูไว้ตามต้นพืชหรือวัสดุที่อยู่เหนือน้ำ ขนาดของกลุ่มไข่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 8.11 - 22.20 ม.ม. ยาว 15.32 - 55.92 ม.ม. เส้นผ่านศูนย์กลางของไข่ 1.65 - 2.49 ม.ม. ไข่หอยเชอรี่มีจำนวน 286 - 4,303 ฟอง เมื่อนำค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่มาคำนวณค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย ANOVA พบว่ามีอย่างน้อย 1 ตัวอย่างที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, 99% และ 99.9% และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของ Tukey's HSD และ Scheffe ที่ระดับความเชื่อมั่น 99.9% พบว่ามีการแบ่งกลุ่มออกเป็นอย่างน้อย 2 กลุ่ม

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยเชอรี่ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้เทคนิค morphometrics ซึ่งขณะนี้กำลังศึกษาจากตัวอย่างหอยบางส่วนที่เก็บจากพื้นที่ภาคเหนือ 60 ตัวอย่าง ภาคใต้ 125 ตัวอย่าง และภาคตะวันตก 60 ตัวอย่าง โดยวัดค่า shell length, shell width, last whorl height, aperture length และ aperture width วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้ ANOVA จากโปรแกรม SPSS จากนั้นนำข้อมูลลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยที่วิเคราะห์แล้วมาเปรียบเทียบเพื่อ*คัดเลือกตัวอย่างที่มีความแตกต่างกัน*ไปศึกษาจำนวนโครโมโซมและการจัดเรียงคาริโอไทป์ในปีต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-33-56

คำนำ

งานทางด้านอนุกรมวิธานของสัตว์ในกลุ่มหอยทาก เดิมจะใช้ข้อมูลเกี่ยวกับสัณฐานวิทยาของเปลือกในการจำแนกเป็นหลัก เช่น รูปทรงเปลือก ทิศของการขดวน ขนาดเปลือก สีสัน และลวดลาย เป็นต้น ซึ่งในบางครั้งทำให้เกิดปัญหาในการจำแนก เนื่องจากเปลือกของหอยทากแต่ละชนิดมีความผันแปรมาก ทำให้การจำแนกชนิดโดยใช้สัณฐานวิทยาของเปลือกเพียงอย่างเดียวมีความซับซ้อนสับสน และขาดความชัดเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่งหอยทากที่มีรูปทรงและขนาดของเปลือกใกล้เคียงกัน เช่น หอยสาลิกา (*Sarika* sp.) และหอย *Macrochlamys* sp. หรือแม้กระทั่งหอยเจดีย์เล็ก, *Lamellaxis gracilis* (Hutton, 1834) และหอยทากกินเนื้อสีชมพู, *Gulella bicolor* (Hutton, 1843) (Dundee and Baerwald, 1984) เป็นต้น ดังนั้นการใช้ลักษณะอื่นๆ อาทิ เช่น การศึกษาระดับโครโมโซม การใช้เทคนิคทางด้านมอร์โฟเมตริก หรือลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ จะช่วยให้การจำแนก มีความชัดเจนและแม่นยำมากยิ่งขึ้น ซึ่งการนำวิธีอื่นๆ มาใช้ในการจำแนก มีผู้ทำการศึกษาไว้ดังนี้

พงษ์รัตน์ และคณะ (2550) ศึกษา spermatogonial metaphase ของหอยทากบก 4 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Ariophantidae , Succineidae, Heliocarionidae และ Achatinidae พบว่าเมื่อพิจารณาถึงจำนวนโครโมโซมของหอยทากบกที่ทำการศึกษาใน 4 วงศ์ ดังกล่าว มีค่าแฮพพลอยด์ (haploid) อยู่ในช่วง n = 24 ถึง n = 33 และข้อมูลเกี่ยวกับจำนวนโครโมโซมสามารถนำมาใช้ในการจำแนกหอยทากบกได้ในระดับวงศ์เท่านั้น โดยแต่ละวงศ์จะมีจำนวนโครโมโซมคงที่ไม่แตกต่างกัน ซึ่งหากจะจำแนกให้ได้ถึงระดับชนิด จะต้องมีการศึกษารูปแบบของคาริโอไทป์ และข้อมูลด้านอื่นๆ สนับสนุน

Robert and Kenneth (2004) รายงานว่า หอยเชอรี่จัดอยู่ในวงศ์ Ampullariidae มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศแถบอเมริกาใต้ และแพร่ระบาดเข้ามาในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้หลายประเทศ รวมทั้งประเทศไทย ปัจจุบันยังมีความสับสนเกี่ยวกับข้อมูลทางด้านอนุกรมวิธาน ซึ่งการใช้สัณฐานวิทยาเพื่อการจำแนกชนิด เพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอ จึงจำแนกโดยใช้ลำดับเบสของ DNA และสามารถระบุได้ว่าหอยเชอรี่ที่พบในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีอย่างน้อย 2 ชนิด คือ *Pomacea canaliculata* และ *Pomacea* sp. และรายงานว่า *P. bridgesii* เป็นชนิดที่พบในประเทศศรีลังกา นอกจากนี้ Brand *et.* al (1990) ได้ศึกษาโครโมโซมของหอยเชอรี่ *P. canaliculata* พบว่าจำนวนโครโมโซมที่เป็นค่าดิพลอยด์ (diploids) ของหอยเชอรี่มีจำนวน 2n=28

Wen and Yen (2004) ศึกษาชีววิทยา และวิเคราะห์จำนวนประชากรของหอยเชอรี่ที่ระบาดและทำความเสียหายต่อระบบเกษตรกรรมในประเทศไต้หวัน พบว่าเป็นหอยเชอรี่ชนิด *P. canaliculata* โดยสันนิษฐานว่าเริ่มมีการระบาดเมื่อ 20 กว่าปีที่ผ่านมา

จากข้อมูลงานวิจัยทางด้านโครโมโซมข้างต้น จะเห็นได้ว่าจำนวนโครโมโซมของหอยทากสามารถนำมาใช้ในการจำแนกหอยทากได้ในระดับวงศ์ (family) เท่านั้น โดยแต่ละวงศ์จะมีจำนวนโครโมโซมคงที่และมีลักษณะเป็นแบบเชิงอนุรักษ์ (conservatism) กล่าวคือหอยที่อยู่ในวงศ์เดียวกันจะมีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน ซึ่งหากจะจำแนกให้ได้ถึงระดับชนิด (species) จะต้องมีการศึกษารูปแบบของการจัดเรียงโครโมโซมหรือคาริโอไทป์ และข้อมูลด้านอื่นๆ สนับสนุน โดยอาศัยหลักทาง

อนุกรมวิธานที่ว่า “คาริโอไทป์ (karyotype) ของสิ่งมีชีวิตเดียวกันจะเหมือนกันและจะแตกต่างกันกับคาริโอไทป์ของสิ่งมีชีวิตต่างชนิดกัน” (Nakamura, 1985)

ปัจจุบัน ในประเทศไทยมีการศึกษาข้อมูลในระดับกายวิภาคและระดับโครโมโซมของหอยทากน้อยมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มของหอยสกุล *Pamacea* ซึ่งจัดเป็นหอยศัตรูพืชที่สำคัญ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ จึงมุ่งเน้นศึกษาอนุกรมวิธานในระดับโครโมโซม ตลอดจนข้อมูลสนับสนุนทางด้านสัณฐานวิทยาของเปลือก และเขตการแพร่กระจายของหอยสกุล *Pamacea* ที่พบในประเทศไทย เพื่อให้ฐานข้อมูลทางด้านอนุกรมวิธานของหอยสกุล *Pamacea* มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- กล่องพลาสติกขนาดต่างๆ /กระดาษเอนกประสงค์ /ไฟฉายและแบตเตอรี่ ตาข่ายกั้นหอยและสวิง สำหรับเก็บตัวอย่างหอย อาหารชนิดเม็ด และผักสด สำหรับเลี้ยงหอย
- เครื่องมือวัดขนาดเปลือกหอย ได้แก่ เวอร์เนียร์
- เครื่องมือวัดอุณหภูมิและค่า pH ของน้ำ
- กล้องถ่ายรูปดิจิทัล และภาพถ่ายโครโมโซมขนาดขยาย 4x6 นิ้ว
- อุปกรณ์สำหรับเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษากายวิภาคและโครโมโซม ได้แก่ ชุด Jar ย้อมสี
- สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมโครโมโซม ได้แก่ 0.01 % Colchicin, Giemsa’s Solution และ Carnoy Fixative Solution

วิธีการ

การดำเนินการทดลองแบ่งเป็น 3 หัวข้อ ดังนี้

1. <u>สำรวจ/ เก็บตัวอย่าง และจัดทำแผนที่การกระจายพันธุ์ของหอยสกุล *Pomacea* .</u>

โดยสำรวจทุกๆ 2 เดือน ตามแหล่งน้ำธรรมชาติ หรือพื้นที่ทำการเกษตร ตามภาคต่างๆของประเทศไทย โดยเก็บตัวอย่างพื้นที่ละ 30 ตัว และบันทึกพิกัดด้วย GPS เพื่อจัดทำแผนที่การกระจายพันธุ์ของหอยสกุล *Pomacea* ด้วยโปรแกรม ArcView หรือ ArcGis จากนั้นนำตัวอย่างมาพักในตู้กระจกขนาด 25x40x26 เซนติเมตร และอ่างซีเมนต์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เมตร เพื่อรอจำแนกชนิดจากลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร โดยให้ผักชนิดต่างๆเป็นอาหาร และเปลี่ยนถ่ายน้ำ สัปดาห์ละ 2 ครั้ง

2. <u>ตรวจสอบชนิดจากสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยสกุล *Pomacea*</u>

นำตัวอย่างที่ได้มาศึกษาสัณฐานวิทยาของเปลือก ด้วยเทคนิคมอร์โฟเมตริก โดยการถ่ายภาพ วาดภาพ และวัดค่า shell length, shell width, last whorl height, aperture length และ aperture width ด้วยเวอร์เนีย จากนั้นจึงเข้าสู่การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้ ANOVA จากโปรแกรม SPSS และวิเคราะห์ชื่อตามระบบอนุกรมวิธานของหอย เปรียบเทียบกับเอกสารหอยทากทั้งในและต่างประเทศ ยึดตามเอกสารของ Abbott (1989), Brand *et*.al (1990) และ Robert and Kenneth (2004) จากนั้นนำข้อมูลลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยเชอรี่ที่วิเคราะห์แล้ว มาเปรียบเทียบเพื่อคัดเลือกเฉพาะตัวอย่างที่มีความแตกต่างกันไปศึกษาจำนวนโครโมโซมและการจัดเรียงคาริโอไทป์ในขั้นตอนต่อไป

3. ขั้นตอนการศึกษาคาริโอไทป์ โดยศึกษาจากเนื้อเยื่อ gill ดังนี้

3.1 Pre-treatment โดยการฉีด 0.01 -0.02 % colchicines จำนวน 1-2 มล. เข้าไปในหอยเชอรี่ เป็นเวลา 3-4 ชม. เพื่อยับยั้งการทำงานของ spindle fiber ในโครโมโซม

3.2 Hypotonic treatment โดยการนำเนื้อเยื่อ gill ของหอย มาแช่ใน hypotonic solution (สารละลาย KCl) ประมาณ 30- 45 นาที เพื่อให้เซลล์บวม

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 ดูดตัวอย่าเซลล์ที่ผ่านขั้นตอน fixation ลงบนสไลด์ และทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

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

3.6 Analization นำสไลด์ไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 100 X วิเคราะห์โครโมโซมโดยเลือกจากระยะเมทาเฟส (metaphase) ซึ่งมีการกระจายดี ไม่ซ้อนทับกัน นับจำนวนโครโมโซม จับคู่โครโมโซมคู่เหมือน (homologous chromosome) มาจัดเรียงคาริโอไทป์ตามความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่ ถ่ายภาพเซลล์ที่เลือกไว้ จากนั้นใช้ภาพถ่ายมาวิเคราะห์และคำนวณหาค่า relative length (RL) และค่า centromeric index (CI) เพื่อจัดชนิดโครโมโซม ต่อไป

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม พ.ศ. 2555 – กันยายน พ.ศ. 2556 (รวม 1 ปี)

สถานที่ : พื้นที่เกษตรกรรมและแหล่งน้ำ ภาคต่างๆของประเทศไทย

: ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ดำเนินการสำรวจการระบาด/เก็บตัวอย่างและบันทึกพิกัดภูมิศาสตร์พื้นที่ๆเก็บตัวอย่างตามแผนการสำรวจ ซึ่งจากการสำรวจพบว่าหอยเชอรี่เป็นหอยที่มีการระบาดทั่วประเทศไทย มีรายงานการระบาดในภูมิภาคเอเชียหลายประเทศ เช่น ลาว กัมพูชา มาเลเซีย ไต้หวัน เป็นต้น (Figure 1) ในช่วงฤดูฝนที่มีฝนตกติดต่อกันหลายวัน เป็นปัจจัยที่เอื้อให้เกิดการระบาดโดยเฉพาะพื้นที่นาข้าว โดยหอยจะมาตามกระแสน้ำ หอยเชอรี่จะวางไข่สีชมพูไว้ตามกิ่งไม้ ต้นหญ้า โคนต้นไม้หรือวัสดุที่อยู่เหนือน้ำ (Figure 2) ไข่หอยเชอรี่มี incubation periods 7-14 วัน หลังจากนั้นจะฟักเป็นตัวได้ในระยะเวลา 15 -25 วัน และเจริญเป็นตัวเต็มวัย สามารถผสมพันธุ์/ วางไข่ได้เมื่อหอยมีอายุ 45 -59 วัน (Figure 3) เมื่อศึกษา feeding behavior พบว่าหอยเชอรี่สามารถกินได้ตลอดเวลา คิดเป็นน้ำหนักอาหารที่กินเฉลี่ย 49.66 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว/ วัน (n=30) (Table 1) โดยดำเนินการสำรวจในพื้นที่ภาคต่างๆ ดังนี้

ภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง กำแพงเพชร ตากและนครสวรรค์ ได้ตัวอย่างหอยเชอรี่สกุล *Pomacea* รวมทั้งสิ้น 60 ตัวอย่าง นำมาเลี้ยงในโรงเรือนเลี้ยงหอยของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร เพื่อรอศึกษาสัณฐานวิทยาของเปลือก

ภาคกลางและภาคตะวันตก ได้แก่ ได้แก่ จังหวัดสุพรรณบุรี ราชบุรี กาญจนบุรี และตาก ได้ตัวอย่างหอยเชอรี่จำนวน 30 ตัว /พื้นที่ นำมาเลี้ยงในโรงเรือนเลี้ยงหอยของกลุ่มงานฯ และเพื่อรอศึกษาสัณฐานวิทยาของเปลือก

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา ได้ตัวอย่างหอยเชอรี่ จำนวน 30 ตัว นำมาเลี้ยงในโรงเรือนเลี้ยงหอย ของกลุ่มงานฯ

ภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดชลบุรี ระยอง จันทบุรี ปราจีนบุรี และฉะเชิงเทรา ได้ตัวอย่างหอยเชอรี่ จำนวน 45 ตัว นำมาเลี้ยงในโรงเรือนเลี้ยงหอย ของกลุ่มงานฯ

ภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดกระบี่ เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ และชุมพร ได้ตัวอย่างหอยเชอรี่สกุล *Pomacea* 30 - 35 ตัวอย่าง/ พื้นที่ นำมาเลี้ยงในโรงเรือนเลี้ยงหอยของกลุ่มงานฯ เพื่อรอศึกษาสัณฐานวิทยาของเปลือก

ขณะนี้อยู่ระหว่างนำข้อมูลที่เก็บตัวอย่างหอยเชอรี่ทั้งหมดในปี 2556 เตรียมจัดทำแผนที่การกระจายพันธุ์ของหอยสกุล *Pomacea* ด้วยโปรแกรม ArcView หรือ ArcGis

การศึกษาขนาดกลุ่มไข่และไข่ โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง และวัดความยาวของกลุ่มไข่และไข่ พบว่ากลุ่มไข่ที่เก็บตัวอย่างได้มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 8.11 - 22.20 ม.ม. และความยาว 15.32 - 55.92 ม.ม. เส้นผ่านศูนย์กลางของไข่ 1.65 - 2.49 ม.ม. และประมาณจำนวนไข่ต่อกลุ่มจากปริมาตรของกลุ่มไข่หารด้วยปริมาตรโดยเฉลี่ยของไข่ โดยคำนวณ ตามสูตร ดังนี้

ปริมาตรของกลุ่มไข่ (รูปทรงกระบอก, ลูกบาศก์มิลลิเมตร) = $\pi R^2 h$

เมื่อ π เป็นค่าคงตัว มีค่าประมาณ 3.14

R คือเส้นผ่านศูนย์กลางของกลุ่มไข่ (ม.ม.)

h คือ ความยาวของกลุ่มไข่ (ม.ม.)

ผลการศึกษาพบว่า ไข่หอยเชอรี่แต่ละกลุ่มมีจำนวน 286 - 4,303 ฟอง เมื่อนำค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่มาคำนวณค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย ANOVA พบว่ามีอย่างน้อย 1 ตัวอย่างที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, 99% และ 99.9% และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของ Tukey's HSD และ Scheffe ที่ระดับความเชื่อมั่น 99.9% แล้วพบว่ามีการแบ่งกลุ่มออกเป็นอย่างน้อย 2 กลุ่ม (Table 2 และ Table 3)

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยเชอรี่ จะต้องวิเคราะห์ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยเชอรี่ทั้งหมดที่เก็บในปี 2556 โดยใช้เทคนิค morphometrics ซึ่งขณะนี้กำลังศึกษาจากตัวอย่างหอยบางส่วนที่เก็บจากพื้นที่ภาคเหนือ 60 ตัวอย่าง ภาคใต้ 125 ตัวอย่าง และภาคตะวันตก 60 ตัวอย่าง โดยวัดค่า shell length, shell width, last whorl height, aperture length และ aperture width ด้วยเวอร์เนีย วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้ ANOVA จากโปรแกรม SPSS จากนั้นนำข้อมูลลักษณะสัณฐานวิทยาของเปลือกหอยที่วิเคราะห์แล้วมาเปรียบเทียบเพื่อ*คัดเลือกเฉพาะตัวอย่างที่มีความแตกต่างกัน* ไปศึกษาจำนวนโครโมโซมและการจัดเรียงคาริโอไทป์ในปีต่อไป

Taxonomic Hierarchy of *Pomacea canaliculata*

Kingdom Animalia -- Animal,
Phylum Mollusca -- mollusk
Class Gastropoda Cuvier, 1797
Subclass Prosobranchia Milne-Edwards, 1848
Super Order : Caenogastropoda;
Order Architaenioglossa Ampullariidae
SuperFamily: Ampullarioidea
Family: Ampullariidae
Subfamily: Ampullariinae
Tribe: Ampullariini
Genus : Pomacea Perry, 1811
Species Pomacea canaliculata (Lamarck, 1828)

Bar Scale = 3 C.M.

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทราบจำนวนและ รูปแบบการจัดเรียงโครโมโซม จะเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์ ที่ช่วยสนับสนุนงานทางด้านการจำแนกชนิดและระบุชื่อวิทยาศาสตร์ได้แม่นยำยิ่งขึ้น ทั้งนี้เพื่อเป็นฐานข้อมูลทางอนุกรมวิธานหอยทากศัตรูพืช รวมไปถึงการสำรวจการแพร่กระจายของหอยสกุล *Pomacea* ที่พบในประเทศไทยในปัจจุบัน สามารถนำข้อมูลไปประยุกต์ใช้ในด้านอื่นๆ เช่น การป้องกันกำจัด ซึ่งหอยดังกล่าวเป็นศัตรูสำคัญในพืชหลายชนิด รวมทั้งยังมีตัวอย่างหอยสกุล *Pomacea* ที่วิเคราะห์ชนิดแล้ว เก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์เพื่อเป็นแหล่งค้นคว้าอ้างอิง และสามารถจัดทำเป็นคู่มือ เพื่อการถ่ายทอดแก่เกษตรกรและผู้สนใจต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนางทัศวรรณ พุ่มกาหลง นักวิชาการเกษตร กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร ที่ช่วยเหลือในการปฏิบัติงานภาคสนามและช่วยดูแลให้อาหารหอยทดลองในโรงเรือน และบันทึกข้อมูลที่จำเป็นตลอดการทดลอง จึงขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

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

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

Brand, E.V., Yokosawa, T. and Fujio, Y. 1990. Chromosome analysis of apple snail *Pomacea canaliculata*. Tohoku Journal of Agricultural Research. 40 (3-4) : 81-89.

Dundee, D.S. and Baerwald, R.J. 1984. Observations on a micropredator *Gulella bicolor* (Hutton) (gastropoda: pulmonata: streptaxidae). Nautilus 98: 63-68.

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.

Robert, H.C. and Kenneth, A.H. 2004. Invasive Ampullariid snails : taxonomic confusion and some preliminary resolution based on DNA sequences. APEC symposium on the management of the golden apple snail. 24 pp.

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

Wen, L.W. and Yen, C.L. 2004. The biology and population analysis of the golden apple snail in Taiwan. APEC symposium on the management of the golden apple snail.18 pp.

ภาคผนวก

Figure 1 : The distribution of golden apple snail (GAS), *Pomacea* sp.

Figure 2 : Egg cluster of GAS on plant or other surface

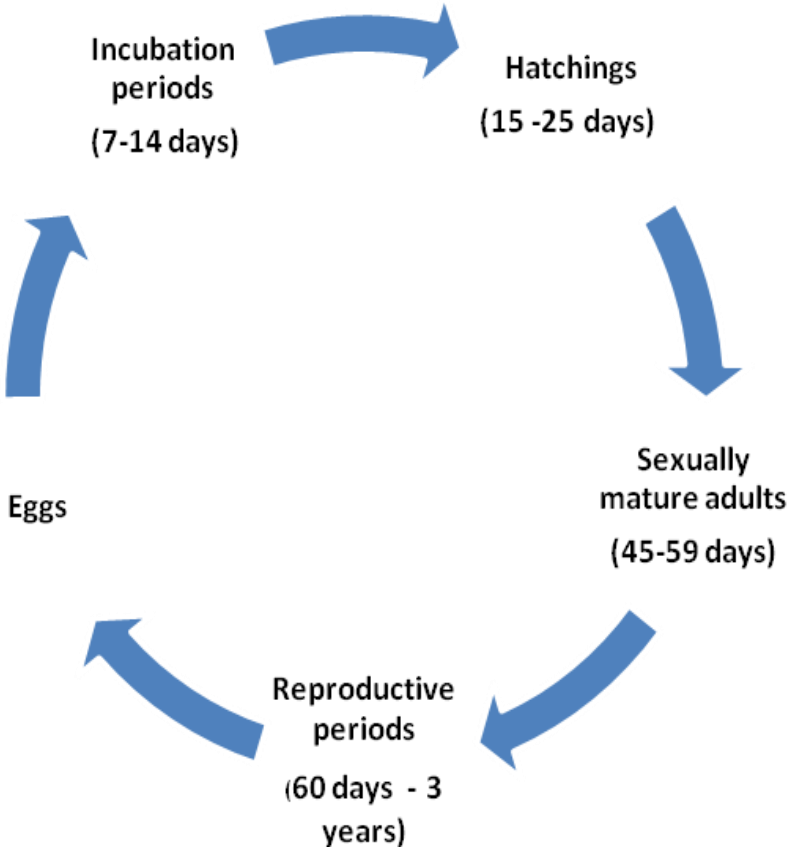


Figure 3 : Life cycle of GAS

Table 1: GAS consumption for one day

Apple snails samples	snail weight (g)	Food weight (g)	% consumption
A1	12.2	6.4	52.459016
A2	21	15.4	73.333333
A3	21	6.5	30.952381
A4	11	3.4	30.909091
A5	12	6.4	53.333333
A6	11	4.5	40.909091
A7	21	10.3	49.047619
A8	16	8.6	53.75
A9	17	9	52.941176
A10	14	7.5	53.571429
A11	15.3	6	39.215686
A12	12.2	6	49.180328
A13	14.5	7.6	52.413793
A14	16.6	4	24.096386
A15	17.7	6.8	38.418079
A16	22.3	11.4	51.121076
A17	18.4	10	54.347826
A18	19.3	11	56.994819
A19	16.3	9	55.214724
A20	16.3	9	55.214724
A21	13.2	7.6	57.575758
A22	13.5	7.5	55.555556
A23	18.4	8	43.478261
A24	10.3	6.6	64.07767
A25	10.4	6	57.692308
A26	21.4	11	51.401869
A27	23.5	12	51.06383
A28	31.2	11	35.25641
A29	21.4	11	51.401869
A30	27.2	15	55.147059
			AVG = 49.66915

Table 2: The characteristic of GAS's egg and egg cluster from North region of Thailand

Sampling site	code	Color of eggs	Egg cluster (m.m.)		number (egg)	Avg. Ø (m.m.)
			ø	length		
Chiangmai	PcCMN	white	11.85	26.31	853	1.87±0.08
Lampang	PcLPN	white	19.08	28.86	2416	1.87±0.10
Tak	PcTkN	pinkish	17.34	55.08	4303	1.79±0.13
Kampheangphet	PcKPN	pink	16.07	25.44	1943	1.72±0.10
Nakornsawarn	PcNSN	pink	10.22	23.92	587	1.86±0.16

Table 3: The statistic data of GAS's egg clusters from 10 sampling sites from North region of Thailand

Parameter	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
	1.83	1.95	1.75	1.75	1.85	1.79	1.79	1.65	1.61	3.13
	1.75	1.90	1.67	1.75	1.79	1.67	1.75	1.80	2.00	2.95
	1.72	1.98	1.79	1.69	1.53	1.67	1.71	1.83	1.88	3.59
	1.91	2.22	1.74	1.71	1.72	1.63	1.70	2.08	2.01	2.24
	1.90	2.27	1.87	1.93	1.56	2.06	1.69	1.90	1.92	2.83
	1.88	1.97	1.96	1.81	1.62	1.61	1.64	1.97	1.67	2.64
	1.82	1.84	1.98	1.70	1.82	1.78	1.85	1.85	2.01	2.21
	1.89	2.05	2.02	1.80	1.84	1.86	1.92	1.80	1.97	2.52
	1.94	1.95	1.82	1.87	1.95	1.82	1.69	1.97	1.92	2.75
	1.95	1.95	1.84	1.87	1.94	1.55	1.80	1.75	1.79	2.29
	1.91	2.06	1.86	1.69	1.80	1.62	1.70	1.69	1.60	2.40
	1.80	1.88	1.82	1.67	1.95	1.73	1.54	1.90	1.76	1.93
	1.88	1.92	1.99	1.62	1.95	1.79	1.81	1.98	1.64	2.88
	1.86	1.98	1.91	1.64	2.08	1.87	1.86	1.94	1.80	2.34
	1.88	1.86	1.96	1.74	1.76	1.79	1.76	1.87	1.97	1.99
	1.86	1.96	1.85	1.73	1.85	1.77	1.63	2.04	1.80	2.13
	1.86	1.87	1.92	1.70	1.86	1.67	1.67	1.91	1.58	2.55
	1.95	2.04	1.87	1.82	1.79	1.65	1.58	2.00	2.08	1.96
	1.81	2.00	1.74	1.64	1.76	1.46	1.78	2.03	1.98	1.98
Parameter	**A1**	**A2**	**A3**	**A4**	**A5**	**A6**	**A7**	**A8**	**A9**	**A10**
	1.91	1.74	2.01	1.71	1.76	1.65	1.74	1.93	2.12	2.30
	1.70	1.93			1.75		1.55			
	2.01	1.84			1.64		1.62			
	1.94	1.78			1.69		1.74			
	1.91	1.85								
	1.87	1.70								
	1.65	1.89								
	1.99	1.96								
Average egg size	1.87	1.94	1.87	1.74	1.79	1.72	1.72	1.89	1.86	2.48
SD	0.08	0.12	0.10	0.08	0.13	0.13	0.10	0.11	0.16	0.43
R(egg clutch)										
h(egg clutch)										
Volume (Overall)	2900.20	9364.65	8247.51	790.99	13000.55	6879.92	5157.25	4559.77	1961.25	2862.91
Volume (one egg)	3.40	3.81	3.41	2.77	3.02	2.67	2.65	3.56	3.34	7.99
Number of eggs	853.03	2456.42	2415.82	285.92	4303.08	2574.58	1942.55	1281.39	586.64	358.44

Volume (Overall) = ¶ x R(egg clutch)^2 x h(egg clutch)

Volume (one egg) = ¶ x r(average egg size)^3

Number of eggs or clutch size = Volume (Overall)/Volume (one egg)

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของหนูนาใหญ่ (*Rattus argentiventer,* Robinson and Kloss 1916) ที่พบในประเทศไทย

Genetic variation of Ricefield Rat (*Rattus argentiventer,* Robinson and Kloss 1916) in Thailand

วิชาญ วรรธนะไกวัล ปราสาททอง พรหมเกิด เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์
สมเกียรติ กล้าแข็ง ทรงทัพ แก้วตา
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของหนูนาใหญ่ ออกแบบ primer จำนวน 2 ชุด โดยชุดแรกออกแบบให้จำเพาะกับหนูนาใหญ่เท่านั้น เพื่อใช้ในการจำแนกชนิดของหนูด้วยเทคนิค PCR ชุดที่สอง ออกแบบ primer ให้ครอบคลุมนิวคลีโอไทด์บริเวณอนุรักษ์ เพื่อนำมาใช้ในการถอดรหัสพันธุกรรมด้วยเทคนิค Sequencing โดยที่ primer ชุดที่ออกแบบไว้ใช้ในการจำแนกชนิดของหนูนาใหญ่จำนวน 2 คู่ คือ Multiplex (2 plex) PCR ได้แก่ R.a outer F- R.a outer R และ R.a Inner F - R.a Inner R ซึ่งหนูนาใหญ่จะให้ผลเป็นแถบ DNA 2 แถบ ขนาด 439 และ 179 เบส ขณะที่หนูสปีชีส์อื่นๆ จะมีแถบดีอ็นเอเพียง 1 แถบ ขนาด 439 เบส เท่านั้น จากผลการออกแบบไพร์เมอร์ดังกล่าว เมื่อนำมาทดสอบกับหนูนาใหญ่ที่ดักได้จากธรรมชาติทางจังหวัดในภาคกลางและภาคใต้ที่มีลักษณะสัณฐานวิทยาเป็นหนูนาใหญ่และหนูชนิดอื่นมาเป็นกลุ่มควบคุม พบว่าเป็นไปตามที่คาดการณ์ไว้ซึ่งจากผล PCR ที่ได้ต้องทำการถอดรหัสพันธุกรรมของหนูนาใหญ่ที่ได้มาเพื่อทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-34-56

คำนำ

หนูเป็นศัตรูสำคัญในกระบวนการผลิตพืช-สัตว์และทางการแพทย์ในประเทศไทย หนูสร้างความเสียหายให้กับพืชเศรษฐกิจหลายชนิด ตั้งแต่ระยะปลูก ตลอดจนหลังการเก็บเกี่ยวแล้ว เช่น ข้าว ข้าวโพด อ้อย ถั่วเหลือง โกโก้ ปาล์มน้ำมัน เป็นต้น ความเสียหายที่เกิดขึ้นคิดเป็นมูลค่าหลายพันล้านบาทต่อปี นอกจากการทำลายพืชทางการเกษตรแล้ว หนูยังเป็นแหล่งรังโรคที่สำคัญที่ถ่ายทอดสู่มนุษย์ และสัตว์เลี้ยงอีกด้วย เช่น กาฬโรค โรคเลปโตสไปโรซีสหรือโรคไข้ฉี่หนู โรค Scrup Thyphus เป็นต้น ด้วยเหตุนี้เองจึงมีการศึกษาเกี่ยวกับชีววิทยา นิเวศวิทยาและอนุกรมวิธานของหนูเพื่อศึกษาเรียนรู้พฤติกรรมของมันเพื่อนำไปสู่การป้องกันและกำจัด หนูมีการจัดลำดับชั้นดังนี้

Phylum	Chordata
Subphylum	Vertebrata
Class	Mammalia
Order	Rodentia
Family	Muridae (Rat and Mice)

โดยทั่วไปสัตว์ในวงศ์ Muridae จะมีรูปร่างแบบหนู คือ รูปร่างทรงกระบอกและด้านหัวมีทรงแหลม มีสี่ขา หางยาว สูตรของฟันโดยทั่วไป คือ 1/1 ,0/0 , 0/0 , 3/3 = 16 หนูเป็นสัตว์ที่มีวิวัฒนาการมาช้านาน และสามารถแข่งขันกับสัตว์ชนิดอื่นๆในโลกนี้ในการหาอาหารได้เป็นอย่างดี ด้วยเหตุที่ว่า หนูเป็นสัตว์ที่มีสามารถในการปรับตัวเข้ากับถิ่นที่อยู่ (habitat) ที่หลากหลายได้เป็นอย่างดี สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมในวงศ์นี้ จึงมีจำนวนชนิดที่มากที่สุดในโลกคิดเป็นร้อยละ 65 ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมในอันดับสัตว์ฟันแทะทั้งหมด

ลักษณะที่ใช้จำแนกชนิดของหนูที่ใช้กันทั่วๆไป คือ ลักษณะภายนอก(external characters) เช่น ขนาด น้ำหนัก ลักษณะของขน สี จำนวนเต้านม(เพศเมีย) และอื่นๆ ลักษณะเหล่านี้จะต้องดูจากหนูที่โตเต็มวัยแล้ว เมื่อนำเอาลักษณะต่างๆมาประกอบกันทำให้สามารถจำแนกจำแนกหนูได้ถึงสกุล (genus) หรือชนิด (species)

ส่วนการจำแนกชนิดของหนูที่มีลักษณะใกล้เคียงกันในสกุลเดียวกันทำได้ยาก เช่น หนูในสกุล *Rattus* ทำได้ยากต้องอาศัยลักษณะอื่นๆประกอบ เช่น สัณฐานวิทยาของกะโหลกศีรษะ ลักษณะและขนาดของฟันแทะและฟันกราม เป็นต้น

หนูนาใหญ่ (*Rattus argentiventer*) เป็นศัตรูสำคัญที่สุดในแหล่งปลูกข้าวและธัญพืชอื่นๆ ทางภาคกลางและภาคใต้รวมถึงแหล่งปลูกข้าวในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Lekagul, 1977) แต่เนื่องจากในสภาพตามธรรมชาติในปัจจุบันพบว่า หนูนาใหญ่ในธรรมชาตินั้นมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะรูปร่างและสังคมชีวิตที่พบ ในแหล่งทำการเกษตร หรือในธรรมชาติ ซึ่งลักษณะที่เกิดการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมด้านรูปร่างลักษณะ อันเป็นลักษณะที่เกิดจากความแปรปรวนทางอนุกรมวิธานของหนู

ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่ต้องศึกษาหาวิธีการจำแนกชนิดของหนูนาใหญ่ในระดับพันธุกรรมโดยวิธีทางชีวโมเลกุลเพื่อนำมาใช้ในการจำแนกชนิดของหนูนาใหญ่ร่วมกับการจำแนกจากสัณฐานวิทยาของหนูเพื่อเป็นการยืนยันให้เกิดความถูกต้องเพื่อนำไปเป็นแหล่งข้อมูลพื้นฐานประยุกต์ใช้ในการ

ป้องกันกำจัดหนูนาใหญ่ที่สร้างความเสียหายให้แก่นาข้าว พืชผลทางการเกษตร รวมถึงด้านอนุกรมวิธานและงานวิจัยต่อยอดในด้านอื่นๆต่อไป

ในสภาพตามธรรมชาติในปัจจุบันพบว่า หนูนาใหญ่ในธรรมชาตินั้นมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะรูปร่างและสังคมชีวิตที่พบ ในแหล่งทำการเกษตร หรือในธรรมชาติ ซึ่งลักษณะที่เกิดการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมด้านรูปร่างลักษณะ อันเป็นลักษณะที่เกิดจากความแปรปรวนทางอนุกรมวิธานของหนู ความแปรปรวนของลักษณะภายนอกในประชากรหนูนาใหญ่อยู่ภายใต้อิทธิพลของยีนส์ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่ต้องศึกษาหาวิธีการจำแนกชนิดของหนูนาใหญ่ในระดับพันธุกรรมโดยวิธีทางชีวโมเลกุล เพื่อนำมาใช้ในการจำแนกชนิดของหนูนาใหญ่ร่วมกับการจำแนกจากสัณฐานวิทยาของหนูเพื่อเป็นการยืนยันให้เกิดความถูกต้องเพื่อนำไปเป็นแหล่งข้อมูลพื้นฐานประยุกต์ใช้ในการป้องกันกำจัดหนูนาใหญ่ที่สร้างความเสียหายให้แก่นาข้าว พืชผลทางการเกษตร รวมถึงด้านอนุกรมวิธานและงานวิจัยต่อยอดในด้านอื่นๆต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กรงดักและกรงเลี้ยงเดี่ยวสำหรับหนูนาใหญ่ อาหารหนูและน้ำ
2. ชุด kit สกัดดีเอ็นเอ , ชุด kit PCR , ชุด kit Pure gel , ชุด kit remove dye
3. อุปกรณ์ run gel electrophoresis , ชุดถ่ายรูป gel electrophoresis
4. สารเคมีเตรียม TAE/TBE buffer , Agarose gel , Ethidium bromide (gel star)
5. หม้อนึ่ง Autoclave
6. เครื่อง spindown , microcentrifuge , autopipette
7. กระดาษทิชชูแบบอเนกประสงค์ ถุงมือยางสำหรับแพทย์ ชุดเครื่องมือผ่าตัด

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเพื่อศึกษาเป็นแนวทาง
2. สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับลำดับเบสของยีนต่างๆที่มีรายงานในฐานข้อมูล Genbank (data base ของ NCBI) ของหนูนาใหญ่ หนูศัตรูพืชสายพันธุ์ที่พบในประเทศไทย และกลุ่มอื่นที่ใกล้เคียงกันเพื่อมาใช้เปรียบเทียบอ้างอิง
3. ออกแบบ primer โดยใช้ลำดับเบสของหนูนาใหญ่ที่มีในฐานข้อมูล Genbank Accession number AB033701 , FR 775875 – 82 , HM217362 – 64 , JN675488 – 94 จำนวน 2 ชุด โดยชุดแรกออกแบบให้จำเพาะกับหนูนาใหญ่เท่านั้น เพื่อใช้ในการจำแนกชนิดของหนูด้วยเทคนิค PCR ชุดที่สอง ออกแบบ primer ให้ครอบคลุมนิวคลีโอไทด์บริเวณอนุรักษ์ เพื่อนำมาใช้ในการถอดรหัสพันธุกรรมด้วยเทคนิค Sequencing
4. เก็บตัวอย่างหนูนาใหญ่ที่คัดเลือกไว้ภาคละจำนวน 3 ตัว เพื่อเป็นตัวแทนของหนูในภูมิภาคนั้นๆ ทั้งตัวอย่างสดที่แช่แข็งที่ อุณหภูมิ -70°C และตัวอย่างแช่ในแอลกอฮอล์ 95% เช่น กล้ามเนื้อ หัวใจ ตับ ไต ปลายหู และปลายหาง
5. สกัดดีเอ็นเอของหนูนาใหญ่ด้วยเทคนิค Phenol extraction/Alcohol precipitation DNA ทั้งจากธรรมชาติและในห้องปฏิบัติการโดยเลือกตัวอย่างหนูนาใหญ่ให้ครบทุกภูมิภาคในประเทศไทยเพื่อเป็นตัวแทนในแต่ละภาคของประเทศด้วยวิธีการจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาในเบื้องต้นแล้วเก็บ ดีเอ็นเอที่สกัดได้ที่ อุณหภูมิ -20 หรือ -70°C

6. ศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของหนูนาใหญ่ ที่พบภูมิภาคต่างๆในประเทศไทย โดยวิธี Multiplex (2 plex) PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่เป็นส่วนของ ไซโตโครม บี จำนวน 2 คู่ มีลำดับเบสดังนี้

Multiplex (2 plex) PCR

R.a outer F 5’ ACA GCA TTC TCA TCA GTT ACT C

R.a outer R 5’ GTT GTT TGA TCC TGT TTC GTG

R.a Inner F 5’ GAT ATT TAC ACG CCA ACG GG

R.a Inner R 5’ GAT TAC GGT GGC TCC TCA A

เพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอโดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 20 ul ในหลอดขนาด 0.2 ml โดยปฏิกิริยาประกอบด้วยดีเอ็นเอของหนูนาใหญ่ 2ul ผสมกับ 5x PCR buffer , 10mM dNTPs , เอนไซม์ Hot start taq DNA polymerase 1 ยูนิต และไพร์เมอร์ชนิดละ 10 mM แล้วเติมน้ำกลั่น จนครบปริมาตร 20 ul ผสมสารให้เข้ากัน ทำปฏิกิริยา PCR ในเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (Thermal cycler) โดยกำหนดอุณหภูมิและเวลาให้มีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ดังนี้

ปฏิกิริยา	อุณหภูมิ($^{\circ}$c)	เวลา(นาที)
1. แยกสายดีเอ็นเอต้นแบบเริ่มต้น (Initial Denaturing)	98	30 วินาที
2. แยกสายดีเอ็นเอต้นแบบ (Denaturing)	98	30 วินาที
3. ไพร์เมอร์เริ่มต้นจับคู่กับดีเอ็นเอแม่แบบ (Annealing)	55	30 วินาที
4. สังเคราะห์ดีเอ็นเอ (Extension)	72	45 วินาที
5. สังเคราะห์ดีเอ็นเอ รอบสุดท้าย (Final Extension)	72	5 นาที

ทำปฏิกิริยาซ้ำขั้นตอนที่ 2-4 เป็นวงจรลูกโซ่ทั้งหมด 40 รอบ หยุดปฏิกิริยาที่ 4 $^{\circ}$c นำดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ปริมาณ 5 ul มาผสมกับ loading dye ปริมาณ 1 ul จากนั้นทำการวิเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็คโตรโฟรีซีส (Agarose gel electrophoresis) โดยใช้ 1.5% อะกาโรสใน 0.5xTAE ใช้กระแสไฟฟ้าที่ความต่างศักดิ์ 135 โวลต์ นาน 45 นาที ย้อมดีเอ็นด้วยเอธิเดียมโบรไมด์หรือสีย้อม Syber green dye ตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลต

7. วิเคราะห์ผลลักษณะทางพันธุกรรมที่ได้จากหนูนาใหญ่แต่ละตัวอย่างด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป MEGA 5 วิเคราะห์ค่า Bootstrap และนำมาเปรียบเทียบวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของตัวอย่างหนูนาใหญ่ในประเทศไทยแต่ละตัวอย่างกับหนูนาใหญ่และหนูชนิดอื่นๆที่มีในฐานข้อมูล Genbank ด้วย Maximum likely hood แล้วจัดทำ Phylogenetic tree เพื่อศึกษาความหลากหลาย ความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้น รวมไปถึงการกระจายตัวของหนูนาใหญ่ที่พบในประเทศไทย

8. วิเคราะห์ผลลักษณะทางพันธุกรรมที่ได้นำมาเปรียบเทียบกับผลข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของหนูนาใหญ่แล้วนำมาสรุปเป็นผลการทดลองที่ได้

เวลาและสถานที่

เก็บตัวอย่างหนูนาใหญ่จากธรรมชาติระหว่างเดือนตุลาคม 2555 - กันยายน 2556 บริเวณภาคกลางและภาคใต้ของประเทศไทย และปฏิบัติการทางชีวโมเลกุลภายในกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการออกแบบ primer ที่ใช้จำแนกชนิดของหนูนาใหญ่ ให้ต่างจากหนูชนิดอื่นๆนั้น primer ชุดที่ออกแบบไว้ใช้ในการจำแนกชนิดของหนูนาใหญ่จำนวน 2 คู่ Multiplex (2 plex) PCR ได้แก่ R.a outer F- R.a outer R และ R.a Inner F - R.a Inner R ซึ่งหนูนาใหญ่จะให้ผลเป็นแถบ DNA 2 แถบ ขนาด 439 และ 179 เบส ขณะที่หนูสปีชีส์อื่นๆ จะมีแถบดีอ็นเอเพียง 1 แถบ ขนาด 439 เบส เท่านั้น จากผลการออกแบบไพร์เมอร์ดังกล่าวเมื่อนำมาทดสอบกับหนูนาใหญ่ที่ดักได้จากธรรมชาติทางจังหวัดในภาคกลางและภาคใต้ที่มีลักษณะสัณฐานวิทยาเป็นหนูนาใหญ่และหนูชนิดอื่นมาเป็นกลุ่มควบคุม พบว่าเป็นไปตามที่คาดการณ์ไว้ซึ่งจากผล PCR ที่ได้ต้องทำการถอดรหัสพันธุกรรมของหนูนาใหญ่ที่ได้มาเพื่อทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมต่อไป เนื่องจากผลจาก PCR ที่ได้มาเป็นเพียงการยืนยันการจำแนกชนิดของหนูนาใหญ่ร่วมกับการจำแนกทางสัณฐานวิทยาเท่านั้น ดังนั้นต้องมีการศึกษาถึงรหัสพันธุกรรมของหนูนาใหญ่ที่ได้มาจากธรรมชาติเพื่อบ่งบอกถึงความหลายหลายทางพันธุกรรมอันเป็นสาเหตุของการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกได้ การทดลองงานวิจัยนี้ยังไม่สิ้นสุด ยังต้องทำการศึกษาวิจัยต่อไปอีก

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณสมเกียรติ กล้าแข็ง นักสัตววิทยาปฏิบัติการ กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ที่ช่วยเก็บตัวอย่างหนูนาใหญ่จากธรรมชาติเพื่อใช้ในงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

ปราสาททอง พรหมเกิด กรแก้ว เสือสะอาด ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ ทรงทัพ แก้วตา , 2553 ศึกษาความแปรปรวนของลักษณะภายนอกในประชากรหนูนาใหญ่ *Rattus argentiventer. ใน* เอกสารการประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร. หน้า 80-83

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล ,2545 . จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอ : ปฏิบัติการอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี ,ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 115 หน้า

Chaval, Y., M. Pages, V. Herbreteau, S. Waengsothorn, J.F. Cosson, J.P. Hugot, S. Morand and J. Michaux. 2009. A Multi – Approach Survey as the most Reliable Tool to Accurately Assess Biodiversity : an Example of Thai Murine Rodents . Kasetsart Journal. 44 : 590-603.

Jing, M., H.T. Yu, S.H. Wu, W. Wang and X. Zheng. 2006. Phylogenetic relationships in genus Niviventer (Rodentia : Muridae) in China inferred from complete mitochondrial cytochrome b gene . Molecular phylogenetics and evolution. 44: 521-529.

Lecompte , E. , K. Aplin, C. Denys, F. Catzeflis, M. Chades and P. Chevret. 2005. Confrontation of morphological and molecular data : The Praomys group (Rodentia ,Murinae) as a case of adaptive convergences and morphological stasis. Molecular Phylogenetics and Evolution. 37: 899-919.

Lekagul, B. and A.M.Jeffery. 1977. Mammal of Thailand. Printed at Kurusapha Ladprao Press by Nai kamthon Sathirakul, Bangkok. 758 p.

Martin, Y. 1999 Molecular Phylogeny of European Muroid Rodents Based on Complete Cytochrome b Sequences . Molecular Phylogenetics and Evolution. 16: 37-47.

Martin, M., G. Gerlach, C. Schlotterer and A. Meyer. 2007. Detection of cat, dog and rat or mouse tissues in food and animals feed using species-specific polymerease chain reaction. Journal of Anim Science. 85: 2734-2739.

Meyer, J., A. Kohnen, R. Harf, G. Froeschke and R. Brandl. 2006. Molecular markers for some small mammals of southern Africa . Folia Zoology. 55: 444 - 447.

Rad, S.A., R. Jalal, J. Darvish and M.M. Matin. 2008. Identification of three Iranian species of the genus *Rattus* (Rodentia , Muridae) using a PCR-RFLP technique on mitochondrial DNA. The Italian Journal of Mammalogy 20: 69-77.

Tucker, P.K., S.A. Sandstedt and B.L. Lundrigan. 2003 . Phylogetic relationships in the subgenus *Mus* (genus *Mus* , family Muridae ,subfamily Murinae) : examining gene trees and species trees . Biology journal of the Linnean Society. 84, 653-662.

ศึกษาการจำแนกสายพันธุ์และลักษณะทางพันธุกรรมของปรสิตโปรโตซัว, *Sarcocystis singaporensis* โดยวิธีทางอณูชีววิทยา

Study on method for Identification of *Sarcocystis singaporensis* by molecular biology method

วิชาญ วรรธนะไกวัล ดาราพร รินทะรักษ์ สมเกียรติ กล้าแข็ง
ทรงทัพ แก้วตา
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ของ *Sarcocystis singaporensis* ที่นำมาใช้ในการทดลองมีการปนเปื้อนจากปรสิตโปรโตซัวชนิดอื่นและเชื้อต่างๆจำนวนมากแม้ว่าจะผ่านการคัดแยกเชื้อให้บริสุทธิ์มาแล้วก็ตาม แต่เชื้อเริ่มต้นของ *S. singaporensis* ในระยะสปอร์โรซีสต์นั้นไม่ได้มาจากเชื้อเพียงหนึ่งซีสต์ (1 sarcocyst) ดังนั้นต้องเริ่มทำการศึกษาปรสิตโปรโตซัว *S. singaporensis* ในระยะซาร์โคซีสต์ 1 ซีสต์ก่อน ซึ่งสามารถทำได้ง่ายกว่า อย่างไรก็ดีหลังจากได้ทำการถอดรหัสพันธุกรรมของ *S. singaporensis* ในระยะซาร์โคซีสต์พบว่ามีเชื้อปรสิตโปรโตซัวในกลุ่มค็อคซิเดียโปรโตซัวชนิดอื่นปนอยู่ในกล้ามเนื้อลำตัวหนูประมาณ 2-3 ชนิด ดังนั้นจึงต้องทำการโคลนนิ่งเพื่อถอดรหัสพันธุกรรมเชื้อแต่ละชนิดที่ปนกันอยู่ให้สามารถแยกจากกันได้ก่อนแล้วจึงนำรหัสพันธุกรรมที่ได้นำมาใช้ออกแบบไพร์เมอร์ให้จำเพาะต่อ *S. singaporensis* เพื่อใช้ในการจำแนกชนิดและศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-01-35-56

คำนำ

Sarcocystis singaporensis Zamen & Colley (1976) เป็นปรสิตโปรโตซัวที่มีความจำเพาะต่อสัตว์อาศัย(หนูและงูเหลือม) พบแพร่ระบาดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งค้นพบโดยศาสตราจารย์ Zamen เป็นครั้งแรกในประเทศสิงคโปร์ การขยายพันธุ์แบบมีเพศของปรสิตชนิดนี้ในสัตว์อาศัยสุดท้าย เกิดขึ้นภายในเซลล์บุผิวลำไส้ของงูเหลือมและสปอร์โรซีสต์ (sporocysts) ซึ่งเป็นผลผลิตสุดท้ายของการเจริญเติบโตจะปะปนออกมาพร้อมมูลงูสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก และสู่สัตว์อาศัยตัวกลางโดยทางน้ำและอาหาร คือ หนูในสกุลท้องขาว (*Rattus* spp.) และสกุลพุก (*Bandicota* spp.) ที่ซึ่งโปรโตซัวชนิดนี้จะขยายพันธุ์แบบไม่มีเพศในเซลล์บุผิวหลอดเลือดในอวัยวะสำคัญเช่น ปอด หัวใจ ตับ ไต เป็นต้น และสุดท้ายเจริญพัฒนาเป็นแบรดิซ้อยต์ (bradyzoites) ที่ซึ่งปรากฏในถุงฝังตามกล้ามเนื้อลำตัวหนู (sarcocysts)

ระยะสปอร์โรซีสต์เท่านั้น ที่มีศักยภาพสูงมากในการทำให้หนูป่วยตายได้ จึงมีการวิจัยและพัฒนาโปรโตซัวชนิดนี้ เป็นสารชีวินทรีย์กำจัดหนู (bio-rodenticide) ซึ่งเป็นที่ยอมรับของทั้งภาคเอกชนและเกษตรกร โดยมีงูเหลือม (*Python reticulates*) เป็นแหล่งผลิตขยายสปอร์โรซีสต์ของโปรโตซัวชนิดนี้ได้ดีที่สุด แต่งูเหลือมยังสามารถผลิตสปอร์โรซีสต์ของโปโตซัวสกุล *Sarcocystis* ชนิดอื่นๆ ได้แก่ *S. zamani* และ *S. villvilosi* ซึ่งการจำแนกชนิดปรสิตโปรโตซัว *S. singaporensis* ในปัจจุบันนั้น จำแนกโดยอาศัยลักษณะรูปร่างและขนาดของสปอร์โรซีสต์ และลักษณะรูปร่างของเชื้อระยะซาร์โคซีสต์ในกล้ามเนื้อของหนูที่ติดเชื้อ ซึ่งอาจจำแนกผิดพลาดได้ เพราะเกิดการปนเปื้อนของค็อคซิเดียโปรโตซัวหลายชนิดได้ ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ความรุนแรงของการเกิดโรคในหนูลดลงได้ ดังนั้นจึงควรที่จะมีการยืนยันชนิดที่แน่นอนและเชื่อถือได้ร่วมกับการจำแนกจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *S.singaporensis* นอกจากนี้ยังไม่สามารถตรวจสอบสปอร์โรซีสต์ของ *S.singaporensis* ในสารแขวนลอยที่บรรจุในเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงได้ ดังนั้นการศึกษารหัสทางพันธุกรรมและการจำแนกชนิดของ *S.singaporensis* ระยะสปอร์โรซีสต์โดยวิธีทางอณูชีววิทยา เพื่อที่จะพัฒนางานวิจัยการจำแนกปรสิตโปรโตซัวชนิดนี้เป็นชุด kit เพื่อตรวจสอบ *S. singaporensis* ในเหยื่อโปรโตซัวที่ผลิตโดยภาคเอกชน ในอนาคต

ในการทดลองนี้ใช้วิธีทางอณูชีววิทยาในการจำแนกชนิดและใช้ในการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของปรสิตโปรโตซัว *S.singaporensis* ในระยะสปอร์โรซีสต์ จากตัวอย่างในห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตรและภูมิภาคต่างๆในประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กรงเลี้ยงงูเหลือมและงูเหลือม กรงเลี้ยงเดี่ยวสำหรับหนูท้องขาว อาหารหนูและน้ำ
2. ชุด kit สกัดดีเอ็นเอ , ชุด kit PCR , ชุด kit Pure gel , ชุด kit remove dye
3. อุปกรณ์ run gel electrophoresis , ชุดถ่ายรูป gel electrophoresis
4. สารเคมีเตรียม TAE/TBE buffer, Agarose gel, Ethidium bromide (gel star)
5. หม้อนึ่ง Autoclave
6. เครื่อง spindown , microcentrifuge , autopipette

7. กระดาษทิชชูแบบอเนกประสงค์ ถุงมือยางสำหรับแพทย์ ชุดเครื่องมือผ่าตัด

วิธีการ

ทำการตรวจจำแนกชนิดของเชื้อโดยวิธีทางอณูชีววิทยาด้วยเทคนิค PCR เพื่อเป็นการสนับสนุนผลที่ได้จากสัณฐานวิทยาและยืนยันชนิดของเชื้อ รวมถึงการถอดรหัสทางพันธุกรรมของเชื้อโดยวิธีทางอณูชีววิทยาด้วยเทคนิค sequencing มีรายละเอียดดังนี้

1.สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเพื่อศึกษาเป็นแนวทาง

2.สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับลำดับเบสของยีนต่างๆที่มีรายงานในฐานข้อมูล Genbank (data base ของ NCBI) ของ *S. singaporensis* และกลุ่มอื่นที่ใกล้เคียงกันเพื่อนาใช้เปรียบเทียบอ้างอิง

3.ออกแบบ primer โดยใช้ลำดับเบสของ *S. singaporensis* ที่มีในฐานข้อมูล Genbank Accession number AF 434050-59, AF 237617 เพื่อนำมาใช้ในการโคลนนิ่งและถอดรหัสพันธุกรรมด้วยเทคนิค Sequencing

4.เก็บตัวอย่างโปรโตซัว *S. singaporensis* จากกล้ามเนื้อลำตัวหนูโดยดูผ่านกล้องสเตอริโอสโคป

5.สกัดดีเอ็นเอของโปรโตซัว *S. singaporensis* ด้วยเทคนิค Phenol extraction/Alcohol precipitation DNA แล้วเก็บ ดีเอ็นเอที่สกัดได้ที่ อุณหภูมิ -20 หรือ -70°C

6.ศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของโปรโตซัว *S. singaporensis* ด้วยวิธีโคลนนิ่ง โดยใช้ไพรเมอร์ที่เป็นส่วนของ ไรโบโซมอล อาร์เอ็นเอ จำนวน 2 คู่ มีลำดับเบส ดังนี้

SSU primer

1LF_edit 5'- AGC CAT GCA TGT CTA AGT ATA AG

1 hr 5'- TAT CCC CAT CAC GAT GCA TAC

LSU primer

KL 1F 5'- TAC CCG CTG AAC TTA AGC ATA T

KL 3R 5'- CCA CCA AGA TCT GCA CTA GA

เพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอโดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 50 ul ในหลอดขนาด 0.2 ml โดยปฏิกิริยาประกอบด้วยดีเอ็นเอของโปรโตซัว *S. singaporensis* 5 ul ผสมกับ 5x PCR buffer , 10mM dNTPs , เอนไซม์ Hot start taq DNA polymerase 1 ยูนิต และไพร์เมอร์ชนิดละ 10 mM แล้วเติมน้ำกลั่น จนครบปริมาตร 50 ul ผสมสารให้เข้ากัน ทำปฏิกิริยา PCR ในเครื่องควบคุมอุณหภูมิ
(Thermal cycler) โดยกำหนดอุณหภูมิและเวลาให้มีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ดังนี้

ปฏิกิริยา	อุณหภูมิ(°c)	เวลา(นาที)
1. แยกสายดีเอ็นเอต้นแบบเริ่มต้น (Initial Denaturing)	98	30 วินาที
2. แยกสายดีเอ็นเอต้นแบบ (Denaturing)	98	30 วินาที
3. ไพร์เมอร์เริ่มต้นจับคู่กับดีเอ็นเอแม่แบบ (Annealing)	55/64	30 วินาที
4. สังเคราะห์ดีเอ็นเอ (Extension)	72	45 วินาที

5. สังเคราะห์ดีเอ็นเอ รอบสุดท้าย (Final Extension) 72 5 นาที

ทำปฏิกิริยาซ้ำขั้นตอนที่ 2-4 เป็นวงจรลูกโซ่ทั้งหมด 40 รอบ หยุดปฏิกิริยาที่ 4 °c นำดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ทั้งหมดมาผสมกับ loading dye ปริมาณ 10 ul จากนั้นทำการวิเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็คโตรโฟรีซีส (Agarose gel electrophoresis) โดยใช้ 1.5% อะกาโรสใน 0.5xTAE ใช้กระแสไฟฟ้าที่ความต่างศักดิ์ 135 โวลต์ นาน 45 นาที ย้อมดีเอ็นด้วย เอธิเดียมโบรไมด์หรือสีย้อม Syber green dye ตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต จากนั้นทำการตัดแถบดีเอ็นเอและ ทำให้บริสุทธิ์แล้วทำการ Ligation , Transformation , Sequencing ตามลำดับ

7.วิเคราะห์ผลลักษณะทางพันธุกรรมที่ได้จากโปรโตซัว *S. singaporensis* แต่ละตัวอย่างด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป MEGA 5 วิเคราะห์ค่า Bootstrap และนำมาเปรียบเทียบวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปรสิตโปรโตซัว *S. singaporensis* ในห้องปฏิบัติการกับค็อคซิเดียนโปรโตซัวและโปรโตซัวชนิดอื่นๆที่มีในฐานข้อมูล Genbank ด้วย Maximum likely hood แล้วจัดทำ Phylogenetic tree เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมที่มีอยู่ภายในห้องปฏิบัติการที่ได้มาจากแหล่งต่างๆในประเทศไทย

เวลาและสถานที่

เก็บรวบรวมข้อมูลระหว่างเดือนตุลาคม 2555 - กันยายน 2556 ภายในกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การจำแนกสายพันธุ์ของปรสิตโปรโตซัว *S. singaporensis* ในระยะสปอร์โรซีสต์ จากตัวอย่างในห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ซึ่งผลการทดลองที่ผ่านมาในปี 2556 นั้น พบว่าสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ของ *S. singaporensis* ที่นำมาใช้ในการทดลองมีการปนเปื้อนจากปรสิตโปรโตซัวชนิดอื่นและเชื้อต่างๆจำนวนมากแม้ว่าจะผ่านการคัดแยกเชื้อให้บริสุทธิ์มาแล้วก็ตาม แต่เชื้อเริ่มต้นของ *S. singaporensis* ในระยะสปอร์โรซีสต์นั้นไม่ได้มาจากเชื้อเพียงหนึ่งซีสต์ (1 sarcocyst) ดังนั้นต้องเริ่มทำการศึกษาปรสิตโปรโตซัว *S. singaporensis* ในระยะซาร์โคซีสต์ 1 ซีสต์ก่อน ซึ่งสามารถทำได้ง่ายกว่า อย่างไรก็ดีหลังจากได้ทำการถอดรหัสพันธุกรรมของ *S. singaporensis* ในระยะซาร์โคซีสต์พบว่ามีเชื้อปรสิตโปรโตซัวในกลุ่มค็อคซิเดียโปรโตซัวชนิดอื่นปนอยู่ในกล้ามเนื้อลำตัวหนูประมาณ 2-3 ชนิด ดังนั้นจึงต้องทำการโคลนนิ่งเพื่อถอดรหัสพันธุกรรมเชื้อแต่ละชนิดที่ปนกันอยู่ให้สามารถแยกจากกันได้ก่อนแล้วจึงนำรหัสพันธุกรรมที่ได้นำมาใช้ออกแบบไพร์เมอร์ให้จำเพาะต่อ *S. singaporensis* เพื่อใช้ในการจำแนกชนิดและศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมต่อไปพร้อมกับพัฒนาวิธีการทำให้สารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ของ *S. singaporensis* มีความบริสุทธิ์มากขึ้นสามารถนำมาใช้เป็นหัวเชื้อตั้งต้นในการผลิตสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ในการผลิตเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนูและสามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ทางด้าน อณูชีววิทยาได้

การทดลองงานวิจัยนี้ยังไม่สิ้นสุด ยังต้องทำการศึกษาวิจัยต่อไปอีก

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ ที่ช่วยสอนเทคนิคและวิธีการจำแนกชนิดทางสัณฐานวิทยาของปรสิตโปรโตซัว *S. singaporensis* ทั้งในระยะสปอร์โรซีสต์และระยะซาร์โคซีสต์และ รศ.ดร. นสพ.วรวิทย์ วัชชวัลคุ ที่คอยให้คำปรึกษาในงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ วิยะดา สีหะบุตร เสริมศักดิ์ หงส์นาค และกรแก้ว เสือสะอาด .2539. การศึกษาชนิดของโปรโตซัวที่เป็นปรสิต ในหนูพุกใหญ่และหนูพุกเล็ก. หน้า 25-40 ในรายงาน ผลการวิจัย ปี 2539. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ เสริมศักดิ์ หงส์นาค T. Jaekel กรแก้ว เสือสะอาด, ปราสาททอง พรหมเกิด และ ชูวิทย์ สุขปราการ. 2542. การใช้โปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* ชีวินทรีย์กำจัดหนู ชนิดใหม่ เพื่อควบคุมหนูในประเทศไทย. 43 หน้า.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล ,2545 . จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอ : ปฏิบัติการอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี , ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 115 หน้า

Beaver, P.C. and J.R. Maleckar. 1981. *Sarcocystis singaporensis* Zaman & Colley (1975) 1976. *Sarcocystis villivillosi* and *Sarcocystis zamani* : Development, morphology and persistence in the laboratory rat, *Rattus norvegicus*. The International Journal for Parasitology. 67: 241-256.

Gardiner, C.H., R. Fayer and J.P. Dubey. 1985. An Atlas of Protozoan Parasites in Animal Tissues. Agriculture Handbook. 651.

Gjerde, B. and J. Schulze. 2013. Muscular sarcocystosis in two arctic foxes (*Vulpes lagopus*) due to *Sarcocystis arctica* n. sp.: sarcocyst morphology, molecular characteristics and phylogeny. Parasitology Research. 43: 579-591.

Hafner, U. and F.R. Matuschka. 1984. Life cycle studies on *Sarcocystis dirumpens* with to host specificity. Zeitschrift Parsitenkunde. 70: 715 – 720.

Jaekel, T., H. burgstaller and W. Frank. 1996. *Sarcocystis singaporensis*, studies on host specificity, pathologenicity and potential use as a biocontrol agent of rats. The Journal for Parasitology. 82: 280 – 287.

Kolarova, L. and P. Sulc. 1978. *Sarcocystis cernae* Levine, 1977 excystation, life cycle and comparison with other heteroxenous coccidians from rodents and birds. Folia Parasitology. 23: 201 – 207.

Lekakul, B. and J.A. Mcneely. 1977. Mammals of Thailand. Association for the conservation of wildlife, Bangkok.

Lindsay, D.S., B.L. Blagburn and K.G. Braund. 1995. *Sarcocystis* spp. and Sarcocystosis. Microbiological Methods & Bacteriological Analytical Manual 5: 249-254.

Moyer, C. L. 2001. Molecular phylogeny: applications and implications for marine microbiology. Methods Microbiology. 30: 375-394.

Mugridge, N.B., D.A Morrison, A.M. Johnson and J.P. Dubey. 1999. Phylogenetic relationships of the genus Frenkelia: a review of its history and new knowledge gained from camparison of large subunit. The International Journal for Parasitology. 29: 957-72.

Munday, B.L. and R.W. Mason. 1980. *Sarcocystis* and related organisms in Australian wildlife: III. *Sarcocystis murinotechis* life cycle in Rats (*Rattus, Pseudomys and Mastocomys*) and Tiger snake (*Notechis ater*). The Journal of Wildlife Disease. 16: 83 – 86.

Prakas, P. and D. Butkauskas. 2012. Protozoan parasites from genus *Sarcocystis* and their investigations in Lithuania. Ekologija. 58: 45-58.

Slapeta, J.R., D. Mordry, J. Votypka, M. Jirku, B. Koudela and J. Lukes. Multiple origin of the dihomoxenous life cycle in sarcosporidia. The International Parasitology. 31: 413-417.

Slapeta, J.R., I. Kyselova , A.O. Richardson , D. Modry and J. Lukes , 2002 . Phylogeny and sequence variability of the *Sarcocystis singaporensis* Zaman and Colly,(1975)1976 ssr DNA . The International Journal for Parasitology. 88: 810-815.

Tenter, A.M. and A.M. Johnson. 1997. Phylogeny of the tissue cyst-forming coccidia. Advances in Parasitology. 39: 69-139.

อนุกรมวิธานและชีววิทยาของรา *Cladosporium* สาเหตุโรค
Identification and Biology of *Cladosporium*

ชนินทร ดวงสอาด พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

รวบรวมเก็บตัวอย่างของพืชที่แสดงอาการของโรคพืชที่เกิดจากรา *Cladosporium* จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ในจังหวัดกาญจนบุรี ฉะเชิงเทรา ราชบุรี นครราชสีมา ตาก พะเยา เพชรบุรี เพชรบูรณ์ ราชบุรี และ เชียงใหม่ ได้ตัวอย่างของพืชทั้งหมด 19 ตัวอย่าง จากพืช 6 ชนิด แตงกวา พริก ผักกาดขาว ผักกาดหอม เผือก และมะม่วง โดยการศึกษาลักษณะอาการของโรคโดยตรงและแยกเชื้อสาเหตุโดยใช้วิธี Tissue transplanting บนอาหาร potato dextrose agar (PDA) จำแนกชนิดโดยศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ compound microscope จำแนกได้ทั้งหมด 4 species 19 ไอโซเลท ได้แก่ *Cladosporium cladosporioides, C. colocasiae, C. cucumerinum* และ *C. oxysporum* ราเจริญได้ดีบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA), Malt Extract Agar (MEA) และ Oat Agar (OA)

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-01-54

คำนำ

รา *Cladosporium* เป็นราที่พบแพร่กระจายอยู่ทั่วไป พบในพืชทุกชนิด รา และเศษซากพืช มักแยกได้จากดิน อาหาร สี สิ่งทอ และเศษซากอินทรียวัตถุ หรือจากโคโลนีของราซึ่งราชนิดนี้มีลักษณะเป็นรา secondary invaders หรือเป็นสาเหตุโรคที่แยกได้จากใบพืช (Elliss, 1976) และแยกได้มากที่สุดในอากาศ (Mullins, 2001) เนื่องจากราชนิดนี้มีสปอร์ขนาดเล็ก เกิดอยู่บนก้านชูสปอร์ที่แตกกิ่งก้าน จึงทำให้รามีปริมาณมากและสามารถแพร่กระจายไปได้ในระยะที่ไกลมาก มีบางชนิดที่เป็นสาเหตุโรคพืชทำให้เกิดโรคใบจุด ใบไหม้ (Schubert K and Braun U. 2005) หรือบางชนิดเป็นปรสิตเจริญอยู่บนราชนิดอื่น (Heuchert *et al*., 2005) และมีอีกหลายชนิดที่เป็น endophyte เป็นราที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของพืชและสามารถเจริญเติบโตได้ดีโดยไม่ทำให้ให้เกิดโรคหรือการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาที่ผิดปกติแก่พืชชนิดนั้นๆ (El-Morsy, 2000) และบางชนิดทำให้เกิดโรคภูมิแพ้กับคน (Hoog *et al*., 2000)

รา *Cladosporium* มีจำนวนชนิดมากกว่า 773 ชนิด (Dugan *et al*., 2004) จัดอยู่ใน Class Dematiaceous Hyphomycetes ที่สร้างเส้นใยconidiophores หรือ conidium ที่มีสีเข้ม (dark-colored) conidiophores เป็นก้านยาว ตั้งตรงและแตกกิ่งก้าน รูปร่างของ conidium ไม่แน่นอน โคโลนีมีสีเขียวมะกอกเข้ม เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคได้ทั้งกับคนและพืช (Hawksworth, 1986) ซึ่งราชนิดนี้ก่อให้เกิดโรคสำคัญกับพืชหลายชนิด เช่น *Cladosporium capsici* สาเหตุโรคดอกไหม้ (flower blight) เบญจมาศ *C. cucumerinum* สาเหตุโรคราดำ (leaf mold) แตงโมและสแคป (scab) ในแตงกวา *C.allii-cepae* สาเหตุโรคใบจุด (leaf blotch) หอม กระเทียม *C. fulvum* สาเหตุโรคกำมะหยี่และใบจุดมะเขือเทศ *C. musae* สาเหตุโรคใบลาย ใบจุดด่าง (leaf speckle) กล้วย *C. cladosporioides* และ *C. herbarum* สาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาล (brown spot) ในองุ่น และยังมีพืชอื่นที่แสดงอาการของโรคพืชที่มีเชื้อสาเหตุจาก genus *Cladosporium* เช่นโรคราดำในกล้วยไม้ ทุเรียน ลำไย โรคฝักจุด ฝักลาย ในกระเจี๊ยบเขียว โรคใบจุดในมะละกอ และอื่นๆ ที่ยังไม่ระบุชนิดของรา *Cladosporium* และยังพบว่า รา *Cladosporium* เป็นราในระยะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (anamorph) ของรา *Mycosphaerella* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคใบจุดของพืชสำคัญหลายชนิด ดังนั้นหากทราบถึง ชนิดของรา *Cladosporium* บนพืชอาศัยต่าง ๆ จึงเป็นข้อมูลที่จะเป็นประโยชน์ในทางด้านโรคพืชและการเกษตรทั่วไป ตลอดจนการป้องกันกำจัดสาเหตุโรคพืชที่ถูกต้อง และการรวบรวมเก็บรักษาสายพันธุ์บริสุทธิ์ของเชื้อราดังกล่าวเข้าไปใน culture collection จะเป็นแหล่งเก็บรักษาพันธุกรรมเชื้อราเพื่อการนำไปใช้ศึกษาค้นคว้าเรื่องสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่จะเป็นประโยชน์การเกษตร การแพทย์ และอุตสาหกรรมต่อไปในอนาคต และเป็นข้อมูลพื้นฐานในด้านการจำแนกชนิดของเชื้อราและยังเป็นข้อมูลอ้างอิงในการจัดทำบัญชีรายชื่อ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างได้แก่ ถุงพลาสติก กรรไกร กรรไกรตัดแต่งกิ่ง กระดาษฟาง ไม้อัดทับตัวอย่าง
2. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อ
3. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง ขวดดูแรน บิกเกอร์ สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์ กระบอกตวง แท่งแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์

4. เข็มเขี่ยปลายแหลม ปากคีบ ใบมีดผ่าตัด มีด
5. กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และ sterio
6. อาหารแยกและเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ water agar (WA) potato dextrose agar (PDA) Malt Extract Agar, Corn Meal Agar (CMA)
7. สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ ได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ และ เอธิลแอลกอฮอล์ 75%

วิธีการ

1. รวบรวมและเก็บตัวอย่างโรคพืช

เก็บตัวอย่างโรคพืช ได้แก่ ใบ ดอก ผล กิ่ง ลำต้น และราก จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ห่อด้วยกระดาษ ใส่ถุงพลาสติก และบันทึกรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ ผู้เก็บ และแบ่งตัวอย่างโรคพืชมาอัดทับตัวอย่างแห้ง จัดเก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร

2. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

- ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรง

ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิ 32±2 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน เมื่อพบเชื้อราสร้างเส้นใยหรือ conidium ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อรามาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ และตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound ถ่ายรูปลักษณะเชื้อและบันทึกลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อ

- แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplant

นำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซับบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร ½Potato Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar, Malt Extract Agar, Corn Meal Agar หรือ water agar บ่มที่อุณหภูมิ 32±2 องศาเซลเซียส นาน 3-7 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ และเลี้ยงบนอาหาร PDA

3. การจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืช

นำเชื้อราที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร ½Potato Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar, Malt Extract Agar, Corn Meal Agar หรือ water agar โดยบันทึกลักษณะอาการต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

- บันทึกอัตราการเจริญของเชื้อราบนอาหารชนิดต่าง ๆ ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บันทึกสีของโคโลนีด้านบนและด้านล่างอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งการสร้างเม็ดสี (pigment)
- ศึกษารูปร่างลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจดูลักษณะเส้นใย conidiophore และสปอร์ และศึกษาลักษณะของสปอร์และโครงสร้างอื่น ๆ ของเชื้อรา โดยการ mount slide ด้วยน้ำหรือ shear's solution
- ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี ลักษณะของสปอร์ conidiophore สี ขนาด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound บันทึกขนาด รูปร่าง วาดภาพ และบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ และถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (Scanning Electron Microscope)

4. เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา

เชื้อราที่แยกได้นั้น เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาไว้ใน Culture Collection และเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์ โรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น – สิ้นสุด
เดือนตุลาคม 2553 - เดือนกันยายน 2556

สถานที่ - ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช
- โรงเรือนทดลองกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. รวบรวมและเก็บตัวอย่างโรคพืช

รวบรวมเก็บตัวอย่างของพืชที่แสดงอาการของโรคพืชที่เกิดจากรา *Cladosporium* จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ในจังหวัดกาญจนบุรี ฉะเชิงเทรา ราชบุรี นครราชสีมา ตาก พะเยา เพชรบุรี เพชรบูรณ์ ราชบุรี และ เชียงใหม่ ได้ตัวอย่างของพืชทั้งหมด 19 ตัวอย่าง จากพืช 6 ชนิด แตงกวา พริก ผักกาดขาว ผักกาดหอม เผือก และมะม่วง

2. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

จากการศึกษาลักษณะอาการของโรค ศึกษาเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืช และแยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplant โดยแยกเชื้อได้ทั้งหมด 19 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

3. การจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืช

จากการจำแนกของรา *Cladosporium* จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ในจังหวัดกาญจนบุรี ฉะเชิงเทรา ราชบุรี นครราชสีมา พะเยา เพชรบูรณ์ ราชบุรี และ เชียงใหม่ ได้ตัวอย่างของพืชทั้งหมด 19 ตัวอย่าง จากพืช 6 ชนิด แตง พริก ผักกาดขาว ผักกดาดหอม เผือก และมะม่วง จำแนกชนิดโดยศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ compound microscope จำแนกได้ทั้งหมด 4 species ได้แก่ *Cladosporium cladosporioides, C. colocasiae, C. cucurmerinum* และ *C. oxysporum* (ตารางที่ 1) โดยมีการจัดจำแนกตามลักษณะอาการของโรคและลักษณะของเชื้อดังนี้

Cladosporium cladosporioides (Fresen) de Vries

ลักษณะอาการ เกิดแผลจุดที่ใบ เริ่มแรกจุดเหลือง ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและราสร้างเส้นใยและสปอร์บนแผล มีสีน้ำตาลอมเขียวมะกอก

ลักษณะของเชื้อ

ราเจริญเติบโตช้าบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เมื่ออายุ 15 วัน วัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีได้ 4.5-6 เซนติเมตร โคโลนีค่อนข้างนูนสีดำอมเขียวมะกอก ด้านใต้โคโลนีสีดำปนเขียวมะกอกมีลักษณะเป็นแฉก conidiophores ตั้งตรง แตกกิ่งก้านที่ส่วนปลาย สีน้ำตาลอ่อน ผนังเรียบ ขนาด 3000-320 x 2-4 ไมครอน conidia เป็น blastospore เกิดจากการแตกหน่อ (budding) สีน้ำตาล มี 1-2 เซลล์ แต่มักพบเซลล์เดียวมากกว่า ผนังเรียบ ขนาดต่างๆ กัน 4-8 x 2-4

รูปไข่ รี หรือคล้ายมะนาว จนถึงเป็นมีลักษณะเหลี่ยมไม่แน่นอน และมักเห็นรอยแผล (scar) ที่บริเวณหัวท้ายเซลล์ หรือเฉพาะส่วนฐานของเซลล์ ส่วนใหญ่มักพบ conidia รูปร่างคล้ายมะนาวต่อกันเป็นลูกโซ่ และแตกแขนงได้อีก แขนงที่แตกออกจากก้านชูสปอร์เป็นเซลล์ยาว conidia มักอยู่ที่ปลายสุดของ conidiophores

ราเจริญได้ดีบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA), Malt Extract Agar (MEA) และ Oat Agar (OA)

พืชที่เป็นโรค ผักกาดขาว เผือก พริก และมะม่วง

แหล่งที่พบ กาญจนบุรี ฉะเชิงเทรา นครราชสีมา เพชรบูรณ์ ราชบุรี อุบลราชธานี

Zhang (1988) ศึกษาราใบจุดบนผักกาดขาว (*Brassica pakinensis*) พบรา *Cladosporium* สาเหตุของโรค 3 ชนิด ได้แก่ *Cladosporium brassicicola, C. cladosporioides* และ *C. macrocarpum* จากการศึกษาครั้งนี้พบรา *C. cladosporioides* เป็นสาเหตุโรคใบไหม้ของผักกาดขาวที่จังหวัดกาญจนบุรี และเพชรบูรณ์ ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อเหมือนกับรา *C. cladosporioides* ที่ Zhang รายงานไว้

นอกจากนั้นยังพบว่ารา *C. cladosporioides* เป็นสาเหตุโรคพืชของพืชหลายชนิด ได้แก่ หอมหัวใหญ่ พริก มะละกอ ส้มเขียวหวาน เผือก เป็นต้น (Zhang, 1988) ในประเทศไทยมีรายงานพบราชนิดนี้บนใบหมาก ที่ Mushroom Research Center จังหวัดเชียงใหม่ (Bensch *et al*., 2012)

Cladosporium colocasiae Sawada

ลักษณะอาการ

เกิดแผลจุดสีน้ำตาลบนใบพืช เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแกมแดงเมื่อใบแก่ แผลค่อนข้างกลม หรือมีรูปร่างไม่แน่นอน บางครั้งพบเป็นสีดำอยู่ตรงกลางแผล มักพบว่ารอบแผลจะมีสีเหลืองล้อมรอบ ขนาดแผลมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 15 มิลลิเมตร แต่จะมีขนาดเล็กลงถ้าแผลเป็นจุดเล็กกระจายอยู่ทั่วใบ (รูปที่ 1ก และ ข)

ลักษณะของเชื้อ

ก้านชูสปอร์มียาวประมาณ 1,200 ไมครอน กว้าง 3–4(–5) ไมครอน ส่วนใหญ่ไม่แตกแขนง สีซีดถึงสีน้ำตาลอ่อน ตรงหรือโค้งเล็กน้อย มักพบที่ปลายหรือส่วนกลางของก้านชูสปอร์มีลักษณะโป่งกว้าง 5–10 ไมครอน (รูปที่ 1ค) ส่วนที่เกิดสปอร์มีรอยแผลชัดเจน หนา (1–1.8(–2) ไมครอน ก้านชูสปอร์ของราชนิดนี้เจริญบนอาหาร PDA พบว่าก้านชูสปอร์ของราที่เจริญบนอาหารจะมีความยาวมากกว่าก้านชูสปอร์ของรารที่พบบนใบพืชที่เป็นโรค

สปอร์ ขนาด 12–30 × 6–8(–9) ไมครอน มีเส้นแบ่งกั้นเซลล์ 1–3-เส้น (มักไม่พบ 4 หรือ 5 เส้น) สีซีดถึงสีน้ำตาลอ่อน ผนังเรียบ รูปร่างทรงกระบอก หรือ รูปรีตรงกลางกว้าง สปอร์เรียงต่อกันเป็นลูกโซ่เดี่ยวหรือแตกแขนง และมีรอยแผลจำนวน 1 หรือมากกว่า 1 ที่ปลายแต่ละสปอร์ (รูปที่ 1ง)

ราเจริญได้ดีบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA), Malt Extract Agar (MEA) และ Oat Agar (OA)

พืชที่เป็นโรค เผือก

แหล่งที่พบ เชียงใหม่ เพชรบุรี เพชรบูรณ์ ราชบุรี

การศึกษาครั้งนี้พบรา *C. colocasiae* เป็นสาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาลที่จังหวัดราชบุรี ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อเหมือนกับรา *C. colocasiae* ที่ Bensch และคณะ (2012) และ

McKenzie (2013) รายงานไว้ ลักษณะของก้านชูสปอร์ของราชนิดนี้มีลักษณะก้านชูสปอร์โป่ง ซึ่งคล้ายกับ *C. herbatum, C. oxysporum* และ *C. variabile* แต่ลักษณะของสปอร์จะแตกต่างกันอย่างชัดเจน (Schubert and Braun, 2005 ; Schubert *et al*., 2007) และจากการศึกษาการเจริญของราชนิดนี้บนอาหาร PDA พบว่าก้านชูสปอร์ของราชนิดนี้เจริญบนอาหาร PDA มีความยาวมากกว่าก้านชูสปอร์ของราที่พบบนใบพืชที่เป็นโรค :ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ho และคณะ (1999)

Cladosporium cucumerinum **Ellis & Arthur**

ลักษณะอาการ

พบอาการที่ใบ เริ่มต้นเกิดจุดแผลเล็กๆ กระจายอยู่ทั่วใบ จุดสีเขียวอ่อน จุดฉ่ำน้ำ ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีขาวถึงสีเทา และมีลักษณะป็นจุดเหลี่ยม บางครั้งพบมีสีเหลืองล้อมรอบแผล จุดกลางแผลมักฉีกขาดเป็นรู

ลักษณะของเชื้อ

เส้นใยของราบางส่วนเจริญเข้าไปในเนื้อเยื่อพืช บางส่วนชูขึ้นมาเหนือเนื้อเยื่อพืช เส้นใยแตกแขนง กว้าง 1.5-6.0 ไมครอน มีผนังกั้นเซลล์ สีค่อนข้างใสถึงสีเขียวมะกอกอ่อน หรือน้ำตาลอ่อน เส้นใยรวมตัวกัน ทำให้เส้นใยโป่ง ก้านชูสปอร์เกิดเดี่ยวๆ หรือเกิดเป็นกลุ่มเล็ก ๆ ชูขึ้นมาจากเส้นใยที่เกิดขึ้นในและนอกเนื้อเยื่อพืช ด้านข้างหรือปลาย หรือจากเส้นใยที่โป่ง ตรง หรือโค้งเล็กน้อย ไม่แตกแขนง สั้น บางครั้งแตกแขนง ขนาดของก้านชูสปอร์ 8-370 x 3-7 ไมครอน

สปอร์ เกิดเรียงต่อกันเป็นลูกโซ่ ตรงถึงโค้งเล็กน้อย สปอร์เกิดที่ปลายหรือส่วนกลางของก้านชูสปอร์ รูปร่างค่อนข้างกลม รูปรีตรงกลางกว้าง รูปไข่ ญูปคล้ายกระสวย หรือคล้ายมะนาว ขนาด 3-22 x 2-6.5 มีเส้นกั้นผนังเซลล์ สีน้ำตาลแกมเขียวมะกอก ผนังเรียบบ หนา

ราเจริญได้ดีบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA), Malt Extract Agar (MEA) และ Oat Agar (OA)

พืชที่เป็นโรค แตงกวา

แหล่งที่พบ ตาก พะเยา

การศึกษาครั้งนี้พบรา *C. cucumerinum* เป็นสาเหตุโรคสแคป พบอาการที่ใบเท่านั้น ที่จังหวัดตาก และพะเยา

ราชนิดนี้เป็นสาเหตุโรคของพืชหลายชนิด พบอาการทั้งบนใบ ลำต้น และ ผล ของพืชตระกูลแตง โดยเฉพาะ แตงกวา แคนตาลูป และ ฟักทอง นอกจากนั้นยังในพืชชนิดอื่น ได้แก่ แตงโม น้ำเต้า บวบ (Bensch *et al*., 2012) แต่ในการศึกษาครั้งนี้พบในใบแตงกวาเท่านั้น ที่จังหวัดตากและพะเยา ลักษณะสปอร์ของราชนิดนี้จะคล้ายกับรา *C. cladosporioides* แตกต่างกันที่ก้านชูสปอร์ของราชนิดนี้จะโค้งงอเล็กน้อยและขนาดสปอร์จะกว้างกว่า (Bensch *et al*., 2012)

Cladosporium oxysporum **Berk. & M.A. Curtis**

ลักษณะอาการ

เกิดแผลจุดสีน้ำตาลบนใบพืช เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแกมแดงเมื่อใบแก่ แผลค่อนข้างกลม หรือมีรูปร่างไม่แน่นอน บางครั้งพบเป็นสีดำอยู่ตรงกลางแผล

ลักษณะของเชื้อ

ราสร้างก้านชูสปอร์มีขนาด55-650 x 2.5-5.5 ไมครอน สีน้ำตาลอ่อน ลักษณะตรงถึงโค้งเล็กน้อย ก้านชูสปอร์โป่ง ผนังเรียบ และบริเวณที่เป็นที่เกิดของสปอร์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.0-7.5 ไมครอน

สปอร์มีรูปร่างค่อนข้างกลม รูปไข่ จนถึงรูปคล้ายทรงกระบอก เซลล์เดียว สีเกือบใสจนถึงสีน้ำตาล ผนังเรียบ ขนาด 4-20 x 3-6 ไมครอน

พืชที่เป็นโรค ผักกาดหอม

แหล่งที่พบ เชียงใหม่

ลักษณะของก้านชูสปอร์ของราชนิดนี้มีลักษณะก้านชูสปอร์โป่ง ซึ่งคล้ายกับ *C. herbatum, colocasiae* และ *C. variabile* แต่ลักษณะของสปอร์จะแตกต่างกันอย่างชัดเจน (Schubert and Braun, 2005 ; Schubert *et a*l., 2007)

4. เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา

เชื้อราที่แยกได้นั้น เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาไว้ใน Culture Collection และเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์ โรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

รวบรวมเก็บตัวอย่างของพืชที่แสดงอาการของโรคพืชที่เกิดจากรา *Cladosporium* จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ในจังหวัดกาญจนบุรี ฉะเชิงเทรา ราชบุรี นครราชสีมา ตาก พะเยา เพชรบุรี เพชรบูรณ์ ราชบุรี และ เชียงใหม่ ได้ตัวอย่างของพืชทั้งหมด 19 ตัวอย่าง จากพืช 6 ชนิด แตงกวา พริก ผักกาดขาว ผักกาดหอม เผือก และมะม่วง จำแนกชนิดโดยศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อ จำแนกได้ทั้งหมด 4 species 19 ไอโซเลท ได้แก่ *Cladosporium cladosporioides, C. colocasiae, C. cucumerinum* และ *C. oxysporum* ราเจริญได้ดีบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA), Malt Extract Agar (MEA) และ Oat Agar (OA)

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

การทราบชนิดและวิธีการจำแนกชนิดของรา *Cladosporium* บนพืชอาศัยต่าง ๆ เป็นข้อมูลที่จะเป็นประโยชน์ในทางด้านโรคพืชและการเกษตรทั่วไป และการรวบรวมเก็บรักษาสายพันธุ์บริสุทธิ์ของเชื้อราดังกล่าวเข้าไปใน culture collection จะเป็นแหล่งเก็บรักษาพันธุกรรมเชื้อราเพื่อการนำไปใช้ศึกษาค้นคว้าเรื่องสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่จะเป็นประโยชน์การเกษตร การแพทย์ อุตสาหกรรมต่อไปในอนาคต และเป็นข้อมูลพื้นฐานในด้านการจำแนกชนิดของเชื้อรา และยังเป็นข้อมูลอ้างอิงในการจัดทำบัญชีรายชื่อเพื่อประโยชน์ในการนำเข้าและส่งออกสินค้า

เอกสารอ้างอิง

พัฒนา สนธิรัตน์ ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และ อุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืช และจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

วิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2551. ราวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

Bensch, K., U. Braun, J.Z. Groenewald and P.W. Crous. 2012. The genus Cladosporium. Studies in Mycology 72: 1-401.

Dugan FM, K. Schubert, U. Braun. 2004. Check-list of *Cladosporium* names. Schlechtendalia 11: 1–103.

Ellis M. B. 1971. Dematecеous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 698 p.

Ellis M. B. 1976. More Dematecеous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 507 p.

El-Morsy E.M. 2000. Fungi isolated from the endorhizosphere of halophytic plants from the Red Sea Coast of Egypt. Fungal Diversity 5: 43–54.

Heuchert B, U. Braun and K. Schubert. 2005. Morphotaxonomic revision of fungicolous *Cladosporium* species (hyphomycetes). Schlechtendalia 13: 1–78.

Hawksworth, D.L. 1986. Fungal genera in urgent need of taxonomic work. Microbiological Sciences 3: 58.

Hoog GS de, J. Guarro, J. Gené and M.J.Figueras. 2000. Atlas of clinical fungi, 2nd ed. CBS, Utrecht and Universitat rovira I virgili, Reus

Mullins J. 2001. Microorganisms in outdoor air. *In*: Microorganisms in Home and Indoor Work Environments: Diversity, Health Impacts, Investigation and Control (Flannigan B, Samson RA, Miller JD, eds). Taylor & Francis, London: 3–16.

Schubert K and U. Braun. 2005. Taxonomic revision of the genus Cladosporium s. lat. 4. Species reallocated to *Asperisporium, Dischloridium, Fusicladium, Passalora, Pseudoasperisporium* and *Stenella.* Fungal Diversity 20: 187–208.

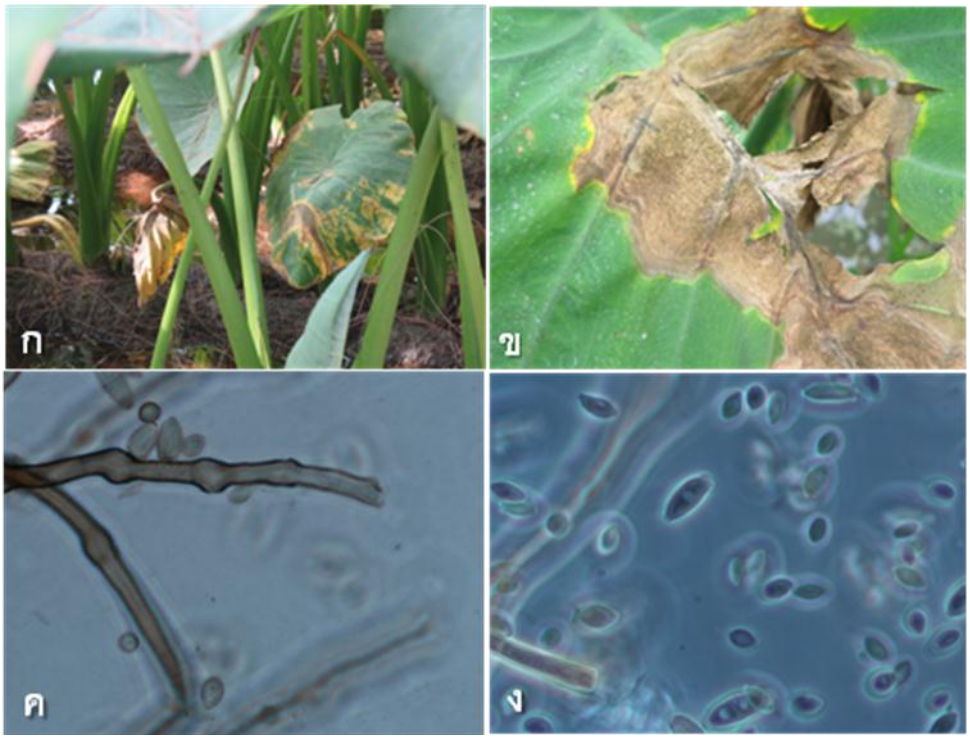
Schubert K, J.Z. Groenewald, U. Braun, J. Dijksterhuis, M.S. Starink, C.F. Hill, P. Zalar, P., G.SHoog and P.W. Crous. 2007. Biodiversity in the *Cladosporium herbarum* complex (*Davidiellaceae,* Capnodiales), with standardization of method for *Cladosporium* taxonomy and diagnostics. Studies in Mycology 58: 105-156.

Zhang, ZY., YL. Liu, TF. Li, G. Wang, H. Zhang, YH. He and HH. Peng. 2000. Flora Fungorum Sinicorum Vol.14; *Cladosporium, Fusicladium, Pyricularia*. Science Press, Beijing. 298 pp

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 เชื้อสาเหตุที่พบบนพืชในแหล่งปลูกต่าง ๆ

พืช	เชื้อสาเหตุ	ไอโซเลท	สถานที่
แตงกวา	*Cladosporium cucumerinum*	2	กาญจนบุรี พะเยา
ผักกาดขาว	*Cladosporium cladosporioides*	2	กาญจนบุรี เพชรบูรณ์
ผักกาดหอม	*Cladosporium oxysporum*	2	เชียงใหม่
เผือก	*Cladosporium cladosporioides*	1	ราชบุรี
เผือก	*Cladosporium colocasiae*	8	เชียงใหม่ ราชบุรี เพชรบูรณ์ เพชรบุรี
พริก	*Cladosporium cladosporioides*	2	กาญจนบุรี อุบลราชธานี
มะม่วง	*Cladosporium cladosporioides*	2	ฉะเชิงเทรา นครราชสีมา



รูปที่ 1 โรคใบจุดสีน้ำตาลของเผือกสาเหตุเกิดจากรา *Cladosporium colocasiae*
ก-ข ลักษณะอาการโรคใบจุดสีน้ำตาล
ค ก้านชูสปอร์มีลักษณะโป่ง
ง สปอร์ของรา

อนุกรมวิธานและชีววิทยาของราสกุล *Choanephora* สาเหตุโรคเน่าเปียก (Wet rot)

Taxonomic and Biological Study on *Choanephora* Causal Agent of Wet Rot Disease

ธารทิพย ภาสบุตร อภิรัชต์ สมฤทธิ์ ทัศนาพร ทัศคร
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจเก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรค จากแปลงปลูกของเกษตรกร ในพื้นที่ 10 จังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี เชียงใหม่ เชียงราย ตาก เพชรบูรณ์ ชลบุรีและจันทบุรี ระหว่างเดือน พฤษภาคม ถึง สิงหาคม ซึ่งเป็นช่วงที่มีฝนตกชุก ความชื้นสูงและมักพบการระบาดของโรค ได้ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคเน่าเปียก (wet rot) ที่เกิดจากเชื้อรา *Choanephora* sp. จำนวน 33 ตัวอย่าง พืช 13 ชนิด ได้แก่ พริกขี้หนู 7 ตัวอย่าง พริกชี้ฟ้า 4 ตัวอย่าง กระเจี๊ยบ 2 ตัวอย่าง มะเขือเปราะ 2 ตัวอย่าง ถั่วพู 1 ตัวอย่าง ถั่วฝักยาว 2 ตัวอย่าง โทงเทง (วัชพืช) 2 ตัวอย่าง ผักโขม (วัชพืช) 2 ตัวอย่าง ถั่วลันเตา 3 ตัวอย่าง คะน้า 2 ตัวอย่าง ชบา 1 ตัวอย่าง มะเขือยาว 1 ตัวอย่าง ฟักทอง 2 ตัวอย่าง ถั่วเขียว 1 ตัวอย่าง และดอกกล้วยไม้สกุลหวาย 1 ตัวอย่าง ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานจำแนกชนิดได้เป็นรา *Choanephora cucurbitarum* (Berk. & Rav.) Thaxt. ผลการศึกษาการเจริญของเส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, Half PDA, PCA, CA และ MEA ที่อุณหภูมิ 20 25 และ 30 องศาเซลเซียส พบว่าเส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* มีลักษณะฟูสูงขึ้นจากผิวอาหาร แต่มีบางส่วนที่เจริญแบนราบไปกับผิวอาหาร เมื่อโคโลนีมีอายุได้ 1 วัน เส้นใยยังไม่มีการสร้างโคนิเดีย เมื่อโคโลนีมีอายุได้ 2 วัน จะเห็นเป็นจุดๆของ sporangium และ conidium เมื่อโคโลนีมีอายุได้ 4-5 วัน เส้นใยจะมีลักษณะเหนียวและยุบเมื่อถูกสัมผัส ที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส เส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* เจริญอย่างรวดเร็วเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 2 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส บนอาหาร PDA และHalf PDA เส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* สร้าง conidium ได้มากกว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาชนิดพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* โดยการสำรวจเก็บตัวอย่างพบพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* คือพริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า กระเจี๊ยบ มะเขือเปราะ ถั่วพู ถั่วฝักยาว โทงเทง(วัชพืช) ผักโขม (วัชพืช) ชบา ถั่วลันเตา คะน้า มะเขือยาว ฟักทอง ถั่วเขียวและดอกกล้วยไม้สกุลหวาย ผลการศึกษาชนิดพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* โดยการปลูกเชื้อบนต้นพืช พบว่ารา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากพริกขี้หนู ทำให้ พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา คะน้า ผักโขม แสดงอาการโรคในระดับ 3 รา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากถั่วลันเตา ทำให้ ถั่วลันเตา แสดงอาการโรคในระดับ 3 พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา คะน้า ผักโขม แสดงอาการโรคในระดับ 2 รา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากคะน้า ทำให้ คะน้า พริกขี้หนู

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-03-54

พริกชี้ฟ้า แตงกวา ผักโขม แสดงอาการโรคในระดับ 2 รา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากผักโขมทำให้ ถั่วลันเตา ผักโขม แสดงอาการโรคในระดับ 3 พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า แสดงอาการโรคในระดับ 2 แตงกวา คะน้า ไม่แสดงอาการโรค โดยการปลูกเชื้อบนผลพืช พบว่ารา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากพริกขี้หนู ทำให้ ผลพริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา แสดงอาการโรคในระดับ 2 รา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากถั่วลันเตา ทำให้ฝักถั่วลันเตา ผลพริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา แสดงอาการโรคในระดับ 2 รา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากคะน้า ทำให้ผลพริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา แสดงอาการโรคในระดับ 2

คำนำ

โรคเน่าเปียก (wet rot) หรือโรคยอดและดอกเน่าของพืชที่เกิดจากราสกุล *Choanephora* เป็นโรคซึ่งระบาดทำความเสียหายแก่พืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น หน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตา พริก กระเจี๊ยบเขียว แตงกวา ฟักทอง มะเขือ เบญจมาศ แก้วมังกร และขนุน เป็นต้น ลักษณะการทำลายจะทำลายส่วนที่อ่อนหรือส่วนเจริญของพืชเช่น ตาดอก ดอก ยอดอ่อนใบอ่อนและผลอ่อน ทำให้พืชเกิดอาการเหี่ยว เนื้อเยื่อแห้งกลายเป็นสีน้ำตาลดำหรือเกิดอาการเน่า มักพบราสร้างก้านชูสปอร์ส่วนปลายเป็นตุ่มเล็กๆสีดำ ตั้งฉากชูขึ้นมาจากส่วนของพืชที่เป็นโรค มองเห็นชัดด้วยตาเปล่า การเข้าทำลายจะเกิดในช่วงที่ฝนตกชุกมีความชื้นในบรรยากาศสูง (ศศิธร 2545)

ราสกุล *Choanephora* อยู่ใน subdivision Zygomycotina class Zygomycetes order Mucorales family Choanephoraceae ราสกุลนี้มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบไม่ใช้เพศและแบบใช้เพศ การสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ สร้างสปอร์ (sporangiospore) ที่เคลื่อนที่เองไม่ได้ บน sporangium แบบ columellate และ sporangiolum ซึ่งเกิดแยกก้าน sporangiophore ที่มีปลายโค้งงอและไม่แตกกิ่งก้าน sporangiospore สีน้ำตาลปนดำ รูปกระสวย ที่ผนังมีเส้นขีด (striate wall) และที่หัวท้ายมี appendage คล้ายเส้นขน (hair-like) หลายเส้น ส่วน sporangiolum ที่สร้างนั้นภายในมีสปอร์เพียงสปอร์เดียว สร้างอยู่บน sporangiophore ที่มีปลายโป่งเป็นโครงสร้างรูปกลมเรียกว่า secondary vesicle บน secondary vesicle มีก้าน stalk สั้น ๆ แตกออกไปโดยรอบหลายก้าน ที่ปลายก้านเหล่านี้เป็นที่เกิดของ monosporous sporangiolum สีน้ำตาลปนดำ มี เส้นขีด แต่ไม่มี appendage ส่วนการสืบพันธุ์แบบใช้เพศเป็นแบบ heterothallic สร้าง zygosporangium เกิดอยู่ระหว่าง apposed suspensors พบ chlamydospore ผนังเรียบพบทั้งจากเส้นใยที่เจริญอยู่ด้านบนและด้านใต้ substrate และรานี้สามารถผลิต β-carotene ได้ (วิจัย, 2546)

ปัจจุบันระบบนิเวศน์เกษตรมีการเปลี่ยนแปลงไปทั้งสภาพอากาศและพันธุ์พืชที่ปลูก ทำให้พืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเช่น พริก และถั่วลันเตา รวมทั้งวัชพืชบางชนิด แสดงอาการเน่าเปียกหรืออาการยอดและดอกเน่ามากขึ้น ดังนั้นการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและอนุกรมวิธานราสกุล *Choanephora* สาเหตุโรคเพิ่มเติมจากที่เคยมีรายงานมาแล้วจึงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อให้ได้ชื่อชนิดของราสาเหตุโรคพร้อมข้อมูลพืชอาศัย การระบาดของโรค รวมทั้งแหล่งแพร่กระจายของราที่เป็นข้อมูลปัจจุบัน ซึ่งข้อมูลดังกล่าวเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญสำหรับงานด้านอารักขาพืช และเพื่อการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมในด้านอื่นๆ เช่น การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคเน่าเปียกของพืชชนิดต่างๆ การศึกษาทางด้านอณูชีววิทยาและการศึกษาการสร้างสารทุติยภูมิของราต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืชเป็นโรคที่คาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Choanephora* sp. จากแหล่งปลูกพืชของประเทศไทย
2. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างโรคพืช เช่น กรรไกร คัตเตอร์ ถุงพลาสติก กระดาษหนังสือพิมพ์ ปากกา กระดาษบันทึกข้อมูล
3. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเชื้อรา เช่น เข็มเขี่ย มีดโกน มีดผ่าตัด แผ่นแก้วสไลด์พร้อมแผ่นปิดสไลด์และตะเกียงแอลกอฮอล์
4. สารเคมี ได้แก่ lactophenol และ oil immersion
5. อาหารเลี้ยงเชื้อรา
6. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง ตู้เขี่ยเชื้อ กล้องถ่ายภาพ
7. ตำราสำหรับใช้ในการจัดจำแนกชนิดรา *Choanephora* sp.

วิธีการ

1. **สืบค้นข้อมูล**

สืบค้นข้อมูลโรคเน่าเปียกหรือโรคยอดและดอกเน่าที่เกิดจากรา *Choanephora* sp. ของพืชในประเทศไทยจากเอกสารต่าง ๆ หรือจากข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์

2. **สำรวจรวบรวมเก็บตัวอย่างพืชเป็นโรคและศึกษาลักษณะอาการ**

เก็บตัวอย่างพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจและวัชพืช ที่แสดงอาการของโรคที่คาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Choanephora* sp. จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย โดยเลือกเก็บส่วนของพืชที่แสดงอาการของโรค ห่อตัวอย่างพืชที่เก็บมาด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติก พร้อมแนบกระดาษบันทึกรายละเอียด ชื่อพืช สถานที่เก็บ วันที่เก็บ เพื่อนำตัวอย่างพืชที่ได้มาศึกษาลักษณะอาการและจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ

3. **ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของราสาเหตุโรคจากตัวอย่างพืชเป็นโรคโดยตรง**

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo โดยใช้เข็มเขี่ยย้าย fruiting body ที่เชื้อราสร้างขึ้น วางลงบนแผ่นกระจกสไลด์ แล้วหยด lactophenol ปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ ตรวจดูลักษณะทางสัณฐานของเส้นใยและโครงสร้างต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ด้วยกำลังขยาย 400 และ1,000 เท่า วัดขนาดเส้นใย และโครงสร้างอื่นๆที่สำคัญโดยใช้ calibrated micrometer แล้วตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของเชื้อรา จัดจำแนกชนิดเชื้อรา *Choanephora* sp. สาเหตุโรคพืชโดยเปรียบเทียบลักษณะของรา *Choanephora* sp. ที่ศึกษากับคู่มือการจัดจำแนกรา *Choanephora* sp.

จากนั้นแยกเชื้อราโดยใช้เข็มเขี่ยย้าย fruiting body ของเชื้อรามาวางบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

4. **ศึกษาราสาเหตุโรคโดยวิธีแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชเป็นโรค (Tissue transplant)**

แยกเชื้อราโดยนำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้ได้รอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้วนำไปวางบน

อาหาร water agar ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน ตรวจดูเส้นใยรา ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ตัด hyphal tip ของราที่เจริญออกมาจากชิ้นตัวอย่างพืช ย้ายไปวางบนอาหาร PDA เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่อไป

5. ศึกษาอาหารเลี้ยงเชื้อและอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญของรา *Choanephora* sp.

นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้และจำแนกชนิดแล้วมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิด ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปวางในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 20 25 และ 30 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ตรวจผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีในแนวราบทุกวัน จนกว่าเชื้อราจะเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ

6. **ศึกษาชนิดพืชอาศัยของรา *Choanephora* sp.**

โดยการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคของพืชชนิดหนึ่งไปยังพืชทดสอบอีกชนิดหนึ่ง (cross inoculation)

การเตรียมรา *Choanephora* sp.

เตรียมสารแขวนลอยสปอร์โดย นำรา *Choanephora* spp. ที่แยกได้จากพืชเศรษฐกิจที่สำคัญมาเลี้ยงบนอาหารที่ทดสอบแล้วว่ารามีการเจริญและสร้างสปอร์ดี ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นล้างสปอร์บนผิวหน้าอาหารด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว นำมารวมกัน แล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 100 รอบต่อนาที นาน 20 นาที เพื่อให้สปอร์กระจายออกจากกันอย่างสม่ำเสมอ

การปลูกเชื้อลงบนต้นพืชทดสอบ

ปลูกพืชชนิดต่างๆ ที่จะใช้ทดสอบในกระถาง เมื่อพืชมีอายุประมาณ 3 สัปดาห์ นำสารแขวนลอยสปอร์รา *Choanephora* sp. ที่เตรียมไว้ พ่นลงบนพืชทดสอบ คลุมด้วยถุงพลาสติกใส เพื่อให้พืชได้รับความชื้นสูง หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง เปิดถุงพลาสติก ตรวจผลการเกิดโรคหลังจากปลูกเชื้อ 5-7 วัน แล้วทำการแยกเชื้ออีกครั้งหนึ่งและตรวจสอบว่าเป็นเชื้อชนิดเดียวกันหรือไม่ โดยประเมินระดับความรุนแรงของโรค เป็น 5 ระดับ

ระดับ 1 พืชไม่แสดงอาการเป็นโรค

ระดับ 2 พืชแสดงอาการเป็นโรค 1-10 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 3 พืชแสดงอาการเป็นโรค 11-25 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์ของราอยู่บ้าง

ระดับ 4 พืชแสดงอาการเป็นโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์ของราทั้งสปอร์แก่และสปอร์อ่อน

ระดับ 5 พืชแสดงอาการเป็นโรคมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์แก่สีน้ำตาลเข้ม ลักษณะแผลช้ำจนยุบหรือยอดหักพับ

การปลูกเชื้อลงบนผลของพืชทดสอบ

นำผลของพืชที่จะทดสอบมาพืชละ 10 ผล นำราที่เตรียมไว้ มาปลูกเชื้อลงบนผลของพืชโดยวิธีทำแผล นำผลพืชที่ทดสอบไปไว้ที่ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ตรวจผลการเกิดโรคหลังจากปลูกเชื้อ ทุกวัน จนครบ 10 วัน ประเมินระดับความรุนแรงของโรค

ระดับ 1 พืชไม่แสดงอาการเป็นโรค

ระดับ 2 พืชแสดงอาการเป็นโรค 1-10 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 3 พืชแสดงอาการเป็นโรค 11-25 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์ของราอยู่บ้าง
ระดับ 4 พืชแสดงอาการเป็นโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์ของราทั้งสปอร์แก่และสปอร์อ่อน
ระดับ 5 พืชแสดงอาการเป็นโรคมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และมีสปอร์แก่สีน้ำตาลเข้ม ลักษณะแผลช้ำจนยุบและมีขนาดใหญ่

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา	เริ่มต้น เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2553
	สิ้นสุด เดือน กันยายน พ.ศ. 2556
สถานที่ทำการทดลอง	แปลงปลูกพืชของเกษตรกร
	กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสืบค้นข้อมูลและสำรวจรวบรวมเก็บตัวอย่างพืชเป็นโรค

จากการสำรวจรวบรวมเก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรค ในพื้นที่ 12 จังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี ลพบุรี เชียงใหม่ เชียงราย ตาก เพชรบูรณ์ สุโขทัย อุบลราชธานี ชลบุรี และจันทบุรี ระหว่างเดือน พฤษภาคม ถึง สิงหาคม ของปี พ.ศ.2554 และพ.ศ.2555 ซึ่งเป็นช่วงที่มีการระบาดของโรค ได้ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคเน่าเปียก (wet rot) ทั้งหมดจำนวน 33 ตัวอย่าง พืช 13 ชนิด ได้แก่ พริกขี้หนู 7 ตัวอย่าง พริกชี้ฟ้า 4 ตัวอย่าง กระเจี๊ยบ 2 ตัวอย่าง มะเขือเปราะ 2 ตัวอย่าง ถั่วพู 1 ตัวอย่าง ถั่วฝักยาว 2 ตัวอย่าง โทงเทง (วัชพืช) 2 ตัวอย่าง ผักโขม (วัชพืช) 2 ตัวอย่าง ถั่วลันเตา 3 ตัวอย่าง คะน้า 2 ตัวอย่าง ชบา 1 ตัวอย่าง มะเขือยาว 1 ตัวอย่าง ฟักทอง 2 ตัวอย่าง ถั่วเขียว 1 ตัวอย่าง ดอกกล้วยไม้สกุลหวาย 1 ตัวอย่าง

2. **การศึกษาลักษณะทางสัณฐานของราสาเหตุโรคจากตัวอย่างพืชเป็นโรค**

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo พบว่า รานี้สร้าง conidiophore มีลักษณะตั้งตรง ที่ปลายก้านขยายโป่งออกเรียกว่า primary vesicle รอบๆ primary vesicle จะมีก้านสั้นๆ ที่ปลายก้านเหล่านี้มีลักษณะโป่งกลมเรียกว่า secondary vesicle สร้าง conidium รูปร่างยาวรี หัวท้ายเรียวแหลม ตรงกลางโป่งออก (ellipsoid) สีน้ำตาล เซลล์เดียวบนผนังมีเส้นขีดตามแนวยาว ที่ปลาย conidium ด้านที่ติดบน vesicle มีติ่งสั้นๆ (papilla) ไม่มีสี *Ch. cucurbitarum* สร้าง columellate sporangium บนก้าน sporangiophore ปลายโป่งเป็น columella ลักษณะกลม sporangium มีสีน้ำตาล รูปร่างกลม ภายในมี sporangiospore จำนวนมาก รูปร่างยาวรี หัวท้ายเรียวแหลม ตรงกลางโป่งออก สีน้ำตาล เซลล์เดียวบนผนังมีเส้นขีดตามแนวยาว ปลายทั้งสองข้างมี appendage หลายเส้น

3. การศึกษาราสาเหตุโรคโดยวิธีแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชเป็นโรค (Tissue transplant)

จากการแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชเป็นโรคและนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ เชื้อราสร้างโคโลนีที่มีลักษณะเป็นเส้นใยฟูสูงขึ้นจากผิวอาหาร แต่มีบางส่วนเจริญแบนราบไปกับผิวอาหาร โคโลนีมีสีขาวอมเหลือง เจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานของราและนำข้อมูลที่ได้มาทำการจำแนกชนิดพบว่าเป็นรา *Choanephora cucurbitarum* (Berk. & Rav.) Thaxt.

รา *Ch. cucurbitarum* สร้าง columellate sporangium ภายในมี sporangiospore จำนวนมาก sporangium มีสีน้ำตาล รูปร่างกลม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 79.7-140.9 ขนาดเฉลี่ย 110.3 ไมครอน ปลาย sporangiophore โป่งเป็น columella มีลักษณะกลม มีขนาดความกว้าง 23.9-79.7 ไมครอน ขนาดเฉลี่ย 46 ไมครอน มีขนาดความยาว 29.2-93 ไมครอน ขนาดเฉลี่ย 54 ไมครอน ภายใน sporangium มี sporangiospore สีน้ำตาล รูปร่างยาวรี หัวท้ายเรียวแหลม ตรงกลางโป่งออก (ellipsoide) เซลล์เดียวบนผนังมีเส้นขีดตามแนวยาว ปลายทั้งสองข้างมี appendage หลายเส้น

รา *Ch. cucurbitarum* สร้าง conidiophore มีลักษณะตั้งตรง ที่ปลายก้านขยายโป่งออก เรียกว่า primary vesicle มีขนาดความกว้าง 29-58 ไมครอน ขนาดเฉลี่ย 39 ไมครอน ขนาดความยาว 37-66 ไมครอน ขนาดเฉลี่ย 49 ไมครอน รอบๆ primary vesicle มีก้านสั้นๆ ที่ปลายก้านเหล่านี้มีลักษณะโป่งกลมเรียกว่า secondary vesicle สร้าง conidium รูปร่างยาวรี หัวท้ายเรียวแหลม ตรงกลางโป่งออก (ellipsoid) เซลล์เดียว สีน้ำตาล บนผนังมีเส้นขีดตามแนวยาว ที่ปลาย conidium ด้านที่ติดบน vesicle มีติ่งสั้นๆ (papilla) ไม่มีสี มีขนาดความกว้าง 7.9-13.2 ไมครอน ขนาดเฉลี่ย 10.1 ไมครอน ขนาดความยาว 13.2-26.5 ไมครอน ขนาดเฉลี่ย 20.7 ไมครอน ซึ่งจะเกิดรอบๆ secondary vesicle *Ch. cucurbitarum* สร้าง columellate sporangium บนก้าน sporangiophore ปลายโป่งเป็น columella ลักษณะกลม sporangium มีสีน้ำตาล รูปร่างกลม ภายในมี sporangiospore จำนวนมาก รูปร่างยาวรี หัวท้ายเรียวแหลม ตรงกลางโป่งออก สีน้ำตาล เซลล์เดียวบนผนังมีเส้นขีดตามแนวยาว ปลายทั้งสองข้างมี appendage หลายเส้น

4. การศึกษาอาหารเลี้ยงเชื้อและอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญของรา *Choanephora* sp.

ผลการศึกษาอาหารเลี้ยงเชื้อและอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญของรา *Ch. cucurbitarum* พบว่า บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, Half PDA, PCA, CA และ MEA ที่อุณหภูมิ 20 25 และ 30 องศาเซลเซียส เส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* เจริญในลักษณะฟูสูงขึ้นจากผิวอาหาร แต่มีบางส่วนที่เจริญแบนราบไปกับผิวอาหาร เมื่อมีอายุได้ 1 วัน เส้นใยยังไม่มีการสร้างโคนิเดีย เมื่อโคโลนีมีอายุได้ 2 วัน และเห็นเป็นจุดๆของ sporangium และ conidium เมื่อโคโลนีมีอายุได้ 4-5 วัน เส้นใยจะมีลักษณะเหนียวและยุบเมื่อถูกสัมผัส ที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส เส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* เจริญอย่างรวดเร็วเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 2 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส บนอาหาร PDA และHalf PDA เส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* สร้าง conidium ได้มากกว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

5. การศึกษาชนิดพืชอาศัยของรา *Choanephora* sp.

ศึกษาพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* บนต้นพืช โดยวิธีปลูก พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา คะน้า ผักโขม ในกระถาง กระถางละ 5 ต้น อย่างละ 10 กระถาง เมื่อพืชมีอายุประมาณ 3 สัปดาห์ นำต้นพืชมาปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา *Ch. cucurbitarum* ที่เลี้ยงไว้ประมาณ 7 วัน ใช้วิธีการทำ spore suspension ตรวจผลหลังปลูกเชื้อ 7 วัน ผลการศึกษาพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* ที่เป็นสาเหตุโรคใบและยอดเน่าของพริกขี้หนู พบว่าทำให้ พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา คะน้า ผักโขม แสดงอาการโรคในระดับ 3 ผลการศึกษาพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* ที่เป็นสาเหตุโรคใบและยอดเน่าของถั่วลันเตา พบว่าทำให้ ถั่วลันเตา แสดงอาการโรคในระดับ 3 พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา คะน้า ผักโขม แสดงอาการโรคในระดับ 2 ผลการศึกษาพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* ที่เป็นสาเหตุโรคใบและยอดเน่าของคะน้า พบว่าทำให้ คะน้า พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา ผักโขม แสดงอาการโรคในระดับ 2 ผลการศึกษาพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* ที่เป็นสาเหตุโรคใบและยอดเน่าของผักโขมพบว่าทำให้ ถั่วลันเตา ผักโขม แสดงอาการโรคในระดับ 3 พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า แสดงอาการโรคในระดับ 2 แตงกวา คะน้า ไม่แสดงอาการโรค

ศึกษาพืชอาศัยบนผลพืช โดยนำผลสดของ พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา อย่างละ 10 ผล ปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา *Ch. cucurbitarum* ที่เลี้ยงไว้ประมาณ 7 วัน ใช้วิธีการปลูกเชื้อด้วยเส้นใยนำผลไปไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ตรวจผลหลังปลูกเชื้อทุกวันจนครบ 10 วัน ผลการศึกษาพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* ที่เป็นสาเหตุโรคใบและยอดเน่าของพริกขี้หนูพบว่า ผลพริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา แสดงอาการโรคในระดับ 2 ผลการศึกษาพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* ที่เป็นสาเหตุโรคใบและยอดเน่าของถั่วลันเตา พบว่าฝักถั่วลันเตา ผลพริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา แสดงอาการโรคในระดับ 2 ผลการศึกษาพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* ที่เป็นสาเหตุโรคใบและยอดเน่าของคะน้า พบว่าผลพริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา แสดงอาการโรคในระดับ 2

ในการปลูกเชื้อรา *Ch. cucurbitarum* สามารถทำให้พืชเป็นโรคได้ไม่ว่าจะใช้เส้นใยหรือ spore suspension (Manocha & Campbell, 1983) การเกิดโรคเน่าหลังจากปลูกเชื้อราลงบนต้นพืชและผลพืชขึ้นอยู่กับเนื้อเยื่อพืช พืชที่มีผิวเนื้อเยื่อเป็น cellulose มากความชื้นภายในเนื้อเยื่อจะน้อย พืชจะไม่ค่อยแสดงอาการเป็นโรค ที่บริเวณยอดอ่อนและขั้วผลจะเกิดโรคได้ดีเพราะมีความอวบน้ำมาก เชื้อเข้าทำลายได้ง่าย (Barnell & Lilly, 1950) พืชที่ได้รับการปลูกเชื้อจะแสดงอาการเป็นโรคได้ดีในที่มีความชื้นสูง มีอุณหภูมิประมาณ 18 องศาเซลเซียส ในที่มีแสงสว่างน้อยและมีออกซิเจนพอสมควร (Barnell, 1951) จากการศึกษาพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* ที่เป็นสาตุโรคดอกเน่าของแตงกวาโดยปลูกเชื้อไปบนพืชต่างๆได้แก่ ฟักทอง บวบเหลี่ยม น้ำเต้ากลม แตงโม แตงไทย แคนตาลูป บวบหอม บวบงู ถั่วลันเตา มะเขือเจ้าพระยา พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า และพริกหยวก พบว่า รา *Ch. cucurbitarum* ที่เป็นสาตุโรคดอกเน่าของแตงกวา สามารถทำให้ พืชทดสอบส่วนใหญ่เป็นโรคได้ โดยถั่วลันเตา แสดงอาการโรค มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ แตงไทย แตงโม แคนตาลูป มะเขือเจ้าพระยา พริกชี้ฟ้า พริกหยวก พริกขี้หนู แสดงอาการโรค น้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ฟักทอง บวบงู บวบเหลี่ยม และน้ำเต้ากลม แสดงอาการโรคไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ ส่วนบวบหอมไม่แสดงอาการโรค(ปราณีตและคณะ, 2530)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจเก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรค จากแปลงปลูกของเกษตรกร ในพื้นที่ 10 จังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี เชียงใหม่ เชียงราย ตาก เพชรบูรณ์ ชลบุรีและจันทบุรี ระหว่างเดือน พฤษภาคม ถึง สิงหาคม ซึ่งเป็นช่วงที่มีฝนตกชุก ความชื้นสูงและมักพบการระบาดของโรค ได้ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคเน่าเปียก (wet rot) ที่เกิดจากเชื้อรา *Choanephora* sp. จำนวน 33 ตัวอย่าง พืช 13 ชนิด ได้แก่ พริกขี้หนู 7 ตัวอย่าง พริกชี้ฟ้า 4 ตัวอย่าง กระเจี๊ยบ 2 ตัวอย่าง มะเขือเปราะ 2 ตัวอย่าง ถั่วพู 1 ตัวอย่าง ถั่วฝักยาว 2 ตัวอย่าง โทงเทง (วัชพืช) 2 ตัวอย่าง ผักโขม (วัชพืช) 2 ตัวอย่าง ถั่วลันเตา 3 ตัวอย่าง คะน้า 2 ตัวอย่าง ชบา 1 ตัวอย่าง มะเขือยาว 1 ตัวอย่าง ฟักทอง 2 ตัวอย่าง ถั่วเขียว 1 ตัวอย่าง และดอกกล้วยไม้สกุลหวาย 1 ตัวอย่างจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานจำแนกชนิดได้เป็นรา *Choanephora cucurbitarum* (Berk. & Rav.) Thaxt. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, Half PDA, PCA, CA และ MEA ที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส เส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* เจริญอย่างรวดเร็วเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 2 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส บนอาหาร PDA และHalf PDA เส้นใยรา *Ch. cucurbitarum* สร้าง conidium ได้มากกว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส การศึกษาชนิดพืชอาศัยของรา *Ch. cucurbitarum* พบว่ารา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากพริกขี้หนู ถั่วลันเตา คะน้า เมื่อนำไปปลูกเชื้อบนต้น พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา คะน้า ผักโขมและถั่วลันเตา ทำให้พืชแสดงอาการโรคได้ทุกพืช รา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากผักโขม เมื่อนำไปปลูกเชื้อบนต้นพริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า ผักโขมและถั่วลันเตา ทำให้พืชแสดงอาการโรคได้ทุกพืช แต่เมื่อนำไปปลูกเชื้อบนแตงกวาและคะน้า พืชไม่แสดงอาการโรค ส่วนการปลูกเชื้อบนผลพืช พบว่ารา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากพริกขี้หนู ทำให้ ผลพริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา แสดงอาการโรค รา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากถั่วลันเตา ทำให้ฝักถั่วลันเตา ผลพริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา แสดงอาการโรค รา *Ch. cucurbitarum* ที่แยกได้จากคะน้า ทำให้ผลพริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า แตงกวา แสดงอาการโรค

เอกสารอ้างอิง

ปราณีต ศิริวัลลภ, ทศพล วิสุทธารมณ์, ลักษณา วรรรภีร์, พัน อินทร์ อินทร์จันทร์. 2529. ศึกษาปฏิกิริยาของพืชบางชนิดต่อเชื้อรา *Choanephora cucurbitarum* สาเหตุโรคดอกเน่าของแตงกวา. หน้า 54 - 60 *ใน* รายงานผลการทดลองปี 2530 กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผักและไม้ประดับ กองโรคพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.

วิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2546. ราวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม. 351 หน้า

ศศิธร วุฒิวณิชย์. 2545. โรคของผักและการควบคุมโรค. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 182 หน้า

Barnell, H.L. 1951. Physiology of the fungi. Mc Grew-Hill Book Company, Inc. N.Y. Toranto. London 464 pp.

Barnell, H.L. and V.G. Lilly. 1950. Influence of nutritional and environmental factors upon asexual reproduction of *Choanephora cucurbitarum* in culture. Phytopath. 40:80-89.

Manocha, M.S. and C.D. Campbell, 1983. Host-parasite relation in a Mycoparasite. VIII Age-Related Host Resistance in *Choanephora cucurbitarum*. Mycologia 75(4) : 588-596.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของรา ***Choanephora cucurbitarum*** สาเหตุโรคเน่าเปียก บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, half PDA, PCA, CA และ MEA ที่อุณหภูมิ 20 25 และ30 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	อายุเชื้อ (วัน)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)				
		PDA	Half PDA	PCA	CA	MEA
20	1	5.21	4.90	3.84	3.99	3.76
	2	8.56	7.47	7.17	7.65	7.33
25	1	7.52	5.27	5.40	5.71	4.60
	2	9.00	7.22	9.00	9.00	9.00
30	1	8.15	5.52	5.68	6.50	5.65
	2	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00

ภาพที่ 1 ลักษณะอาการโรคโรคเน่าเปียกหรือยอดและใบเน่าของพริกที่เกิดจากรา *Choanephora cucurbitarum* (Berk. & Rav.) Thaxt.

ภาพที่ 2 ลักษณะอาการโรคเน่าเปียกของกระเจี๊ยบเขียวที่เกิดจากรา *Choanephora cucurbitarum* (Berk. & Rav.) Thaxt.

การจำแนกชนิดของราสกุล *Botryosphaeria* สาเหตุโรคพืช โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรม

Identification of *Botryosphaeria* Plant Pathogenic Fungi Using Morphological and Molecular Characteristics

พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และ ชนินทร ดวงสอาด
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ผลการรวบรวมและเก็บตัวอย่างสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Botryosphaeria* ได้ตัวอย่างโรคพืชทั้งหมด 62 ตัวอย่าง จากพืชทั้งหมด 7 ชนิด จากจังหวัดกำแพงเพชร กรุงเทพฯ จันทบุรี ฉะเชิงเทรา เชียงใหม่ ชลบุรี นครปฐม นครราชสีมา เพชรบุรี ปทุมธานี ประจวบคีรีขันธ์ ระยอง ราชบุรี สกลนคร สมุทรปราการ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม และ สุโขทัย ผลจากการศึกษาแยกราได้ทั้งหมดจำนวน 53 ไอโซเลท จำแนกชนิดเชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำแนกได้ราทั้งหมด 4 genera 5 species ได้แก่ *Lasiodiplodia theobromae. L. pseudotheobromae* , *Dothiorella mangiferae, Botryosphaeria* และ *Fusicoccum* และจากการศึกษาระดับพันธุกรรมของราที่แยกได้จากโรคเปลือกแตกยางไหลของมะเม่า จากการศึกษาระดับพันธุกรรมของราที่แยกได้จากโรคเปลือกแตกยางไหลของมะเม่า จำแนกชนิดได้เป็นรา *L. pseudotheobromae* และพบว่ารา *L. pseudotheobromae* และรา *L. Theobromae* เจริญได้ดีบนอาหาร Oat Meal Agar รองลงมาได้แก่ Potato Dextrose Agar และ Malt Extract Agar รา *Fusicoccum* เจริญได้ดีบนอาหาร Malt Extract Agar รองลงมาได้แก่ Potato Dextrose Agar และ Oat Meal Agar Agar และจัดเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืชที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-04-54

คำนำ

ราสกุล *Botryosphaeria* Ces. And De Npt พบแพร่กระจายอยู่ทั่วไป มักพบเป็นสาเหตุโรคแคงเคอร์ของพืชที่เป็นไม้เนื้อแข็ง ราเข้าทำลายพืชทางแผลจากการตัดแต่งกิ่งและทางเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย แต่ราก็สามารถเข้าทำลายพืชโดยตรงทางกลุ่มเซลล์ของพืชและพักตัวอยู่ที่ส่วนของตา บางครั้งมักพบว่ารามีลักษณะเป็นเอ็นโดไฟท์โดยไม่แสดงอาการบนเนื้อเยื่อพืช (Smith *et al.,* 1996) รากลุ่มนี้ก่อให้เกิดโรคพืชที่สำคัญของพืชหลายชนิด ได้แก่ พืชวงศ์แอปเปิ้ล ไม้ผลชนิดเมล็ดแข็งสาเหตุโรคผลสาเหตุโรคผลเน่า ใบจุดตากบ โรคแคงเคอร์บนลำต้นและกิ่ง เปลือกแตกยางไหล ยืนต้นตาย และบางชนิดทำให้ต้นไม้ตาย (Weaver, 1974; Brown and Britton, 1986; Britton *et al*., 1990; Pusey, 1993; Parker and Sutton, 1993)

ในด้านการจำแนกชนิดของรากลุ่มนี้ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Botryosphaeria* ซึ่งเป็นระยะสืบพันธุ์แบบใช้เพศ (teleomorphic stage) นั้นจะแตกต่างกันเล็กน้อยในแต่ละ species แต่ลักษณะทางสัณฐานของราในระยะสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ (anamorphic stage) จะมีความแตกต่างกันมาก รา *Botryosphaeria* มีระยะสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ ประมาณ 18 ชนิด จัดอยู่ใน Class Coelomycetes ได้แก่ *Botryodiplodia* (Sacc.) Sacc., *Diplodia* Fr., *Dothiorella* Sacc., *Fusicoccum* Corda, *Lasiodiplodia* Ellis & Everh., *Macrophomina* (Sacc.) Berl. & Voglino และ *Sphaeropsis* Sacc. ลักษณะของราในกลุ่มนี้จะแตกต่างกันแต่ลักษณะบางชนิดก็จะมีลักษณะคล้ายคลึงและใกล้เคียงกันมากเมื่อตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ ในปัจจุบันนี้มีการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อมาใช้ในการจำแนกชนิด ซึ่งก็ทำให้การจำแนกชนิดของรามีความถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น

งานวิจัยนี้ครอบคลุมวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยและพัฒนาเพื่อการจำแนกชนิดของรา *Botryosphaeria* โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อและศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของราโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล ในการแบ่งแยกในระดับ genus และ species

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ กระดาษ ถุงพลาสติค ปากกาเคมี ดินสอ กรรไกรตัดกิ่ง และ GPS

2. อุปกรณ์จัดเก็บตัวอย่างแห้ง ได้แก่ แผ่นไม้อัดทับตัวอย่าง กระดาษ

3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ slide cover slip ปากคีบ เข็มเขี่ยปลายแหลม ใบมีดโกน ตะเกียง ยาทาเล็บ

4. สารเคมีสำหรับ mount slide ได้แก่ lactophenol , lactic acid, shear's sulution

5. สารเคมีได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ : สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ แอธิลแอลกอฮอล์ 75%

6 อาหารวุ้นสังเคราะห์ corn meal agar (CMA), potato dextrose agar (PDA)

7. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ขวดดูแรน บีกเกอร์ เป็นต้น

8. วัสดุอุปกรณ์อื่นๆ ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อเครื่องแก้ว เป็นต้น

9. กล้องจุลทรรศน์ compound microscope และ stereo microscope พร้อมกล้องถ่ายรูปและ camera lucida สำหรับวาดภาพราจากกล้องจุลทรรศน์

วิธีการ

1. เก็บรวบรวมตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Botryosphaeria*

เก็บตัวอย่างโรคพืชจากส่วนของใบ ดอก ผล กิ่ง ลำต้น และรากของพืช จากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ บันทึกรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ และลักษณะอาการของโรค ห่อตัวอย่างพืชด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติก บรรจุห่อตัวอย่างลงในกล่องเก็บความเย็น เพื่อนำมาทำศึกษาชนิดและแยกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ และจัดเก็บตัวอย่างแห้งของพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืชตึกอิงคศรีกสิการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. การศึกษารา *Botryosphaeria* จากส่วนที่เป็นโรค

2.1 การศึกษาราจากเนื้อเยื่อพืชโดยตรง (Direct observation)

ศึกษาลักษณะอาการของราสาเหตุโรคและสังเกตลักษณะของโครงสร้างที่ให้กำเนิดสปอร์ของราที่เกิดบนใบ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo บันทึกลักษณะต่าง ๆ ใช้เข็มปลายแหลมเขี่ยส่วนของรา ได้แก่ สปอร์ หรือส่วนขยายพันธุ์ของรา มาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ หยดน้ำหรือสีย้อม และปิดทับด้วยแผ่น cover slip และตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound

ถ้าไม่พบสปอร์ของราบนชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคหลังจากตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และเมื่อเขี่ยเชื้อดูแล้ว ไม่พบราบนชิ้นส่วนพืชให้ทำ moist chamber โดยนำตัวอย่างพืชมาบ่มไว้ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว วางชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคไว้บนกระดาษกรองที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วและหยดน้ำนึ่งที่ฆ่าเชื้อแล้วบนกระดาษกรองเพื่อให้ความชื้น บ่มไว้อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 3-7 วัน ใช้เข็มปลายแหลมเขี่ยราที่เจริญอยู่บนชิ้นส่วนพืชมาตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound บันทึกลักษณะต่าง ๆ วัดขนาดส่วนต่าง ๆ ของราและถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์

2.2 การศึกษาเชื้อสาเหตุโดยวิธีแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค (Tissue transplanting)

ตัดตัวอย่างพืชที่เป็นโรคบริเวณที่เป็นรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติขนาดประมาณ 2x2 มิลลิเมตร ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวพืช โดยแช่ชิ้นส่วนพืชลงในสารละลายคลอร็อกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจนแห้งสนิท นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนอาหาร half strength Potato Dextrose Agar (1/2 PDA) และ Malt Extract Agar (MEA) ต้องทำภายใต้ aseptic condition บ่มไว้ในอุณหภูมิห้องปฏิบัติการ เป็นเวลา 1-3 วัน ตรวจดูเส้นใยราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo ตัดปลายเส้นใย (hyphal tip) ของราที่เจริญออกมาจากชิ้นส่วนพืช วางลงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ จนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปศึกษารายละเอียดของราเพื่อการจำแนกชนิดของราต่อไป เก็บรักษาสายพันธุ์ราไว้ในอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

2.3 ศึกษาลักษณะของเชื้อบนอาหารชนิดต่าง ๆ

นำรา *Botryosphaeria* ที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร ½Potato Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar, Malt Extract Agar, Corn Meal Agar, Oat meal agar หรือ water agar โดยบันทึกลักษณะต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

บันทึกอัตราการเจริญของเชื้อราบนอาหารชนิดต่าง ๆ ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บันทึกสีของโคโลนีด้านบนและด้านล่างอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งการสร้างเม็ดสี (pigment)

3. การจำแนกชนิดรา *Botryosphaeria*

- ศึกษารูปร่างลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจดูลักษณะเส้นใย conidiophore และสปอร์ และศึกษาลักษณะของสปอร์และโครงสร้างอื่น ๆ ของเชื้อรา โดยการ mount slide ด้วยน้ำหรือ shear's solution
- ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี ลักษณะของสปอร์ conidiophore สี ขนาด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound บันทึกขนาด รูปร่าง วาดภาพ และบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ และถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (Scanning Electron Microscope)

4. เก็บรักษาสายพันธุ์ราและตัวอย่างแห้ง

เก็บรักษาราที่แยกได้ไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาไว้ใน Culture Collection และเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

5. การพิสูจน์การเกิดโรค

ทำการพิสูจน์การเกิดโรค โดยทำการปลูกเชื้อส่วนของพืช โดยทำแผลและไม่ทำแผล อย่างละ 10 ซ้ำ เปรียบเทียบกับการเกิดโรคบนส่วนที่ไม่ปลูกเชื้อด้วยวิธีเดียวกัน แยกเชื้อสาเหตุจากต้นที่แสดงอาการโรค เปรียบเทียบชนิดของราสาเหตุโรคใช้ในการปลูกเชื้อ

6. การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของรา *Botryosphaeria*

6.1 <u>การเตรียมรา *Botryosphaeria*</u>

เลี้ยงรา *Botryosphaeria* บนอาหาร MEA (Malt extract agar) นาน 7-10 วัน หลังจากนั้นใช้เข็มเขี่ยเอาเส้นใยของรามาเลี้ยงในอาหารเหลว PDB (Potato dextrose broth) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใน flask 250 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 7 วัน หลังจากนั้นนำราในอาหารเหลวมากรองด้วยกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อ และทำให้แห้งด้วยการดูดอากาศออกด้วยเครื่องดูดสัญญากาศ เก็บเส้นใยราที่แห้งด้วยหลอดและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาสกัด DNA

6.2 <u>การสกัด DNA จากรา</u>

นำรา *Botryosphaeria* อย่างน้อย 5 genera 5 species อย่างละ 4 isolates ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มาสกัด DNA โดยใช้วิธีของ Crous (Crous *et al.*, 2000)

6.3 <u>การเพิ่มปริมาณยีน Internal Transcribed Spacer โดยใช้เทคนิค PCR</u>

นำ DNA ของราที่แยกได้ในข้อ 13.2.3 มาทำ PCR โดยใช้ไพร์เมอร์ ITS1 (5'TTTCCGTAGGTGAACCTGC3') และ ITS4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC)

- สังเคราะห์คู่ primer ITS1 และ ITS4 เพื่อทำการเพิ่มปริมาณของ rDNA ในช่วง ITS1-5.8S rDNA-ITS2-26SrDNA
- นำ DNA ของราทั้งหมดในข้อ 13.2.3 มาเพิ่มปริมาณของ rDNA ในช่วง ITS1-5.8S rDNA-ITS2-26SrDNA โดยใช้คู่ไพร์เมอร์ ITS1 และ ITS4 ด้วยวิธี PCR ประกอบด้วยส่วนผสมดังนี้

10X PCR buffer	6 ไมโครลิตร

25 mM $MgCl_2$	3 ไมโครลิตร
10 mM dNTP	1 ไมโครลิตร
ไพร์เมอร์ ITS1 (50 พิโคโมล / ไมโครลิตร)	1 ไมโครลิตร
ไพร์เมอร์ ITS4 (50 พิโคโมล / ไมโครลิตร)	1 ไมโครลิตร
Taq DNA Polymerase (5 ยูนิต / ไมโครลิตร)	0.25 ไมโครลิตร
น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	28.75 ไมโครลิตร
สารละลาย DNA (50 นาโนกรัม / ไมโครลิตร)	10 ไมโครลิตร
รวมปริมาตร	50 ไมโครลิตร

- ส่วนของ β-tubulin นั้นเพิ่มปริมาณโดยใช้คู่ไพร์เมอร์ Bt2a และ Bt2b

นำส่วนผสมทั้งหมดผสมตามสัดส่วนลงในหลอด PCR ขนาด 0.2 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำหลอด PCR เข้าเครื่องเพิ่มปริมาณ DNA โดยมีรอบการทำปฏิกิริยา (Slippers *et al.*, 2004) ดังนี้

94 องศาเซลเซียส	5 นาที		1 รอบ
94 องศาเซลเซียส	1 นาที	50 วินาที	30 รอบ
52 องศาเซลเซียส	2 นาที		
72 องศาเซลเซียส	1 นาที		
72 องศาเซลเซียส	5 นาที		1 รอบ
4 องศาเซลเซียส	hold		

6.4 <u>การวิเคราะห์หาลำดับเบสของยีน ITS1-5.8SrDNA-ITS2-26SrDNA</u>

นำผลผลิตที่ได้จากข้อ 13.2.3 มาตรวจวิเคราะห์ผลด้วย electrophoresis บน 1% agarose gel ใน 0.5XTBE buffer โดยตัดแถบ DNA ที่เป็นยีนเป้าหมาย ภายใต้ UV transilluminator โดยใช้วิธีของ Slippers และคณะ (2004)

6.5 <u>การเปรียบเทียบลำดับเบสของยีนที่นำมาศึกษาทั้งหมด</u>

การเปรียบเทียบลำดับเบสของยีนที่นำมาศึกษาทั้งหมดไปวิเคราะห์เปรียบเทียบกับฐานข้อมูลที่มีรายงานอยู่ใน GenBank ในช่วงลำดับเบส 15 ITS rDNA และ 15 β-tubulin ซึ่งเป็นราในกลุ่ม *Botryosphaeria* โดยนำมาเปรียบเทียบวิเคราะห์ความสัมพันธ์และการวิวัฒนาการด้วย PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony) version 4.0b8 โดย Swofford (Swofford, 2000)

เวลาและสถานที่

เวลา	เริ่มต้น – สิ้นสุด
	ตุลาคม 2553 – กันยายน 2558
สถานที่	- แหล่งพืชธรรมชาติ
	- แปลงปลูกพืชของเกษตรกร
	- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. เก็บรวบรวมตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Botryosphaeria*

ผลการสำรวจรวบรวมและเก็บตัวอย่างสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Botryosphaeria* ได้ตัวอย่างโรคพืชทั้งหมด 62 ตัวอย่าง จากพืชทั้งหมด 7 ชนิด จากจังหวัดกำแพงเพชร กรุงเทพฯ

จันทบุรี ฉะเชิงเทรา เชียงใหม่ ชลบุรี นครปฐม นครราชสีมา เพชรบุรี ปทุมธานี ประจวบคีรีขันธ์ ระยอง ราชบุรี สกลนคร สมุทรปราการ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม และ สุโขทัย (ตารางที่ 1) ตัวอย่างโรคพืชที่รวบรวมได้ทั้งหมดนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยการศึกษาราจากเนื้อเยื่อพืชโดยตรง การทำ moist chamber และโดยวิธีการแยกราจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค

ตารางที่ 1 เก็บตัวอย่างส่วนที่เป็นโรคบนพืชอาศัย จากแหล่งต่างๆ

พืชอาศัย	ส่วนของพืชที่เป็นโรค	แหล่งที่เก็บ
แก้วมังกร	กิ่ง (ลำต้นจุด)	จันทบุรี (6) ราชบุรี (2) สมุทรสาคร สมุทรสงคราม ระยอง (3) สมุทรปราการ กรุงเทพฯ นครราชสีมา เชียงใหม่ นครปฐม ปทุมธานี (2)
แก้วมังกร	ผล (ผลเน่า)	จันทบุรี (5) ราชบุรี สมุทรสาคร ปทุมธานี ระยอง สมุทรสาคร
มังคุด	ผล (ผลเน่า)	จันทบุรี
องุ่น	ลำต้น (ต้นเหี่ยว)	ประจวบคีรีขันธ์ นครราชสีมา
มะม่วง	ลำต้น (อาการยางไหล)	นครราชสีมา (2) จันทบุรี (2) ชลบุรี ฉะเชิงเทรา (2)
มะม่วง	ผล (ขั้วผลเน่า)	ฉะเชิงเทรา จันทบุรี ระยอง ฉะเชิงเทรา
กล้วย	ผล (ขั้วผลเน่า)	สุโขทัย (2) กำแพงเพชร (2) เพชรบุรี (8) ปทุมธานี จันทบุรี (2)
มะเม่า	ลำต้น (อาการยางไหล)	สกลนคร กรุงเทพฯ
สน	เปลือกแตกยางไหล	กรุงเทพฯ

2. การศึกษารา *Botryosphaeria* จากส่วนที่เป็นโรค และการจำแนกชนิด

ผลจากการศึกษาแยกราได้ทั้งหมด 53 ไอโซเลท และจำแนกชนิดเชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำแนกได้รา *Lasiodiplodia theobromae* จากโรคเปลือกแตกยางไหลของมะม่วง (2 ไอโซเลท) จากโรคผลเน่าของมะม่วง (6 ไอโซเลท) จากมังคุด (2 ไอโซเลท) จากสน (1 ไอโซเลท) จากกล้วยน้ำว้า (4 ไอโซเลท) จากกล้วยหอม (12 ไอโซเลท) องุ่น (2 ไอโซเลท) *L. pseudotheobromae* จากมะเม่า (2 ไอโซเลท) *Botryosphaeria* จากกิ่งแก้วมังกร (15 ไอโซเลท) และผลแก้วมังกร (5 ไอโซเลท) *Dothiorella mangiferae* จาก มะม่วง (1 ไอโซเลท) และ *Fusicoccum* จากผลเน่ามะม่วง (1 ไอโซเลท) และ (ตารางที่ 2) แยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาการจำแนกชนิดของเชื้อในระดับ species และศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อต่อไป และตัวอย่างแห้งโรคพืชเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืชที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ

ตารางที่ 2 ชนิดของเชื้อสาเหตุโรคบนพืชอาศัยต่าง ๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – เดือนกันยายน 2556

ชนิดของเชื้อสาเหตุ	ส่วนของพืชที่เป็นโรค	พืช	สถานที่
Lasiodiplodia theobromae	ลำต้น เปลือกแตก ยางไหล	มะม่วง	อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา (1 ไอโซเลท) จ. ชลบุรี (1 ไอโซเลท)
Lasiodiplodia theobromae	ผล	มะม่วง	อ.แปลงนายาว จ.ฉะเชิงเทรา (2 ไอโซเลท) อ.บางคล้า จ.ฉะเชิงเทรา อ. โป่งน้ำร้อน จ.จันทบุรี (3 ไอโซเลท)
Lasiodiplodia theobromae	ผล	มังคุด	จ.จันทบุรี (2 ไอโซเลท)
Lasiodiplodia theobromae	ลำต้น	สน	กรุงเทพฯ (1 ไอโซเลท)
Lasiodiplodia theobromae	ผลเน่า	กล้วยน้ำว้า	อ.พลิ้ว จ.จันทบุรี (1 ไอโซเลท) จ.กำแพงเพชร (2 ไอโซเลท) จ.สุโขทัย (1 ไอโซเลท)
Lasiodiplodia theobromae	ผลเน่า	กล้วยหอม	จ.เพชรบุรี (12 ไอโซเลท)
Lasiodiplodia theobromae	ลำต้น	องุ่น	อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา (2 ไอโซเลท)
Lasiodiplodia pseudotheobromae	ลำต้น	มะเม่า	อ.ภูพาน จ.สกลนคร(1 ไอโซเลท) กรุงเทพฯ (1 ไอโซเลท)
Botryosphaeria 15isolates	ลำต้น ผล	แก้วมังกร	จันทบุรี ระยอง สมุทรสาคร ปทุมธานี
Dothiorella mangiferae	ผล	มะม่วง	จ.นครราชสีมา (1 ไอโซเลท)
Fusicoccum	ผล	มะม่วง	อ.โป่งน้ำร้อน จ.จันทบุรี (1 ไอโซเลท)

3. การศึกษาอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของรา

จากการศึกษาอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของราทั้ง 3 ชนิด คือ รา *Lasiodiplodia pseudotheobromae, L. theobromae* และ *Fusicocum* พบว่ารา *L. pseudotheobromae* และรา *L. Theobromae* เจริญได้ดีบนอาหาร Oat Meal Agar รองลงมาได้แก่ Potato Dextrose

Agar และ Malt Extract Agar รา *Fusicoccum* เจริญได้ดีบนอาหาร Malt Extract Agar รองลงมาได้แก่ Potato Dextrose Agar และ Oat Meal Agar Agar (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 อาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของรา *Lasiodiplodia pseudotheobromae* และ *L. theobromae*

ชนิดของเชื้อสาเหตุ	ส่วนของพืชที่เป็นโรค	พืช/สถานที่	อาหารสังเคราะห์ที่เหมะสม
Lasiodiplodia pseudotheobromae	ลำต้น เปลือกแตกยางไหล	มะเม่า สกลนคร	Oat Meal Agar Potato Dextrose Agar Malt Extract Agar
Lasiodiplodia theobromae	ผลเน่า	มะม่วง / ฉะเชิงเทรา	Oat Meal Agar Potato Dextrose Agar Malt Extract Agar
Fusicoccum	ผลเน่า	มะม่วง / ฉะเชิงเทรา	Malt Extract Agar Potato Dextrose Agar Oat Meal Agar

4. การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของรา *Botryosphaeria*

การสกัด ดีเอ็นเอ เพิ่มปริมาณ PCR การทำดี เอ็น เอ ให้บริสุทธิ์ และการหาลำดับเบสของดีเอ็นเอ พบว่าราที่แยกได้จากอาการลำต้นเปลือกแตกยางไหลของมะเม่า จำแนกชนิดโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราจำแนกชนิดเป็นรา *Lasiodiplodia theobromae* เมื่อศึกษาลำดับเบสของดีเอ็นเอ พบว่าเป็นรา *Lasiodiplodia pseudotheobromae*

การศึกษาและจำแนกชนิดสาเหตุของโรคโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรม

จากการตรวจเชื้อตัวอย่างโรคเปลือกแตกยางไหล ผลของการจำแนกชนิดลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา จำแนกได้เชื้อ ดังนี้

สาเหตุ *Lasiodiplodia pseudotheobromae* A.J.L. Phillips, A.Alves & Crous

ลักษณะของรา มีรายละเอียดดังนี้

Lasiodiplodia pseudotheobromae

ลักษณะอาการ โคนต้นมีน้ำยางสีน้ำตาลไหลออกมา บริเวณกิ่งก้าน และ ลำต้นมียางไหลออกมา เริ่มแรกจะเป็นแผลสีดำเป็นรอยช้ำและขยายขึ้น จากนั้นเปลือกจะปริแตกออก ทำให้กิ่งแห้งตาย เมื่อแกะเปลือกบริเวณยางไหลจะมีลักษณะเป็นแอ่งบุ๋ม

โคโลนีบนอาหาร PDA สีเทาดำ เส้นผ่านศูนย์กลาง 6.5 เซ็นติเมตร อายุ 21 วัน สร้างกลุ่มเส้นใยหนาหนาแน่น เจริญช้า รา *L. pseudotheobromae* และรา *L. theobromae* เจริญได้ดีบนอาหาร Oat Meal Agar รองลงมาได้แก่ Potato Dextrose Agar และ Malt Extract Agar

Pynidium สีน้ำตาลดำ เกิดอยู่ในเนื้อเยื่อพืช และเมื่อแก่ pynidium จะแตกออกมามีลักษณะปากเปิด

Paraphyses ใส รูปร่างคล้ายทรงกระบอก ส่วนใหญ่ไม่มีผนังกั้นเซลล์ บางครั้งมีการแตกกิ่ง ตรงส่วนปลายกลม ขนาดกว้าง 45-55 ไมครอน ยาว 3-5 ไมครอน paraphysis เกิดอยู่ระหว่าง conidiogenous cells

Conidiogenous cell ใส ผนังเรียบ รูปร่างทรงกระบอก ตรงส่วนฐานกว้างเล็กน้อย

Conidia ใส รูปร่างรีตรงกลางกว้าง ส่วนฐานและส่วนปลายกลมมน ไม่มีผนังกั้น เซลล์เดียว เมื่อแก่สปอร์มีสีน้ำตาลเข้ม และมีผนังกั้นเซลล์ 1 เส้น มี 2 เซลล์ ขนาด 25.5-33.0 x 11.0- 17.0 ไมครอน

รา *Lasiodiplodia theobromae* และ รา *Lasiodiplodia pseudotheobromae* เป็นราที่มีลักษณะคล้ายคลึงกันมาก มีการแพร่กระจายไปทั่วโลกและมีพืชอาศัยกว้างมาก

จากการศึกษาระดับพันธุกรรมของราที่แยกได้จากโรคเปลือกแตกยางไหลของมะเม่า จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อพบว่ามีลักษณะคล้ายคลึงกับรา *L. theobromae* แต่เมื่อศึกษาในระดับพันธุกรรมของเชื้อพบว่าราสาเหตุโรคเปลือกแตกยางไหลของมะเม่าจำแนกชนิดได้เป็นรา *L. pseudotheobromae* ซึ่งมีลักษณะคล้ายคลึงกับรา *L. theobromae* มาก แต่มีขนาดใหญ่กว่า (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบลักษณะของรา *Lasiodiplodia pseudotheobromae* และรา *Lasiodiplodia theobromae*

ชนิดของรา	จำนวนเซลล์	ขนาดสปอร์ (ไมครอน)	เอกสารอ้างอิง
Lasiodiplodia pseudotheobromae	1	23.5-32.0 × 14.0-18.0	Alves *et al.*, 2008
Lasiodiplodia pseudotheobromae	1	21.7-26.3.0 x 13.4- 14.8	Abdollahzadeh *et al.*, 2010
Lasiodiplodia pseudotheobromae	1	25.5-33.0 x 11.0- 17.0	การศึกษาครั้งนี้
Lasiodiplodia theobromae	1	26.2-27.0 × 14.0-14.4	*Alves et al.*, 2008

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการรวบรวมและเก็บตัวอย่างสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Botryosphaeria* ได้ตัวอย่างโรคพืชทั้งหมด 62 ตัวอย่าง จากพืชทั้งหมด 7 ชนิด ผลจากการศึกษาแยกราได้ทั้งหมดจำนวน 53 ไอโซเลท จำแนกชนิดเชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำแนกได้ราทั้งหมด 4 genera 5 species

ได้แก่ *Lasiodiplodia theobromae*. *L. pseudotheobromae* , *Dothiorella mangiferae, Botryosphaeria* และ *Fusicoccum* และจากการศึกษาระดับพันธุกรรมของราที่แยกได้จากโรคเปลือกแตกยางไหลของมะเม่า จากการศึกษาระดับพันธุกรรมของราที่แยกได้จากโรคเปลือกแตกยางไหลของมะเม่า จำแนกชนิดได้เป็นรา *L. pseudotheobromae* และพบว่ารา *L. pseudotheobromae* และรา *L. Theobromae* เจริญได้ดีบนอาหาร Oat Meal Agar รองลงมาได้แก่ Potato Dextrose Agar และ Malt Extract Agar รา *Fusicoccum* เจริญได้ดีบนอาหาร Malt Extract Agar รองลงมาได้แก่ Potato Dextrose Agar และ Oat Meal Agar Agar และจัดเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืชที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

Abdollahzadeh, J., A. Javadi, E. Mohammadi Goltaoeh, R. Zare, and A.J.L. Phillips. 2010. Phylogeny and morphology of four new species of *Lasiodiplodia* from Iran. Persoonia 25:1-10.

Alves. A., P.W. Crous, A. Correia, and A.J.L. Phillips. 2008. Morphological and molecular data reveal cryptic species in Lasiodiplodia theobromae. Fungal Diversity 28: 1–13.

Britton, KO., FF. Hendrik, PL. Pusey, Okie WR., Reilly, and JW. Daniell. 1990. Evaluating the reaction of peach cultivars to infection by three *Botrysphaeria* species. HortScience 25, 468-470.

Brown, EA. and KO. Britton. 1986. *Botryosphaeria* diseases of apple and peach in the Southeastern United State, Plant Disease 70, 480-484.

Chandrasrikul, A. 1962. A preliminary host list of plant diseases in Thailand. Tech. Bull. No. 9, Dept. of Agr., Bangkok. 14p.

Denman, S., P.W. Crous, J.Z. (E) Groenewald, B. Slippers, B. D. Wingfield, M.J. Winfield. 2003. Circumscription of *Botryosphaeria* species associated with Proteaceae based on morphology and DNA sequence data. Mycologia 95 (2): 294-307.

Parker, KC. And TB. Sutton. 1993. Susceptibility of apple fruit to *Botryosphaeria dothidea* and isolate variation. Plant Disease 77, 385-389.

Puckdeedindan, P. 1996. A supplementary host list of plant disease in Thailand. Tech. Bull. No. 7, Dept. of Agr., Bangkok. 24 p.

Pusey, PL. 1993. Role of *Botryosphaeria* species in peach tree gummosis on the basis of differential isolation from outer and inner bark. Plant Disease 77, 170-174.

Schreiber, L.R. 1964. Stem canker and die-back of Rhododendron caused by *Botryosphaeria ribis* Gross. & Dugg. Plant Dis. Rep. 48: 207-210.

Smith, C.O. 1934. Inoculations showing the wide host range of *Botryosphaeria ribis*. J. Agric. Res. (Washington, D.C.) 49: 467-476.

Themis, J.M. 1991. Pathogenicity, distribution, sources of inoculum, and infection courts of*Botryosphaeria dothidea* on Pistachio. Phytopathology 81 (5): 566-573.

Weaver, D.J., 1974. A gummosis dsisease of peach trees caused by *Botryosphaeria dothidea*. Phytopathology 64: 1429-1432.

การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของรา *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm.

Study on Biology and Ecology of *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm.

ทัศนาพร ทัศคร ธารทิพย ภาสบุตร วัชรี วิทยวรรณกุล
อภิรัชต์ สมฤทธิ์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ได้ศึกษาการเจริญของเชื้อสาแหตุโรคจำนวน 3 ไอโซเลทบนอาหารสูตรต่างๆ และนำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 10, 20 และ 25 องศาเซลเซียส พบว่า เชื้อราสาเหตุโรคสามารถเจริญได้ดีทั้ง 3 ไอโซเลท ในทุกสูตรอาหาร ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และจากนั้นจึงได้ทำการบ่มเชื้อต่อเพื่อศึกษาสูตรอาหารและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้าง pycnidia ของเชื้อราสาเหตุ ซึ่งหลังการทดลอง 40 วัน พบว่า ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เชื้อราสามารถสร้าง pycnidia ได้ทุกสูตรอาหาร และสร้างได้เป็นจำนวนมากบนอาหาร สูตร MEA และ PCA และได้ศึกษาการติดเชื้อบนเมล็ดของแตงเมล่อน แคนตาลูป เทียบกับพันธุ์การค้า โดยการเก็บเมล็ดจากผลที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค มาวางทดสอบบนอาหาร WA และตรวจนับเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อบนเมล็ดและเปอร์เซ็นต์การงอก ผลการทดลองพบว่า เมล็ดแตงที่เก็บมามีทั้งการปนเปื้อนและการติดเชื้อที่เมล็ดทั้งในผลที่เป็นโรคและผลไม่เป็นโรค ซึ่งการปนเปื้อนที่มีการติดเชื้อบนเปลือกหุ้มเมล็ดนั้น เมล็ดสามารถงอกและเจริญได้ปกติ และเชื้อราเข้าทำลายต้นอ่อนทีหลัง ซึ่งพบมีเพียง 2-6 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการติดเชื้อบนเมล็ดนั้น ทำให้เมล็ดไม่งอกและเชื้อรามีการเจริญคลุมเมล็ด ซึ่งจากการทดลองพบว่าเมล็ดแตงทั้งสองชนิดที่เก็บมามีการติดเชื้อและเมล็ดไม่งอก 23- 71 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงมากเมื่อเทียบกับเมล็ดพันธุ์การค้าที่พบเพียง 9 เปอร์เซ็นต์

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-06-54

คำนำ

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

ลักษณะอาการของโรคยางไหล เริ่มแรกจะพบแผลฉ่ำน้ำที่บริเวณ ลำต้น กิ่ง ก้าน และใบ โดยเฉพาะบริเวณข้อต่อของลำต้นกับกิ่ง หลังจากนั้นส่วนทีเป็นแผลจะบุ๋มลึก และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือน้ำตาลแดง ลักษณะสำคัญของโรคคือ ที่แผลจะมียางเหนียวสีแดง (gummy ooze) ไหลเยิ้มออกมาจากแผล และเกาะแห้งอยู่ที่บริเวณแผล ส่วนอาการที่ใบก็จะพบใบเป็นแผลฉ่ำน้ำก่อนจากนั้นแผลที่ใบจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ลุกลามไปตามเส้นกลางใบทำให้ใบไหม้ วงจรการเกิดโรคของเชื้อรา *D. bryoniae* สามารถอาศัยและติดไปได้ทั้งในเมล็ดพันธุ์และดิน (seed borne , soil borne) และอยู่ข้ามฤดูได้เป็นเวลานานในเศษซากพืชที่เป็นโรค โดยอาศัยอยู่ใน perithecium เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมคือ มีความชื้นสูง perithecium ที่อยู่บนเศษซากพืชก็จะเจริญแล้วสร้างและปล่อย conidia ออกมา และ conidia นี้สามารถแพร่กระจายไปกับน้ำฝน หรือระบบการให้น้ำ จากรายงานการสำรวจโรคของ พริพมล, 2552 พบว่า โรคยางไหลนี้เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Ascochyta cucumis*

เนื่องจากเชื้อรา *D. bryoniae* เป็นเชื้อราที่สามารถอาศัยและติดไปได้ทั้งในเมล็ดพันธุ์และดิน (seed borne , soil borne) และอยู่ข้ามฤดูได้เป็นเวลานานในเศษซากพืชเพื่อแพร่กระจายโรคได้ในฤดูปลูกถัดไป ดังนั้นเพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดโรคในแปลง เกษตรกรจึงต้องมีการย้ายพื้นที่ปลูกไปเรื่อย ๆ เพราะถ้าปลูกซ้ำที่ติดต่อกัน 2-3 ปี โรคในแปลงจะมีการระบาดที่รุนแรงขึ้น การแก้ปัญหานี้ด้วยการจัดการโรคทั้งระบบการปลูกจึงเป็นสิ่งที่สำคัญ เพราะถ้ามีการจัดการโรคที่ถูกต้องเหมาะสมเกษตรกรสามารถควบคุมการเกิดโรคในแปลงได้ และลดการสะสมเชื้อสาเหตุโรคในแปลงปลูกได้

ในการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคยางไหลนี้ยังขาดข้อมูลทางด้านชีววิทยา การเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ การเข้าทำลายพืชอาศัยของเชื้อสาเหตุโรค และการถ่ายโรคทางเมล็ดพันธุ์ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการแพร่ระบาดของโรค ดังนั้นเพื่อให้การป้องกันกำจัดโรคยางไหลมีประสิทธิภาพและสามารถนำไปสู่การจัดการโรคแบบผสมผสานได้ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับเชื้อสาเหตุโรคดังกล่าวเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการป้องกันกำจัดโรคต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ
2. กล้องจุลทรรศน์
3. อุปกรณ์เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ
4. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก กล่องเก็บความเย็น ปากกา กรรไกร ฯลฯ
5. กล้องถ่ายภาพ
6. วัสดุการเกษตร ดิน กระถาง เมล็ดพันธุ์ กระบะเพาะกล้า

วิธีการ

1.การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคยางไหลของพืชตระกูลแตง

สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคยางไหลจากแหล่งปลูกพืชตระกูลแตงที่สำคัญ บันทึกข้อมูลต่างๆที่สำคัญในพื้นที่ปลูก ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคกลาง ที่เป็นแหล่งปลูกสำคัญ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างในลักษณะการเดินซิกแซกตามแบบของ Barker (1985) จำนวน 10 % ต่อพื้นที่เพาะปลูก เมื่อพบต้นที่เป็นโรค ควรเก็บตัวอย่างโรคในระยะต่างๆ โดยห่อตัวอย่างด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์และใส่ในถุงพลาสติก บรรจุลงในกล่องเก็บความเย็นเพื่อนำกลับไปศึกษาแยกเชื้อสาเหตุและจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุของโรคในห้องปฏิบัติการ บันทึกข้อมูลตามลักษณะอาการของโรคและถ่ายภาพส่วนที่เป็นโรค ประเมินเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค (disease incidence)

2. การศึกษาชนิดเชื้อสาเหตุโรคยางไหล

2.1 การศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ศึกษาลักษณะของเชื้อสาเหตุโรค โดยทำการตัดชิ้นส่วนพืชบริเวณที่แสดงอาการโรค (section) และทำสไลด์ เพื่อตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อราที่สำคัญเพื่อใช้ในการจำแนกชนิดของเชื้อรา เช่น ลักษณะของเส้นใย และสปอร์ ภายใต้กล้อง Compound microscope และเปรียบเทียบลักษณะของเชื้อราที่พบกับเอกสารที่ใช้ในการจำแนกชนิดเชื้อรา ILLUSTRATED GENERA of IMPERFECT FUNGI และหนังสือดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย

2.2 การแยกเชื้อสาเหตุโรคโดยวิธี Tissue transplanting

แยกเชื้อสาเหตุโรคจากตัวอย่างพืชที่แสดงอาการของโรคยางไหลที่พบ โดยตัดชิ้นตัวอย่างที่บริเวณส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติขนาดประมาณ 2x2 มิลลิเมตร จากนั้นฆ่าเชื้อที่ผิวพืชโดยแช่ชิ้นส่วนพืชลงในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจนแห้งสนิท นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) แล้วบ่มไว้ในห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิ 30$\pm$2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-3 วัน ตรวจดูเส้นใยเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereomicroscope แยก hyphal tip ของเชื้อราที่เจริญออกมาจากชิ้นตัวอย่างพืช วางลงบนอาหาร PDA เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อเก็บไว้เพื่อศึกษาลักษณะรายละเอียดของเชื้อประกอบกับเอกสารอ้างอิงเพื่อการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรค

3. **การศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญเส้นใยและการสร้าง pycnidia ของรา *D. bryoniae***

ศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราและการสร้าง perithecium โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีคือ สูตรอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA), Corn Meal Agar (CMA) Oat Meal Agar (OMA) Malt Extract Agar (MEA) Potato Sucrose Agar และ V-8 Agar เมื่อเตรียมอาหารตามสูตรต่างๆแล้ว จึงย้ายเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากข้อ 2.2 มาเลี้ยงบนอาหารที่เตรียมไว้ จำนวน 10 จานอาหารเลี้ยงเชื้อต่ออาหาร 1 ชนิด บันทึกข้อมูลโดยวัดขนาดโคโลนีเมื่อเชื้อราอายุ 9 วัน บันทึกลักษณะสีของเส้นใย การเจริญของเส้นใย การสร้าง perithecium เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่างๆ

4 **การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเส้นใยและการสร้าง pycnidia ของรา *D. bryoniae***

ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราและการสร้าง pycnidia ของรา *D. bryoniae* 3 ไอโซเลท คือ สระแก้ว สุพรรณบุรี และพะเยา โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีคือ อุณหภูมิ 10, 20 และ 25 องศาเซลเซียส และทดสอบกับสูตรอาหาร 7 ชนิด คือ Potato Dextrose Agar (PDA), Corn Meal Agar (CMA) Oat Meal Agar (OMA) Malt Extract Agar (MEA) Potato Sucrose Agar และ V-8 Agar Potato Dextrose เมื่อเตรียมอาหารตามสูตรต่างๆ แล้ว จึงย้ายเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากข้อ 2.2 มาเลี้ยงบนอาหารที่เตรียมไว้ จำนวน 10 จานอาหารเลี้ยงเชื้อต่ออาหาร 1 ชนิด และนำจานเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ไปบ่มเชื้อที่ตู้ควบคุมอุณหภูมิโดยทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 10, 20 และ 25 องศาเซลเซียส จากนั้นบันทึกข้อมูลโดยวัดขนาดโคโลนีเมื่อเชื้อราอายุ 9 วัน บันทึกลักษณะสีของเส้นใย การเจริญของเส้นใย การสร้าง perithecium เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่างๆ

5. ศึกษาการอยู่อาศัยและเข้าทำลายของรา *D. bryoniae* ในเมล็ดแตงเมล่อนและแคนตาลูป

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างผลแตงเมล่อนในระยะเก็บเกี่ยวผลผลิต ที่แสดงอาการผลเน่า และเป็นแผล จากแปลงเกษตรกร อ.อู่ทอง และ อ.หนองหญ้าไซ จ. สุพรรณบุรี นำผลที่ได้มาผ่า ล้างแยกเมล็ด และ ผึ่งลมให้แห้ง ตรวจนับจำนวนเมล็ดและเก็บใส่ถุงพลาสติก เปรียบเทียบกับเมล็ดจากผลแตงปกติ และเมล็ดพันธุ์แตงจากบริษัทที่นำเข้าเมล็ดพันธุ์ เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป

2.ในการทดลองครั้งที่ 1 นำเมล็ดแตงเมล่อนและแคนตาลูปที่เก็บมาได้มาตรวจสอบการติดเชื้อบนเมล็ด ตามวิธีการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ โดยวิธีเพาะเมล็ดพันธุ์บนอาหารวุ้น (Agar-Plate method) โดยแช่เมล็ดแตงในคลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ซับเมล็ดแล้วนำเมล็ดแตงไปวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ WA จำนวน 10 เมล็ดต่อจาน จำนวน 30 จาน ตรวจนับเมล็ดที่มีการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค บันทึกข้อมูลเปอร์เซ็นต์การงอกและการเจริญของเชื้อสาเหตุบนเมล็ดแตง

3. ในการทดลองครั้งที่ 2 ทำการทดสอบเช่นเดียวกันกับข้อ 2. แต่เมล็ดแตงที่ใช้ในการทดสอบเป็นเมล็ดแตงเมล่อนที่ปกติ และที่เป็นโรคจากแปลงเกษตรกร เปรียบเทียบกับเมล็ดแตงเมล่อนพันธุ์การค้า จำนวน 7 พันธุ์ มาตรวจสอบการติดเชื้อบนเมล็ด โดยเปลี่ยนแช่เมล็ดแตงในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ซับเมล็ดแล้วนำเมล็ดแตงไปวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ WA จำนวน 10 เมล็ดต่อจาน จำนวน 10 จาน ตรวจนับเมล็ดที่มีการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค บันทึกข้อมูลเปอร์เซ็นต์การงอกและการเจริญของเชื้อสาเหตุบนเมล็ดแตง และนำเชื้อราที่ตรวจพบในเมล็ดแตง มาทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ และจัดจำแนกชนิดของเชื้อราว่าเป็นเชื้อราสาเหตุโรคยางไหลหรือไม่

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2553
สิ้นสุด กันยายน 2558
ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
แปลงเกษตรกรปลูกแตงที่สำคัญ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคยางไหลของพืชตระกูลแตง

ในปี 2554 ได้สำรวจและเก็บตัวอย่างแตงกวา แตงร้าน แตงแคนตาลูป และแตงเมล่อนที่แสดงอาการโรคในพื้นที่ปลูกแตง จ. กาญจนบุรี สุพรรณบุรี สระแก้ว และพะเยา เพื่อแยกหาเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ จากการเก็บตัวอย่างโรคในแตงแคนตาลูป และแตงเมล่อนนั้น พบว่าลักษณะอาการของโรคยางไหล เริ่มแรกจะพบแผลฉ่ำน้ำที่บริเวณ ลำต้น กิ่ง ก้าน และใบ โดยเฉพาะบริเวณข้อต่อของลำต้นกับกิ่ง หลังจากนั้นส่วนทีเป็นแผลจะบุ๋มลึก และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล หรือน้ำตาลแดง ลักษณะสำคัญของโรคคือ ที่แผลจะมียางเหนียวสีแดง (gummy ooze) ไหลเยิ้มออกมาจากแผล และเกาะแห้งอยู่ที่บริเวณแผล ส่วนอาการที่ใบก็จะพบใบเป็นแผลฉ่ำน้ำก่อน จากนั้นแผลที่ใบจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ลุกลามไปตามเส้นกลางใบทำให้ใบไหม้ และที่บริเวณแผลที่แห้ง จะพบเชื้อราสร้างเม็ดสีดำ ขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วแผล ซึ่งถ้าพบลักษณะอาการของโรคในช่วงระยะที่แตงติดผลหรือระยะที่กำลังเก็บเกี่ยวจะทำให้เกิดความเสียหายกับผลผลิตของเกษตรกรเป็นอย่างมาก

2. การศึกษาชนิดเชื้อสาเหตุโรคยางไหล

จากการแยกเชื้อสาเหตุจากลักษณะอาการดังกล่าวโดยวิธี Tissue transplanting ซึ่งเมื่อศึกษาเส้นใยเชื้อราที่แยกได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่า สามารถแยกได้เชื้อราที่มีลักษณะเส้นใยเชื้อรามีสีขาว ฟู ละเอียดในช่วง 3 วันแรก จากนั้นเส้นใยเชื้อราจะเปลี่ยนเป็นสีเข้มขึ้นเมื่อเชื้อรามีอายุมากขึ้น และการเจริญของโคโลนีเชื้อราจะพบมีการเจริญของเส้นใยไม่เท่ากัน ทำให้ขอบโคโลนีเกิดเป็นขอบหยัก เมื่อศึกษาและจำแนกชนิดของเชื้อจากชิ้นส่วนพืชที่มีการสร้างส่วนขยายพันธุ์สีดำที่เชื้อสร้างขึ้น ก็พบว่าเชื้อรามีการสร้าง pycnidia ขนาดเล็กสีดำ ฝังที่บริเวณแผล และภายใน pycnidia มีสปอร์ขนาดเล็กบรรจุอยู่ มีลักษณะรูปร่าง กลมรี เล็ก ใส มี 1-2 septate เมื่อเปรียบลักษณะเชื้อราดังกล่าวที่แยกได้กับเอกสารที่ใช้ในการจำแนกชนิดเชื้อรา ILLUSTRATED GENERA of IMPERFECT FUNGI และหนังสือดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย ก็พบว่า โรคยางไหลจากแตงแคนตาลูป และแตงเมล่อนที่เก็บตัวอย่างได้จาก จ. พะเยา จ. สระแก้ว และ จ. สุพรรณบุรี จำนวน 3 ไอโซเลท นั้น คือเชื้อรา *D. bryoniae* ซึ่งตรงกับรายงานต่างประเทศ ที่พบว่าลักษณะที่พบในระยะนี้เป็นเชื้อรา *Phoma cucurbitacearum* เพราะเชื้อราในระยะนี้จะสังเกตพบว่า เชื้อราจะมีการสร้าง pycnidia สีดำเล็กๆกระจายอยู่ทั่วบริเวณแผล และ pycnidia นี้สามารถสร้าง conidia ที่ไม่มี septate หรือมี septate เพียงอันเดียว (Keinath และคณะ,1995) ซึ่งเชื้อสาเหตุโรคยางไหล (Gummy Stem Blight) ที่เกิดจากเชื้อรา *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm. ซึ่งเป็นราชั้นสูง มีการระยะการสืบพันธุ์ 2 แบบ คือ ในระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual stage,teleomormp) เชื้อราจะมีการสร้าง perithecia ที่มี ascospores อยู่ภายในถุง ascus ดังนั้นเชื้อราที่แยกได้จึงพบอยู่ในระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual stage,

anamorph) เพราะพบการสร้าง เชื้อรามีการสร้าง pycnidia ขนาดเล็กสีดำ ฝังที่บริเวณแผล และภายใน pycnidia มีสปอร์ขนาดเล็กบรรจุอยู่ มีลักษณะรูปร่าง กลมรี เล็ก ใส มี 1-2 septate

3. **การศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเส้นใยของรา *D. bryoniae***

จากการทดสอบเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคจำนวน 3 ไอโซเลท ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่างๆ จำนวน 7 สูตร ได้แก่ PDA PSA PCA MEA CMA OMA และ V8 agar สูตรๆละ 10 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง และทำการบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของเชื้อและลักษณะของเส้นใยทุกวัน เป็นเวลา 9 วัน ผลการทดลองพบว่า เชื้อราสาเหตุโรคสามารถเจริญได้ดีทั้ง 3 ไอโซเลท ในสูตรอาหาร PDA OMA และ V8 agar ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบการเจริญแต่ละไอโซเลทแล้วพบว่าไอโซเลท สุพรรณบุรี มีการเจริญของเส้นใยได้ดีกว่าไอโซเลท สระแก้ว และ พะเยา (ตารางที่ 1)

ส่วนการทดสอบอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคนั้น ได้ทำการแยกเลี้ยงเชื้อสาเหตุจำนวน 3 ไอโซเลท ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร จำนวน 7 สูตร ได้แก่ PDA PSA PCA MEA CMA OMA และ V8 agar สูตรๆละ 10 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ และได้นำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 10, 20 และ 25 องศาเซลเซียส และทำการบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของเชื้อและลักษณะของเส้นใยทุกวัน หลังการทดลอง 9 วัน ได้เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคในอาหารแต่ละสูตร พบว่า เชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 3 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ดีในทุกสูตรอาหารที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และรองลงมาคือ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ส่วนที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อราสาเหตุโรคทุกไอโซเลทเจริญได้ไม่ดี (ตารางที่ 2)

4. **การศึกษาสูตรอาหารและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการการสร้าง pycnidia ของรา *D. bryoniae***

เมื่อทำการบันทึกข้อมูลสูตรอาหารและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคแล้ว จึงได้นำจานเลี้ยงเชื้อทดสอบทั้งหมดไปบ่มเชื้อต่อ เพื่อศึกษาสูตรอาหารและที่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้าง pycnidia เมื่อครบ 20 วัน เชื้อราเริ่มมีการสร้างกลุ่มเส้นใยสีดำอัดแน่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ จึงได้ทำการบันทึกการสร้าง pycnidia ในแต่ละสูตร จนถึง 45 วัน ซึ่งผลการทดลองพบว่า ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เชื้อสาเหตุโรคทั้ง 3 ไอโซเลท ไม่มีการสร้าง pycnidia ในทุกสูตรอาหาร ยกเว้นสูตรอาหาร MEA ที่ไอโซเลท สระแก้ว และพะเยา มีการสร้างเพียงเล็กน้อย และที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส พบว่า เชื้อสาเหตุโรคไอโซเลท สระแก้ว สร้าง pycnidia ได้ดีในสูตรอาหาร PCA รองลงมาคือ V8 agar และในไอโซเลท พะเยา มีการสร้างเล็กน้อยบนสูตรอาหาร PDA, V8 agar และ OMA ส่วนที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่า เชื้อสาเหตุโรคทั้ง 3 ไอโซเลท มีการสร้าง pycnidia ได้ในทุกสูตรโดยเฉพาะสูตรอาหาร PCA และ MEA ที่ไอโซเลท สระแก้ว และสุพรรณบุรี มีการสร้างได้จำนวนมาก ส่วน ไอโซเลท พะเยา นั้นเชื้อราสร้างได้เล็กน้อยถึงปานกลาง ในสูตรอาหารทั้งสองชนิด (ตารางที่ 3)

5. ศึกษาการอยู่อาศัยและเข้าทำลายของรา *D. bryoniae* ในเมล็ดแตงเมล่อนและแคนตาลูป

ผลการทดสอบการตรวจเมล็ดครั้งที่ 1 พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อรา *Rhizopus* sp. และ *Aspergillus* sp. ที่บริเวณรากของแตงเป็นจำนวนมาก ทำให้การตรวจเช็คประเมินค่อนข้างลำบาก เนื่องจากมีเส้นใยเชื้อราอื่นเจริญคลุมทับ หลังการวางเมล็ด 3 วัน จากการตรวจนับเมล็ดทั้งหมด 300 เมล็ด และนำมาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ พบว่า เมล็ดพันธุ์การค้ามีเปอร์เซ็นต์การงอกดี 85 เปอร์เซ็นต์ และพบเมล็ดที่งอกมีเชื้อราเจริญที่เปลือกหุ้มเมล็ด 6 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดที่ไม่งอกและมีการเจริญของเชื้อราที่บริเวณเปลือกหุ้มเมล็ด พบ 9 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดแตงเมล่อนที่ปกติและเป็นโรค มีเปอร์เซ็นต์

การงอก 34 และ 23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพบเมล็ดที่งอกมีเชื้อราเจริญที่เปลือกหุ้มเมล็ด 2 และ 6 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดที่ไม่งอกและมีการเจริญของเชื้อราที่บริเวณเปลือกหุ้มเมล็ด พบ 64 และ 71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และในเมล็ดแตงแคนตาลูปที่ปกติและเป็นโรค มีเปอร์เซ็นต์การงอก 30 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพบเมล็ดที่งอกมีเชื้อราเจริญที่เปลือกหุ้มเมล็ด 2 เปอร์เซ็นต์ เท่ากัน ส่วนเมล็ดที่ไม่งอกและมีการเจริญของเชื้อราที่บริเวณเปลือกหุ้มเมล็ด พบ 55 และ 23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบมีการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบนเมล็ดแตงแคนตาลูปที่ปกติ 13 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในเมล็ดชนิดอื่นไม่พบการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย (ตารางที่ 4)

ดังนั้นในการทดลองครั้งที่ 2 จึงได้มีการเปลี่ยนวิธีการฆ่าเชื้อที่ผิวเป็นการแช่แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์เพื่อป้องกันเชื้อราชนิดอื่นที่ไม่ใช่เชื้อสาเหตุเจริญก่อนที่จะทำการตรวจผลการทดลอง โดยการนับจำนวนเมล็ดที่งอกและติดเชื้อไม่ติดเชื้อ จำนวนเมล็ดที่ไม่งอกและติดเชื้อไม่ติดเชื้อ ซึ่งหลังการทดลอง 3 วัน พบว่า เมล็ดเมล่อนจากผลที่ปกติ มีจำนวนเมล็ดงอกทั้งหมด 19 เมล็ด มีจำนวนเมล็ดไม่งอกและติดเชื้อรา 79 เมล็ด และติดเชื้อแบคทีเรีย 2 เมล็ด ส่วนเมล็ดเมล่อนจากผลที่เป็นโรคมีจำนวนเมล็ดงอกทั้งหมด 1 เมล็ด มีจำนวนเมล็ดไม่งอกและติดเชื้อรา 99 เมล็ด และพบมีติดเชื้อแบคทีเรียขึ้นปะปน 2 เมล็ด ในเมล็ดพันธุ์การค้า 328น มีจำนวนเมล็ดงอกทั้งหมด 53 เมล็ด มีจำนวนเมล็ดไม่งอกและติดเชื้อรา 1 เมล็ด และพบมีติดเชื้อแบคทีเรีย 46 เมล็ด ในเมล็ดพันธุ์การค้า 329น มีจำนวนเมล็ดงอกทั้งหมด 68 เมล็ด มีจำนวนเมล็ดไม่งอกและติดเชื้อรา 2 เมล็ด และพบมีเชื้อแบคทีเรีย 30 เมล็ด ในเมล็ดพันธุ์การค้า 330น มีจำนวนเมล็ดงอกทั้งหมด 64 เมล็ด มีจำนวนเมล็ดไม่งอกและติดเชื้อรา 2 เมล็ด และพบมีติดเชื้อแบคทีเรีย 34 เมล็ด ในเมล็ดพันธุ์การค้า 331น มีจำนวนเมล็ดงอกทั้งหมด 75 เมล็ด มีจำนวนเมล็ดไม่งอกและติดเชื้อรา 14 เมล็ด และพบมีติดเชื้อแบคทีเรีย 11 เมล็ด ในเมล็ดพันธุ์การค้า 332 น มีจำนวนเมล็ดงอกทั้งหมด 71 เมล็ด ไม่มีจำนวนเมล็ดไม่งอกและติดเชื้อรา แต่พบมีติดเชื้อแบคทีเรีย 29 เมล็ด ในเมล็ดพันธุ์การค้า 333น มีจำนวนเมล็ดงอกทั้งหมด 72 เมล็ด มีจำนวนเมล็ดไม่งอกและติดเชื้อรา 21 เมล็ด และพบมีติดเชื้อแบคทีเรีย 7 เมล็ด และสุดท้าย ในเมล็ดพันธุ์การค้า 523บ มีจำนวนเมล็ดงอกทั้งหมด 42 เมล็ด มีจำนวนเมล็ดไม่งอกและติดเชื้อรา 18 เมล็ด และพบมีเชื้อแบคทีเรีย 40 เมล็ด (ตารางที่ 5)

จากการทดสอบการติดเชื้อบนเมล็ดแตงทั้ง 2 การทดลองในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า เมล็ดแตงเมล่อน แตงแคนตาลูปจากแปลงเกษตรกร และเมล็ดแตงเมล่อน พันธุ์การค้า พบมีการติดเชื้อราสาเหตุโรคมากับเมล็ดได้ โดยเฉพาะเป็นเมล็ดที่เก็บจากผลที่เป็นโรคจะพบการติดเชื้อบนเมล็ดมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และ จากการศึกษาภายใต้จุลทรรศน์แบบสเตริโอ พบว่า การติดเชื้อบนเมล็ดมี 2 แบบ คือ แบบแรกคือเชื้อราสาเหตุโรคมีการเจริญอยู่บนเปลือกหุ้มเมล็ดแตงเท่านั้น และเมื่อเมล็ดมีการงอกเจริญส่วนของรากและใบเลี้ยงออกมาจะมีลักษณะปกติ แต่หลังจากเส้นใยเชื้อราเจริญและมีการเข้าทำลายรากและใบเลี้ยง จึงทำให้ต้นอ่อนตาย ส่วนแบบที่สองคือ เชื้อราเจริญคลุมเมล็ด ทำให้เมล็ดตายและไม่มีการงอกของเมล็ด

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

สำรวจและเก็บตัวอย่างแตงกวา แตงร้าน แตงแคนตาลูป และแตงเมล่อนที่แสดงอาการโรคยางไหล ที่ จ.สุพรรณบุรี แพร่ สระแก้ว และพะเยา เพื่อแยกหาเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ สามารถแยกได้รา *D. bryoniae* จำนวน 3 ไอโซเลท ทดสอบการเจริญของเชื้อสาแหตุโรคจำนวน 3 ไอโซเลทบน

อาหารสูตรต่างๆ จำนวน 7 สูตร ได้แก่ PDA PSA PCA MEA CMA OMA และ V8 agar ผลการทดลองพบว่า เชื้อราสาเหตุโรค *D. bryoniae* ทั้ง 3 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ดีบนสูตรอาหาร PDA OMA และ V8 agar ส่วนอาหารสูตรอื่น ๆ สามารถเจริญได้ดีปานกลาง จากการทดสอบเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคจำนวน 3 ไอโซเลท ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร จำนวน 7 สูตร ได้แก่ PDA PSA PCA MEA CMA OMA และ V8 agar สูตรๆละ 10 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 10, 20 และ 25 องศาเซลเซียส ทำการบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของเชื้อและลักษณะของเส้นใยทุกวัน เป็นเวลา 9 วัน ผลการทดลองพบว่า เชื้อราสาเหตุโรคสามารถเจริญได้ดีทั้ง 3 ไอโซเลท ในทุกสูตรอาหารที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เมื่อทำการศึกษาสูตรอาหารและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้าง pycnidia ของเชื้อราสาเหตุโรค ผลการทดลองก็พบว่า ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เชื้อราสามารถสร้าง pycnidia ได้ ในทุกสูตรอาหาร และเชื้อราจะสร้างมากในสูตรอาหาร MEA และ PCA

จากการศึกษาการติดเชื้อบนเมล็ดและการเข้าทำลายเมล็ด โดยทำการศึกษาในเมล็ดแตงเมล่อน แคนตาลูป ผลที่เป็นโรคและไม่เป็นโรคจากแปลงเกษตรกร เปรียบเทียบกับเมล็ดพันธุ์การค้า ผลการทดลองพบว่า เมล็ดแตงที่เก็บมามีทั้งการปนเปื้อนและการติดเชื้อที่เมล็ดทั้งในผลที่เป็นโรคและผลไม่เป็นโรค ซึ่งการปนเปื้อนที่มีการติดเชื้อบนเปลือกหุ้มเมล็ดนั้น เมล็ดสามารถงอกและเจริญได้ปกติและเชื้อราเข้าทำลายต้นอ่อนทีหลัง ซึ่งพบมีเพียง 2-6 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการติดเชื้อบนเมล็ดนั้น ทำให้เมล็ดไม่งอกและเชื้อรามีการเจริญคลุมเมล็ด ซึ่งจากการทดลองพบว่าเมล็ดแตงทั้งสองชนิดที่เก็บมามีการติดเชื้อและเมล็ดไม่งอก 23- 71 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงมากเมื่อเทียบกับเมล็ดพันธุ์การค้าที่พบเพียง 9 เปอร์เซ็นต์

เอกสารอ้างอิง

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

พรพิมล อธิปัญญาคม และ ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช. 2552. อนุกรมวิธานราสาเหตุโรคพืช Class Ascomycetes. เอกสารวิชาการ *ใน* รายงานการประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืช ณ โรงแรมเมธาวลัย อ. ชะอำ จ. เพชรบุรี วันที่ 1-3 มิถุนายน 2552. หน้า 73 – 77.

Keinath, A. P.,Farnham, M. W.., and Zitter, T. A. 1995. Morphological, pathological, and genetic differentiation of *Didymella bryoniae* and *Phoma* spp. Isolated from cucurbits. Phytopathology 85: 364-369.

การตรวจสุขภาพของเมล็ดพันธุ์ (Seed Health Testing), http://coursewares.mju.ac.th:81/e-learning47/PP300/0003html/chapter014.htm **เข้าถึงข้อมูลเมื่อวันที่ 3 กุมภาพันธ์ 2557**

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 การศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคยางไหล จำนวน 3 ไอโซเลท ที่อุณหภูมิห้อง หลังการทดลอง 9 วัน

สูตรอาหาร	Isolate		
	สระแก้ว	พะเยา	สุพรรณบุรี
PDA	6.75	6.65	8.52
V8	6.06	5.90	6.72
MEA	5.74	5.90	5.74
OMA	5.15	5.65	5.78
PCA	6.11	6.15	6.78
CMA	5.10	5.50	6.59
PSA	5.90	4.95	6.64

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่ได้จากอาหารแต่ละสูตรๆละ 10 ซ้ำ

ตารางที่ 2 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคยางไหล จำนวน 3 ไอโซเลท หลังการทดลอง 9 วัน

สูตรอาหาร	10 °C			20 °C			25 °C		
	สระแก้ว	พะเยา	สุพรรณบุรี	สระแก้ว	พะเยา	สุพรรณบุรี	สระแก้ว	พะเยา	สุพรรณบุรี
PDA	1.64	4.34	1.83	9.00	8.93	9.00	6.08	5.76	8.20
V8	1.85	2.30	2.08	8.28	8.60	9.00	5.41	6.66	6.38
MEA	2.71	1.89	1.04	7.73	8.10	8.28	6.16	6.19	7.01
OMA	2.11	2.30	2.30	8.27	8.07	8.83	7.70	6.95	7.85
PCA	1.64	1.60	0.98	8.48	6.36	8.75	5.73	6.04	7.02
CMA	1.85	1.57	1.14	6.35	7.45	8.92	4.42	3.59	5.71
PSA	1.59	1.41	0.96	9.00	9.00	8.73	6.65	6.70	7.86

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่ได้จากอาหารแต่ละสูตรๆละ 10 ซ้ำ

ตารางที่ 3 การศึกษาสูตรอาหารและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญต่อการสร้าง pycnidia ของเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคยางไหล จำนวน 3 ไอโซเลท

สูตรอาหาร	10 °C			20 °C			25 °C		
	สระแก้ว	**พะเยา**	**สุพรรณบุรี**	**สระแก้ว**	**พะเยา**	**สุพรรณบุรี**	**สระแก้ว**	**พะเยา**	**สุพรรณบุรี**
PDA	-	-	-	+	+	+	+	+	++
V8	-	-	-	++	+	-	+	+	+
MEA	+	+	-	-	-	+	+++	+	+++
OMA	-	-	-	+	+	+	+	+	+
PCA	-	-	-	+++	-	++	+++	++	+++
CMA	-	-	-	-	-	+	++	+	+
PSA	-	-	-	+	-	-	+	+	+

หมายเหตุ : +++ เชื้อรามีการสร้าง pycnidia จำนวนมาก
++ เชื้อรามีการสร้าง pycnidia ปานกลาง
+ เชื้อรามีการสร้าง pycnidia เล็กน้อย
- เชื้อราไม่มีการสร้าง pycnidia

ตารางที่ 4 การตรวจสอบการติดเชื้อราสาเหตุโรคที่เมล็ดแตงเมล่อน แคนตาลูป และเมล็ดพันธุ์การค้าโดยวิธีเพาะเมล็ดพันธุ์บนอาหารวุ้น (Agar-Plate method) ครั้งที่ 1

เมล็ดพันธุ์	**เมล็ดงอก (%)**	**เมล็ดงอกและมีเชื้อราติดที่เมล็ด (%)**	**เมล็ดไม่งอกและมีเชื้อราติดที่เมล็ด (%)**	**เมล็ดไม่งอกและเชื้อแบคทีเรียติดที่เมล็ด (%)**
เมล็ดพันธุ์การค้า	85	6	9	0
เมล็ดเมล่อนผลปกติ	34	2	64	0
เมล็ดเมล่อนผลเป็นโรค	23	6	71	0
เมล็ดแคนตาลูปผลปกติ	30	2	55	13
เมล็ดแคนตาลูปผลเป็นโรค	75	2	23	0

หมายเหตุ : คิดค่าเปอร์เซ็นต์จากการตรวจนับเมล็ด จำนวน 300 เมล็ด /ชุดเมล็ดทดสอบ

ตารางที่ 5 การตรวจสอบการติดเชื้อราสาเหตุโรคที่เมล็ดแตงเมล่อนและเมล็ดพันธุ์การค้า 7 พันธุ์ๆละ 100 เมล็ด โดยวิธีเพาะเมล็ดพันธุ์บนอาหารวุ้น (Agar-Plate method) ครั้งที่ 2

เมล็ดพันธุ์	จำนวนเมล็ดที่งอก	จำนวนเมล็ดไม่งอก/ เชื้อราติดที่เมล็ด	จำนวนเมล็ดไม่งอก/ เชื้อแบคทีเรียติดที่เมล็ด
เมล็ดเมล่อนผลปกติ	19	79	2
เมล็ดเมล่อนผลเป็นโรค	1	99	46
พันธุ์ 328 น	53	1	46
พันธุ์ 329 น	68	2	30
พันธุ์ 330 น	64	2	34
พันธุ์ 331 น	75	14	11
พันธุ์ 332 น	71	0	29
พันธุ์ 333 น	72	21	7
พันธุ์ 523 บ	42	18	40

หมายเหตุ : ทำการตรวจนับเมล็ด จำนวน 100 เมล็ด /พันธุ์

การจำแนกชนิดและเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของ Race แบคทีเรีย *Ralsonia solanacearum* ที่พบในประเทศไทย

Identification and DNA Fingerprint of Race of *Ralsonia solanacearum* in Thailand

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ทิพวรรณ กันหาญาติ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์
รุ่งนภา ทองเครั่ง
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การจำแนกชนิด Race แบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ที่พบในประเทศไทย โดยทำการฟื้นฟูการมีชีวิตของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของพืชตระกูลมะเขือ ขิง และ มันฝรั่ง ที่เก็บรักษาไว้ใน culture collection จำนวน 200 ไอโซเลท คัดเลือกโคโลนีที่รุนแรงบนอาหาร TZC เพื่อใช้ในการทดสอบ ทำการปลูกพืชอาศัยของ แบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้แก่ พริก มะเขือเทศ มะเขือเปราะ มันฝรั่ง ขิง อายุ 1 เดือน จากนั้นทำการทดสอบการเกิดโรคและชนิดของ race โดยนำแบคทีเรีย *R. Solanacearum* ที่คัดเลือกไว้ ที่ความเข้มข้น 10^8 cfu/ml มาปลูกเชื้อลงบนพืชอาศัยที่เตรียมไว้ ผลการทดสอบพบว่า พืชอาศัยทั้งหมดแสดงอาการของโรคเหี่ยวภายใน 14-28 วัน ยืนยันการเกิดโรค โดยสามารถแยกเชื้อ*R. solanacearum* ได้จากต้นพืชทดสอบที่แสดงอาการเหี่ยวทุกต้น ผลการจัดจำแนก Race ของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของพืชตระกูลมะเขือขิง และ มันฝรั่ง คือ Race 1 ทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีเพื่อจัดจำแนกชนิด Biovar ของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ที่แยกได้จากพืชตระกูลมะเขือ สามารถจัดจำแนกเป็น Biovar 3 และ 4 แบคทีเรีย *R. solanacearum* ของพืชตระกูลขิง จัดจำแนก เป็น Biovar 4 ส่วน Biovar ของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ที่แยกได้จากมันฝรั่ง คือ Biovar 2 และ 4 อยู่ในระหว่างดำเนินการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมด้วยเทคนิค rep PCR

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-07-54

คำนำ

เชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (syn. *Pseudomonas solanacearum*) จัดเป็นเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่ง ทำให้เกิดโรคเหี่ยว (bacterial wilt) ก่อความเสียหายกับพืชปลูกหลายชนิด ทั้งที่เป็นพืชเศรษฐกิจจนถึงวัชพืชมากกว่า 200 ชนิดในวงศ์ Solanaceae (Kelman, 1953) ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่เชื้อเข้าทำลาย สภาพแวดล้อมและสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรีย ในประเทศไทยมีการปลูกพืชหลายชนิดที่เป็นพืชอาศัยของเชื้อโรคชนิดนี้ โดยเฉพาะพืชเศรษฐกิจของประเทศได้แก่ มะเขือเทศ พริก มันฝรั่ง ขิง และปทุมมา เป็นต้น เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถอาศัยอยู่ในดินได้เป็นเวลานาน สามารถเข้าทำลายพืชทางรากโดยเข้าตามรอยแผลที่เกิดจากการทำลายของแมลง ไส้เดือนฝอย รอยฉีกขาดของรากหรือแผลที่เกิดในธรรมชาติ สามารถแพร่ระบาดไปกับน้ำได้ดีโดยเฉพาะในช่วงฤดูฝนที่มีฝนตกชุกจะมีการระบาดของโรครุนแรงและรวดเร็ว เชื้อนี้สามารถติดไปกับหัวพันธุ์โดยสามารถแอบแฝงอยู่ในหัวพันธุ์ (Latent infection) เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมและปริมาณของเชื้อโรคมากพอก็จะแสดงอาการของโรคออกมา โดยจะแสดงอาการเมื่อนำหัวพันธุ์ไปปลูกในสภาพแปลง ทำให้เกิดการระบาดของโรคในแปลงปลูก นอกจากนี้เชื้อนี้ยังสามารถอาศัยอยู่ในพืชอาศัยอื่นได้เนื่องจากมีพืชอาศัยที่กว้าง ทำให้เชื้อโรคสามารถอยู่ข้ามฤดูได้

เชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* พบกระจายในเขตร้อนและใกล้เขตร้อนอบอุ่นเย็นของพื้นที่ทั่วโลก มีความหลากหลายทางสายพันธุ์มาก โดยมีความแตกต่างในพืชอาศัย(host range) การกระจายตัวตามภูมิศาสตร์(geographical distribution) ความสามารถในการเกิดโรค (pathogenicity) ความสัมพันธ์ของการระบาดของเชื้อโรค (epidemiological relationships) และ คุณสมบัติทางสรีรวิทยาของเชื้อ (physiological properties) ทำให้มีการศึกษาเพื่อการจัดจำแนกหรือบรรยาย (describe) ลักษณะของเชื้อแบคทีเรียตามการกระจายตามตามภูมิประเทศและการเกิดโรคบนพืชอาศัยไว้ดังนี้

Race 1: มีผลกระทบกับยาสูบ, มะเขือเทศ, มันฝรั่ง, มะเขือยาว, กล้วย diploid และพืชในกลุ่มมะเขืออื่นๆและ วัชพืช มีการเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิสูง โดยมีอุณหภูมิสูงสุด (35-37 ° C).

Race 2: มีผลกระทบกับกล้วย triploid (ก่อให้เกิดโรค Moko) และ เฮลิโคเนีย มีการเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิสูง โดยมีอุณหภูมิสูงสุด (35-37 ° C).

Race 3: มีผลกระทบส่วนใหญ่กับมันฝรั่งและมะเขือเทศ ไม่มีผลกระทบกับพืชกลุ่มมะเขืออื่นๆ มีการเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ อุณหภูมิลดสูงสุด (27 ° C).

Race 4: มีผลกระทบกับพืชตระกูลขิง (Zingiber officinale) มีการเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิสูง โดยมีอุณหภูมิสูงสุด (35-37 ° C).

Race 5: มีผลกระทบกับพืชตระกูลหม่อน (Morus spp.) ที่พบที่ประเทศจีน มีการเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิสูง โดยมีอุณหภูมิสูงสุด (35-37 ° C).

บางสายพันธุ์สามารถเกิดโรคกับพืชอาศัยได้กว้างแต่บางสายพันธุ์เกิดโรคกับพืชในวงศ์จำกัด เช่น สายพันธุ์ที่พบในแถบเขตหนาวเช่นในแถบประเทศยุโรป เรียกว่าเป็นสายพันธุ์ที่เรียกว่า low temperature จัดอยู่ใน race 3 ซึ่งทำให้เกิดโรคกับมันฝรั่ง และมะเขือเทศในเขตพื้นที่สูงที่มีอากาศ

หนาวเย็นเท่านั้น นอกจากนี้ยังมีสายพันธุ์ที่เข้าทำลายพืชตระกูลกล้วยเท่านั้น จัดอยู่ใน race 2 (ก่อให้เกิดโรค Moko disease) ในประเทศไทยได้มีการจัดจำแนกชนิดของเชื้อ *R. solanacearum* ไว้บ้างแต่ยังไม่มีการศึกษาและรายงานชนิดของrace ที่พบในประเทศไทย ทำให้ขาดข้อมูลการเกิดโรค ความรุนแรง ตลอดจนพืชอาศัยที่พบในประเทศไทย ซึ่งถ้าทราบถึงชนิดของrace ของเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* จะทำให้หาวิธีการป้องกันกำจัดได้อย่างถูกต้องต่อไป และเป็นการรายงานชนิดของ race ของเชื้อ *R. solanacearum* ในประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย
2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven)
3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น
4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ
5. วัสดุการเกษตร ได้แก่ ดิน กระถางต้นไม้ ปุ๋ย
6. โรงเรือนปลูกพืชทดลอง

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 การจำแนกชนิด Race แบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ที่พบในประเทศไทย

1. ปลูกพืชอาศัยของเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ได้แก่ พืชตระกูลมะเขือ (มะเขือเทศ พริก มันฝรั่ง มะเขือยาว มะเขือพวง มะเขือเปราะ ยาสูบ) ตระกูลขิง(ขิง ขิงแดง ปทุมมา กระเจียว กระทือ) หน้าวัว ฤาษีผสม กล้วยชนิดต่างๆ เป็นต้น

2. การเตรียมเชื้อ *Ralstonia solanacearum* นำเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ที่เก็บรักษาไว้ในแหล่งเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมโรคพืช จำนวน 300 ไอโซเลท มาเลี้ยงในอาหาร TTC ที่อุณหภูมิ 30 $^{\circ}$C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีเดี่ยวมาเลี้ยงในอาหารเหลว 523 บนเครื่องเขย่าที่มีความเร็วรอบ 250 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 30 C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำ 100 µl ของสารละลายเชื้อมาเกลี่ยลงบนอาหารแข็ง 523 บ่มที่อุณหภูมิ 30 C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการละลายเชื้อด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นของเชื้อโดยการวัดค่าความขุ่นโดยใช้เครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร ให้ได้ค่า OD เท่ากับ 0.3 มีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^{8} cfu/ml

3. การปลูกเชื้อ *R. solanacearum* บนพืชอาศัย โดยก่อนปลูกเชื้องดการให้น้ำพืชทดสอบเป็นเวลา 1 วัน ทำการปลูกพืชทดสอบโดยใช้มีดหรือคัตเตอร์ที่สะอาดตัดส่วนรากห่างจากต้น 1-2 เซนติเมตร ราดด้วยสารละลายเชื้อที่เตรียมข้างต้นทันที โดยใช้อัตราส่วนสารละลายต่อดินในกระถาง 1: 10(V/V) (~ 25 มิลลิลิตร/ต้น)

4. บันทึกผล ตรวจผลการทดลองทุกๆ 7 วัน หลังการปลูกเชื้อ โดยให้ค่าคะแนนความรุนแรงของโรคตั้งแต่ 1-5 ตามอาการของพืช ดังนี้

1 = พืชปกติ (healthy plant)

2 = ใบเหี่ยว 1 ใบต่อต้น (one leaflet or leaf wilting)

3 = 1/3 ของต้นแสดงอาการเหี่ยว (1/3 of plant wilting)

4 = 2/3 ของต้นแสดงอาการเหี่ยว (2/3 of plant wilting)

5 = แสดงอาการเหี่ยวทั้งต้นหรือต้นตาย (whole plant wilting or dead)

ยืนยันการเกิดโรคเหี่ยวโดยการตรวจด้วย ELISA และ แยกเชื้อบนอาหาร TTC

5. ทดสอบชนิด Biovar นำเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ที่ทดสอบพืชอาศัยเรียบร้อยแล้วมาทดสอบการใช้น้ำตาล 6 ชนิดได้แก่ sucrose, lactose, maltose manitol, sorbitol และ dulcitol เพื่อจัดจำแนก biovar ของแต่ละไอโซเลทเพื่อหาความสัมพันธ์ของ biovar กับการเกิดโรคบนพืชอาศัยของสายพันธุ์ประเทศไทยเปรียบเทียบกับรายงานในต่างประเทศ

ขั้นตอนที่ 2 การศึกษาเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของ Race แบคทีเรีย *Ralstoonia solanacearum* ที่พบในประเทศไทย

1. การเตรียมแบคทีเรีย *R. solanacearum* เพื่อสกัดดีเอ็นเอ

นำเชื้อแบคทีเรีย *R.solanacearum* มาเลี้ยงบนอาหารแข็ง Wakimoto's medium ให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ ย้ายเชื้อโคโลนีเดี่ยวมาเลี้ยงในอาหารแข็ง LB (Luria &Bertani medium) (Sambrook et al., 1989) อายุ 48 ชั่วโมง เตรียมไว้สำหรับสกัดดีเอ็นเอ

2. การแยกสกัดดีเอ็นเอของแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ให้บริสุทธิ์

ใช้การแยกสกัดจีโนมิค ดีเอ็นเอ โดยตามวิธีของ Pitcher et al. (1989) ใช้เชื้อบริสุทธิ์แบคทีเรีย *R.solanacearum* ที่เลี้ยงบนอาหารแข็ง LB อายุ 48 ชั่วโมง ใช้ลูปฆ่าเชื้อ แตะเชื้อแบคทีเรียให้เต็มหนึ่งลูปละลาย ใน 1 ml ของ Resuspension buffer (0.15 M NaCl และ 0.01M EDTA, pH 8.0) นำไปปั่นตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ที่ความเร็ว 12,000 g เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งส่วนน้ำใสข้างบน เติมด้วย 100 µl ของ TE buffer pH 8.0 (10 mM Tris และ 1mM EDTA, pH 8.0) ผสมให้เข้ากันโดยใช้ เครื่องปั่น Vortex เติมด้วย 500 µl ของ Guanidine thiocyanate – EDTA – Sarkosyl solution ผสมให้เข้ากัน เติมด้วย 250 µl ของ 7.5 M ammonium acetate ที่แช่เก็บไว้ในตู้เย็น -20 oC ผสมให้เข้ากัน วางบนน้ำแข็ง 5 นาที เติมด้วย 500 µl ของสารผสม chloroform : isoamyl alcohol อัตรา 24/1 ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ที่ 12,000 g เป็นเวลา 10 นาที เก็บส่วนน้ำใสข้างบน ใส่หลอดใหม่ที่บรรจุสาร isopropanol ที่แช่เก็บไว้ในตู้เย็น -20 oC จำนวน 378 µl ผสมให้เข้ากันโดยการพลิกหลอดกลับไปมา จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงเพื่อเก็บตะกอนดีเอ็นเอ ที่ 12,000 g เป็นเวลา 10 นาที ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 150 µl ของ 70 % ethanol จำนวน 2 ครั้ง ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ละลายตะกอนดีเอ็นเอ ด้วย TE buffer, pH. 8.0 ปริมาณ 100 µl วัดปริมาณความเข้มข้น และคุณภาพของดีเอ็นเอ ที่ช่วงคลื่น A260 และ A280 ด้วยเครื่อง UV/Vis spectrophotometer และปรับความเข้มข้นดีเอ็นเอให้มีความเข้มข้น 50 ng/µl เพื่อนำไปศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

3. **การศึกษาเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ด้วยเทคนิค rep-PCR**

การศึกษาเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ด้วยเทคนิค rep PCR ใช้ไพรเมอร์ 2 ชนิด ในการทดลองได้แก่ enterobacteria repetitive intergenic concensus (ERIC) และ interspersed repetitive BOX sequence (BOX) (Louws *et al*., 1994) เพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอโดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 25 µl ในหลอดขนาด 0.2 ml โดยปฏิกิริยาประกอบด้วยดีเอ็นเอของเชื้อ *X. axonopodis* pv..*citri* 50 ng ผสมกับ 10X PCR buffer [67 mM Tris-HCl, pH8.8, 83 mM $(NH_4)_2SO_4$, 2.0 mM $MgCl_2$, 30 mM 2-mercaptoethanol, 10% dimethylsulfoxide และ bovine serum albumin] dNTPs ชนิดละ 125 µM, เอนไซม์ Taq DNA polymerase 1.0 ยูนิต (Invitrogen Corporation Grand Island, NY, USA) และไพรเมอร์ ERIC ชนิดละ 50 pM และ ไพรเมอร์ BOX จำนวน 100 pM แล้วเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อให้ได้ปริมาตรรวม 25 µl ผสมสารให้เข้ากัน ทำปฏิกิริยา PCR ในเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (Thermal cycler) โดยกำหนดอุณหภูมิและเวลาให้มีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอตามวิธีของ Louws *et al.* (1994)

ปฏิกิริยา	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)
1. แยกสายดีเอ็นเอต้นแบบเริ่มต้น (initial denaturing)	95	7
2. แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบ (denaturing)	94	1
3. ไพรเมอร์เริ่มต้นจับคู่กับดีเอ็นเอแม่แบบ (primer annealing)	53 (BOX)	1
	53 (ERIC)	1
4. สังเคราะห์ดีเอ็นเอ (extension)	65	8
5. สังเคราะห์ดีเอ็นเอรอบสุดท้าย (final extension)	65	15

ทำปฏิกิริยาขั้นตอนที่ 2-4 เป็นวงจรลูกโซ่ทั้งหมด 30 รอบ หยุดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 4 °C นำดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ปริมาณ 10 µl มาผสมกับ loading dye (0.025% bromophenol blue, 40% Ficoll 400, 0.5% SDS) ปริมาณ 2 µl จากนั้นทำการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (agarose gel electrophoresis) โดยใช้ 1.5 % อะกาโรสใน 0.5 xTAE (40mM Tris, 4mM sodium acetate, 1mM EDTA, pH 7.9) ใช้กระแสไฟฟ้าที่ค่าความต่างศักย์ 100 โวลต์ นาน 2 ชั่วโมง ย้อมดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ ตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลต

เวลาและสถานที่

ต.ค.53 – ก.ย.58 ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การจำแนกชนิด Race แบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ที่พบในประเทศไทย โดยทำการฟื้นฟูการมีชีวิตของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของพืชตระกูลมะเขือ ขิง และ มันฝรั่ง ที่เก็บรักษาไว้ใน culture collection จำนวน 200 ไอโซเลท คัดเลือกโคโลนีที่รุนแรงบนอาหาร TZC เพื่อใช้ในการทดสอบ ทำการปลูกพืชอาศัยของ แบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้แก่ พริก มะเขือเทศ

มะเขือเปราะ มันฝรั่ง ขิง อายุ 1 เดือน จากนั้นทำการทดสอบการเกิดโรคและชนิดของ race โดยนำแบคทีเรีย *R. Solanacearum* ที่คัดเลือกไว้ ที่ความเข้มข้น 10^8 cfu/ml มาปลูกเชื้อลงบนพืชอาศัยที่เตรียมไว้ ตรวจผลการเกิดโรคเหี่ยวทุก 7, 14, 21,และ 28 วัน ผลการทดสอบ พบว่าพืชอาศัยทุกชนิดแสดงอาการของโรคเหี่ยวภายใน 14-28 วัน นำต้นพืชที่แสดงอาการเหี่ยวมาแยกเชื้อสาเหตุเพื่อยืนยันการเกิดโรค โดยแยกได้เชื้อ *R. solanacearum* ได้จากต้นพืชที่แสดงอาการเหี่ยวทุกต้น ผลการจัดจำแนก Race ของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของพืชตระกูลมะเขือขิง และ มันฝรั่ง คือ Race 1 ทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีโดยทดสอบการใช้น้ำตาล 6 ชนิด ได้แก่ sucrose, lactose, maltose manitol, sorbitol และdulcitol เพื่อจัดจำแนก biovar ของแบคทีเรีย *R. solanacearum* แต่ละไอโซเลทที่พบในประเทศไทย ผลการจัดจำแนกพบว่าแบคทีเรีย *R. solanacearum* ที่แยกได้จากพืชตระกูลมะเขือ สามารถจัดจำแนกเป็น Biovar 3 และ 4 แบคทีเรีย *R. solanacearum* ของพืชตระกูลขิง จัดจำแนก เป็น Biovar 4 ส่วน Biovar ของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ที่แยกได้จากมันฝรั่ง คือ Biovar 2 และ 4 อยู่ในระหว่างดำเนินการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมด้วยเทคนิค rep PCR

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การจำแนกชนิด Race แบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ที่พบในประเทศไทย โดยทำการฟื้นฟูการมีชีวิตของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของพืชตระกูลมะเขือ ขิง และ มันฝรั่ง ที่เก็บรักษาไว้ใน culture collection จำนวน 200ไอโซเลท สามารถจัดจำแนก Race ของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของพืชตระกูลมะเขือ ขิง และ มันฝรั่ง คือ Race 1 การจัดจำแนกชนิด Biovar ของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ทีพบในประเทศไทย พบว่า แบคทีเรีย *R. solanacearum* ที่แยกได้จากพืชตระกูลมะเขือ สามารถจัดจำแนกเป็น Biovar 3 และ 4 แบคทีเรีย *R. solanacearum* ของพืชตระกูลขิง จัดจำแนก เป็น Biovar 4 ส่วน Biovar ของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ที่แยกได้จากมันฝรั่ง คือ Biovar 2 และ 4

เอกสารอ้างอิง

Buddenhagen, I.W. (1986) Bacterial wilt revisited. In: *Bacterial wilt disease in Asia and the South Pacific. Proceedings of an International Workshop held at PCARRD, Los Banos, Philippines, 8-10 October 1985* (Ed. by Persley, G.J.), pp. 126-143. *ACIAR Proceedings* **13**.

Buddenhagen, I.W.; Kelman, A. (1964) Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology* **2**, 203-230.

Buddenhagen, I.W.; Sequeira, L.; Kelman, A. (1962) Designation of races of *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology* **52**, 726.

Cook, D.R.; Sequeira, L. (1988) The use of restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis in taxonomy and diagnosis. *ACIAR Bacterial Wilt Newsletter* No. 4, p. 4.

Cook, D.; Sequeira, L. (1994) Strain differentiation of *Pseudomonas solanacearum* by molecular genetic methods. In: *Bacterial wilt: the disease and its causative agent, Pseudomonas solanacearum* (Ed. by Hayward, A.C.; Hartman, G.L.), pp. 77-93. CAB International, Wallingford, UK.

Echandi, E. (1991) Bacterial wilt. In: *Compendium of tobacco diseases* (Ed. by Shew, H.D.; Lucas, G.B.), pp. 33-35. EPPO/CABI (1992) *Quarantine pests for Europe* (Ed. by Smith, I.M.; McNamara, D.G.; Scott, P.R.; Harris, K.M.). CAB International, Wallingford, UK.

French, E.R.; Sequeira, L. (1968) Bacterial wilt or moko of plantain in Peru. *Fitopatologia* **3**, 27-38.

Hartman, G.L.), pp. 95-112. CAB International, Wallingford, UK.

Hayward, A.C. (1994a) The hosts of *Pseudomonas solanacearum*. In: *Bacterial wilt: the disease and its causative agent, Pseudomonas solanacearum* (Ed. by Hayward, A.C.; Hartman, G.L.), pp. 9-24. CAB International, Wallingford, UK.

Hayward, A.C. (1994b) Systematics and phylogeny of *Pseudomonas solanacearum* and related bacteria. In: *Bacterial wilt: the disease and its causative agent, Pseudomonas solanacearum* (Ed. by Hayward, A.C.; Hartman, G.L.), pp. 123-135. CAB International, Wallingford, UK.

อนุกรมวิธานและความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย migratory endoparasitic nematodes

Taxonomy and pathogenicity of migratory endoparasitic nematodes

ไตรเดช ข่ายทอง ธิติยา สารพัฒน์ มนตรี เอี่ยมวิมังสา
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดลองความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. coffeae* ต่อกาแฟพันธุ์อาราบิก้า โดยปลูกต้นกล้ากาแฟอายุ 5 เดือน ลงในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 นิ้ว บรรจุดินอบฆ่าเชื้อ วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี โดยใส่ไส้เดือนฝอยรากแผลจำนวน 3,000 6,000 9,000 12,000 ตัวตามลำดับเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย พบว่าไส้เดือนฝอย *P. coffeae* ไม่สามารถขยายพันธุ์ได้ในรากกาแฟ โดยทุกกรรมวิธีมีจำนวนไส้เดือนฝอยเมื่อสิ้นสุดอยู่ในระดับต่ำ ทั้งนี้อาจเกิดจากไส้เดือนฝอย *P. coffeae* ที่ใช้ในการทดลองเป็นไส้เดือนฝอยไอโซเลตที่แยกมาจากกล้วย อย่างไรก็ตามต้นกาแฟที่ใส่ไส้เดือนฝอยมีลักษณะสีใบซีด ขอบใบสีน้ำตาล และรากบางส่วนมีสีน้ำตาล เมื่อเทียบกับต้นกาแฟที่ไม่ได้ใส่ไส้เดือนฝอย

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-09-54

คำนำ

Migratory endoparasitic nematodes เป็นไส้เดือนฝอยชนิดที่เข้าสู่รากพืช ดูดกินอาหารและเคลื่อนที่ภายในรากพืช ไส้เดือนฝอยกลุ่มนี้ไม่ชักนำให้เซลรากพืชเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นแหล่งอาหาร (Feeding Site) เหมือนกับไส้เดือนฝอยรากปม (Root-knot Nematodes) หรือไส้เดือนฝอยซีสต์ (Cyst Nematodes) แต่จะเข้าทำลายเนื้อเยื่อของรากในส่วน Cortex Parenchyma เป็นหลัก โดยดูดกินอาหารจากเซลและเคลื่อนที่ภายในรากพืช การเคลื่อนที่และดูดกินอาหารดังกล่าวทำให้รากเป็นโพรง เกิดแผลสีน้ำตาล ในบางกรณีรากอาจถูกเชื้อโรคอื่นๆ เข้าทำลายซ้ำเติม ต้นพืชที่ระบบรากถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายจะมีอาการแคระแกรน ต้นโทรม ใบเหลือง ผลผลิตลดลง *Pratylenchus* และ *Radopholus* เป็นไส้เดือนฝอยสกุลที่สำคัญของไส้เดือนฝอยกลุ่มนี้ ซึ่งโดยทั่วไปเป็นไส้เดือนฝอยที่มีพืชอาศัยกว้าง อย่างไรก็ตามไส้เดือนฝอยชนิดต่างๆ จะมีความสำคัญ และทำความเสียหายต่อพืชแต่ละชนิดแตกต่างกันออกไป เช่น *P. coffeae* และ *P. goodeyi* เป็นศัตรูที่สำคัญของกล้วย (Gowen *et al*., 2005) *P. coffeae*, *P. brachyurus*, *P. goodeyi*, *P. pratensis*, *P. loosi, P. panamaensis, P. zeae* และ *P. vulnus* เป็นศัตรูของกาแฟ (Campos and Villain, 2005) *P. penetrans* ทำลายพืชได้มากเกือบ 400 ชนิด (Evans *et al*., 1993) ไส้เดือนฝอยรากโพรง *Radopholus similis* สามารถทำลายพืชได้มากกว่า 250 ชนิด (O'Bannon, 1977) จำนวนไส้เดือนฝอย *R. similis* เริ่มต้นเพียง 10 ตัว สามารถสร้างความเสียหายแก่ต้นหน้าวัวได้ (Sipes and Lichty, 2002) การทดลองนี้เป็นการรวบรวมไส้เดือนฝอยสกุล *Pratylenchus* เป็นหลัก ปัจจุบันไส้เดือนฝอยรากแผลได้ถูกจำแนกแล้วมากกว่า 60 ชนิด มีรายงานการพบไส้เดือนฝอยรากแผล *P. brachyurus, P. coffeae, P. zeae, P. vulnus, P. minyus, P. delattrei*, *P. nongkiensis*, *P. sudanensis*, *P. thornei* และ *Pratylenchus* spp. ในแหล่งปลูกพืชของประเทศไทย (Chunram, 1972; Pliansinchai and Boonduang, 1978; Pliansinchai and Boonduang, 1986) ข้อมูลของไส้เดือนฝอยรากแผลในประเทศไทยค่อนข้างเก่า ซึ่งปัจจุบันการจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยรากแผลได้เปลี่ยนไป ทำให้ชนิดของไส้เดือนฝอยรากแผลในปัจจุบันแตกต่างจากข้อมูลในอดีต การศึกษาการจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยกลุ่มนี้จึงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อปรับปรุงฐานข้อมูลให้มีความทันสมัย นอกจากนี้ข้อมูลด้านผลกระทบต่อพืชของไส้เดือนฝอยกลุ่มนี้ยังมีไม่มากนัก การศึกษาถึงความสามารถในการทำให้เกิดโรคต่อพืชของไส้เดือนฝอยสกุล *Pratylenchus* ทำให้ทราบถึงข้อมูลในการเข้าทำลายพืช ความเสียหายที่ไส้เดือนฝอยกระทำต่อพืช ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อใช้ในการจัดการไส้เดือนฝอยในสกุลนี้ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

การดำเนินงานในปีงบประมาณ 2554 เป็นการเก็บตัวอย่างดิน จากแหล่งปลูกพืชชนิดต่างๆ ในประเทศไทย เพื่อตรวจหาไส้เดือนฝอย ทำการคงสภาพไส้เดือนฝอย และทำสไลด์ถาวร จำแนกชนิดของไส้เดือนฝอย รวมทั้งเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอยในพืชอาศัย เพื่อให้ได้จำนวนประชากรของไส้เดือนฝอยมากพอในการศึกษาด้านชีววิทยาต่อไป การดำเนินงานในปีงบประมาณ 2555 ทำการจำแนกไส้เดือนฝอยรากแผล *Pratylenchus* spp. โดยใช้ลักษณะทางสัณฐาน เพื่อทราบชนิดของไส้เดือนฝอยที่ชัดเจน ในปีงบประมาณ 2556 ดำเนินงานต่อเนื่องจากปี 2555 และทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. coffeae* ต่อกาแฟพันธุ์อาราบิก้า

การเตรียม inoculums

เลี้ยงไส้เดือนฝอย *P. coffeae* บนรากข้าวโพดในสภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 3 เดือน แยกไส้เดือนฝอยออกจากรากข้าวโพดโดยการแช่รากข้าวโพดในน้ำ เทไส้เดือนฝอยลงในบีกเกอร์ ตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอย

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค

ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. coffeae* ต่อกาแฟพันธุ์อาราบิก้า โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ปลูกต้นกล้ากาแฟอายุ 5 เดือน ลงในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 นิ้ว บรรจุดินอบฆ่าเชื้อ ใส่ไส้เดือนฝอยลงในกระถางตามกรรมวิธีทดลองดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย
กรรมวิธีที่ 2 ใส่ไส้เดือนฝอย (ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยเพศเมีย) 3,000 ตัว/กระถาง
กรรมวิธีที่ 3 ใส่ไส้เดือนฝอย (ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยเพศเมีย) 6,000 ตัว/กระถาง
กรรมวิธีที่ 4 ใส่ไส้เดือนฝอย (ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยเพศเมีย) 9,000 ตัว/กระถาง
กรรมวิธีที่ 5 ใส่ไส้เดือนฝอย (ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยเพศเมีย) 12,000 ตัว/กระถาง

ตรวจผลการทดลอง 6 เดือนหลังจากใส่ไส้เดือนฝอย โดยวัดความสูง น้ำหนักต้น น้ำหนักราก จำนวนไส้เดือนฝอยในดินและราก แยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่างดินโดยวิธีการกวนตัวอย่างดินในน้ำ และกรองน้ำส่วนบนผ่านตะแกรงขนาดช่อง 850 ไมโครเมตร ที่วางบนตะแกรงขนาดช่อง 38 ไมโครเมตร และแยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่างที่ค้างอยู่บนตะแกรงอันล่าง โดยนำตัวอย่างใส่ลงบนกระดาษกรองที่วางอยู่บนตะแกรงไนลอน วางลงในจานรองที่มีน้ำสะอาด (Decanting and Sieving with Baermann's Tray Technique) และแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากพืชโดยใช้ Mistifier ตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธี Analysis of variance โดยแปลงข้อมูลจำนวนไส้เดือนฝอยให้อยู่ในรูป log (x+1) ก่อนวิเคราะห์ข้อมูล

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2558
กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในปี 2554 ทำการเก็บตัวอย่างดินจำนวนทั้งสิ้น 113 ตัวอย่าง ตรวจพบไส้เดือนฝอยสกุล *Pratylenchus* 34 ตัวอย่าง เลี้ยงไส้เดือนฝอยจากตัวเต็มวัยเพศเมียที่มีไข่ 1 ตัวบนชิ้นแครอทได้สำเร็จ 6 ตัวอย่าง ซึ่งการเลี้ยงไส้เดือนฝอยบนชิ้นแครอทประสบปัญหาในการเตรียมชิ้นแครอทที่ปลอดเชื้อ เนื่องจากแครอทที่ซื้อมาจากตลาดส่วนใหญ่มักมีแบคทีเรียอยู่ภายใน ทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อขึ้นในภายหลัง นอกจากนี้การเลี้ยงไส้เดือนฝอยจากตัวเต็มวัยเพียง 1 ตัว ใช้เวลานาน สภาพของชิ้นแครอทที่อยู่ในจานเลี้ยงเชื้ออาจเปลี่ยนไป ซึ่งอาจไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอย ทำให้ไส้เดือนฝอยตายในที่สุด การเลี้ยงไส้เดือนฝอยบนชิ้นแครอทตรวจสอบการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยได้ยาก ต้องรอจนกระทั่งไส้เดือนเดือนฝอยมีจำนวนมากพอที่จะสังเกตเห็นได้ ได้แก้ปัญหาโดยการ

เลี้ยงไส้เดือนฝอยบนรากข้าวโพด บนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งประสบผลสำเร็จมากกว่า และสามารถตรวจดูการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยและ sub-culture ได้ง่าย

ในปี 2555 ได้เลี้ยงไส้เดือนฝอย *Pratylenchus* บนรากข้าวโพด แยกไส้เดือนฝอยจากรากข้าวโพด ทำการคงสภาพไส้เดือนฝอยและทำสไลด์ถาวร จำแนกไส้เดือนฝอยโดยใช้คู่มือการจัดจำแนกของ Castillo, P., and N. Vovlas (2007) โดยจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยรากแผลจากตัวอย่างดิน 23 แห่ง (38 ตัวอย่าง) จำแนกได้ไส้เดือนฝอย *P. coffeae* จากตัวอย่างดิน 20 แห่ง *P. brachyurus* จากตัวอย่างดิน 1 แห่ง และยังจำแนกชนิดที่ชัดเจนไม่ได้จากตัวอย่างดิน 2 แห่ง

ในปี 2556 ผลการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. coffeae* ต่อกาแฟพันธุ์อาราบิก้า พบว่าไส้เดือนฝอย *P. coffeae* ไอโซเลตที่ใช้ทดสอบ ไม่สามารถขยายพันธุ์ในกาแฟพันธุ์อาราบิกาได้ โดยไม่พบประชากรไส้เดือนฝอยในดินในทุกกรรมวิธี และพบประชากรไส้เดือนฝอยในรากหนัก 5 กรัมเฉลี่ย 8 5 17 และ 12 ตัว ในกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเมื่อเริ่มทดลอง 3,000 6,000 9,000 และ 12,000 ตัวตามลำดับ ไม่พบความแตกต่างของน้ำหนักต้นในทุกกรรมวิธี (ตารางที่ 1) อย่างไรก็ตามพบว่าต้นกาแฟที่ใส่ไส้เดือนฝอยรากแผล มีสีใบซีด ขอบใบไหม้ และรากมีสีน้ำตาล เมื่อเทียบกับต้นที่ไม่ได้ใส่ไส้เดือนฝอย (ภาพที่ 1) ซึ่งอาจเกิดจากการเข้าทำลายรากของไส้เดือนฝอยเมื่อเริ่มทดลอง ไส้เดือนฝอย *P. coffeae* ที่ใช้ในการทดลองเป็นไอโซเลตที่แยกได้จากกล้วย จึงอาจทำให้ไม่สามารถขยายพันธุ์และทำให้เกิดโรคได้ในกาแฟ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. coffeae* ต่อกาแฟพันธุ์อาราบิก้า โดยการใส่ไส้เดือนฝอย 3,000 6,000 9,000 และ 12,000 ตัวตามลำดับ ลงในต้นกล้ากาแฟในกระถางทดลองพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 นิ้ว พบว่าไส้เดือนฝอย *P. coffeae* ไม่สามารถขยายพันธุ์ได้ในรากกาแฟ โดยทุกกรรมวิธีมีจำนวนไส้เดือนฝอยเมื่อสิ้นสุดการทดลองน้อยมาก ทั้งนี้อาจเนื่องจากไส้เดือนฝอยที่ใช้ในการทดลองเป็นไอโซเลตที่แยกได้จากกล้วย จึงไม่สามารถทำให้เกิดโรคในกาแฟ อย่างไรก็ตามพบว่าต้นกาแฟที่ใส่ไส้เดือนฝอยมีลักษณะใบซีด ขอบใบไหม้ และบางส่วนของรากมีสีน้ำตาล เมื่อเทียบกับต้นกาแฟที่ไม่ได้ใส่ไส้เดือนฝอย

เอกสารอ้างอิง

Campos, V.P., and L. Villain. 2005. Nematode parasites of coffee and cocoa. Pp. 529-579. in Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture, 2nd edition. M. Luc, R.A. Sikora and J. Bridge, eds. CAB International.

Castillo, P., and N. Vovlas. 2007. *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylechidae): Diagnosis, Biology, Pathogenicity and Management. Brill Leiden, Boston.

Chunram, C. 1972. A list of plant parasitic nematodes in Thailand. Plant Protection Service Technical Bulletin No.1 Pp. 23-26. The Plant Industry Division. Ministry of Agriculture, Thailand.

Evans, K., D.L. Trudgill, and J.M.Webster.1993. Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture. Pp. 648. CAB International. Wallingford, UK.

Gowen, R.S., P. Quénéhervé, and R. Fogain. 2005. Nematode parasites of bananas and plantains. Pp. 611-643. in Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture, 2nd edition. M. Luc, R.A. Sikora and J. Bridge, eds. CAB International.

O'Bannon, J.H. 1977. Worldwide dissemination of *Radopholus similis* and its importance in crop production. Journal of Nematology 9:16-25.

Pliansinchai, U., and A. Boonduang. 1978. A systematic study of plant parasitic nematodes of Black pepper in Thailand. Nematology Section Technical Bulletin No.2 Pp. 22-30. Plant Pathology Division, Department of Agriculture, Thailand.

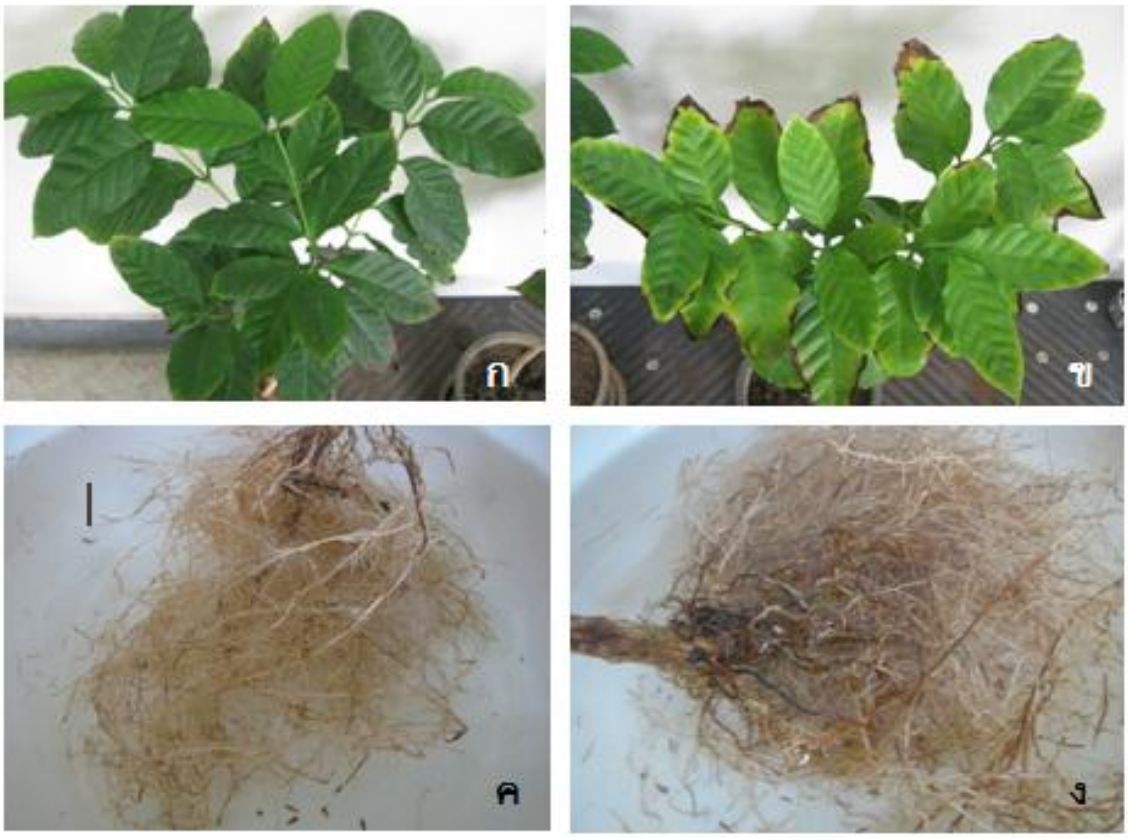
Pliansinchai, U., and A. Boonduang. 1986. A systematic study of plant parasitic nematodes of Sugarcane in Thailand. Nematology Section Technical Bulletin No.5 Pp. 48-61. Plant Pathology and Microbiology Division, Department of Agriculture, Thailand.

Ryss A.Y. 2003. Express technique to prepare permanent collection slides of nematodes. Zoosystematica Rossica 11(2): 257–260.

Sipes, B.S., and J.S. Lichty. 2002. *Radopholus similis* damage to *Anthurium andraeanum*. Nematropica 32:77-81.

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักต้น น้ำหนักราก จำนวนไส้เดือนฝอยทั้งหมดในดิน และจำนวนไส้เดือนฝอยต่อราก 5 กรัม

กรรมวิธี	น้ำหนักต้น	น้ำหนักราก	จำนวนไส้เดือนฝอยในดิน	จำนวนไส้เดือนฝอยในราก 5 กรัม
ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย	40.23	33.41	0	0
3000 ตัว	40.74	27.33	0	8
6000 ตัว	40.37	28.71	0	5
9000 ตัว	36.50	30.81	0	17
12000 ตัว	42.14	31.04	0	12
F - test	ns	ns	-	ns
CV (%)	13.15	30.55	-	90.32



ภาพที่ 1 ลักษณะใบของต้นกาแฟพันธุ์อาราบิก้า กระถางที่ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย (ก) และใส่ไส้เดือนฝอย (ข) กระถางที่ใส่ไส้เดือนฝอยใบมีสีซีด และขอบใบไหม้ และลักษณะรากของกาแฟกระถางที่ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย (ค) และใส่ไส้เดือนฝอย (ง) ในกระถางที่ใส่ไส้เดือนฝอยรากบางส่วนมีสีน้ำตาล

การจำแนกชนิดของราสกุล *Colletotrichum* สาเหตุโรคพืช โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรม

Identification of *Colletotrichum* Plant Pathogenic Fungi Using Morphological and Molecular Characteristics

พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ชนินทร ดวงสอาด
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ผลการสำรวจรวบรวมและเก็บตัวอย่างสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Colletotrichum* ได้ตัวอย่างโรคพืชทั้งหมด 111 ตัวอย่าง จากพืชอาศัยจำนวน 19 ชนิด ในจังหวัดกำแพงเพชร กาญจนบุรี กรุงเทพฯ จันทบุรี ฉะเชิงเทรา ชุมพร เชียงใหม่ เชียงราย นครปฐม นครนายก นครราชสีมา ตราด บุรีรัมย์ ปทุมธานี เพชรบูรณ์ เพชรบุรี พะเยา แม่ฮ่องสอน ระยอง ราชบุรี ลำพูน ศรีสะเกศ สระบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม สุโขทัย สุราษฎร์ธานี อุบลราชธานี และ อุตรดิตถ์ ตัวอย่างโรคพืชที่รวบรวมได้ทั้งหมดนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยการศึกษาราจากเนื้อเยื่อพืชโดยตรง การทำ moist chamber แยกราจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค และศึกษาจำแนกชนิดเชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา จากการศึกษาจำแนกได้รา *Colletotrichum* จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Colletotrichum acutatum, C. capsici, C. circinans, C. falcatum, C. gloeosporioides*, *C. musae* และ unidentified species *Colletotrichum* spp. 7 ชนิด ซึ่งมีลักษณะของสปอร์คล้าย ๆ กัน ยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้แยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และพบว่า *C. musae* เจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร Oat Meal agar รองลงมาได้แก่ Potato Dextrose Agar และ Czapek Dox Agar จากการศึกษาครั้งนี้ได้เก็บเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาการจำแนกชนิดของเชื้อในระดับ species และสกัด DNA ของรา *Colletotrichum* จำนวน 15 ไอโซเลท เก็บรักษา DNA ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และจัดเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืชที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-12-54

คำนำ

ราสกุล *Colletotrichum* พบแพร่กระจายอยู่ทั่วโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน ดำรงชีวิตแบบ saprophyte และ parasite จัดเป็นราที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากเป็นสาเหตุของพืชเศรษฐกิจหลายชนิด สามารถเข้าทำลายพืชได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช ตั้งแต่ระยะออกดอกจนถึงระยะหลังการเก็บเกี่ยว ส่งผลให้ปริมาณและคุณภาพลดลง ทำให้ไม่เป็นที่ต้องการของตลาดภายในและภายนอกประเทศ ซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งของการส่งออกไม้ผลไปต่างประเทศ

แต่เดิมจัดราที่คล้าย *Colletotrichum* แต่ไม่มี setae ไว้ใน genus *Gloeosporium* แต่ในปัจจุบัน *Gloeosporium* ได้จัดรวมอยู่ใน *Marssonina* ปัจจุบันพบว่ารา *Colletotrichum* มีจำนวนมากกว่า 20 species บนพืชอาศัยต่าง ๆ กัน ส่วนใหญ่ทำให้เกิดโรคใบจุดหรือโรคแอนแทรคโนส Domsch *et al.* (1993 a, b) ได้รายงาน 2 species ซึ่งในบางครั้งเป็นราดิน (soil-borne) ได้แก่ *Colletotrichum gloeosporioides* (teleomorph เป็นรา *Glomerella cingulata* สร้าง conidia รูปทรงกระบอก หัวท้ายมนไม่มี setae และ *Colletotrichum dematium* สร้าง conidia รูปพระจันทร์เสี้ยว และมี setae

ลักษณะสำคัญของรา Coelomycetes genus นี้คือการสร้าง acervuli อยู่ใต้ epidermis ของพืช บนวุ้นอาหารจะพบลักษณะคล้าย sporodochia ราสร้าง phialides ไม่มีสี เกิดรวมเป็นกลุ่มหนาแน่น บาง species จะพบ setae สีดำ ปลายแหลม เกิดจากฐานของ stroma conidia รูปทรงกระบอก หรือพระจันทร์เสี้ยว มี 1 เซล ไม่มีสี ผนังเรียบ มักเกิดอยู่ในกลุ่มสารเมือกเหลวสีครีม ส้ม แดง หรือน้ำตาล ลักษณะสำคัญอีกอย่างหนึ่งของรา genus นี้คือการสร้าง appressoria เกิดจากการงอกของ conidia มีสีน้ำตาล รูปร่างกลมหรือมีส่วนที่โป่งหรือยื่นออก (lobed) การจัดจำแนกของราในกลุ่มนี้อาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่นลักษณะของสปอร์ การมีหรือไม่มี setae การสร้าง sclerotia ลักษณะของโคโลนีบนอาหารต่าง ๆ ในปัจจุบันมีการศึกษาทางด้านชีวโมเลกุลกันมากขึ้น โดยเปรียบเทียบลักษณะทางพันธุกรรมพบว่าลักษณะของราในกลุ่มนี้จะแตกต่างกันแต่ลักษณะบางชนิดก็จะมีลักษณะคล้ายคลึงและใกล้เคียงกันมากเมื่อตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ ในปัจจุบันนี้มีการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อมาใช้ในการจำแนกชนิด ซึ่งก็ทำให้การจำแนกชนิดของรามีความถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ กระดาษ ถุงพลาสติค ปากกาเคมี ดินสอ กรรไกรตัดกิ่ง และ GPS

2. อุปกรณ์จัดเก็บตัวอย่างแห้ง ได้แก่ แผ่นไม้อัดทับตัวอย่าง กระดาษ

3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ slide cover slip ปากคีบ เข็มเขี่ยปลายแหลม ใบมีดโกน ตะเกียง ยาทาเล็บ

4. สารเคมีสำหรับ mount slide ได้แก่ lactophenol , lactic acid, shear's sulution

5. สารเคมีได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ : สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ แอธิลแอลกอฮอล์ 75%

6 อาหารวุ้นสังเคราะห์ corn meal agar (CMA), potato dextrose agar (PDA)

7. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ขวดดูแรน บีกเกอร์ เป็นต้น

8. วัสดุอุปกรณ์อื่นๆ ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อเครื่องแก้ว เป็นต้น

9. กล้องจุลทรรศน์ compound microscope และ stereo microscope พร้อมกล้องถ่ายรูปและ camera lucida สำหรับวาดภาพราจากกล้องจุลทรรศน์

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคพืช

เก็บตัวอย่างโรคพืช ได้แก่ ใบ ดอก ผล กิ่ง ลำต้น และราก จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ห่อด้วยกระดาษ ใส่ถุงพลาสติก และบันทึกรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ ผู้เก็บ และแบ่งตัวอย่างโรคพืชมาอัดทับตัวอย่างแห้ง จัดเก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร

2. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

- ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช

ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 5-10 วัน เมื่อพบเชื้อราสร้างเส้นใยหรือ conidium ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อรามาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ และตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound ถ่ายรูปลักษณะเชื้อและบันทึกลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อ

- แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplant

นำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซับบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร ½Potato Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar, Malt Extract Agar, Corn Meal Agar หรือ water agar บ่มที่อุณหภูมิ 32±2 องศาเซลเซียส นาน 3-7 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ และเลี้ยงบนอาหาร PDA

3. ศึกษาลักษณะของเชื้อบนอาหารชนิดต่าง ๆ

นำรา *Colleotrichum* ที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร ½Potato Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar, Malt Extract Agar, Corn Meal Agar, Oat meal agar หรือ water agar โดยบันทึกลักษณะต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

บันทึกอัตราการเจริญของเชื้อราบนอาหารชนิดต่าง ๆ ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บันทึกสีของโคโลนีด้านบนและด้านล่างอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งการสร้างเม็ดสี (pigment)

4. การจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืช

- ศึกษารูปร่างลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจดูลักษณะเส้นใย conidiophore และสปอร์ และศึกษาลักษณะของสปอร์และโครงสร้างอื่น ๆ ของเชื้อรา โดยการ mount slide ด้วยน้ำหรือ shear's solution

- ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี

ลักษณะของสปอร์ conidiophore สี ขนาด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound บันทึกขนาด รูปร่าง วาดภาพ และบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ และถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (Scanning Electron Microscope)

5. เก็บรักษาสายพันธุ์ราและตัวอย่างแห้ง

เก็บรักษาราที่แยกได้ไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาไว้ใน Culture Collection และเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์ โรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

6. การพิสูจน์การเกิดโรค

ทำการพิสูจน์การเกิดโรค โดยทำการปลูกเชื้อส่วนของพืช โดยทำแผลและไม่ทำแผล อย่างละ 10 ซ้ำ เปรียบเทียบกับการเกิดโรคบนส่วนที่ไม่ปลูกเชื้อด้วยวิธีเดียวกัน แยกเชื้อสาเหตุจากต้นที่แสดงอาการโรค เปรียบเทียบชนิดของราสาเหตุโรคใช้ในการปลูกเชื้อ

การเตรียม DNA จากเส้นใยของรา

7. การเตรียมเส้นใยของรา

เลี้ยงรา *Colletotrichum* บนอาหาร MEA (Malt extract agar) นาน 7-10 วัน หลังจาก
นั้นใช้เข็มเขี่ยเอาเส้นใยของรามาเลี้ยงในอาหารเหลว PDB (Potato dextrose broth) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใน flask 250 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 7 วัน หลังจากนั้นนำราในอาหารเหลวมากรองด้วยกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อ และทำให้แห้งด้วยการดูดอากาศออกด้วยเครื่องดูดสัญญากาศ เก็บเส้นใยราที่แห้งด้วยหลอดและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาสกัด DNA

8. การสกัด DNA จากรา

นำรา *Colletotrichum* อย่างน้อย 5 genera 5 species อย่างละ 5 isolates ที่เก็บรักษาไว้
ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มาสกัด DNA โดยใช้วิธีของ Crous และคณะ (2000)

9. การเพิ่มปริมาณยีน Internal Transcribed Spacer โดยใช้เทคนิค PCR

นำ DNA ของราที่แยกได้ในข้อ 13.2.3 มาทำ PCR โดยใช้ไพร์เมอร์ ITS1 (5'TTTCCGTAGGTGAACCTGC3') และ ITS4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC)

- สังเคราะห์คู่ primer ITS1 และ ITS4 เพื่อทำการเพิ่มปริมาณของ rDNA ในช่วง ITS1-5.8S rDNA-ITS2-26SrDNA
- นำ DNA ของราทั้งหมดในข้อ 13.2.3 มาเพิ่มปริมาณของ rDNA ในช่วง ITS1-5.8S rDNA-ITS2-26SrDNA โดยใช้คู่ไพร์เมอร์ ITS1 และ ITS4 ด้วยวิธี PCR ประกอบด้วยส่วนผสมดังนี้

10X PCR buffer	6 ไมโครลิตร
25 mM $MgCl_2$	3 ไมโครลิตร
10 mM dNTP	1 ไมโครลิตร
ไพร์เมอร์ ITS1 (50 พิโคโมล / ไมโครลิตร)	1 ไมโครลิตร
ไพร์เมอร์ ITS4 (50 พิโคโมล / ไมโครลิตร)	1 ไมโครลิตร
Taq DNA Polymerase (5 ยูนิต / ไมโครลิตร)	0.25 ไมโครลิตร

น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	28.75 ไมโครลิตร
สารละลาย DNA (50 นาโนกรัม / ไมโครลิตร)	10 ไมโครลิตร
รวมปริมาตร	50 ไมโครลิตร

- ส่วนของ β-tubulin นั้นเพิ่มปริมาณโดยใช้คู่ไพร์เมอร์ Bt2a และ Bt2b

นำส่วนผสมทั้งหมดผสมตามสัดส่วนลงในหลอด PCR ขนาด 0.2 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำหลอด PCR เข้าเครื่องเพิ่มปริมาณ DNA โดยมีรอบการทำปฏิกิริยา (Slippers *et al.*, 2004) ดังนี้

94 องศาเซลเซียส	5 นาที		1 รอบ
94 องศาเซลเซียส	1 นาที	50 วินาที	30 รอบ
52 องศาเซลเซียส	2 นาที		
72 องศาเซลเซียส	1 นาที		
72 องศาเซลเซียส	5 นาที		1 รอบ
4 องศาเซลเซียส	hold		

13.2.4 <u>การวิเคราะห์หาลำดับเบสของยีน ITS1-5.8SrDNA-ITS2-26SrDNA</u>

นำผลผลิตที่ได้จากข้อ 13.2.3 มาตรวจวิเคราะห์ผลด้วย electrophoresis บน 1% agarose gel ใน 0.5XTBE buffer โดยตัดแถบ DNA ที่เป็นยีนเป้าหมาย ภายใต้ UV transilluminator โดยใช้วิธีของ Slippers และคณะ (2004)

13.2.6 <u>การเปรียบเทียบลำดับเบสของยีนที่นำมาศึกษาทั้งหมด</u>

การเปรียบเทียบลำดับเบสของยีนที่นำมาศึกษาทั้งหมดไปวิเคราะห์เปรียบเทียบกับฐานข้อมูลที่มีรายงานอยู่ใน GenBank ในช่วงลำดับเบส 15 ITS rDNA และ 15 β-tubulin ซึ่งเป็นราในกลุ่ม *Colletotrichum* โดยนำมาเปรียบเทียบวิเคราะห์ความสัมพันธ์และการวิวัฒนาการด้วย PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony) version 4.0b8 โดย Swofford (2000)

เวลาและสถานที่

เวลา	เริ่มต้น – สิ้นสุด
	ตุลาคม 2553 – กันยายน 2558
สถานที่	- แหล่งพืชธรรมชาติ
	- แปลงปลูกพืชของเกษตรกร
	- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคพืช

ผลการสำรวจรวบรวมและเก็บตัวอย่างสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Colletotrichum* ได้ตัวอย่างโรคพืชทั้งหมด 111 ตัวอย่าง จากพืชอาศัยจำนวน 19 ชนิด ในจังหวัดกำแพงเพชร กาญจนบุรี กรุงเทพฯ จันทบุรี ฉะเชิงเทรา ชุมพร เชียงใหม่ เชียงราย นครปฐม นครนายก นครราชสีมา ตราดบุรีรัมย์ ปทุมธานี เพชรบูรณ์ เพชรบุรี พะเยา แม่ฮ่องสอน ระยอง ราชบุรี ลำพูน ศรีสะเกษ สระบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม สุโขทัย สุราษฎร์ธานี อุบลราชธานี และ อุตรดิตถ์ ตัวอย่างโรคพืชที่รวบรวมได้ทั้งหมดนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยการศึกษาราจากเนื้อเยื่อพืช

โดยตรง การทำ moist chamber และโดยวิธีการแยกราจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค เก็บตัวอย่างโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

- ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช

ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 5-10 วัน เมื่อพบเชื้อราสร้างเส้นใยหรือ conidium ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อรามาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ และตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound ถ่ายรูปลักษณะเชื้อและบันทึกลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อ

- แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplant

นำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซับบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร ½Potato Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar, Malt Extract Agar, Corn Meal Agar หรือ water agar บ่มที่อุณหภูมิ 32±2 องศาเซลเซียส นาน 3-7 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ และเลี้ยงบนอาหาร PDA

3. ศึกษาลักษณะของเชื้อบนอาหารชนิดต่าง ๆ

นำรา *Colleotrichum musae* ที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร ½Potato Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar, Malt Extract Agar, Corn Meal Agar, Oat meal agar หรือ water agar พบว่าราเจริญได้ดีที่สุด Oat Meal agar รองลงมาได้แก่ Potato Dextrose Agar และ Czapek Dox Agar

4. การจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืช

- ศึกษารูปร่างลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจดูลักษณะเส้นใย conidiophore และสปอร์ และศึกษาลักษณะของสปอร์และโครงสร้างอื่น ๆ ของเชื้อรา โดยการ mount slide ด้วยน้ำหรือ shear's solution

- ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี ลักษณะของสปอร์ conidiophore สี ขนาด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound บันทึกขนาด รูปร่าง วาดภาพ และบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ และถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (Scanning Electron Microscope)

การศึกษารา *Colletotrichum* จากส่วนที่เป็นโรค และการจำแนกชนิด

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา *Colletotrichum*

ผลจากการศึกษาจำแนกชนิดเชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำแนกได้รา *Colletotrichum* จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *Colletotrichum capsici, C. falcatum, C. gloeosporioides*, *C. musae* และ unidentified species *Colletotrichum* spp. 10 ชนิด (ตารางที่ 1) ซึ่งมีลักษณะของสปอร์คล้าย ๆ กัน ยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้แยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาการจำแนกชนิดของเชื้อในระดับ species และศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อต่อไป

ตารางที่ 1 ชนิดของเชื้อบนพืชอาศัยต่าง ๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – เดือนกันยายน 2556

เชื้อสาเหตุ	พืช	ส่วนของพืชที่เป็นโรค	แหล่งเก็บ
Colletotrichum acutatum	พริก	ลำต้น ผล	จันทบุรี ชุมพร เชียงใหม่ นครราชสีมา ปทุมธานี ระยอง ราชบุรี ตราด สมุทรสาคร
C. capsici	พริก	ดอก ผล	กาญจนบุรี พิจิตร แพร่ เพชรบูรณ์ อุตรดิตถ์ อุบลราชธานี
Colletotrichum circinans	หอมหัวใหญ่	ใบ	เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน
C. falcatum	อ้อย	ลำต้น ใบ	กาญจนบุรี ชัยภูมิ ระยอง ราชบุรี เพชรบูรณ์ ลพบุรี
C. gloeosporioides	แก้วมังกร	ลำต้น ผล	กรุงเทพฯ จันทบุรี ชุมพร เชียงใหม่ นครราชสีมา ปทุมธานี ระยอง ราชบุรี ตราด สมุทรสาคร สมุทรสงคราม
C. gloeosporioides	มะม่วง	ใบ และผล	กาญจนบุรี กรุงเทพฯ ฉะเชิงเทรา นครราชสีมา จันทบุรี สระบุรี เชียงใหม่ ลำพูน
C. gloeosporioides	มะละกอ	ผล	สระบุรี ชุมพร ปทุมธานี
C. gloeosporioides	กล้วยไข่	ผล	กำแพงเพชร จันทบุรี สุโขทัย
C. gloeosporioides	กล้วยหอม	ผล	ปทุมธานี เพชรบุรี
C. gloeosporioides	หอมหัวใหญ่	ใบ หัว	เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน
C. gloeosporioides,	หอมแดง	ใบ และ หัว	เชียงใหม่ เชียงราย ศรีสะเกษ บุรีรัมย์ อุบลราชธานี อุตรดิตถ์ ลำพูน แม่ฮ่องสอน
C. gloeosporioides	พริก	ลำต้น (แอนแทรคโนส) ผล (ผลเน่าแอนแทรคโนส)	กาญจนบุรี กรุงเทพฯ จันทบุรี ชุมพร เชียงใหม่ นครราชสีมา ปทุมธานี ระยอง ราชบุรี ตราด แพร่ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม สุราษฎร์ธานี อุบลราชธานี
Colletotrichum capsici	พริก	ใบ ผล (แอนแทรคโนส)	กาญจนบุรี พิจิตร แพร่ เพชรบูรณ์ อุตรดิตถ์

ตารางที่ 1 (ต่อ) ชนิดของเชื้อบนพืชอาศัยต่าง ๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – เดือนกันยายน 2556

เชื้อสาเหตุ	พืช	ส่วนของพืชที่เป็นโรค	สถานที่เก็บ
C. gloeosporioides	ชมพู่	ผล (แอนแทรคโนส)	กาญจนบุรี เพชรบูรณ์ อุตรดิตถ์ อุบลราชธานี
C. gloeosporioides	มังคุด	ผล (แอนแทรคโนส)	จันทบุรี
C. gloeosporioides	ไผ่กวนอิม	ใบ	พะเยา ปทุมธานี
C. gloeosporioides	หน่อไม้ฝรั่ง	ลำต้น	กาญจนบุรี
C. gloeosporioides	กระเทียม	ใบ	เชียงใหม่
C. musae	กล้วยไข่	ผล (แอนแทรคโนส)	กำแพงเพชร สุโขทัย
Colletotrichum sp.	เล็บครุฑ	ใบ (ใบจุด)	กรุงเทพฯ เชียงใหม่ เชียงราย
Colletotrichum sp.	ชะพลู	ใบ (ใบจุด)	จันทบุรี
Colletotrichum sp.	มะปราง	ใบ (ใบจุด)	นครนายก
Colletotrichum sp.	กล้วยไข่	ผล (แอนแทรคโนส)	กำแพงเพชร สุโขทัย
Colletotrichum sp.	ว่านเศรษฐี	ใบจุด	กรุงเทพฯ
Colletotrichum sp.	พริกไทย	.ใบ	กรุงเทพฯ

5. เก็บรักษาสายพันธุ์ราและตัวอย่างแห้ง

เก็บรักษาราที่แยกได้ไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาไว้ใน Culture Collection และเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์ โรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

6. การสกัด DNA จากเส้นใยของรา

จากการนำเส้นใยของรา *Colletotrichum* จำนวน 15 ไอโซเลท มาสกัด DNA โดยวิธีการที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Crous *et al*. (2000) เมื่อทำการตรวจสอบปริมาณ DNA ด้วยวิธีการ agarose gel electrophoresis พบว่าทุกไอโซเลทของราปรากฏแถบ DNA ชัดเจน โดยเปรียบเทียบกับแถบ DNA มาตรฐาน เก็บรักษา DNA ที่สกัดได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาเพิ่มปริมาณและศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเปรียบเทียบกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการสำรวจรวบรวมและเก็บตัวอย่างสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Colletotrichum* ได้ตัวอย่างโรคพืชทั้งหมด 111 ตัวอย่าง จากพืชอาศัยจำนวน 19 ชนิด จากการศึกษาจำแนกโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำแนกชนิดได้รา *Colletotrichum* จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Colletotrichum acutatum, C. capsici, C. circinans, C. falcatum, C. gloeosporioides*, *C. musae* และ unidentified species *Colletotrichum* spp. 7 ชนิด ซึ่งมีลักษณะของสปอร์คล้าย ๆ กัน ยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้แยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และพบว่า *C. musae* เจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร Oat

Meal agar รองลงมาได้แก่ Potato Dextrose Agar และ Czapek Dox Agar จากการศึกษาครั้งนี้ ได้เก็บเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาการจำแนกชนิดของเชื้อในระดับ species และสกัด DNA ของรา *Colletotrichum* จำนวน 15 ไอโซเลท เก็บรักษา DNA ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และจัดเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืชที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

นิพนธ์ วิสารทานนท์. 2535. โรคผลเน่าของมะม่วงและวิธีการควบคุมโรค. เคหการเกษตร. 16: 72-75’

Bailey, J.A. and M.J. Jeger. 1992. *Colletotrichum*: Biology, Pathology and Control. CAB International, Kew. 380P.

Sutton,B.C. 1980. The Coelomycetes Fungi Impefect with Pynidia Acervuli and Stromata. Commonwealth Agricultural Bureaux, England. 696 p.

Sutton,B.C. 1992. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotichum,* pp. 1-23. *In Colletotrichum*: Biology, Pathology and Control. Bailey, J.A. and M.J. Jeger (eds.) CAB International, Kew.

การจำแนกชนิดแบคทีเรียสาเหตุโรคใบไหม้และใบจุด ของกล้วยไม้สกุลมอคคาร่าและแวนด้า

Identification of Bacterial Causal Agent of Leaf Blight on Mokara and Vanda

ทิพวรรณ กันหาญาติ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ทัศนาพร ทัศคร
บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ รุ่งนภา ทองเครือ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจและเก็บตัวอย่างกล้วยไม้จากแหล่งปลูกที่มีการระบาดของโรคใบไหม้และใบจุดของกล้วยไม้สกุลมอคคาร่าและแวนด้า ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2555 – กันยายน 2556 ในจังหวัดนครปฐม สมุทรสาคร และกาญจนบุรี โดยเก็บตัวอย่างกล้วยไม้ที่มีลักษณะอาการเป็นจุดกลมสีน้ำตาลดำ รอบแผลเห็นวงสีเหลืองชัดเจน หากอาการรุนแรงแผลจุดหลายจุดขยายตัวลามมาชนกันเป็นแผลขนาดใหญ่ และกล้วยไม้ที่มีลักษณะอาการเป็นแผลฉ่ำน้ำตรงปลายใบต่อมาขยายใหญ่กลายเป็นแผลสีน้ำตาลไหม้ ในแปลงที่มีการระบาดของโรครุนแรงจะพบลักษณะอาการไหม้บนก้านช่อดอกและกลีบดอกกล้วยไม้ด้วย พบว่าเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคมีลักษณะโคโลนีกลม สีเหลือง สามารถทำให้เกิดโรคบนกล้วยไม้ทั้งสองสกุล การพิสูจน์โรคตามวิธีการของ Koch (Koch's postulation) สามารถแยกได้เชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีกลม สีเหลือง จากแผลที่ทำการปลูกเชื้อ ผลการศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีและฟิสิกส์ของเชื้อแบคทีเรีย พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน สามารถเคลื่อนที่ได้ เจริญได้ทั้งในสภาพที่มีอากาศและไม่มีอากาศ เจริญได้ในอาหารที่มีเกลือ 5% และ 7% สร้างเอนไซม์ catalase ได้ เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ tryptophanase ทำให้มี indole เกิดขึ้น สามารถย่อยเจลาตินและใช้ citrate เป็นแหล่งคาร์บอนได้ แต่เชื้อไม่สามารถเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตร์ทได้ จากการสืบค้นข้อมูลไม่พบรายงานเชื้อแบคทีเรียสาเหตุที่เป็น Facultative anaerobic ลักษณะโคโลนีกลม สีเหลือง ที่ทำให้เกิดโรคใบจุดและใบไหม้ของกล้วยไม้สกุลมอคคาร่าและแวนด้า หรือในกล้วยไม้อื่นๆ ทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศมาก่อน

รหัสโครงการ 03-04-54-04-01-02-14-56

คำนำ

สืบเนื่องจากในปี 2554 เกษตรกรผู้ปลูกกล้วยไม้สกุลมอคคาร่า และแวนด้าในเขตจังหวัดสมุทรสาคร นครปฐม และสมุทรสงคราม ประสบกับปัญหาการระบาดของโรคใบจุดของต้นกล้วยไม้ โดยมีลักษณะอาการเป็นจุดกลมสีน้ำตาลดำ รอบแผลเห็นวงสีเหลืองชัดเจน หากอาการรุนแรงแผลจุดหลายจุดขยายตัวลามมาชนกันเป็นแผลขนาดใหญ่ ทำให้ใบร่วงได้ นอกจากนี้ยังพบการระบาดของโรคใบไหม้ของกล้วยไม้ที่มีลักษณะอาการเป็นแผลฉ่ำน้ำตรงปลายใบต่อมาขยายใหญ่กลายเป็นแผลสีน้ำตาลไหม้ ในแปลงที่มีการระบาดของโรครุนแรงจะพบลักษณะอาการบนดอกกล้วยไม้ทำให้ทั้งใบและดอกร่วงไม่ได้คุณภาพ ซึ่งโรคทั้งสองชนิดพบว่าเป็นปัญหาที่สำคัญทำให้ต้นกล้วยไม้เสียหายอย่างมากและดอกกล้วยไม้ไม่ได้คุณภาพ ไม่สามารถส่งขายได้ แนวโน้มในการระบาดของโรคพบว่ามีการขยายพื้นที่ในการระบาดเพิ่มมากขึ้น จากการแยกเชื้อสาเหตุตามลักษณะอาการ พบเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีสีเหลือง การทดสอบเบื้องต้นเป็น Facultative anaerobic bacteria ซึ่งไม่ตรงกับลักษณะแบคทีเรียสาเหตุโรคของกล้วยไม้ที่เคยมีรายงานในประเทศไทย ดังนั้นในการป้องกันกำจัดโรคนี้ให้ได้ผลและมีประสิทธิภาพจึงจำเป็นต้องทราบชนิดที่ถูกต้องตลอดจนข้อมูลทางด้านชีววิทยา นิเวศวิทยา และการแพร่ระบาดของเชื้อ เพื่อจะได้เข้าใจเกี่ยวกับกลไกการเข้าทำลายของเชื้อได้ดียิ่งขึ้น การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อจำแนกชนิดแบคทีเรียสาเหตุอาการโรคใบไหม้และใบจุดของกล้วยไม้สกุลมอคคาร่าและแวนด้า เพื่อเป็นข้อมูลอ้างอิงแก่นักวิชาการในการทำวิจัยและแนะนำเกษตรกรในการป้องกันกำจัด รวมถึงเป็นข้อมูลสำหรับในการจัดทำข้อมูลศัตรูพืช (pest list)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย อุปกรณ์ที่ใช้ในการปลูกเชื้อ

2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven)

3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น

4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างกล้วยไม้

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างกล้วยไม้จากแหล่งปลูกที่มีการระบาดของอาการโรคใบไหม้และใบจุดของกล้วยไม้สกุลมอคคาร่าและแวนด้า ในแหล่งปลูกกล้วยไม้ที่สำคัญ เช่น จังหวัดนครปฐม สมุทรสาคร และกาญจนบุรี บันทึกข้อมูลลักษณะอาการของโรค ถ่ายภาพ และแหล่งที่พบ เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

2. การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชและเก็บเชื้อบริสุทธิ์

นำตัวอย่างกล้วยไม้มาแยกเชื้อจากส่วนที่มีอาการของโรค ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาด 4 ตร.มม. ระหว่างรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แต่ละชิ้นตัวอย่างนำมาล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70% นาน 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง หลังจาก surface sterilize นำมาบดในน้ำกลั่น และ streak บนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PSA (Potato semi synthetic agar) หลังจากนั้นบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เลือกเก็บโคโลนีและทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์โดย

วิธี streak plate หลายๆ ครั้ง เก็บเชื้อบริสุทธิ์ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ กลีเซอรอล 15% และ 50% ไว้ใช้ในการศึกษาต่อไป

3. ทดสอบการเกิดโรค (Pathogenicity test)

ทดสอบการเกิดโรคกับกล้วยไม้สกุลมอคคาร่าและแวนดา โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากกล้วยไม้บนอาหาร PSA บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาปรับระดับความเข้มข้นของเชื้อโดยใช้ค่าดูดกลืนแสง O.D.600 nm เท่ากับ 0.1 ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ให้มีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^8 CFU/ml ใช้เข็มทำแผลบนกล้วยไม้แล้วหยดเชื้อลงบนแผล 2 ไมโครลิตร คลุมให้ความชื้นกล้วยไม้ด้วยถุงพลาสติก และพิสูจน์โรคตามวิธีการของ Koch (Koch's postulation) คัดเลือกเชื้อที่สามารถทำให้เกิดโรคบนกล้วยไม้ได้มาจำแนกลักษณะสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคต่อไป

4. จำแนกลักษณะสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

4.1 ศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีและฟิสิกส์ของเชื้อแบคทีเรีย

ทำการศึกษาคุณสมบัติต่างๆ ทางชีวเคมีและฟิสิกส์ของเชื้อแบคทีเรียบางประการที่เหมาะสมและจำเป็นต่อการจำแนกเชื้อ โดยศึกษาตามวิธีการของ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition และ Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria Third Edition ได้แก่ การย้อมสีแบบแกรม การทดสอบด้วยสารละลายด่าง Motility test, Oxidative/Fermentation test, Salt tolerance, Catalase test, Indole test, Gelatin hydrolysis, Citrate utilization และ Nitrate reduction

เวลาและสถานที่

ต.ค. 55 – ก.ย. 56 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร และแปลงปลูกกล้วยไม้ของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างกล้วยไม้

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างกล้วยไม้จากแหล่งปลูกที่มีการระบาดของอาการโรคใบไหม้และใบจุดของกล้วยไม้สกุลมอคคาร่าและแวนด้า ในแหล่งปลูกกล้วยไม้จังหวัดนครปฐม สมุทรสาคร และกาญจนบุรี โดยเก็บตัวอย่างกล้วยไม้ที่มีลักษณะอาการเป็นจุดกลมสีน้ำตาลดำ รอบแผลเห็นวงสีเหลืองชัดเจน หากอาการรุนแรงแผลจุดหลายจุดขยายตัวลามมาชนกันเป็นแผลขนาดใหญ่ ทำให้ใบร่วงได้ นอกจากนี้ยังเก็บตัวอย่างโรคใบไหม้ของกล้วยไม้ที่มีลักษณะอาการเป็นแผลฉ่ำน้ำตรงปลายใบต่อมาขยายใหญ่กลายเป็นแผลสีน้ำตาลไหม้ ในแปลงที่มีการระบาดของโรครุนแรงจะพบลักษณะอาการไหม้บนก้านช่อดอกและกลีบดอกกล้วยไม้ด้วย ทำให้ทั้งใบและดอกร่วงได้ (รูปที่ 1)

2. การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชและเก็บเชื้อบริสุทธิ์

ผลการแยกเชื้อสาเหตุจากลักษณะอาการใบไหม้ ใบจุด และกลีบดอกไหม้ของกล้วยไม้สกุลมอคคาร่าและแวนด้า พบเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีกลม สีเหลือง (รูปที่ 2) การทดสอบคุณสมบัติของเชื้อเบื้องต้นพบว่า เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ สามารถเจริญได้ทั้งในสภาพที่มีอากาศและไม่มีอากาศ (Facultative anaerobic) ซึ่งไม่ตรงกับลักษณะแบคทีเรียสาเหตุโรคของกล้วยไม้ที่เคยมีรายงานทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศมาก่อน เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคในกล้วยไม้ที่มีรายงานในไทย โดย Chuenchitt *et al.* (1983) รายงานการตรวจพบเชื้อ *Pseudomonas gladioli*

สาเหตุอาการใบจุดของกล้วยไม้สกุลหวาย (Dendrobium) ในแปลงปลูกกล้วยไม้เขตหนองแขม นิยมรัฐ (2547) พบโรคเน่าเละ เกิดจากแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* โรคเน่า เกิดจากแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* (*Pseudomonas gladioli*) และ *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* (*Pseudomonas cattleyae*) และปิยรัตน์และคณะ (2552) ได้แยกเชื้อแบคทีเรียจากกล้วยไม้ลูกผสมแวนดาซึ่งมีอาการที่ใบเป็นแผลจุดกลมมีขอบสีเหลือง รอบแผลมีลักษณะช้ำฉ่ำน้ำ บางแผลขยายลุกลามติดกัน ทำให้เกิดอาการไหม้เป็นปื้น จำแนกเป็นเชื้อ *Erwinia chrysanthemi* จากรายงานดังกล่าวเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคของกล้วยไม้มีลักษณะโคโลนีกลม สีขาว และต้องการอากาศในเจริญเติบโต (Aerobic) ยกเว้นเชื้อ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* และเชื้อ *Erwinia chrysanthemi* ซึ่งมีลักษณะโคโลนีกลม สีขาว เช่นกันแต่เป็น Facultative anaerobic ซึ่งเป็นเชื้อในกลุ่มเดียวกันกับเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดและใบไหม้ของกล้วยไม้สกุลมอคคาร่าและแวนด้า

เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคในกล้วยไม้ที่มีรายงานในต่างประเทศและเป็น Facultative anaerobic มีรายงานการศึกษาของ Abdullah and Kadzimin (1993) พบเชื้อ *E. chrysanthemi* เป็นสาเหตุโรคเน่าเละกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนอปซิส ในประเทศมาเลเซีย Cating *et al.* (2008) รายงานพบการเกิดโรคเน่าเละ (bacterial soft rot) สาเหตุจากเชื้อ *Dickeya chrysanthemi* (*E. chrysanthemi*) บนกล้วยไม้ลูกผสมแวนดาในมลรัฐฟลอริดา ประเทศสหรัฐอเมริกาเป็นครั้งแรก และ Cating and Palmateer (2011) รายงานพบโรคเน่าเละ สาเหตุจากเชื้อ *Dickeya* sp. (*Pectobacterium chrysanthemi*) บนกล้วยไม้ออนซิเดียมในประเทศสหรัฐอเมริกาเป็นครั้งแรกเช่นกัน

3. ทดสอบการเกิดโรค (Pathogenicity test)

ผลการทดสอบการเกิดโรคกับกล้วยไม้สกุลมอคคาร่าและแวนด้า พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีกลม สีเหลือง สามารถทำให้เกิดโรคบนกล้วยไม้ได้ทั้งสองสกุล ลักษณะอาการหลังจากปลูกเชื้อ 3 วัน ใบกล้วยไม้เป็นจุดช้ำน้ำและขอบแผลเริ่มมีสีเหลืองอ่อน จากนั้นจุดขยายใหญ่ขึ้นขอบแผลเป็นสีเหลืองชัดเจน แผลที่ลามมาชนกันทำให้เหมือนอาการไหม้ และทำให้ใบร่วงจากต้นได้ การพิสูจน์โรคตามวิธีการของ Koch (Koch's postulation) สามารถแยกได้เชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีกลม สีเหลือง จากแผลที่ทำการปลูกเชื้อ ทำการคัดเลือกเชื้อที่สามารถทำให้เกิดโรคบนกล้วยไม้ได้มาจำแนกลักษณะสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคต่อไป

4. จำแนกลักษณะสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

4.1 ศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีและฟิสิกส์ของเชื้อแบคทีเรีย

ทำการศึกษาคุณสมบัติต่างๆ ทางชีวเคมีและฟิสิกส์ของเชื้อแบคทีเรียบางประการที่เหมาะสมและจำเป็นต่อการจำแนกเชื้อ โดยศึกษาตามวิธีการของ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition (Holt *et al*., 1994) และ Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria Third Edition (Schaad *et al*., 2001) พบว่าเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดและใบไหม้ของกล้วยไม้สกุลมอคคาร่าและแวนด้า มีลักษณะโคโลนีบนอาหาร PSA กลม สีเหลือง เมื่อย้อมสีแกรมและทดสอบด้วยสาร ละลาย 3% KOH พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน สามารถเคลื่อนที่ได้ เจริญได้ทั้งในสภาพที่มีอากาศและไม่มีอากาศ เจริญได้ในอาหารที่มีเกลือ 5% และ 7% สร้างเอนไซม์ catalase ได้ เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ tryptophanase ทำให้มี

indole เกิดขึ้น สามารถย่อยเจลาตินและใช้ citrate เป็นแหล่งคาร์บอนได้ แต่เชื้อไม่สามารถเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตร์ทได้

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสำรวจและเก็บตัวอย่างกล้วยไม้จากแหล่งปลูกที่มีการระบาดของอาการโรคใบไหม้และใบจุดของกล้วยไม้สกุลมอคคาร่าและแวนด้า ในจังหวัดนครปฐม สมุทรสาคร และกาญจนบุรี พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีกลม สีเหลือง สามารถทำให้เกิดโรคบนกล้วยไม้ทั้งสองสกุล การพิสูจน์โรคตามวิธีการของ Koch (Koch's postulation) สามารถแยกได้เชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีกลม สีเหลือง จากแผลที่ทำการปลูกเชื้อ

ผลการศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีและฟิสิกส์ของเชื้อแบคทีเรีย พบว่าเชื้อแบคทีเรียเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน สามารถเคลื่อนที่ได้ เจริญได้ทั้งในสภาพที่มีอากาศและไม่มีอากาศ เจริญได้ในอาหารที่มีเกลือ 5% และ 7% สร้างเอนไซม์ catalase ได้ เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ tryptophanase ทำให้มี indole เกิดขึ้น สามารถย่อยเจลาตินและใช้ citrate เป็นแหล่งคาร์บอนได้ แต่เชื้อไม่สามารถเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตร์ทได้

จากการสืบค้นข้อมูล ไม่พบรายงานเชื้อแบคทีเรียสาเหตุที่เป็น Facultative anaerobic ลักษณะโคโลนีกลม สีเหลือง ที่ทำให้เกิดโรคใบจุดและใบไหม้ของกล้วยไม้สกุลมอคคาร่าและแวนด้า หรือในกล้วยไม้อื่นๆ ทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศมาก่อน

เอกสารอ้างอิง

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. คู่มือโรคไม้ดอกไม้ประดับและการป้องกันกำจัด. กลุ่มวิจัยโรคพืชผักไม้ดอกและไม้ประดับ. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 50 หน้า.

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ศรีสุข พูนผลกุล และ จงวัฒนา พุ่มหิรัญ. 2552. การศึกษาโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากแบคทีเรีย. หน้า 1947-1967. ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2552. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

Abdullah, H. and S. Kadzimin. 1993. Etiology of Bacterial Soft Rot of Orchids. *Pertanika J. Trap. Agric. Sci.* 16: 1-4.

Cating, R.A. and A.J. Palmateer. 2011. Bacterial soft rot of Oncidium orchids caused by a *Dickeya* sp. (*Pectobacterium chrysanthemi*) in Florida. *Plant dis*. 95: 74.

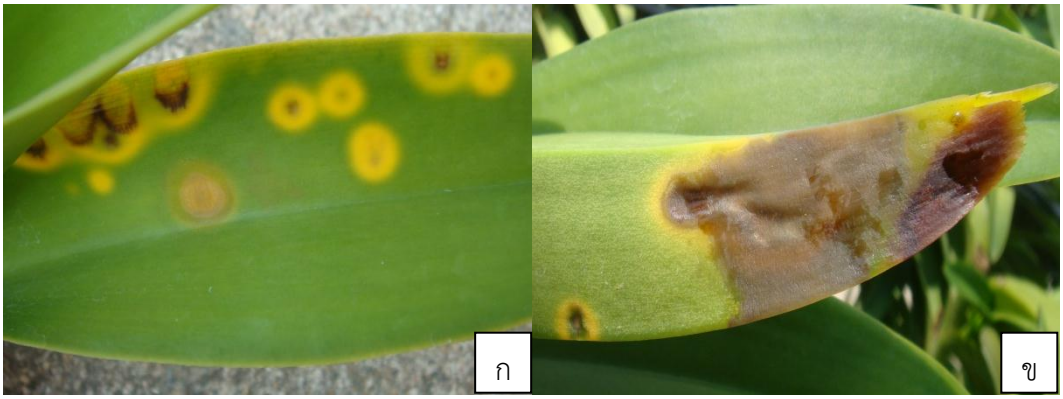
Cating, R.A., J.C. Hong, A.J. Palmateer, C.M. Stiles and E.R. Dickstein. 2008. First report of bacterial soft rot on vanda orchid caused by *Dickeya chrysanthemi* (*Erwinia chrysanthemi*) in the United States. *Plant dis.* 92: 977.

Chuenchitt, S., W. Dhirabhava, S. Karnjanarat, D. Buangsuwon and T. Uematsu. 1983. A new bacterial disease on orchids *Dendrobium* sp. caused by *Pseudomonas gladioli*. *Kasetsart J*. 17: 26-36.

Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley and S.T. Williams. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition. Williams and Wilkins, Baltimore, USA. 376 p.

Schaad, N.W., J.B. Jones and W. Chun. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. APS Press, Minnessota, USA. 373 p.

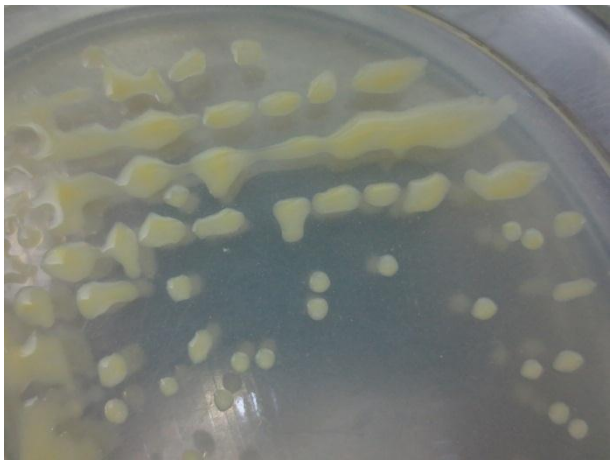
ภาคผนวก



รูปที่ 1 ลักษณะอาการ

ก. อาการใบจุดกลมสีน้ำตาลดำ รอบแผลเห็นวงสีเหลืองชัดเจน หากอาการรุนแรงแผลจุดหลายจุดขยายตัวลามมาชนกันเป็นแผลขนาดใหญ่

ข. อาการโรคใบไหม้ของกล้วยไม้ ปลายใบเป็นแผลฉ่ำน้ำต่อมาขยายใหญ่กลายเป็นแผลสีน้ำตาลไหม้



รูปที่ 2 ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุอาการใบจุดและใบไหม้ของกล้วยไม้บนอาหาร Potato semi synthetic agar (PSA)

การศึกษาการถ่ายทอดเชื้อ *Exserohilum turcicum* บนเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด

Study of corn seed born caused by *Exserohilum turcicum*

พีระวรรณ พัฒนวิภาส[1/] ศิวิไล ลาภบรรจบ[2/] สุริพัฒน์ ไทยเทศ[2/]

[1/] **กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

[2/] **ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน**

บทคัดย่อ

สำรวจและเก็บตัวอย่างข้าวโพดพืชที่มีลักษณะอาการใบไหม้และจุดแผลสีคล้ายฟ่างข้าวจากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทยตรวจลักษณะอาการของโรคในแปลงปลูก นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมาจำแนกเชื้อในห้องปฏิบัติการ ถ่ายรูปตัวอย่างโรคแล้วจัดทำ permanent slide เพื่อการวินิจฉัยโรค สามารถจำแนกเป็นเชื้อรา *Exserohilum turcicum* จำนวน 4 ไอโซเลท คือ อ. เมือง จ. กาญจนบุรี อ. แม่วาง จ. เชียงใหม่ อ. แม่สอด จ. ตาก แล อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา ปลูกข้าวโพดจำนวน 1 สายพันธุ์ สุ่มเก็บเมล็ดพันธุ์จากข้าวโพด นำมาศึกษาเชื้อในเมล็ดพันธุ์ โดยวิธีเพาะเมล็ดพันธุ์บนกระดาษซึ้น (Blotter method) ผลการทดลองพบว่าไม่พบเชื้อรา *Exserohilum turcicum* บนเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-15-56

คำนำ

โรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพดที่เกิดจากเชื้อรา *Exerohilum turcic*um และเป็นโรคหนึ่งที่ระบาดรุนแรงในหลายพื้นที่ โดยเฉพาะในเขตภาคตะวันตก และภาคเหนือ เช่น จ.กาญจนบุรี จ.เพชรบุรี จ.ราชบุรี และ จ.เชียงใหม่ โรคนี้พบได้ตลอดฤดูเพาะปลูก โดยเฉพาะในช่วงที่มีอุณหภูมิต่ำและความชื้นสูงโรคจะระบาดรุนแรงมาก (กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, 2545) นอกจากนี้ปัจจุบันยังพบการเกิดโรคเพิ่มขึ้นในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จากการจัดทำบัญชีรายชื่อโรคและเชื้อสาเหตุโรคของข้าวโพดเพื่อการนำเข้า ในปี 2547 พีระวรรณ และคณะ (2549) ได้ทำการสำรวจโรคในแหล่งปลูกข้าวโพดในเขตภาคกลาง ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 4 จังหวัด พบการระบาดของโรคใบไหม้แผลใหญ่ใน จ.นครราชสีมา จ.นครพนม และ จ.ตาก และในปี 2548 ได้ทำการสำรวจโรคในเขตภาคกลาง ภาคตะวันตก ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 4 จังหวัด พบการระบาดของโรคใน จ.สุโขทัย จ.ตาก และ จ.นครราชสีมา ในปีการผลิต 2549 พบว่า โรคใบไหม้แผลใหญ่มีการระบาดรุนแรงและทำความเสียหายต่อผลผลิตและคุณภาพข้าวโพดหวานในแหล่งผลิตที่สำคัญอย่างรุนแรง (สมาคมปรับปรุงพันธุ์พืชและขยายพันธุ์พืชแห่งประเทศไทย และคณะ, 2549) โรคใบไหม้แผลใหญ่มักเริ่มพบเมื่อข้าวโพดอายุประมาณ 45 วัน หรือก่อนข้าวโพดออกดอก อาการเริ่มแรกพบแผลขนาดเล็กสีคล้ายฟ่างข้าวบนใบข้าวโพดต่อมาแผลจะขยายมีขนาดใหญ่ยาวตามใบข้าวโพด เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมจะพบอาการแผลบนใบข้าวโพดหลายแผลต่อใบและแผลขยายรวมกันมากๆ ทำให้ใบข้าวโพดแห้งตาย สามารถพบอาการของแผลได้บนกาบฝัก ข้าวโพดที่เป็นโรครุนแรงโดยเฉพาะเมื่อพบอาการบนกาบฝักจะทำให้ฝักไม่สมบูรณ์ (ชุติมันต์ และเตือนใจ, 2545; พีระวรรณและคณะ, 2549) ทำให้มีผลต่อการผลิตข้าวโพดซึ่งจะมีผลต่อเนื่องถึงอุตสาหกรรมอื่นๆเช่น การเลี้ยงสัตว์

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างโรคพืช ได้แก่ กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ถุงพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์ ปากกาเคมี หนังยาง
2. สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ แอธิลแอลกอฮอล์ 75%
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA), water agar (WA)
4. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ขวดดูแรน บีกเกอร์ กระบอกตวง ใบมีดผ่าตัด เข็มเขี่ยปลายแหลม สไลด์ cover slip
5. ตู้ปลอดเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบความร้อน เครื่องชั่ง
6. กล้องจุลทรรศน์

วิธีการ

1. การแยกเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่

เก็บใบข้าวโพดที่เป็นโรค นำมาแยกเชื้อด้วยวิธี Tissue Transplanting โดยตัดใบที่เป็นแผลเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาดเล็ก ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอร็อก 10 เปอร์เซ็นต์แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นจึงวางบนอาหารพีดีเอ (potato dextrose agar; PDA) นำไปบ่มไว้ในอุณหภูมิ

25-30 องศาเซลเซียส หลังจากที่มีเชื้อเจริญออกมาจากขอบแผล ตรวจสอบลักษณะของเชื้อที่แยกได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ย้ายเชื้อเก็บรักษาในหลอดอาหารเพื่อเป็น stock culture

2. การเพิ่มปริมาณเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่

นำเมล็ดของข้าวฟ่าง มาแช่น้ำนาน 18 ชั่วโมง เปลี่ยนน้ำที่แช่เมล็ด 3-4 ครั้ง เพื่อให้เมล็ดสะอาดหลังจากนั้นนำมาผึ่งให้สะเด็ดน้ำแล้วบรรจุเมล็ดข้าวฟ่างลงในถุงพลาสติกทนความร้อนปริมาณ 2 ใน 3 ของภาชนะ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 45 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วจึงนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำอีกครั้งในวันถัดมา เขี่ยชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อเจริญอยู่ลงไปในถุงข้าวฟ่างที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เมื่อเริ่มมีการเจริญของเส้นใยบนเมล็ดข้าวฟ่าง เขย่าถุงเพื่อให้เชื้อกระจาย ไม่เกาะเป็นก้อนแข็ง บ่มไว้เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเชื้อเจริญอยู่ออกมาผึ่งในที่ร่มให้ความชื้นลดลง นำเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเชื้อเจริญอยู่มาบุบให้แตกเพื่อให้มีขนาดเล็กลงและมีความสม่ำเสมอ นำไปปลูกเชื้อให้กับต้นข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลอง

3 การเตรียมแถวแพร่เชื้อ

ปลูกข้าวโพดพันธุ์อ่อนแอ ไฮบริกซ์ 3 เป็นแถวสำหรับแพร่เชื้อ (spreader row) รอบนอกพื้นที่ทดลองในลักษณะตาราง โดยมีระยะระหว่างแถว 75 เซนติเมตร ระยะระหว่างต้น 20 เซนติเมตร จำนวน 2 เมล็ดต่อหลุม จากนั้นจึงถอนแยกให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุม

4 การปลูกเชื้อ

หลังจากที่ข้าวโพดในแถวแพร่เชื้องอกได้ 2 สัปดาห์ ปลูกเชื้อโดยการหยอดเมล็ดข้าวฟ่างที่มีสปอร์ของเชื้อลงในใบยอดของข้าวโพด แล้วพ่นน้ำตาม

- เมื่อข้าวโพดในแถวแพร่เชื้ออายุได้ 4 สัปดาห์ ปลูกข้าวโพดทดสอบลงในแปลงที่เตรียมไว้

5. การประเมินระดับความรุนแรงโรคใบไหม้แผลใหญ่

เมื่อข้าวโพดเริ่มแสดงอาการของโรคใบไหม้แผลใหญ่(ข้าวโพดอายุ ประมาณ 45 วัน ประเมินโรคโดยให้ระดับความรุนแรง 1-5 ตามพื้นที่ใบที่ปรากฏแผล โดยสุ่มต้นข้าวโพดจำนวน 10 ต้น จาก 2 แถวกลาง ดังนี้

ระดับ 1 = ไม่เกิดแผล
'' 2 = เกิดแผล ตั้งแต่ 1 - 25 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบ
'' 3 = เกิดแผล ตั้งแต่ 26 - 50 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบ
'' 4 = เกิดแผล ตั้งแต่ 51 – 75 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบ
'' 5 = เกิดแผล ทุกใบ ตั้งแต่ 76 - 100 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ ใบไหม้ ต้นแห้งตาย

6 การศึกษาการถ่ายทอดเชื้อ *E. turcicum* บนเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด

สุ่มเก็บเมล็ดพันธุ์จากข้าวโพดโดยวิธีการสุ่มเป็นไปตามกฎมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association) นำมาทดสอบมาศึกษาเชื้อในเมล็ดพันธุ์ ดังนี้

1. วิธีเพาะเมล็ดพันธุ์บนกระดาษชื้น (Blotter method) โดยวางเมล็ดพันธุ์ลงบนกระดาษกรอง No.1 1 แผ่น (หรือกระดาษเพาะ 2 แผ่น)

2. ซ้อนอยู่บนกระดาษฟาง 3 แผ่น ที่ชุ่มน้ำซึ่งวางอยู่ในจานแก้วเลี้ยงเชื้อแล้วนำไปบ่มในตู้เพาะที่อุณหภูมิ 280 ซ ภายใต้แสง NUV (near ultra violet) ตรวจดูเชื้อราภายใต้กล้องสเตอริโอ

7. เก็บข้อมูล วิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้วิธีทางสถิติที่เหมาะสม รายงานผลการทดลอง

ระยะเวลา

ตุลาคม 2555 – กันยายน 2556

สถานที่ดำเนินการ

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

แปลงปลูกพืชของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การแยกเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่

เก็บตัวอย่างข้าวโพดที่มีลักษณะอาการแผลสีคล้ายฟ่างข้าวบนใบข้าวโพดจากจังหวัดเชียงใหม่นำมาศึกษาบันทึกลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อบริสุทธิ์ ด้วยวิธี tissues transplanting method โดยตัดชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคขนาด 3 x 5 ซม. ฆ่าเชื้อภายนอกด้วยคลอร็อกซ์ 10 % เป็นเวลา 2 – 4 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้ออีก 2 ครั้งวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในสภาพปลอดเชื้อบ่มเชื้อไว้นาน 2 - 3 วัน ทำ hyphal tip isolation นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้เลี้ยงบนอาการเลี้ยงเชื้อ PDA ศึกษารูปร่าง และการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เขี่ยเชื้อทำสไลด์ตรวจดูลักษณะรูปร่างด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าสามารถแยกได้เชื้อ *E. turcicum* ต่อจากนั้นพิสูจน์โรคโดยวิธีของ Koch (Kock ‘ s postulate) โดยนำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้มาปลูกบนต้นข้าวโพดแล้วแยกเชื้อซ้ำอีกครั้ง พบว่าเชื้อที่เจริญบนอาหารเหมือนเดิม คือเชื้อ *E. turcic*um

2. การศึกษาการถ่ายทอดเชื้อ *E. turcicum* บนเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด

ปลูกข้าวโพดพันธุ์อ่อนแอ ไฮบริกซ์ 3 เป็นแถวสำหรับแพร่เชื้อ (spreader row) รอบนอกพื้นที่ทดลองในลักษณะตาราง โดยมีระยะระหว่างแถว 75 เซนติเมตร ระยะระหว่างต้น 20 เซนติเมตร จำนวน 2 เมล็ดต่อหลุม จากนั้นจึงถอนแยกให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุม ปลูกเชื้อโดยการหยอดเมล็ดข้าวฟ่างที่มีสปอร์ของเชื้อลงในใบยอดของข้าวโพด ปลูกข้าวโพดทดสอบภายใน สุ่มเก็บเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด นำมาศึกษาโดยวิธีเพาะเมล็ดพันธุ์บนกระดาษชื้น (Blotter method) ตรวจดูเชื้อราภายใต้กล้องสเตอริโอผลการทดลองพบว่าไม่พบเชื้อรา *Exserohilum turcicum* บนเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาการถ่ายทอดเชื้อ *Exserohilum turcicum* บนเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด โดยได้สำรวจและเก็บตัวอย่างข้าวโพดพืชที่มีลักษณะอาการใบไหม้และจุดแผลสีคล้ายฟ่างข้าวจากแหล่งปลูกข้าวโพดที่สำคัญในประเทศไทยตรวจลักษณะอาการของโรคในแปลงปลูก นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมาจำแนกเชื้อในห้องปฏิบัติการ ถ่ายรูปตัวอย่างโรคแล้วจัดทำ permanent slide เพื่อการวินิจฉัยโรค สามารถจำแนกเป็นเชื้อรา *Exserohilum turcicum* จำนวน 4 ไอโซเลท คือ อ. เมือง จ. กาญจนบุรี อ. แม่วาง จ. เชียงใหม่ อ. แม่สอด จ. ตาก แล อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา

ปลูกข้าวโพดจำนวน 1 สายพันธุ์ สุ่มเก็บเมล็ดพันธุ์จากข้าวโพด นำมาศึกษาเชื้อในเมล็ดพันธุ์ โดยวิธีเพาะเมล็ดพันธุ์บนกระดาษชื้น (Blotter method) ผลการทดลองพบว่าไม่พบเชื้อรา *Exserohilum turcicum* บนเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด

เอกสารอ้างอิง

กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. 2545. คู่มือโรคพืชไร่. เอกสารวิชาการกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 105 หน้า.

ชุติมันต์ พานิชศักดิ์พัฒนา และเตือนใจ บุญ-หลง. 2545. โรคข้าวโพดและการป้องกันกำจัด. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.69 หน้า.

พีระวรรณ พัฒนวิภาส อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ วันเพ็ญ ศรีทองชัย และณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2549. การจัดทำบัญชีรายชื่อโรคและเชื้อสาเหตุโรคของข้าวโพดเพื่อการนำเข้า. *ใน* : เอกสารประกอบการประชุมเชิงปฏิบัติการโครงการวิจัยแม่บทข้าวโพดข้าวฟ่างมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 2. วันที่ 9-11 มีนาคม 2549. ณ สีดารีสอร์ท อ.เมือง จ.นครนายก.

สมาคมปรับปรุงพันธุ์พืชและขยายพันธุ์พืชแห่งประเทศไทย ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท และสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5. 2549. การสัมมนาเชิงปฏิบัติการ ระบบการส่งเสริมและวิเคราะห์ปัญหาในการผลิตข้าวโพดหวานเพื่ออุตสาหกรรม. วันที่ 1-3 มีนาคม 2549. ณ โรงแรมมนตรี จ.ชัยนาท.

Tzeng, T.F., L.K. Lyngholm, C.F. Ford and C.R. Bronson. 1992. A RFLP maps and electrophoretic karyotype of the fungal maize pathogen *Cochliobolus heterostrophus*. Genetics 130: 81-92.

พีระวรรณ พัฒนวิภาส. 2546. โรคกาบและใบไหม้ข้าวโพดที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* . หน้า 260-263. ใน : รายงานการประชุมวิชาการข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ ครั้งที่ 31. 11-15 พฤษภาคม 2546. ณ โรงแรมโรสการ์เดนท์ เอไพรม รีสอร์ท อ. สามพราน จ. นครปฐม.

การจำแนกชนิดของราสกุล *Phyllosticta* สาเหตุโรคพืช โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรม

Identification of *Phyllosticta* Plant Pathogenic Fungi Using Morphological and Molecular Characteristics

พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และ ชนินทร ดวงสอาด
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Phyllosticta* ได้ตัวอย่างโรคพืชทั้งหมด 4 ตัวอย่าง จากพืชอาศัยจำนวน 3 ชนิด ในจังหวัดฉะเชิงเทรา เชียงราย นครปฐม และนครราชสีมา นำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยการศึกษาราจากเนื้อเยื่อพืชโดยตรง การทำ moist chamber แยกราจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค ได้ทั้งหมด 21 ไอโซเลท และศึกษาจำแนกชนิดเชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจากการศึกษาจำแนกได้รา *Phyllosticta* จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Phyllosticta mangiferae* แยกได้จากอาการใบจุดของมะม่วง จังหวัดฉะเชิงเทรา จำนวน 1 ไอโซเลท *P. punica* แยกได้จากอาการใบจุดของทับทิม จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 1 ไอโซเลท แยกได้จากอาการจุดดำบนผลส้มโอ จากอำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย ได้จำนวน 16 ไอโซเลท จากอำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม จำนวน 3 ไอโซเลท จำแนกชนิดเป็น *Phyllosticta* sp. และจัดเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืชที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-16-56

คำนำ

ราสกุล *Phyllosticta* Pers จัดอยู่ใน มี Class Coelomycetes มีรา *Guignardia* Viala & Ravaz อยู่ใน Class Ascomycetes, Order Sphaeropsidales, Family Mycosphaerellaceae เป็น Teleomorph state ส่วนใหญ่ราสกุลนี้เจริญอยู่บนใบพืชทำให้เกิดโรคใบจุดกับพืชหลายชนิด โดยราสร้าง pycnidia บนใบพืชและที่ผล conidia มี 1 เซลล์ นอกจากอยู่บนใบพืชแล้วรายังเจริญอยู่บนกิ่งลำต้น ของพืชด้วย และที่สำคัญรานี้เป็นสาเหตุของโรคจุดดำหรือ Citrus Black Spot ของพืชตระกูลส้มสาเหตุเกิดจาก *Guignardia citricarpa* (anamorphic state: *Phyllosticta citricarpa*) (Kiely, 1949; Sutton and Waterston, 1966) โรค Black rot ขององุ่น สาเหตุเกิดจาก *Guignardia bidwelli* (anamorphic state: *Phyllosticta ampelicida*) (Sivanesan and Holliday, 1981) โรคใบจุดของกล้วยสาเหตุเกิดจาก *Guignardia musae* (anamorphic state: *Phyllosticta musarumi*) (Punithalingam and Holliday, 1975) โรคผลเน่าของฝรั่ง สาเหตุเกิดจาก *Guignardia psidii* (anamorphic state: *Phyllosticta psidiicola*) (Gonzlez and Rondn, 2005) เป็นต้น

Guignardia citricarpa สาเหตุโรค Black spot ของพืชตระกูลส้ม เป็นเชื้อสำคัญในการกักกันพืช ของประเทศในเขตยุโรป และอเมริกา ซึ่งห้ามนำเข้าผลไม้ที่มีอาการของโรค Black spot โดยเด็ดขาด (Baayen *et al*., 2002) ปัญหาอีกประการหนึ่งของการตรวจพืชกักกันเพื่อการนำเข้าและส่งออก ลักษณะของแผลมีลักษณะหลายชนิด เช่น hard spot lesions แผลบุ๋มลงไป ไม่ลึก เป็นจุดเล็ก ๆ ตรงกลางมีสีเทาถึงสีแทน ขอบแผลมีสีน้ำตาลดำ ขนาดแผลมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3-10 มิลลิเมตร มักแสดงอาการเมื่อผลส้มใกล้เปลี่ยนสีเป็นสีส้มหรือเหลือง ปกติมักพบ pycnidia เล็ก ๆ บนแผล ภายในสร้าง conia ของรา *Phyllosticta citricarpa* เป็น anamorph stage (Sutton and Waterson, 1966; Van der Aa, 1973) ซึ่งสามารถมองเห็น pycnidia ด้วยตาเปล่าและสามารถตรวจสอบได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ลักษณะแผล hard spot lesions ที่รุนแรงมากแผลจากจุดเล็ก ๆ จะมารวมตัวกัน ขยายใหญ่ขึ้น และมักพบ pycnidia บนแผลมากมาย อาการอีกชนิดหนึ่งคือ freckle spot หรือเรียกว่า false melanose แผลจุด เล็ก ขนาดแผลมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-3 มิลลิเมตร แผลบุ๋มลงไป ไม่ลึก เป็นจุดเล็ก ๆ ตรงกลางมีสีเทา แทน น้ำตาลแดง บริเวณรอบแผลลักษณะนี้ก็มักพบแผล hard spot lesions กระจายอยู่ แต่อย่างไรก็ตามอาการทั้งสองนี้ไม่แตกต่างกันมาก และมีลักษณะคล้ายกับอาการของโรคอื่นๆ ซึ่งแยกความแตกต่างโดยใช้สายตาได้ยาก เช่น อาการของ false melanose โรค melanose (เกิดจาก *Diaporthe citri*) โรค greasy spot (เกิดจาก *Mycosphaerell citri*) และแผลที่เกิดจาก *Phyllosticta* spp. (Kotzé, 2000) ในปัจจุบันประเทศ EU ตรวจสอบราสาเหตุโรค black spot โดยการนำแผลที่ไม่พบการสร้าง pycnidia ของเชื้อไปบ่มเชื้อเป็นเวลา 5 วัน เชื้อจะสร้าง pycnidia ขึ้นมา หลังจากนั้นต้องนำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อศึกษาลักษณะของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อและลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพื่อจำแนกความแตกต่างของรา *G. citricarpa* (pathogenic) และ *G. mangiferae* (non pathogenic) เชื้อทั้งสองมีลักษณะทางสัณฐาน คล้ายกันมากจึงมักทำให้การจัดจำแนกชนิดผิด (Glienke-Blanco *et al*., 2002; Baayen *et al*, 2002) เชื้อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อช้า โดยใช้เวลา 14 วัน จึงจะสร้าง mature pycnidia ดังนั้นวิธีนี้ จึงไม่สะดวกในการตรวจพืชนำเข้า และส่งออกด้วยวิธีนี้ ในปัจจุบันมีการพัฒนาการตรวจสอบเชื้อสาเหตุโรค black spot โดยใช้การใช้เทคนิค PCR (Polymerase Chain

Reaction) ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาอณูชีววิทยา (molecule biology) ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพและความไว รวดเร็วและแม่นยำ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ กระดาษ ถุงพลาสติค ปากกาเคมี ดินสอ กรรไกรตัดกิ่ง และ GPS

2. อุปกรณ์จัดเก็บตัวอย่างแห้ง ได้แก่ แผ่นไม้อัดทับตัวอย่าง กระดาษ

3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ slide cover slip ปากคีบ เข็มเขี่ยปลายแหลม ใบมีดโกน ตะเกียง ยาทาเล็บ

4. สารเคมีสำหรับ mount slide ได้แก่ lactophenol , lactic acid, shear's sulution

5. สารเคมีได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ : สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ แอธิลแอลกอฮอล์ 75%

6 อาหารวุ้นสังเคราะห์ corn meal agar (CMA), potato dextrose agar (PDA)

7. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ขวดดูแรน บีกเกอร์ เป็นต้น

8. วัสดุอุปกรณ์อื่นๆ ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อเครื่องแก้ว เป็นต้น

9. กล้องจุลทรรศน์ compound microscope และ stereo microscope พร้อมกล้องถ่ายรูปและ camera lucida สำหรับวาดภาพราจากกล้องจุลทรรศน์

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคพืช

เก็บตัวอย่างโรคพืช ได้แก่ ใบ ดอก ผล กิ่ง ลำต้น และราก จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ห่อด้วยกระดาษ ใส่ถุงพลาสติก และบันทึกรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ ผู้เก็บ และแบ่งตัวอย่างโรคพืชมาอัดทับตัวอย่างแห้ง จัดเก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร

2. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

- ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช

ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 5-10 วัน เมื่อพบเชื้อราสร้างเส้นใยหรือ conidium ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อรามาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ และตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound ถ่ายรูปลักษณะเชื้อและบันทึกลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อ

- แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplant

นำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซับบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร ½Potato Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar, Malt Extract Agar, Corn Meal Agar หรือ

water agar บ่มที่อุณหภูมิ 32±2 องศาเซลเซียส นาน 3-7 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ และเลี้ยงบนอาหาร PDA

3. ศึกษาลักษณะของเชื้อบนอาหารชนิดต่าง ๆ

นำรา *Phyllosticta* ที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร ½Potato Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar, Malt Extract Agar, Corn Meal Agar, Oat meal agar หรือ water agar โดยบันทึกลักษณะต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

บันทึกอัตราการเจริญของเชื้อราบนอาหารชนิดต่าง ๆ ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บันทึกสีของโคโลนีด้านบนและด้านล่างอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งการสร้างเม็ดสี (pigment)

4. การจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืช

- ศึกษารูปร่างลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจดูลักษณะเส้นใย conidiophore และสปอร์ และศึกษาลักษณะของสปอร์และโครงสร้างอื่น ๆ ของเชื้อรา โดยการ mount slide ด้วยน้ำหรือ shear's solution
- ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี ลักษณะของสปอร์ conidiophore สี ขนาด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound บันทึกขนาด รูปร่าง วาดภาพ และบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ และถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (Scanning Electron Microscope)

5. เก็บรักษาสายพันธุ์ราและตัวอย่างแห้ง

เก็บรักษาราที่แยกได้ไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาไว้ใน Culture Collection และเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์ โรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

6. การพิสูจน์การเกิดโรค

ทำการพิสูจน์การเกิดโรค โดยทำการปลูกเชื้อส่วนของพืช โดยทำแผลและไม่ทำแผล อย่างละ 10 ซ้ำ เปรียบเทียบกับการเกิดโรคบนส่วนที่ไม่ปลูกเชื้อด้วยวิธีเดียวกัน แยกเชื้อสาเหตุจากต้นที่แสดงอาการโรค เปรียบเทียบชนิดของราสาเหตุโรคใช้ในการปลูกเชื้อ

การเตรียม DNA จากเส้นใยของรา

7. การเตรียมเส้นใยขอรา

เลี้ยงรา *Phyllosticta* บนอาหาร MEA (Malt extract agar) นาน 7-10 วัน หลังจาก
นั้นใช้เข็มเขี่ยเอาเส้นใยของรามาเลี้ยงในอาหารเหลว PDB (Potato dextrose broth) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใน flask 250 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 7 วัน หลังจากนั้นนำราในอาหารเหลวมากรองด้วยกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อ และทำให้แห้งด้วยการดูดอากาศออกด้วยเครื่องดูดสัญญากาศ เก็บเส้นใยราที่แห้งด้วยหลอดและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาสกัด DNA

8. การสกัด DNA จากรา

นำรา *Phyllosticta* อย่างน้อย 5 genera 5 species อย่างละ 5 isolates ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มาสกัด DNA โดยใช้วิธีของ Crous และคณะ (2000)

9. การเพิ่มปริมาณยีน Internal Transcribed Spacer โดยใช้เทคนิค PCR

นำ DNA ของราที่แยกได้ในข้อ 13.2.3 มาทำ PCR โดยใช้ไพร์เมอร์ ITS1

(5’TTTCCGTAGGTGAACCTGC3’) และ ITS4 (5’TCCTCCGCTTATTGATATGC)

- สังเคราะห์คู่ primer ITS1 และ ITS4 เพื่อทำการเพิ่มปริมาณของ rDNA ในช่วง ITS1-5.8S rDNA-ITS2-26SrDNA

- นำ DNA ของราทั้งหมดในข้อ 13.2.3 มาเพิ่มปริมาณของ rDNA ในช่วง ITS1-5.8S rDNA-ITS2-26SrDNA โดยใช้คู่ไพร์เมอร์ ITS1 และ ITS4 ด้วยวิธี PCR ประกอบด้วยส่วนผสมดังนี้

10X PCR buffer	6 ไมโครลิตร
25 mM $MgCl_2$	3 ไมโครลิตร
10 mM dNTP	1 ไมโครลิตร
ไพร์เมอร์ ITS1 (50 พิโคโมล / ไมโครลิตร)	1 ไมโครลิตร
ไพร์เมอร์ ITS4 (50 พิโคโมล / ไมโครลิตร)	1 ไมโครลิตร
Taq DNA Polymerase (5 ยูนิต / ไมโครลิตร)	0.25 ไมโครลิตร
น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	28.75 ไมโครลิตร
สารละลาย DNA (50 นาโนกรัม / ไมโครลิตร)	10 ไมโครลิตร
รวมปริมาตร	50 ไมโครลิตร

- ส่วนของ β-tubulin นั้นเพิ่มปริมาณโดยใช้คู่ไพร์เมอร์ Bt2a และ Bt2b

นำส่วนผสมทั้งหมดผสมตามสัดส่วนลงในหลอด PCR ขนาด 0.2 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำหลอด PCR เข้าเครื่องเพิ่มปริมาณ DNA โดยมีรอบการทำปฏิกิริยา (Slippers *et al.*, 2004) ดังนี้

94 องศาเซลเซียส	5 นาที		1 รอบ
94 องศาเซลเซียส	1 นาที	50 วินาที	30 รอบ
52 องศาเซลเซียส	2 นาที		
72 องศาเซลเซียส	1 นาที		
72 องศาเซลเซียส	5 นาที		1 รอบ
4 องศาเซลเซียส	hold		

13.2.4 <u>การวิเคราะห์หาลำดับเบสของยีน ITS1-5.8SrDNA-ITS2-26SrDNA</u>

นำผลผลิตที่ได้จากข้อ 13.2.3 มาตรวจวิเคราะห์ผลด้วย electrophoresis บน 1% agarose gel ใน 0.5XTBE buffer โดยตัดแถบ DNA ที่เป็นยีนเป้าหมาย ภายใต้ UV transilluminator โดยใช้วิธีของ Slippers และคณะ (2004)

13.2.6 <u>การเปรียบเทียบลำดับเบสของยีนที่นำมาศึกษาทั้งหมด</u>

การเปรียบเทียบลำดับเบสของยีนที่นำมาศึกษาทั้งหมดไปวิเคราะห์เปรียบเทียบกับฐานข้อมูลที่มีรายงานอยู่ใน GenBank ในช่วงลำดับเบส 15 ITS rDNA และ 15 β-tubulin ซึ่งเป็นรา ในกลุ่ม *Colletotrichum* โดยนำมาเปรียบเทียบวิเคราะห์ความสัมพันธ์และการวิวัฒนาการด้วย PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony) version 4.0b8 โดย Swofford (2000)

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น – สิ้นสุด
ตุลาคม 2555 – กันยายน 2558

สถานที่ - แหล่งพืชธรรมชาติ
- แปลงปลูกพืชของเกษตรกร
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคพืช

เก็บตัวอย่างสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Phyllosticta* ได้ตัวอย่างโรคพืชทั้งหมด 4 ตัวอย่าง จากพืชอาศัยจำนวน 3 ชนิด ในจังหวัดฉะเชิงเทรา เชียงราย นครปฐม และนครราชสีมา ตัวอย่างโรคพืชที่รวบรวมได้ทั้งหมดนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยการศึกษาราจากเนื้อเยื่อพืชโดยตรง การทำ moist chamber และโดยวิธีการแยกราจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค เก็บตัวอย่างโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

จากการแยกตัวอย่างโรคพืชทั้งหมด 4 ตัวอย่าง จากพืชอาศัยจำนวน 3 ชนิด ในจังหวัดฉะเชิงเทรา เชียงราย นครปฐม และนครราชสีมา ได้ราทั้งหมด 21 ไอโซเลท

3. การจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืช

จากการศึกษารูปร่างลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจดูลักษณะเส้นใย conidiophore และสปอร์ และศึกษาลักษณะของสปอร์และโครงสร้างอื่น ๆ ของเชื้อรา และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี ลักษณะของสปอร์ conidiophore สี ขนาด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound จำแนกชนิดเชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา จากการศึกษาจำแนกได้รา *Phyllosticta* จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Phyllosticta mangiferae* แยกได้จากอาการใบจุดของมะม่วง จังหวัดฉะเชิงเทรา จำนวน 1 ไอโซเลท *P. punica* แยกได้จากอาการใบจุดของทับทิม จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 1 ไอโซเลท แยกได้จากอาการจุดดำบนผลส้มโอ จากอำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย ได้จำนวน 16 ไอโซเลท จากอำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม จำนวน 3 ไอโซเลท จำแนกชนิดเป็น *Phyllosticta* sp. (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ชนิดของเชื้อ บนพืชอาศัยต่าง ๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2555 – เดือนกันยายน 2556

พืช	เชื้อสาเหตุ	สถานที่
ผลส้มโอ	*Phyllocticta* 3 ไอโซเลท	อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม
	Phyllocticta 16 ไอโซเลท	อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย
มะม่วง	*Phyllocticta mangiferae*	อำเภอแปลงยาว จังหวัดฉะเชิงเทรา
ทับทิม	*Phyllosticta punica*	อำเภอกลางดง จังหวัดนครราชสีมา

4. เก็บรักษาสายพันธุ์ราและตัวอย่างแห้ง

เก็บรักษาราที่แยกได้ไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาไว้ใน Culture Collection และเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์ โรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เก็บตัวอย่างสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Phyllosticta* ได้ตัวอย่างโรคพืชทั้งหมด 4 ตัวอย่าง จากพืชอาศัยจำนวน 3 ชนิด แยกราจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค ได้ทั้งหมด 21 ไอโซเลท และศึกษาจำแนกชนิดเชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา จากการศึกษาจำแนกได้รา *Phyllosticta* จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Phyllosticta mangiferae* แยกได้จากอาการใบจุดของมะม่วง จังหวัดฉะเชิงเทรา จำนวน 1 ไอโซเลท *P. punica* แยกได้จากอาการใบจุดของทับทิม จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 1 ไอโซเลท แยกได้จากอาการจุดดำบนผลส้มโอ จากอำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย ได้จำนวน 16 ไอโซเลท จากอำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม จำนวน 3 ไอโซเลท จำแนกชนิดเป็น *Phyllosticta* sp. และจัดเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืชที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

Baayen, R. ,P., Bonants, P. J. M., Verkley, G., Carroll, G. C., Van der Aa, H. A., Weerdt, M., van Brouweeershaven, I. R., Schutte, G. C., Maccheroni, W.,Jr., Glienke de Blanco, C., and Azevedo, J. L. 2002. Nonpathogenic isolates of the citrus black spot fungus, *Guignardia citricarpa*, identified as a cosmopolitant endophyte bof woody plants, G. *mangifera* (*Phyllosticta* capitalensis). Phytopathology 92:264-477

Glienke-Blanco, C., Carlos Ivan Aguilar-Vidoso, Maria LÚcia Carneiro Vieira, Paulo Augusto Vianna Barroso and João LÚcio Azevedo. 2002. Genetic variability in the endophytic fungus *Guignardia citricarpa* isolated from citrus plants. Genetics and Molecular Biology, 25 (2): 251-255.

Gonzlez, M. S. and Rondn. 2005. First Report of *Guignardia psidii*, an Ascigerous State of *Phyllosticta psidiicola*, Causing Fruit Rot on Guava in Venezuela. Plant Dis. 89:773

Kiely, T.B. 1949. Black spot of citrus in New South Wales coastal orchards. Agricultural Gazette of New South Wales 60: 17-20.

Kotzé, J., M., 2000. Black spot. Pages 23-25 in : Compendium of Citrus Diseases 2nd ed. L.W.Timmer, S. M. Garnsey, and J. H. Graham, eds. The American Phytopathological Society, St. Paul,MN.

Sivanesan, A and P. Holliday. 1981. *Guignardia bidwelli*. No. 710 *In*: CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. Commonwealth Mycological Institue. Ferry Lane, Kew, Surrey, U.K.

Sutton, B.C and J.M Waterson. 1966. *Guignardia citricarpa*. No. 85 *In*: CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. Commonwealth Mycological Institue. Ferry Lane, Kew, Surrey, UK.

Van der Aa HA. 1973. Studies in *Phyllosticta*. Studies in Mycology 5, 110pp.

สัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชวงศ์ผักโขม Amaranthaceae
Seed Morphology of Amaranthaceae Weed

ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย[1/] ศิริพร ซึงสนธิพร[1/] กาญจนา พฤกษพันธ์[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยพฤกษศาสตร์และพิพิธภัณฑ์พืช สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช

บทคัดย่อ

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชวงศ์ผักโขม Amaranthaceae มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานเมล็ดวัชพืชชนิดต่างๆ ในวงศ์ผักโขม และรวบรวมตัวอย่างวัชพืช และเมล็ดวัชพืช จากการสำรวจ และการศึกษา พบ วัชพืชวงศ์ผักโขม 6 สกุล ได้แก่ ACHYRANTHES, ALTERNANTHERA, AMARANTHUS, CELOSIA, SIAMOSIA, GOMPHRENA ซึ่งลักษณะเด่นของเมล็ดวัชพืชวงศ์ผักโขมนี้คือ เมล็ดนูนทั้งสองด้าน ผิวเรียบ สีดำแกมน้ำตาล เป็นมันวาว เมล็ดขนาดเล็กไม่แตกต่างกันมาก โดยมีตัวอย่างแห้ง และตัวอย่างเมล็ดเก็บรักษาอยู่ ณ กลุ่มวิจัยวัชพืช เพื่อใช้เปรียบเทียบและจัดจำแนกสำหรับผู้ที่สนใจ

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-03-03-54

คำนำ

เมล็ดวัชพืช เป็นส่วนขยายพันธุ์ที่มีสามารถถูกเคลื่อนย้ายโดยกิจกรรมของมนุษย์ จะโดยความตั้งใจหรือไม่ก็ตาม จะทำให้วัชพืชนั้นสามารถเจริญเติบโตในที่ใหม่และอาจกลายเป็นวัชพืชร้ายแรง ทำให้เกิดความเสียหายต่อความหลากหลายทางชีวภาพและเศรษฐกิจได้ การปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืชในสินค้าเกษตรในการค้าระหว่างประเทศ ทำให้เกิดความเสียหายอย่างมาก การแก้ไข หรือตอบโต้ จำเป็นต้องมี การพิสูจน์ ตรวจวิเคราะห์ชนิดจำเป็นต้องใช้ตัวอย่างเมล็ดในการยืนยัน ตัวอย่างเมล็ดวัชพืชและคู่มือการตรวจสอบจึงเป็นสิ่งสำคัญ ในการตอบข้อสงสัยหรือตอบโต้ข้อกล่าวหาในการค้าระหว่างประเทศ

วัชพืชร้ายแรงหลายชนิดสามารถสร้างเมล็ดจำนวนมากเมล็ดมีการพักตัว เมื่อสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม หรือมีอายุยาว นอกจากนี้หลายชนิดยังมีขนาดเล็ก ยากต่อการตรวจสอบ หรือมีขนาดใกล้เคียงกับเมล็ดพืชปลูก ทำให้แยกออกจากเมล็ดพันธุ์พืชปลูกได้ยาก (Muenscher, 1980)

การปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืชในเมล็ดพันธุ์พืช เป็นสาเหตุหนึ่งของแพร่ระบาดของวัชพืชในแปลงพืชปลูก คำแนะนำในการป้องกันวัชพืชจึงมักแนะนำให้ใช้เมล็ดพันธุ์ที่ปราศจากเมล็ดวัชพืชเจือปน เช่น เกษตรดีที่เหมาะสมสำหรับข้าวนาสวนนาน้ำฝน การปลูกข้าวแบบบูรณาการ (กรมการข้าว, ไม่ระบุปี) คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช (กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2548) ในการค้าระหว่างประเทศก็เช่นกัน ประเทศผู้นำเข้าได้กำหนดให้มีการจัดการ หรือการตรวจรับรองว่าสินค้าที่ส่งไปนั้นไม่มีเมล็ดวัชพืชติดไป เช่น ข้อตกลงร่วมการนำเข้าลำไยและลิ้นจากประเทศไทย เมษายน 2547 (กลุ่มวิจัยกักกันพืช, 2547)

เมล็ดของพืชวงศ์ผักโขม มักมีขนาดเล็ก กลมนูน ผิวเมล็ดดำเป็นมันวาว ภายในมีอาหารสะสม พืชวงศ์ผักโขม หรือ Amaranthaceae ที่เป็นวัชพืชพบทั่วไปมีหลายชนิด เช่น ผักขม กะเหม่อลอเดอ ผักโหม ผักโหมเกลี้ยง (*Amaranthus lividus* L.) ผักขมหนาม แม่ล้อดู่ หมั่งลั้งดุ่ ปะตึ กะเหม่อลอมี ผักโหมหนาม ผักโขมหนาม (*Amaranthus spinosus* L) หงอนไก่ไทย กระลารอน ชองพุ ซองพุ ดอกด้าย ด้ายสร้อย สร้อยไก่ หงอนไก่ (*Celosia argentea* L.) บานไม่รู้โรยป่า (*Gomphrena celosioides* Mart.) (Noda *et al*., 1994; Harada *et al,* 1987; สมาคมวิทยาการวัชพืชแห่งประเทศไทย, 2545) แต่รายชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (เต็ม สมิตินันท์, 2544) มีรายชื่อพืชในวงศ์นี้ถึง 22 ชนิด ซึ่ง Larsen (1992) ระบุว่าพืชในวงศ์นี้โดยเฉพาะในสกุล Amaranthus เป็นพืชที่พบทั่วไป แต่พบตัวอย่างแห้งในพิพิธภัณฑ์พืชต่างๆ ในประเทศไทยน้อย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- การสำรวจได้แก่ แผนที่ สมุดบันทึก กรรไกร ถุงพลาสติก ปากกาเขียนพลาสติก หรือกระดาษป้ายชื่อ และกล้องถ่ายภาพ

- การจัดทำตัวอย่างแห้ง ได้แก่ แผงอัดพรรณไม้สำหรับจัดทำตัวอย่างแห้ง กระดาษฟูก กระดาษซับ ฟองน้ำสำหรับรองตัวอย่าง กระดาษติดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมปก พร้อมกระดาษป้ายชื่อ

- สารเคมีสำหรับกันเชื้อราและแมลง ได้แก่ เมทานอล (Methanol) คลอโรฟอร์ม และเมอคิวรี่ คลอไรด์ พร้อมเครื่องแก้วต่างๆ ที่จำเป็น

- การตรวจสอบชนิดพืช ได้แก่ แว่นขยายขนาด 10 เท่า กล้อง กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำแบบใช้แสง เข็มเขี่ย ปากคีบ หนังสือคู่มือการจำแนกพรรณไม้ต่างๆ

วิธีการ

สำรวจวัชพืช ในพื้นที่ทำการเกษตร และนอกพื้นที่ทำการเกษตร ในพื้นที่ที่สามารถเข้าถึงโดยรถยนต์ หรืออยู่ในระยะที่สามารถเดินเข้าถึงได้ การสำรวจโดยเดินตามแนวตั้งฉากกับด้านยาวของแปลงอย่างน้อย 3 แนว หากเป็นแปลงขนาดใหญ่เดินตามแนวทแยงมุม จดบันทึกวัชพืชที่พบ จนกว่าจะไม่พบชนิดใหม่เพิ่มเติม สำหรับวัชพืชที่ไม่สามารถระบุชนิดได้นำตัวอย่างสดมาศึกษารายละเอียดเพิ่มเติม ที่กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร

การตรวจสอบชนิดพืชโดยการเทียบกับตัวอย่างพันธุ์ไม้ในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ 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

ระยะเวลาเริ่มต้นปีงบประมาณ 2554 สิ้นสุดปีงบประมาณ 2556 ดำเนินการทดลองที่พื้นที่นิเวศเกษตรในภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคใต้ และห้องปฏิบัติการและเรือนทดลองของกลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชวงศ์ผักโขม (Amaranthaceae) โดยการสำรวจวัชพืชในจังหวัดต่าง ๆ ทั้งในพื้นที่การเกษตร และไม่ทำการเกษตร พบวัชพืชวงศ์ผักโขม จำนวน 7 สกุล 14 ชนิด ลักษณะของวัชพืชวงศ์ผักโขม ลำต้น เป็นไม้เนื้ออ่อน ส่วนน้อยที่เป็นไม้เลื้อย หรือ ไม้พุ่ม ใบออกตรงข้าม หรือเวียน ช่อดอกช่อดอกประกอบแบบช่อเชิงลด (spike) ช่อกระจุกแน่น (capitate) ช่อกระจุก (cymose) ใบประดับ และใบประดับย่อยอยู่ที่ฐานดอก ดอกมี 1 หรือ 2 เพศ ดอกเพศผู้ที่เป็นหมันจะเปลี่ยนรูปร่างเป็นตะขอแข็ง กลีบรวมเชื่อมติดกันตั้งแต่ฐานดอก 3-5 กลีบ กลีบลักษณะบางใส หรือเป็นเยื่ออ่อนนุ่ม เกสรเพศผู้มีจำนวนเท่ากับกลีบรวม ก้านชูเกสรเพศผู้ติดกันจากฐานจนถึงปลายแล้วแยกลักษณะคล้ายฟัน หรือแฉกสลับกัน อับเรณูแตกตามแนวยาว มีจานติดอยู่ภายในอับเรณู เกสรเพศเมียมี 2-3 คาร์เพล รังไข่ มีช่องว่างภายในรังไข่ 1 ช่อง (unilocular) มีก้านชูเกสร ยอดเกสรเพศเมียมี 2-3 แฉก ออวุล 1 อัน มีพาเซนตารอบแกน ออวุลตะแคง ผล ผลแบบกระเปาะ (utricle) ผลเปลือกแข็งเมล็ดเดียว (nut) หรือ ผลแห้งแตกแบบฝาเปิด (circumscissile) มี 1 เมล็ด

ส่วนน้อยที่เป็นผลมีเนื้อหนึ่งถึงหลายเมล็ด (berry) ส่วนใหญ่ผลมีกลีบรวมติดแน่นที่ผล รอบเอ็มบริโอประกอบด้วยแป้ง เมล็ด มีขนาดเล็ก กลมนูน ผิวเมล็ดดำเป็นมันวาว ภายในมีอาหารสะสม

1. ACHYRANTHES

ลำต้น	พืชบก อายุหลายปี ไม้เนื้ออ่อน บางครั้งพบเป็นเนื้อไม้บริเวณโคนต้น
ใบ	ใบออกตรงข้าม ใบเรียบ มีก้านใบย่อย
ช่อดอก	ช่อเชิงลด ออกบริเวณปลายหนาแน่นตอนแรก ตอมาจึงยืดยาวเป็นดอก และผล
ดอก	มี 2 เพศ ดอกเดี่ยวมีใบประดับ ใบประดับย่อย 2 ใบ กลีบรวม 4-5 กลีบ มีลักษณะเป็นเยื่อแผ่นยาวไม่เท่ากัน มีเส้นใบ 1 หรือ 2-3 เส้น ผลมีรสเผ็ด เกสรเพศผู้ 2-5 อัน ก้านชูเกสรเพศผู้เชื่อมติดกันตั้งแต่ฐานถึงอับเรณู มีเกสรเพศผู้เทียม 5 อัน มีขอบแบบฟันเลื่อยละเอียด บางครั้งพบประกอบรวมกันจนมีขนาดใหญ่ มีขนโดยรอบตามขอบเกล็ด อับเรณูขอบขนาน หรือรูปไข่
รังไข่	ออวุล 1 อัน ห้อยลง มีก้านชูออวุลยาว ก้านชูเกสรเพศเมียเป็นเส้น ยาวกว่าก้านชูเกสรเพศผู้ ยอดเกสรเพศเมียขนาดเล็กรวมกันเป็นกระจุกคล้ายหัว
ผล	ผลกระเป๋า ผิวเรียบ เปลือกบาง
เมล็ด	รูปทรงไข่

1.1 Achyranthes *aspera* (L.) (พันงูขาว)

ลำต้น	พืชล้มลุกอายุหลายปี ค่อนข้างแข็ง สูงถึง 1 เมตร บางครั้งพบสูงกว่า 1 เมตร มีกิ่งจำนวนมากแตกจากบริเวณโคนต้น กิ่งรูปสามเหลี่ยม ข้อถี่ ถูกปกคลุมด้วยขนสั้นตั้งตรงนุ่มอย่างหนาแน่น เฉพาะส่วนที่อายุน้อย
ใบ	ทรงรีตามยาว-ขอบขนาน หรือ ไข่หัวกลับ ค่อยๆ เรียวแหลมไปยังบริเวณโคนใบ ปลายแหลม หรือกลม มีขนมาก แต่ไม่หนาแน่น หรือเกือบเรียบ ใบมีขนาดใหญ่กว้าง 2-10 เซนติเมตร 1-5 เซนติเมตร ก้านใบยาว 0.5-1.5 เซนติเมตร
ช่อดอก	ตั้งตรง ช่อเชิงลดออกบริเวณปลาย หรือด้านข้าง ช่อดอกบริเวณปลายยาว แรกออกเกิดเป็นกระจุกหนาแน่น เมื่อเป็นดอกช่อยาวถึง 50 เซนติเมตร หรือสั้นกว่าแต่ยาวกว่าก้านช่อดอก แกนกลางสามเหลี่ยม มีขนราบติดกับผิว ใบประดับบางใส รูปไข่-เรียวแหลม ติดแน่น ยาว 2-3 มิลลิเมตร ตั้งตรงก่อนดอกบาน หลังจากนั้นจึงโค้งกลับหลังติดแน่นที่ผล ใบประดับย่อยติดกับกลีบรวม ยืดยาว 3-4 มิลลิเมตร ที่ฐานดอกมีเยื่อบางคล้ายปาก ยาว 1.5-2 มิลลิเมตร กลีบรวมไม่เท่ากัน รูปไข่-ใบหอก มีจุด ยาว 5 มิลลิเมตร ผิวเรียบ ก้านชูเกสรเพศผู้ยาว 2 มิลลิเมตร เรียบ เกสรเพศผู้เทียมส่วนปลายมีลักษณะตัด มีขนยาวขึ้นรอบเกล็ด ยาวกว่าเกสรเพศผู้เทียม
รังไข่	รูปทรงไข่ สั้นกว่าก้านชูเกสรเพศเมีย เรียบ ก้านชูเกสรเพศเมียยาว 2-3.5 มิลลิเมตร
ผล	ผลกระเปาะ ผิวเรียบ ปลายผลมีลักษณะตัด ยาว 2.5-3 มิลลิเมตร
เมล็ด	ทรงกระบอกยาว ผิวเรียบ

2. ALTERNANTHERA

ลำต้น ไม้ล้มลุก หรือกึ่งไม่พุ่มขนาดเล็ก พืชอายุปีเดียว หรือหลายปี ลำต้นทอดนอน (prostrate) เกาะเลื้อย (creeping) ตั้งตรง หรือเลื้อยพันรอบสิ่งอื่น (twining) บางครั้งพบเป็นพืชน้ำ หรือลอยน้ำ ผิวเรียบ หรือมีขนสั้นตั้งตรงขึ้นปกคลุม

ใบ ออกตรงข้าม เรียบ

ช่อดอก ออกตามซอกใบ หรือปลาย มีหรือไม่มีก้านช่อดอก ช่อดอกแบบกระจุกแน่น หรือช่อเชิงลดสั้น ดอกมีสองเพศ มีใบประดับ และใบประดับย่อยรองรับ กลีบดอก 5 กลีบ ติดแน่นไม่ร่วง เกสรเพศผู้ 5 อัน อับเรณูต่ำ มีเกสรเพศผู้เทียม แต่ลดขนาดลงเหลือเพียงขนาดเล็ก

รังไข่ แบนราบตามส่วนยาว ยอดเกสรเพศเมียรวมเป็นกลุ่ม ออวุล 1 อัน ห้อยลง

ผล ผนังบาง ผลกระเปาะเมื่อแก่ไม่แตก ถูกหุ้มด้วยกลีบรวม

เมล็ด นูนทั้งสองข้าง

2.1 *Alternanthera pungens* Kunth (หนามกระสุน)

ลำต้น พืชล้มลุกอายุหลายปี ลำต้นทอดเลื้อยไปกับพื้นดิน ลำต้นบริเวณโคนเป็นไม้เนื้อแข็ง มีขนสั้นตรง อายุน้อยจะมีขนขึ้นหนาแน่น

ใบ รูปไข่ หรือรูปไข่กลับ ยาว 2-5 เซนติเมตร กว้าง 1-3.5 เซนติเมตร ก้านใบย่อยสั้น

ช่อดอก กลมคล้ายผลส้ม หรือขอบขนาน แต่เห็นไม่ชัดเจน ช่อดอกที่ออกเป็นกระจุกไม่มีก้านดอก ใบประดับมีหนามแหลมแข็งมาก ใบประดับย่อยมี 2 ใบ ปลายแหลม กลีบรวมยาวไม่เท่ากัน ด้านนอกสองกลีบยาวกว่า ปลายแหลม กลีบนอกยาว 5 มิลลิเมตร กลีบในยาว 3 มิลลิเมตร ปลายแหลม กลีบทั้งหมดมีขนเล็กๆ เกสรเพศผู้ 5 อัน เกสรเพศผู้เทียมสั้นกว่าก้านชูเกสรเพศผู้ เรียบ หรือหยักซี่ฟัน

รังไข่ ทรงรี ก้านชูเกสรเพศเมียสั้นยอดเกสรเพศเมียรวมเป็นกลุ่ม

ผล รูปทรงไข่ ร่วงพร้อมกับกลีบรวม

เมล็ด นูนทั้งสองด้าน ผิวเรียบ มัน

2.2 *Alternanthera phloxeroides* (Mart.) Griseb. (ผักเป็ดน้ำ)

ลำต้น พืชล้มลุกอายุหลายปี ถิ่นอาศัยอยู่ในน้ำ หรือดินที่ชื้นแฉะ ลำต้นสูงถึง 4 เมตร ขณะที่ลำต้นทอดเลื้อยไปกับดินสูง 30 เซนติเมตร ตั้งตรงเมื่ออยู่บนพื้นดินแห้ง ต้นเดี่ยว หรือมีกิ่ง ลำต้นแข็งแรง มีขนขึ้นปกคลุม (villous) ไปจนถึงเกือบไม่มีขน

ใบ ใบสั้นกว่าก้านใบย่อย รูปรี ถึงรูปไข่กลับ ปลายป้าน ยาว 3-11 เซนติเมตร ผิวเรียบ มีหัวออกเดี่ยวกลมคล้ายผลส้ม กว้าง 1-1.5 เซนติเมตร สีขาว ออกบริเวณปลาย หรือตามซอกใบ ก้านดอกยาว 1-5 เซนติเมตร มีขนยาวตรงและอ่อนนุ่ม 2 เส้น ใบประดับ และใบประดับย่อยเหมือนกัน ยาว ¼ ของความยาวดอก รูปไข่ปลายแหลม หรือเป็นติ่งหนาม กลีบรวมคล้ายใบประดับ ผิวเรียบ รูปไข่-ใบหอก ยาว 6 มิลลิเมตร ขอบใบเป็นจักฟันเลื่อยถี่ (serrulate) ไปจนถึงปลาย อับเรณูอยู่ต่ำ ก้านชูเกสรเพศผู้ยาวกว่าอับเรณู เกสรเพศผู้เทียมยาวเท่ากับเกสรเพศผู้จริง ขอบจักฟันเลื่อย (serrate)

รังไข่ รูปร่างเหมือนสามเหลี่ยม

เมล็ด เมล็ดค่อนข้างกลม บริเวณขั้วผลเว้า ผิวเรียบ เป็น มันสีน้ำตาลแดง

2.3 *Alternanthera sessilis* (L.) DC. (ผักเป็ดไทย)

ลำต้น พืชล้มลุกอายุหลายปี ตั้งตรง สูงถึง 1 เมตร ลำต้นงอทำมุม 45-60 องศา ก่อนแล้วจึงค่อยๆ ตั้งตรงขึ้นไปหรือโค้งขึ้น (ascending) หรือ เลื้อย (creeping) มีรากเกิดบริเวณข้อ บางครั้งพบเป็นพืชน้ำ หรือลอยน้ำ มีกิ่งจำนวนมาก สีเขียว หรือม่วง ลำต้นกึ่งเรียบ หรือมีขนตามแนวยาวตรงกันข้ามสองด้าน

ใบ ใบมีหลายแบบ ได้แก่ รูปแถบ-ใบหอก รี เรียวแหลมบริเวณปลาย และฐาน ผิวเรียบหรือมีขนสั้นตั้งตรง ยาว 1-10 เซนติเมตร กว้าง 0.5-2 เซนติเมตร ก้านใบสั้น

ช่อดอก ออกตามซอกใบ ไม่มีก้านช่อดอก เรียบ สีขาว กว้าง 0.5-1.5 เซนติเมตร บางครั้งมีก้านช่อดอกแกนกลางมีขนสีขาวขึ้นหนาแน่น ใบประดับ และใบประดับย่อยรูปไข่ ปลายเรียวแหลม ไม่มีขนแข็ง ผิวเรียบ ติดแน่นไม่ร่วง ยาว 1 มิลลิเมตร สั้นกว่าดอก กลีบรวมยาวเท่ากัน รูปไข่ ค่อยๆ เรียวแหลมไปยังปลาย ผิวเรียบมัน หรือมีขนเล็กน้อยด้านหลังกลีบดอก มีเส้นกลางกลีบ 1 เส้น บริเวณฐานมี 3 เส้น แต่ไม่ชัดเจน ยาว 2 มิลลิเมตร เกสรเพศผู้ 3 อันก้านชูเกสรเพศผู้ และอับสั้นกว่า 1 มิลลิเมตร อับเรณูรูปทรงไข่ เกสรเพศผู้เทียมเป็นเส้นด้าย หรือปลายแยกเป็นสองง่าม ลดขนาดลงเหลือเพียงเล็กน้อย

ผล ผลกระเปาะแบนราบตามยาว ปลายผลเว้าลึก ยาว 2-3 มิลลิเมตร

เมล็ด รูปค่อนข้างกลม บริเวณขั้วผลเว้า คล้ายรูปหัวใจ และแบน ผิวเมล็ดเรียบ เป็นมัน สีน้ำตาลแดง

2.4 *Althernanthera bettzickiana* (Regel) (ผักเป็ดแดง)

ลำต้น พืชล้มลุกอายุหลายปี ตั้งตรง สูง 10-20 เซนติเมตร มีปอยประดับหนาแน่น ลำต้นมีร่อง 2 ร่องตรงข้ามกัน ผิวลำต้นค่อยๆ เกลี้ยงขึ้นเมื่อเจริญขึ้น

ใบ รูปสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน จนถึง รูปใบหอกกลับ ผิวใบค่อยๆ เกลี้ยงขึ้นเมื่อเจริญขึ้น ปลายเป็นติ่งหนาม ใบมีความหลากหลาย พบมีสีแดง หรือสีอื่นแต้ม ปะเป็นจุด หรือปื้น ยาว 1-5 เซนติเมตร กว้าง 0.5-1.5 เซนติเมตร ก้านใบยาว 1-3 เซนติเมตร

ช่อดอก ไม่มีก้านใบ ออกบริเวณปลาย หรือซอกใบ ช่อดอกกลมคล้ายผลส้ม หรือขอบขนาน กว้าง 0.5-1 เซนติเมตร ใบประดับ และใบประดับย่อยเหมือนกัน แต่สั้นกว่ากลีบรวม ปลายแหลม บ่อยครั้งพบขนเรียงเป็นแถวด้านหลัง กลีบรวม 5 กลีบ ปลายเรียวแหลม เป็นติ่งหนาม กลีบนอก 3 กลีบ มี 1 กลีบที่ยาวมากที่สุด กลีบรวมยาว 3-4 มิลลิเมตร มีขนบนหลังกลีบรวม กลีบรวมด้านใน 2 กลีบ มี 1 กลีบ ผิวเกือบเกลี้ยง ยาว 2 มิลลิเมตร อับเรณูอยู่ต่ำ มี 5 อัน บ่อครั้งพบว่าเป็นหมัน เกสรเพศผู้เทียมสั้นกว่า หรือยาวเท่ากับเกสรเพศผู้จริง ปลายแคบ หรือหยักซี่ฟัน

รังไข่ รูปทรงไข่ ก้านชูเกสรเพศเมียอ้วนสั้น

ผล กึ่งกลม ไม่มีปีก

เมล็ด นูนทั้งสองด้าน สีน้ำตาล กว้าง 1 มิลลิเมตร

2.5 *Alternanthera dentata* (Moench) Scheygr. (บานไม่รู้โรยฝรั่ง)

ลำต้น ไม้พุ่ม สูงประมาณ 45-105 เซนติเมตร เรือนยอดไม่แน่นอน มักแตกเป็นกอ หรือตัดให้แตกเป็นไม้กอได้ดี เปลือกนอก สีขาว มีข้อปล้องห่าง 2.5 -4 นิ้ว ผิวลำต้นมีขนปกคลุม

ใบ ใบเป็นแบบใบเดี่ยว สีเขียวไม่เข้มนัก ใบยาว ขอบใบเรียบ มีขนาดปกคลุมต้นและใบเล็กน้อย

ช่อดอก ดอกเป็นแบบ head เส้นผ่านศูนย์กลางของดอก ตั้งแต่ 2.5 - 5 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงมีลักษณะแห้งและแข็ง ดอกมีหลายสี เช่นขาว ชมพู แดง ม่วง และเหลือง ออกดอกเป็นช่อมี 3-4 ดอก/ช่อ จะทยอยออกดอกในเวลากลางวัน และหุบในเวลากลางคืน

ผล กึ่งกลม

เมล็ด ผิวนูนทั้งสองด้าน สีน้ำตาล กว้าง 1-1.5 มิลลิเมตร

2.6 *Alternanthera paronichyoides* St. Hil. (ผักเป็ด)

ลำต้น พืชล้มลุกอายุหลายปี ผิวค่อยๆ เกลี้ยงขึ้นเมื่อเจริญขึ้น (glabrescent) ลำต้นทอดนอนราบไปกับพื้นดิน สูงถึง 50 เซนติเมตร หรือมากกว่า มีรากออกที่ข้อ

ใบ รูปใบหอก ไปจนถึงรูปช้อน ผิวค่อยๆ เกลี้ยงขึ้นเมื่อเจริญขึ้น ยาว 1-4 เซนติเมตร กว้าง 0.5-1 เซนติเมตร ปลายแหลม หรือป้าน ค่อยๆเรียวแหลมไปยังฐานใบ ก้านใบยาว 2-10 มิลลิเมตร

ช่อดอก ช่อเชิงลก ไม่มีก้านช่อดอก ออกตามซอกใบ รูปทรงไข่ ยาว 5-15 มิลลิเมตร ยาว 3-6 มิลลิเมตร ใบประดับ และใบประดับย่อยคล้ายกัน รูปไข่-ใบหอก ปลายแหลม กลีบรวม 5 กลีบ เส้นกลางกลีบ 3 เส้น ปลายป้าน หรือแหลม รูปไข่-ใบหอก กลีบด้านนอก 3 กลีบยาวกว่า กลีบรวมยาว 3-7 มิลลิเมตร ก้านชูเกสรเพศผู้อยู่ต่ำ เกสรเพศผู้เทียมส่วนใหญ่สั้นกว่าเกสรเพศผู้จริง ขอบหยักซี่ฟัน-หยักแคบเป็นพู

รังไข่ ทรงไข่กลับ ก้านชูเกสรเพศเมียสั้น

ผล กลมคล้ายส้ม หรือทรงไข่กลับ มีปีกแคบ

เมล็ด นูนทั้งสองด้าน กว้าง 1.5 มิลลิเมตร

3. Amaranthus

ลำต้น พืชปีเดียว หรือเกือบหลายปี ไม้ล้มลุกลำต้นเรียบ

ใบ ใบเวียน

ช่อดอก ดอกออกเป็นกระจุกตามซอก หรือปลาย เกิดเป็นดอกเดี่ยว หรือช่อเชิงลด

ดอก 1 เพศ ดอกขนาดเล็ก มีใบประดับ และใบประดับย่อย ทั้งสองมีลักษณะบาง กลีบรวม 3-5 กลีบ แยกอิสระ ยาวไม่เท่ากัน บาง อ่อนนุ่ม มีหลายสี เกสรเพศผู้มีจำนวนมากเท่ากับกลีบรวม ก้านชูเกสรคล้ายเส้นด้าย แยกอิสระ ไม่มีเกสรเพศผู้เทียม อับเรณูมีสองอัน

รังไข่ รูปทรงไข่ ก้านชูเกสรเพศเมียสั้น หรือไม่มี ยอดเกสรเพศเมียมี 3 แฉก ออวุล 1 อัน ตั้งตรง

ผล ผลแห้งแตกแบบฝาเปิด (circumscissile) ผลแก่แตกไม่สม่ำเสมอ หรือผลกระเปาะ (utricle) แก่ไม่แตก

เมล็ด เมล็ดนูนทั้งสองด้าน เอ็มบริโอล้อมรอบ perisperm

3.1 *Amaranthus spinosus* L. (ผักโขมหนาม)

ลำต้น ไม้ล้มลุกตั้งตรงสูงถึง 1 เมตร ส่วนใหญ่ลำต้นเรียบ

ใบ รูปไข่-ใบหอก ไปจนถึงรูปคล้ายสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน แล้วค่อยเรียวแหลมบริเวณปลายทั้งสองด้าน ส่วนใหญ่ปลายใบกลมแล้วบุ๋มลึกตรงกลาง แผ่นใบยาว 3-5 เซนติเมตร กว้าง 1.5-3 เซนติเมตร ซอกใบมีหนามแข็ง 2 อัน ยาว 1-2 เซนติเมตร ก้านใบยาวเท่ากับแผ่นใบ

ช่อดอก สีเขียว ช่อดอกที่อยู่ต่ำกว่าดอกเพศเมียคล้ายช่อเชิงลด สุดท้ายจึงเปลี่ยนเป็นช่อกระจะด้านล่างช่อดอกมีหนามอ่อน แล้วค่อยเปลี่ยนเป็นหนามปลายแข็ง จึงออกดอกเพศผู้

ใบประดับ ยาวเท่ากับดอก รูปไข่ ปลายกลมแล้วแหลมสั้น กลีบรวมดอกเพศผู้รูปไข่ 3 กลีบ ดอกเพศเมียรูปคล้ายช้อน 5 กลีบ ยาว 1-1.5 มิลลิเมตร ดอกสีขาว เส้นกลางดอกสีเขียว เกสรเพศผู้ 5 อัน

รังไข่ มียอดเกสรเพศเมีย 3 อัน

ผล ทรงรี (ellipsoid) ยาวเท่ากับกลีบรวม ผลแห้งแตกแบบฝาเปิด หรือไม่แตก

เมล็ด กว้าง 0.5 มิลลิเมตร สีดำมันวาว นูนสองด้าน

3.2 *Amaranthus viridis* L. (ผักโขมหัด)

ลำต้น พืชล้มลุกปีเดียว สูงถึง 80 เซนติเมตร ต้นตั้งตรงหรือทอดไปตามพื้นดิน แต่ยอดชูสูงขึ้น กิ่งมีน้อย ยาวโค้งจากฐาน ลำต้นกว้าง 5 มิลลิเมตร เมื่ออายุน้อยลำต้นเรียบหรือมีขนสั้นตรงนุ่มเล็กน้อย ลำต้นสามเหลี่ยมป้าน

ใบ ก้านใบยาวถึง 10 เซนติเมตร แผ่นใบรูปไข่-ยาวมากกว่าความกว้าง บางครั้งเป็นรูปสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน ฐานใบรูปร่างสามเหลี่ยมหัวกลับ ปลายป้าน หรือบางมน บุ๋มลึกตรงกลาง หรือเป็นติ่งหนาม เรียบ ยาว 3-6 เซนติเมตร กว้าง 1.5-3 เซนติเมตร

ช่อดอก บริเวณปลาย หรือซอกใบด้านบน ช่อดอกเดี่ยวคล้ายช่อเชิงลด หรือ เกิดจากกิ่งแขนง ช่อดอกทั้งหมดยาว 10 เซนติเมตร ดอกออกเป็นกระจุกแน่น ระยะไกลมองเห็นได้น้อย ใบประดับ และใบประดับย่อยเหมือนกัน สั้นกว่ากลีบรวม รูปไข่กว้าง ปลายเป็นติ่งหนาม บางใส ยาว 0.5-1 มิลลิเมตร

ดอก มี 1 เพศ สีเขียว 3 กลีบ กลีบรวมสีเขียว ขอบบางใส มีความยาวมากกว่าความกว้าง ปลายแหลม ยาว 1-1.5 มิลลิเมตร เกสรเพศผู้ 3 อัน ยอดเกสรเพศเมีย 2-3 แฉก

ผล ผลเมื่อแก่เต็มที่ไม่แตก ผลกระเปาะทรงรีผิวลูกฟูกแข็ง มีกลีบรวม และใบประดับติด ยาว 2 มิลลิเมตร สีเหลืองเข้ม-น้ำตาล

เมล็ด นูนทั้งสองด้าน ผิวมัน น้ำตาลเข้ม-ดำ กว้าง 1 มิลลิเมตร

3.3 ***Amaranthus lividus* L. (ผักขม)**

ลำต้น พืชล้มลุกปีเดียว ตั้งตรง สูงถึง 80 เซนติเมตร แตกกิ่งจากโคนต้น ลำต้นเรียบทรงกระบอก หรือสามเหลี่ยมทู่ ลำต้นเล็ก

ใบ	ใบออกบนกิ่งขนาดเล็ก ยาว 5 เซนติเมตร แผ่นใบไข่หัวกลับ-คล้ายสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน โคนใบรูปสามเหลี่ยม ปลายเว้าตื้น หรือติ่งหนาม ยาว 3-6 เซนติเมตร 2-4 เซนติเมตร สีเขียว หรือมีจุดสีม่วงกระจายทั่ว
ช่อดอก	ออกตามซอกใบ หรือปลายคล้ายช่อเชิงลด บ่อยครั้งที่เกิดบนกิ่งแขนง 2-3 กิ่ง ดอกกระจุกแน่น ใบประดับ ใบประดับย่อยเหมือนกัน รูปไข่ ปลายแหลม สั้นกว่ากลีบรวม กลีบรวม 3 กลีบ สีเขียว ขอบใบบางใส กลีบรวมเพศเมียรูปขอบขนาน กลีบรวมเพศผู้รูปช้อนยาวมากกว่ากว้าง กว้าง 1 มิลลิเมตร เกสรเพศผู้ 3 อัน ยาวเท่ากับกลีบรวมหรือสั้นกว่า
รังไข่	รูปขอบขนาน ยอดเกสรเพศเมีย 3 แฉก
ผล	ทรงรีตามยาว ผิวเรียบ ผลกระเปาะ เมื่อแก่ไม่แตก มีกลีบรวมติดอยู่
เมล็ด	นูนทั้งสองด้าน ผิวมัน ดำเข้ม-น้ำตาล กว้าง 1 มิลลิเมตร

4. CELOSIA

ลำต้น	ไม้ล้มลุกปีเดียว หรือหลายปี บางครั้งพบเป็นไม้เนื้อแข็งบริเวณโคนต้น
ใบ	ใบเวียน ไม่มีหูใบ แต่บ่อยครั้งพบใบขนาดเล็กคล้ายเคราอยู่ข้างยอด
ช่อดอก	ช่อดอกแน่น บางครั้งซ้อนกัน ปลาย หรือซอกเป็นช่อเชิงลด หรืออยู่รวมกันเป็นกลุ่ม
ดอก	มีใบประดับอยู่ใต้ดอก 2 เพศ กลีบรวม 5 กลีบ แยกอิสระ มีหลายสี (ขาว, เหลือง, แดง) กลีบดอกบาง เกสรเพศผู้เทียมขนาดเล็ก 5 อัน
รังไข่	ไม่มีก้านชูรังไข่ ก้านชูเกสรเพศเมียยาว ยอดเกสรเพศเมียเป็นกลุ่มกลม หรือแยกเป็นแฉก 2-3 แฉก ออวุลมีน้อยถึงมาก
ผล	แห้งแตกแบบฝาเปิด (circumscissile) ผนังบาง มีหนึ่งถึงหายเมล็ด
เมล็ด	ดำ มันวาว
	มีประมาณ 60 ชนิด ส่วนใหญ่อยู่ในแอฟริกา และอเมริกาใต้

4.1 *Celosia argentea* (L.) (หงอนไก่ไทย)

ลำต้น	เป็นพืชปีเดียว ตั้งตรง เรียบ กิ่งไม้เนื้ออ่อน สูงถึง 1 เมตร
ใบ	รูปใบหอก (lanceolate) รูปแถบ (linear) ใบด้านบน 1 ใบ ไม่มีก้านใบ ด้านล่าง 1 ใบ มีก้านใบยาว 1-4 เซนติเมตร แผ่นใบเรียวแหลมไปยังฐานใบ ปลายใบเรียวแหลม ยาว 5-15 เซนติเมตร กว้าง 1-5 เซนติเมตร
ช่อดอก	ช่อเชิงลด สีขาว หรือชมพู กว้าง 1-2 เซนติเมตร ยาว 2-10 เซนติเมตร (หรือยาวกว่า) บ่อครั้งที่มีการยืดยาวระหว่างดอกบานเต็มที่ ดอกแน่น ใบประดับรูปไข่-ขอบขนาน ปลายแข็ง เรียวแหลม ครึ่งหนึ่งของความยาวกลีบรวม ติดแน่น ใบประดับย่อยมีลักษณะคล้ายกัน แต่มีขนาดเล็กกว่า กลีบรวมยาว 4-5 มิลลิเมตร รูปไข่-แถบ (ovate-linear) ปลายแหลม กลีบเลี้ยงบางและใส ก้านชูเกสรเพศผู้เชื่อมติดบริเวณฐานยาว 1.5-2 มิลลิเมตร ส่วนที่แยกอิสระยาวกว่าอับเรณู เกสรเพศผู้เทียมมีขนาดเล็ก รูปสามเหลี่ยม
รังไข่	รูปทรงไข่ ก้านชูเกสรเพศเมียสีม่วง ออวุล 5-9 อัน
ผล	มีเยื่อบางล้อมรอบผล กว้าง 3 มิลลิเมตร
เมล็ด	2-3 เมล็ด นูนทั้งสองด้าน สีดำ มันวาว กว้าง 1.5 มิลลิเมตร

4.2 *Celosia argentea* L. var. *cristata* (L.) Kuntze **(หงอนไก่ฝรั่ง)**

ต้น	ไม้ล้มลุก สูงประมาณ 1.0-1.5 ม. ลำต้นเป็นสัน แตกกิ่งก้านสาขามาก ผิวขรุขระ
ใบ	ใบเรียงสลับ ใบเดี่ยว รูปหอกหรือรูปแถบแคบ กว้าง 1-6 ซม. ยาว 8-15 ซม. โคนใบแหลม ปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ ผิวใบเป็นคลื่นและมีไขปกคลุม เส้นใบนูนเด่นด้านท้องใบ
ดอก	ดอกช่อออกที่ปลายยอด ช่อดอกกว้าง 1.5-2.0 ซม. ช่อดอกมี 2 แบบคือ รูปทรงกระบอกและแบบรูปหงอนไก่ บางครั้งพบทั้งสองแบบในต้นเดียวกัน กลีบรวมมี 4 กลีบ รูปขอบขนานแกมรูปไข่ ยาว 0.6-1.0 ซม. เกสรเพศผู้ปลายแหลมมี 5 อัน ฐานรองดอกเชื่อมติดกันเป็นแผ่นย่น เป็นก้อนกลม ใบประดับรองดอกขนาดเล็กเป็นเส้นคล้ายกำมะหยี่ ดอกสมบูรณ์เพศ กลีบดอกมีหลายสี เช่น แดงสด ขาว และเหลือง
ผล	ผลรูปไข่ค่อนข้างกลม สีดำเป็นมัน ขนาดเล็ก ผลแห้งแตกแบบมีฝาเปิด สีน้ำตาลอ่อน เมล็ดสีดำ เป็นมัน
ลำต้น	ก้านใบด้านบนผิวค่อยๆ เกลี้ยงขึ้นเมื่อเจริญเต็มที่
ใบ	ใบเวียน ก้านใบยาว 1.3-2.2 เซนติเมตร แผ่นใบรูปหอก-ปลายเรียวแหลม ฐานใบรูปลิ่ม แผ่นใบเรียบ ยกเว้นกลางใบ กว้าง 4.5-18 เซนติเมตร ยาว 1.3-22 เซนติเมตร
ดอก	ออกตามซอกใบเป็นกระจุก ใบประดับบางใส รูปไข่แคบ มีเส้นใบ 1 เส้น ยาว 2 เซนติเมตร กลีบรวม 5 กลีบ ไม่เท่ากัน ยาว 2-2.5 มิลลิเมตร มีเส้นกลางกลีบ 3 เส้น กลีบเรียบ เกสรเพศผู้ 5 อัน อับละอองเกสรอยู่ต่ำ ไม่มีเกสรเพศผู้เทียม หรือลดขนาดลงเหลือเล็กนิดเดียว 5 อัน
รังไข่	กลมเหมือนผลส้ม ยอดเกสรเพศเมีย 3 อัน แยกเป็นแฉก ออวุลตั้งตรง
ผล	ผลกระเปาะ ยาว 2 เซนติเมตร รูปทรงไข่แบนราบตามยาว มีก้านเกสรเพศเมียติดอยู่
เมล็ด	นูนทั้งสองด้าน exarillate สีดำเป็นวงแหวน

5. SIAMOSIA

ลำต้น	ก้านใบด้านบนผิวค่อยๆ เกลี้ยงขึ้นเมื่อเจริญเต็มที่
ใบ	ใบเวียน ก้านใบยาว 1.3-2.2 เซนติเมตร แผ่นใบรูปหอก-ปลายเรียวแหลม ฐานใบรูปลิ่ม แผ่นใบเรียบ ยกเว้นกลางใบ กว้าง 4.5-18 เซนติเมตร ยาว 1.3-22 เซนติเมตร
ดอก	ออกตามซอกใบเป็นกระจุก ใบประดับบางใส รูปไข่แคบ มีเส้นใบ 1 เส้น ยาว 2 เซนติเมตร กลีบรวม 5 กลีบ ไม่เท่ากัน ยาว 2-2.5 มิลลิเมตร มีเส้นกลางกลีบ 3 เส้น กลีบเรียบ เกสรเพศผู้ 5 อัน อับละอองเกสรอยู่ต่ำ ไม่มีเกสรเพศผู้เทียม หรือลดขนาดลงเหลือเล็กนิดเดียว 5 อัน
รังไข่	กลมเหมือนผลส้ม ยอดเกสรเพศเมีย 3 อัน แยกเป็นแฉก ออวุลตั้งตรง
ผล	ผลกระเปาะ ยาว 2 เซนติเมตร รูปทรงไข่แบนราบตามยาว มีก้านเกสรเพศเมียติดอยู่
เมล็ด	นูนทั้งสองด้าน exarillate สีดำเป็นวงแหวน

5.1 *Cyathula prostrata* (L.) Blume) **(พันงูแดง)**

ลำต้น พืชล้มลุก สูงประมาณ 80 เซนติเมตร ตั้งตรง หรือเลื้อยไปตามดิน มีขนสีขาวขนาดเล็กละเอียดขึ้นปกคลุมกระจายทั่ว หรือโค้งขึ้น

ใบ ใบกว้างรีจนถึงสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน โคนใบกลม มน แล้วแหลมปลายใบ มีขนสั้นละเอียดเล็กขึ้นปกคลุม กว้าง 1-6 เซนติเมตร ยาว 1-4 เซนติเมตร ไม่มีก้านใบ หรือมีก้านสั้น

ช่อดอก ช่อเชิงลดออกบริเวณปลาย หรือตามซอกใบ ยาวถึง 25 เซนติเมตร กว้าง 4-8 มิลลิเมตร ผลมีการยืดยาว ก้านดอกยาว 2-5 เซนติเมตร ช่อดอกแบบช่องวงแถวเดี่ยวอัดกันแน่นเป็นกระจุก 1 ช่อมี 2-3 ดอก ส่วนใหญ่มี 3 ดอก โดยมี 1 ดอกมีเกสรเพศผู้สมบูรณ์ ดอกที่เหลือ 2 ดอก จะมี 1 ดอกเป็นหมัน สร้างใบประดับย่อยและกลีบรวมลักษณะแคบ ใบประดับคล้ายจะงอยปากนก ยาว 1 มิลลิเมตร กลีบรวมบางใส รูปหอก ยาว 2-3 มิลลิเมตร มีขนแข็งตั้งตรงปกคลุมด้านหลัง มีอับละอองเรณูเทียม 5 อัน ปลายมนมีรอยเว้าตรงกลาง หรือหยักซี่ฟัน

รังไข่ รูปทรงไข่ ยาว 1.5 มิลลิเมตร ก้านชูเกสรเพศเมียเป็นเส้น ยอดเกสรเพศเมียคล้ายหัว

ผล ผลแข็ง มีกลีบรวมติดที่ผลถึง 20 ผล หรือปลายผลพัฒนาเป็นตะขอระหว่างผลแก่ผลกระเปาะรูปทรงไข่ ยาว 1-2 มิลลิเมตร มีฝาปิดเห็นไม่ชัดเจน

เมล็ด เมล็ดแบนรี ยาว 1 มิลลิเมตร มัน สีน้ำตาล ผิวเรียบ

6. GOMPHRENA

ลำต้น ไม้ล้มลุกอายุปีเดียว หรือหลายปี มีขนมาก หรือน้อย

ใบ ออกตรงข้าม เรียบ

ช่อดอก ออกบริเวณปลาย หรือซอกใบ หรือช่อดอกเชิงลดสั้น ดอกมีสองเพศ ใบประดับติดแน่นไม่ร่วง ใบประดับย่อย 2 ใบ กลีบรวมร่วงง่าย บางใส เป็นร่องคล้ายท้องเรือ มีสี กลีบรวม 5 กลีบ สั้นเชื่อมติดกันที่ฐาน หลังใบมีขนเหมือนขนแกะขึ้นหนาแน่น เกสรเพศผู้ 5 อัน ก้านชูเกสรเพศผู้เชื่อมติดกันครึ่งหนึ่งของความยาว หรือมากกว่า ปลายแยกเป็นแฉกลึก ไม่มีเกสรเพศผู้เทียม

รังไข่ แบนราบตามแนวยาว ยอกเกสรเพศเมียแยกเป็นแฉกลึก 2 แฉก ก้านชูรังไข่ห้อยลงตรง

และยาว ราบแบนตามแนวยาว ผลกระเปาะเมื่อแก่ไม่แตก

เมล็ด รูปทรงไข่ หรือรูปไต ผิวเรียบ

6.1 *Gomphrena globosa* (L.) บานไม่รู้โรย

ลำต้น ตั้งตรง หรือเจริญโค้งขึ้น พืชล้มลุกอายุปีเดียว สูงถึง 50 เซนติเมตร ลำต้นสามเหลี่ยม มีขนยาวตรง อ่อนนุ่มเล็กน้อย ขึ้นไม่หนาแน่นบนส่วนที่อายุน้อย

ใบ แคบ รูปรี-ขอบขนาน ค่อยๆ เรียวแหลมไปยังฐาน ปลายแหลม และมีติ่งหนามขนาดเล็ก ใบทั้งสองด้านมีขน ผ่านใบยาว 3-7 เซนติเมตร กว้าง 1-3 เซนติเมตร ก้านใบยาว 5-10 มิลลิเมตร

ช่อดอก ช่อดอกเดี่ยว ออกบริเวณปลาย บางครั้งพบออกช่อคู่บริเวณซอกใบ ช่อดอกกลมคล้ายผลส้ม ช่อดอกสีขาว ชมพู หรือม่วง เส้นผ่านศูนย์กลาง 15-25 มิลลิเมตร มีริ้ว

	ประดับ 2 อัน รูปรี ปลายแหลมรองรับ ยาว 2 เซนติเมตร ดอกติดแน่นไม่ร่วง มีใบประดับยาว 3 มิลลิเมตร รองรับ มีใบประดับย่อยยาว 7-12 มิลลิเมตร ขอบจักฟันเลื่อยถี่ หลังกลีบเป็นสัน กลีบรวมแคบ ยาว 5-8 มิลลิเมตร สีเหลือเข้ม-เขียว ก้านชูเกสรเพศผู้ยาว 4-8 มิลลิเมตร สั้นกว่ากลีบรวม
รังไข่	ยาวรูปทรงไข่ ก้านชูเกสรเพศเมียมียอดเกสรแยกเป็น 2 แฉก
ผล	รูปขอบขนาน-ทรงไข่ ผลกระเปาะ ยาว 1.5-2 มิลลิเมตร ผลถูกล้อมรอบด้วยใบประดับย่อย และกลีบรวม
เมล็ด	ขดแบบเปลือกหอย-รูปวงกลม ด้านข้างแบน ยาว 1.5-2 มิลลิเมตร

6.2 *Gomphrena celosioides* Mart. (บานไม่รู้โรยป่า)

ลำต้น	พืชล้มลุก อายุหลายปี ลำต้นเจริญโค้งขึ้น มีขนสั้นตรงนุ่มปกคลุม
ใบ	รูปไข่กลับ-ใบหอก มีขนแข็งหยาบ (hirsute) ยาว 2-3 เซนติเมตร กว้าง 0.5-1 เซนติเมตร ก้านใบยาว 0.5 เซนติเมตร
ช่อดอก	ก้านช่อดอกย่อยมีริ้วประดับ 2 อัน ช่อดอกเชิงลด รูปขอบขนาน ยาว 2-3 เซนติเมตร กว้าง 1-1.2 เซนติเมตร ใบประดับรูปไข่ ปลายเรียวแหลม ผิวเรียบ ยาว 3 มิลลิเมตร ใบประดับย่อยยาวเท่ากับ หรือยาวกว่ากลีบรวม ด้านหลังกลีบเป็นสันแคบ ส่วนล่างขอบเรียบ ดอกสีขาว กลีบรวมแคบรูปใบหอก 3 กลีบนอกมีขนยาว (villous) ที่ฐาน 2 กลีบใน มีขนที่หลังกลีบ เกสรเพศผู้สั้นกว่า หรือเท่ากับกลีบรวม อับเรณูไม่มีก้าน
รังไข่	ทรงไข่กลับ ก้านชูเกสรเพศเมียค่อนข้างสั้น ยอดเกสรเพศเมีย 2 แฉก
ผล	ทรงไข่กลับ
เมล็ด	นูนทั้งสองด้าน เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตร

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชวงศ์ผักโขม Amaranthaceae จากการศึกษาและสำรวจในพื้นที่ไม่ทำการการเกษตร และพื้นที่ที่ทำการเกษตร พบ วัชพืชวงศ์ผักโขม 6 สกุล ได้แก่ ACHYRANTHES, ALTERNANTHERA, AMARANTHUS, CELOSIA, SIAMOSIA, GOMPHRENA ซึ่งลักษณะเด่นของเมล็ดวัชพืชวงศ์ผักโขมนี้คือ เมล็ดนูนทั้งสองด้าน ผิวเรียบ สีดำแกมน้ำตาล เป็นมันวาว เมล็ดขนาดเล็กไม่แตกต่างกันมาก โดยมีตัวอย่างแห้ง และตัวอย่างเมล็ดเก็บรักษาอยู่ ณ กลุ่มวิจัยวัชพืช เพื่อใช้เปรียบเทียบและจัดจำแนกสำหรับผู้ที่สนใจ

เอกสารอ้างอิง

เต็ม สมิตินันท์. 2544. **ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544**. ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้. กรุงเทพฯ. 810 หน้า.

ดวงพร สุวรรณกุล และรังสิต สุวรรณเขตนิคม. 2544. **สัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชในประเทศไทย**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.146 หน้า.

Larsen, K. 1992. **Amaranthaceae in Flora of Thailand**. Vol. 5 Part 4 : 375 – 40.

ภาคผนวก

รูปที่ 1 *Achyranthes aspera* **(L.) (พันงูขาว)**

รูปที่ 2 *Alternanthera pungens* Kunth (หนามกระสุน) *Alternanthera phloxeroides* (Mart.) Griseb. (ผักเป็ดน้ำ)

รูปที่ 3 *Alternanthera phloxeroides* (Mart.) Griseb. (ผักเป็ดน้ำ)

รูปที่ 4 *Alternanthera sessilis* (L.) DC. (ผักเป็ดไทย)

รูปที่ 5 *Althernanthera bettzickiana* (Regel) (ผักเป็ดแดง)

รูปที่ 6 *Alternanthera dentata* (Moench) Scheygr. (บานไม่รู้โรยฝรั่ง)

รูปที่ 7 *Alternanthera paronichyoides* St. Hil. (ผักเป็ด)

รูปที่ 8 *Amaranthus spinosus* L. (ผักโขมหนาม)

รูปที่ 9 *Amaranthus viridis* L. (ผักโขมหัด)

รูปที่ 10 *Amaranthus lividus* L. (ผักขม)

รูปที่ 11 *Celosia argentea* (L.) (หงอนไก่ไทย)

รูปที่ 12 *Celosia argentea* L. var. *cristata* (L.) Kuntze (หงอนไก่ฝรั่ง)

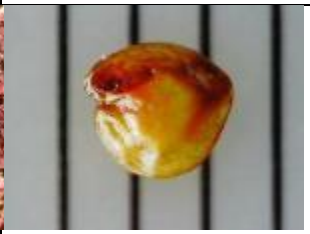
รูปที่ 13 *Cyathula prostrata* (L.) Blume) (พันงูแดง)

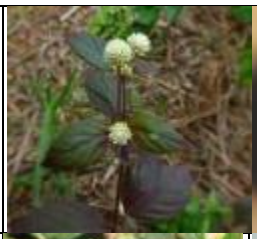
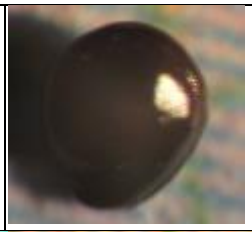
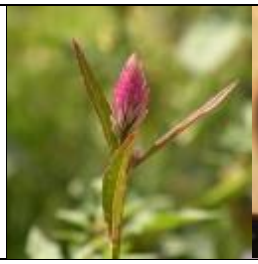
รูปที่ 14 ***Gomphrena globosa*** **(**L.) บานไม่รู้โรย

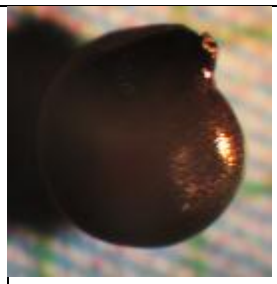
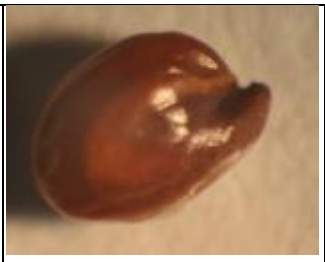
รูปที่ 15 *Gomphrena celosioides* Mart. (บานไม่รู้โรยป่า)

ภาคผนวก

ตารางเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ดวงศ์ Amaranthacea

ชื่อ วิทยาศาสตร์	ลักษณะวัชพืช	เมล็ด	รูปร่าง	ขนาดเมล็ด	สีเมล็ด	ลักษณะผิว
				กว้าง × ยาว		
1. ACHYRANTHES						
Achyranthes aspera (L.) (พันงูขาว)			-รูปไข่ - ทรงกระบอกยาว -รูปขอบขนาน (oblong)	0.8-1.0 × 1.8-2.0	-สีน้ำตาล -สีน้ำตาลแดงถึงน้ำตาลเข้ม	-ผิวเรียบ -ที่ผิวเมล็ดมีขนละเอียดและสั้นเล็กน้อย
2. ALTERNANTHERA						
Alternanthera pungens Kunth (หนามกระสุน)			ทรงไข่			ผิวเรียบ มัน
Alternanthera philoxeroides (Mart.) Griseb. (ผักเป็ดน้ำ)			กลมนูน	1.5×2	น้ำตาลดำ	
Alternanthera sessilis (L.) DC. (ผักเป็ดไทย)			-รูปร่างเหมือนไต ส่วนปลายเมล็ดหยักเว้า	0.8×1.0	-สีน้ำตาล -น้ำตาลแดง	-ผิวเมล็ดเรียบ เป็นมัน
Althernanthera bettzickiana (Regel) (ผักเป็ดแดง)			**-รูปร่างเหมือนไต ส่วนปลายเมล็ดหยักเว้า**	0.9×1.0	สีน้ำตาลแดง	-ผิวเมล็ดเรียบ เป็นมัน

Alternanthera dentata (Moench)Scheygr. (บานไม่รู้โรยฝรั่ง)			-รูปร่างค่อนข้างกลมส่วนปลายเมล็ดหยักเว้า	0.9×1.2		
Alternanthera paronichyoides St. Hil (ผักเป็ดขน)			ค่อนข้างกลม	1.3×1.2	สีน้ำตาล	ผิวเรียบ
3. AMARANTHUS						
Amaranthus spinosus L. (ผักโขมหนาม)			กลม	0.9×1.0	สีดำวาว	ผิวเรียบ
Amaranthus viridis L. (ผักโขมหัด)			กลม	0.9×1.0	สีดำวาว	ผิวเรียบ
Amaranthus lividus L. (ผักขม)			กลม	1.5×1.0	ดำเข้ม-น้ำตาล	ผิวเรียบ มันรอบเมล็ดเป็นจานหรือวงกลม
4. CELOSIA						
Celosia argentea (L.) (หงอนไก่ไทย)			ทรงกลมคล้ายไตแบน	0.8-1.0	สีดำ มันวาว	เป็นมัน-ผิวเมล็ดเรียบ

Celosia argentea L. var. *cristata* (L.) Kuntze (หงอนไก่ฝรั่ง)			ทรงกลมคล้ายไตแบน	0.8-1.0	สีดำ มันวาว	ผิวเมล็ดเรียบ
5. SIAMOSIA						
Cyathula prostrata (L.) Blume) (พันงูแดง)			เมล็ดแบนรี	0.7-1.3	สีน้ำตาล	ผิวเรียบ
6. GOMPHRENA						
Gomphrena globosa (L.) (บานไม่รู้โรย)			รูปไข่	1.0×1.5	สีน้ำตาล	-ขดแบบเปลือกหอย-รูปวงกลมด้านข้างแบน
Gomphrena celosioides Mart. (บานไม่รู้โรยป่า)			รูปไข่	1.2×1.5	สีน้ำตาลแดง	-นูนทั้งสองด้าน -รูปกลม (round) หรือค่อนข้างเป็นรูปขอบขนาน (oblong) และแบน

สัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์ *Euphorbia*
Seed Morphology of *Euphorbia* Weeds

ธัญชนก จงรักไทย[1/] ศิริพร ซึงสนธิพร[1/] กาญจนา พฤกษพันธ์[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยพฤกษศาสตร์และพิพิธภัณฑ์พืช สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช

บทคัดย่อ

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานเมล็ดวัชพืชชนิดต่างๆ ในสกุลน้ำนมราชสีห์ และรวบรวมตัวอย่างวัชพืช และเมล็ดวัชพืช สำหรับการอ้างอิงในการศึกษา โดยการสำรวจ ผลการศึกษา พบวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์ ได้แก่ หญ้ายาง *Euphorbia heterophylla* L. ใบต่างดอก *Euphorbia cyathophora* Murr น้ำนมราชสีห์ทะเล *Euphorbia atoto* G.Forst. *Euphorbia serpens* Kunth in Humb *Euphorbia bifida* (Hook. & Arn.) น้ำนมราชสีห์ *Euphobia hirta* L. *Euphorbia thymifolia* L. *Euphorbia reniformis* Blume. และ *Euphorbia protrata* Aiton, Hort. Kew. ed. Aiton, Hort. Kew. ed. ลักษณะเด่นของวัชพืชวงศ์นี้คือ มียางสีขาว และเมล็ดมีลักษณะ 3 พู ชัดเจน โดยเมล็ดมีขนาดเล็ก มีขนาดไม่แตกต่างกันมาก โดยมีตัวอย่างแห้งและตัวอย่างเมล็ดเก็บรักษาอยู่ ณ กลุ่มวิจัยวัชพืช เพื่อใช้เปรียบเทียบและจัดจำแนกสำหรับผู้ที่สนใจ

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-03-04-54

คำนำ

วัชพืชร้ายแรงในแต่ละประเทศ มักเป็นพืชที่มิได้มีถิ่นกำเนิดในประเทศนั้น และสามารถเจริญเติบโต แข่งขันเพื่อแย่งปัจจัยจำกัดได้ดีกว่าพืชอื่นๆ กลายเป็นพืชเด่นในพื้นที่นั้น เรียกพืชเหล่านี้ว่าพืชต่างถิ่นที่รุกราน ซึ่งเมื่อมีมากเกินความต้องการก็กลายเป็นวัชพืชนั่นเอง

การนำเข้าพืชต่างถิ่นที่รุกรานมีทั้งแบบตั้งใจ และไม่ตั้งใจ สาเหตุหลักของการนำเข้าแบบตั้งใจประการหนึ่งคือเพื่อใช้เป็นไม้ประดับ เช่น ผักตบชวา ธูปฤาษี ประเทศไทยมีความหลากหลายของพืชพรรณมากมาย หลายชนิดมีความสวยงาม ปลูกง่าย สามารถนำมาใช้เป็นไม้ประดับได้ แต่ไม่ได้รับความสนใจ จนบางชนิดหาพบได้ยากแล้วในปัจจุบัน ดังนั้นการนำพืชเหล่านี้มาใช้ประโยชน์ เป็นไม้ประดับ นอกจากจะเป็นการเป็นการอนุรักษ์พืชท้องถิ่นของประเทศแล้ว ยังเป็นการป้องกันไม่ให้เกิดวัชพืชร้ายแรงใหม่ๆ จากพืชต่างถิ่นที่รุกรานด้วย พืชท้องถิ่นที่สามารถปลูกเป็นไม้ประดับ

พืชวงศ์เปล้า (Euphorbiaceae) เป็นพืชบกที่มีการกระจายตัวทั่วโลก คาดว่ามีทั้งสิ้นประมาณ 300 สกุล 5,000 ชนิด ในประเทศไทยมีพืชวงศ์นี้ 87 สกุล ประมาณ 425 ชนิด (Kongkanda and Van Welzen, 2005) วัชพืชสำคัญในสกุล Euphorbia มีหลายชนิด เช่น หญ้ายาง ใบต่างดอก ลูกเขยตายแม่ยายทำศพ (Euphorbia heterophylla L.) น้ำนมราชสีห์ นมราชสีห์ ผักโขมแดง หญ้าน้ำหมึก หญ้งหลังอึ่ง (Euphorbia hirta L.) (Noda et al., 1994) น้ำนมราชสีห์ทะเล มะพร้าวนกเขา (Euphorbia atoto G.Forst.) หญ้ารก (Euphorbia prostrata Aiton) น้ำนมราชสีห์เล็ก (Euphorbia serpens Kunth) น้ำนมราชสีห์เล็ก (Euphorbia thymifolia L.) (ส่วนพฤกษศาสตร์, 2544)

พืชในสกุล Euphorbia นี้ มีหลายชนิดที่เป็นไม้ประดับ เช่น สลัดได (Euphorbia antiquorum L.) หรือต้นคริสต์มาส (Euphorbia pulcherrima Wild.) โพแดงใหญ่ (Euphorbia cotinifolia L.) สลัดไดเหลือง (Euphorbia lactea Haw.) สลัดไดประดับขาว (Euphorbia leucocephala Lotsy) โป๊ยเซียน (Euphorbia milii Des Moul.) สลัดไดสาละวิน (Euphorbia parkeri Binojkumar & N.P.Balakr.) สลัดไดขุนยวม (Euphorbia prolifera Buch.-Ham ex D.Don) คริสต์มาส (Euphorbia pulcherrima Willd. ex Klotzsch) พญาไร้ใบ (Euphorbia tirucalli L.) และ สลัดไดบ้าน (Euphorbia trigona Mill.)

การศึกษานี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์ ซึ่งมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของวัชพืชชนิดต่างๆ ในสกุลน้ำนมราชสีห์ และเพื่อรวบรวมตัวอย่างวัชพืช และเมล็ดวัชพืช สำหรับการอ้างอิง เพื่อแยกแยะให้เห็นความแตกต่าง และรวบรวมตัวอย่างสดและแห้งเพื่อประโยชน์ในการสืบค้น ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- การสำรวจได้แก่ แผนที่ สมุดบันทึก กรรไกร ถุงพลาสติก ปากกาเขียนพลาสติก หรือกระดาษป้ายชื่อ และกล้องถ่ายภาพ

- การจัดทำตัวอย่างแห้ง ได้แก่ แผงอัดพรรณไม้สำหรับจัดทำตัวอย่างแห้ง กระดาษฟูก กระดาษซับ ฟองน้ำสำหรับรองตัวอย่าง กระดาษติดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมปก พร้อมกระดาษป้ายชื่อ

- สารเคมีสำหรับกันเชื้อราและแมลง ได้แก่ เมทานอล (Methanol) คลอโรฟอร์ม และเมอคิวรี่ คลอไรด์ พร้อมเครื่องแก้วต่างๆ ที่จำเป็น

- การตรวจสอบชนิดพืช ได้แก่ แว่นขยายขนาด 10 เท่า กล้อง กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำแบบใช้แสง เข็มเขี่ย ปากคีบ หนังสือคู่มือการจำแนกพรรณไม้ต่างๆ

วิธีการ

สำรวจวัชพืช ในพื้นที่ทำการเกษตร และนอกพื้นที่ทำการเกษตร ในพื้นที่ที่สามารถเข้าถึงโดยรถยนต์ หรืออยู่ในระยะที่สามารถเดินเข้าถึงได้ การสำรวจโดยเดินตามแนวตั้งฉากกับด้านยาวของแปลงอย่างน้อย 3 แนว หากเป็นแปลงขนาดใหญ่เดินตามแนวทแยงมุม จดบันทึกวัชพืชที่พบ จนกว่าจะไม่พบชนิดใหม่เพิ่มเติม สำหรับวัชพืชที่ไม่สามารถระบุชนิดได้นำตัวอย่างสดมาศึกษารายละเอียดเพิ่มเติม ที่กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร

การตรวจสอบชนิดพืชโดยการเทียบกับตัวอย่างพันธุ์ไม้ในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ 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

ระยะเวลาเริ่มต้น 2554 สิ้นสุด 2556 ดำเนินการทดลองที่พื้นที่นิเวศเกษตรในภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคใต้ และห้องปฏิบัติการและเรือนทดลองของกลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์การทดลอง

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์ ระยะเวลา 1 ปี (ปีงบประมาณ 2554) พบ ตัวอย่างแห้งในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพสิรินธร พืชในสกุลน้ำนมราชสีห์ คือ Euphobia sessiliflora Roxb ; Euphobia serpens Kunth ; Euphobia thymilifolia L. ; Euphobia tirucalli ; Euphobia heterophylla L. ; Euphobia hirta L. และในพิพิธภัณฑ์พืชของมหาวิทยาลัยขอนแก่น พืชในสกุลน้ำนมราชสีห์ (Euphobia) คือ Euphobia thymilifolia L. ; Euphobia heterophylla L. ; Euphobia hirta L. ; Euphobia Milli L. และ

พบวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์ จากการสำรวจวัชพืชในจังหวัดต่างๆ ทั้งในพื้นที่การเกษตร และไม่ทำการเกษตร จำนวน 10 ชนิด พร้อมเก็บตัวอย่างพรรณไม้แห้ง และเก็บรักษาไว้ ณ กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ได้แก่ หญ้ายาง *Euphorbia heterophylla* L., ใบต่างดอก *Euphorbia cyathophora* Murr, น้ำนมราชสีห์ทะเล *Euphorbia atoto* G.Forst., สลัดไดสาละวิน หรือน้ำนมราชสีห์สาละวิน *Euphorbia parkeri* Binojkumar & Balakrishnan, *Euphorbia serpens* Kunth in Humb, *Euphorbia bifida* (Hook. & Arn.), น้ำนมราชสีห์

Euphobia hirta L., *Euphorbia thymifolia* L., *Euphorbia reniformis* Blume. และ *Euphorbia protrata Aiton, Hort. Kew. ed. Aiton, Hort. Kew. ed.* โดยมีรายละเอียดดังนี้

หญ้ายาง *Euphorbia heterophylla* L.

หญ้ายาง *Euphorbia heterophylla* L. (รูปที่ 1) เป็นไม้ล้มลุกอายุปีเดียว ทุกส่วนของลำต้นมีน้ำยางสีขาวขุ่น ต้นตั้งตรงสูงได้ถึง 1 เมตร ใบเดี่ยวเรียงเวียน ใบรูปรีหรือรูปแถบแกมรูปใบหอก กว้าง 1 – 5 ซ.ม. ยาว 5-8 ซ.ม. ดอกออกเป็นช่อกระจุกแน่น เกิดที่ปลายยอด มีใบเรียงเป็นกระจุกรองรับ โคนใบมีสีเขียวอ่อน ดอกแยกเพศ แต่อยู่บนช่อเดียวกัน กลีบรวมสีเขียว ดอกเพศเมียรูปร่างกลม ดอกเพศผู้เกิดข้าง ๆ ดอกเพศเมีย เกสรเพศผู้สีเหลือง ผลแบบผลแห้งแตกกลางพู มี 3 พู รูปกลมแป้น มีขนาด 3-4 มิลลิเมตร มีขนสั้นเล็กน้อย เมล็ด กลม-รี กว้าง 1.8-2.0 มิลลิเมตร ยาว 1.8-2.5 มิลลิเมตร

พบเป็นวัชพืชโดยทั่วไปทั้งในพื้นที่ทำการเกษตร และพื้นที่ไม่ทำการเกษตร โดยถูกจัดว่าเป็นวัชพืชร้ายแรงชนิดหนึ่ง โดยมีการแพร่กระจายสูง มีการเจริญเติบโตได้ดี พบทั้งพื้นที่แห้งแล้ง และพื้นที่ชื้นแฉะ โยพบทั่วไปทุกภาคของประเทศ

ใบต่างดอก *Euphorbia cyathophora* Murr

ใบต่างดอก *Euphorbia cyathophora* Murr (รูปที่ 2) เป็นไม้ล้มลุก มีลำต้นตั้งตรง อาจสูงได้ตั้งแต่หนึ่งเมตรถึงหกเมตร มียางสีขาวขุ่น ใบ เดี่ยว เป็นรูปรี หรือรูปใบหอกเว้าจนเกือบขาด เรียงเวียน ผิวใบเรียบมีขนเล็กน้อย โคนใบมีสีแดง และก้านใบก็มีขน ออกดอกเฉพาะในฤดูฝน ดอกเป็นช่อออกที่ปลายยอด ดอกแยกเพศแต่ก็รวมกันอยู่ในช่อหนึ่งเดียวกัน ดอกตัวเมียมีกลม ส่วนดอกผู้อยู่ข้างดอกตัวเมีย และเกสรสีเหลือง ดอกแต่ละช่อมีใบกระจุกรองรับ ผลมีลักษณะกลม ยาว 3-4 มิลลิเมตร ผลแห้งจะแตก3 พู เมล็ดมีขนาด 1.8-2.5 มิลลิเมตร ผิวไม่เรียบ มีตุ่มเล็กๆ

พบในพื้นที่ริมทะเล และพื้นที่ดอน จากการศึกษาพบเพียง 2 ที่ ได้แก้ อ่าวแขวงเถา จังหวัดนครศรีธรรมราช และพื้นที่ทำการเกษตร อำเภอบ้านเก่า จังหวัดกาญจนบุรี

น้ำนมราชสีห์ทะเล *Euphorbia atoto*G.Forst.

น้ำนมราชสีห์ทะเล *Euphorbia atoto*G.Forst. (รูปที่ 3) เป็นพืชข้ามปี มีเนื้อไม้ที่โคนต้น สามารถสูงได้ถึง 60 เซนติเมตร มียางสีขาวข้น ลำต้นสีเขียวหรือเขียวอมม่วง อวบน้ำ ใบเดี่ยว สีเขียวเรียบเป็นมัน หลังใบสีเขียวขาว ดอกช่อเป็นกระจุก ก้านดอก ยาว 4-9 มิลลิเมตร ออกตามง่ามใบ กลีบเลี้ยงขนาดเล็ก สีเขียว กลีบดอกสีเหลืองอ่อน ผลเดี่ยวกลม ผิวเรียบ ปลายผลแยกเป็น 3 พู มีขั้วผล เมล็ดมีขนาดยาว 1.4-1.5 มิลลิเมตร กว้าง 1.1-1.2 มิลลิเมตร แต่มักจะไม่สมบูรณ์ และเป็นหมัน สีน้ำตาล ผิวเรียบ

พบในพื้นที่บริเวณชายหาด ศูนย์ปฏิบัติการอุทยานแห่งชาติทางทะเล อำเภอถลาง จังหวัดภูเก็ต กระจายไปตามพื้นดิน เมื่อมีความหนาแน่นสูงจึงจะยกต้นขึ้น เป็นพืชคลุมดินในบริเวณชายหาด ช่วยยึดเกาะเม็ดทรายไม่ให้ปลิวตามลม พบเพียงแห่งเดียวโดยไม่พบที่อื่นอีก

สลัดไดสาละวิน น้ำนมราชสีห์สาละวิน *Euphorbia parkeri* Binojkumar & Balakrishnan

สลัดไดสาละวิน น้ำนมราชสีห์สาละวิน *Euphorbia parkeri* Binojkumar & Balakrishnan (รูปที่ 4) เป็นไม้กึ่งพุ่ม สูงได้ถึง 30 เซนติเมตร มีเนื้อไม้ชัดเจนบริเวณโคนต้น; ลำต้นสีเขียว ถึงสีแดง ไม่มีขนบนใบ ใบตรงข้าม มีหูใบระหว่างก้านใบ 1 มิลลิเมตร; ก้านใบ ยาว 1-1.5 มิลลิเมตร ใบรูปไข่กลับ ส่วนที่กว้างที่สุด 4-5 ถึง 9-11 มิลลิเมตร ส่วนปลายใบกลมมีติ่ง ช่อ

ดอกเป็นกลุ่ม มีก้านช่อดอกแต่สั้นมาก, กลีบดอกมีวงใบประดับยาว 1 มิลลิเมตร มีต่อม 4 ต่อม กว้าง 0.6 มิลลิเมตร ปลายกลม สีขาว มีรยางค์รอบดอก 0.8 โดย 1.1 มิลลิเมตร ก้านรังไข่ในสั้น (ยาว 0.5 มิลลิเมตร), ยอดเกสรตัวเมียยาว 0.6-0.7 มิลลิเมตร แยกเป็น 2 แฉก ผล: ก้านผลยาว 0.5-1 มิลลิเมตร ผลแห้งแตก 3 พู ขนาด ยาว 1.8-2 กว้าง 2 มิลลิเมตร มีร่องผล เมล็ด ขนาด 1.2 - 0.8 มิลลิเมตร สีน้ำตาล ไม่มีปุ่มแต่มีร่องตามขวาง

พบสลัดไดสาละวิน เพียงบริเวณหาดทรายบ้านแม่สามแลบ ตำบลแม่สามแลบ อำเภอสบเมย จังหวัดแม่ฮ่องสอน โดยลักษณะที่ลำต้นมีเนื้อไม้ ออกดอกจำนวนมาก มีสีสันสวยงาม จึงอาจนำไปปลูกเป็นไม้กระถางจำพวกบอนไซได้ เพื่อเป็นแนวทางทดแทนการนำเข้าพรรณไม้จากต่างประเทศ

Euphorbia serpens **Kunth in Humb**

Euphorbia serpens Kunth in Humb (รูปที่ 5) เป็นพืชฤดูเดียว ลำต้นสูงได้ถึง 20 เซนติเมตร สร้างกิ่งแขนงหนาแน่น มักจะเปราะบาง ขาดได้อย่างง่ายดาย และเปื่อยยุ่ย สีเขียวอ่อน ใบ ออกตรงข้าม มีหูใบระหว่างก้านใบ ยาว 0.4-0.6 มิลลิเมตร รูปสามเหลี่ยม และบางครั้งปลายแยกออกเล็กน้อย ก้านใบยาว 0.2-0.7 มิลลิเมตร ใบรูปไข่ กว้าง ส่วนที่ใหญ่ที่สุด 2.5-4 2 -3 มิลลิเมตร หรือกึ่งรูปหัวใจ หรือ สมิลลิเมตราตร ดอกเดี่ยว ออกตรงปลาย และซอกใบ ก้านช่อดอกยาว 0.8-1 มิลลิเมตร วงฐานดอกยาว 0.75 มิลลิเมตร มีต่อมสีม่วง 4 ต่อม ขนาดกว้าง 0.15-0.2 มิลลิเมตร ไม่มีก้านดอก, มีรยางค์รอบดอก สีขาวขนาด 0.2 ถึง 0.3-0.5 มิลลิเมตร ไม่แบ่งออก แต่เป็นหยักลึกรูปไข่ 2-3 ส่วน ; ปลายเกสรตัวเมียยาว 0.25-0.3 มิลลิเมตร ผล ก้านผลยาว 0.3-1.5 มิลลิเมตร; มีกลีบเลี้ยงแยกเป็นอิสระต่อกัน ผลขนาด 1.4-1.6 ถึง 1.6-1.9 มิลลิเมตร มีร่องเป็นสันนูน 3 พู เมล็ด มีขนาด 0.6-0.7 มิลลิเมตร สีน้ำตาลอ่อน หรือ สีน้ำตาลแดง ผิวเรียบ

พบบริเวณ ที่ชื้นแฉะ ทั้งพื้นที่ทำการเกษตร และพื้นที่ไม่ทำการเกษตร แปลงพืชผัก นา ข้าว พื้นที่ผลิตไม้กระถาง ในพื้นที่ภาคกลาง และภาคเหนือ สามารถผลิตเมล็ดได้เป็นจำนวนมาก มักพบในกระถางไม้ประดับ จึงมีโอกาสแพร่กระจายไปกับการค้าขายไม้ประดับไปยังที่ต่าง และมีโอกาสติดไปกับผลผลิต เนื่องจากเมล็ดมีขนาดเล็ก มีจำนวนค่อนข้างมาก

Euphorbia bifida **(Hook. & Arn.)**

Euphorbia bifida (Hook. & Arn.) (รูปที่ 6) เป็นพืชอายุหลายปี มีลำต้นจำนวนมาก ส่วนใหญ่ตั้งตรง, เป็นไม้กึ่งพุ่ม สูงได้ถึง 70 เซนติเมตร มักจะมีเปลือกและเนื้อไม้ (หรือไม่มี) ใบแบบตรงข้าม มีหูใบระหว่างก้านใบยาว 0.7-1.5 มิลลิเมตร รูปสามเหลี่ยมแคบ ก้านใบ ยาว 1-2 มิลลิเมตร แผ่นใบแคบ เป็นรูปไข่ รูปใบหอก (ไม่ค่อยเป็นรูปไข่ หรือ รูปไข่กลับ) ยาว 12-35 กว้าง 3-7 มิลลิเมตร ดอก มี 3-10 ดอก (หรือมากกว่า) รวมกลุ่มกันอยู่ตรงกลาง และซอกใบ ดอกสมมาตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร, ใบมักจะมีขนาดเล็กที่ปลายยอด , เรียบถึงมีขนเล็กน้อย ก้านดอกยาว 2-4 มิลลิเมตร วงกลีบดอก ยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร บางครั้งมีขนบริเวณปลายดอก มีต่อม 4 ต่อม ขนาด ยาว 0.5 กว้าง 0.7 มิลลิเมตร สีน้ำตาลแดง เป็นรูปวงกลม-ใบพาย ขนาดใหญ่ คล้ายกลีบดอก สีชมพู , สีขาว , มีรยางค์รอบดอกขนาด ยาว 1-1.5 กว้าง 1.5-2 มิลลิเมตร ยอดเกสรเพศเมีย ขนาด 0.8-1 มิลลิเมตร ปลายแยกออกครึ่งหนึ่งของความยาวา ผล เรียบ มีก้านขนาด 1-1.5 มิลลิเมตร ผลแบบแห้งแตก 3 พู ขนาด ยาว 2-2.25 กว้าง 2-2.5 มิลลิเมตร มีร่องบางครั้งมีขนาดของห้องภายในเมล็ดไม่เท่ากัน เมล็ดมีขนาด 1.4-1.8 มิลลิเมตร สีน้ำตาลอ่อน

พบทั้งบริเวณ ที่ชื้นแฉะ และที่แล้ง แปลงพืชไร่ นาข้าว ในพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ การแพร่กระจายยังอยู่ในพื้นที่จำกัด แต่มีโอกาสติดไปกับผลผลิต เนื่องจากเมล็ดมีขนาดเล็ก มีจำนวนค่อนข้างมาก

น้ำนมราชสีห์ *Euphobia hirta* L.

น้ำนมราชสีห์ *Euphobia hirta* L. (รูปที่ 7) เป็นไม้ล้มลุกขนาดเล็ก ลำต้นมีขนสีน้ำตาลปนเหลือง ใบ ใบเรียงตรงข้าม ใบเดี่ยว รูปรี ปลายใบแหลม โคนใบสอบเบี้ยวเล็กน้อย ขอบใบหยักฟันเลื่อย ผิวใบมีขนทั้งสองด้าน ดอก ดอกช่อออกตามซอกใบ ดอกแยกเพศ ไม่มีกลีบดอกและกลีบเลี้ยง ใบประดับเป็นรูปถ้วยสีเขียว เกสรตัวผู้มี 5 อัน เกสรตัวเมียมี 1 อัน รังไข่รูปกลมแกมสามเหลี่ยม มีท่อรังไข่ 3 อัน ผล ผลแห้งแตกได้ 3 พู ผลกลม เมล็ด สีน้ำตาลอ่อน ขนาด ยาว 3.25-3.5 มิลลิเมตร กว้าง 2.5-3.0 มิลลิเมตร ผิวเรียบ

พบเป็นวัชพืชที่มีการแพร่กระจายทั่วไป ทั้งพื้นที่ทำการเกษตร และพื้นที่ไม่ทำการเกษตร พบได้ทั่วไปทุกภาค แม้กระทั่งริมถนน ทางเท้า สามารถผลิตเมล็ดได้เป็นจำนวนมาก มีโอกาสติดไปกับผลผลิต เนื่องจากเมล็ดมีขนาดเล็ก มีจำนวนค่อนข้างมาก

***Euphorbia thymifolia* L.**

Euphorbia thymifolia L. (รูปที่ 8) เป็นไม้ล้มลุกขนาดเล็ก ปีเดียว ลำต้นแตกกิ่งก้านสาขามากทอดเลื้อยเป็นวง มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 20 เซนติเมตร หรือลำต้นตั้งตรง มีความสูงได้ประมาณ 15 เซนติเมตร ลำต้น กิ่งมีสีชมพูอมน้ำตาลแดง มีขนขึ้นกระจายอยู่ที่ส่วนต่างๆ ของลำต้นมีน้ำยางสีขาว ใบเป็นใบเดี่ยวเรียงตรงข้ามในระนาบเดียวกัน ลักษณะของใบเป็นรูปรี มีความยาวประมาณ 4-9 เซนติเมตร กิ่งด้านข้างใบมีขนาดเล็กกว่า ปลายใบมีลักษณะกลม มีหยักแหลมเล็กน้อย ส่วนโคนใบเบี้ยว ข้างหนึ่งเป็นติ่งคล้ายรูปหัวใจ ส่วนขอบใบเป็นจักคล้ายฟันเลื่อยแบบห่างๆ ก้านใบยาว 1 มิลลิเมตร เกลี้ยง ใบเบี้ยวส่วนหูใบเป็นรูปแถบ ออกดอกเป็นช่อตามซอกใบสั้นๆ และไม่มีก้าน ดอกมีสีชมพูอมแดง และมีขนกระจายอยู่ มีต่อม 4 ต่อม แต่ละต่อมมีขนาดประมาณ 0.1 มิลลิเมตร มีสีชมพูอมม่วง มีก้านสั้น ที่ต่อมมีรยางค์เป็นแผ่นสั้นๆ สีขมพู มีขนาดประมาณ 0.2 มิลลิเมตร รังไข่มี 3 พู แทบไม่มีก้าน ก้านเกสรตัวเมียยาว 0.6 มิลลิเมตร ปลายแยกเป็น 2 แฉก และสามารถออกดอกได้ตลอดทั้งปี ผลมีลักษณะเป็นแบบแคปซูล มีพู 3 พู มีความยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร มีขนสั้นและนุ่ม และก้านผลยาว 0.3-0.4 มิลลิเมตร เมล็ดมีสีเหลืองอมสีน้ำตาลผิวมีร่องตื้นๆ ลักษณะของเมล็ดเป็นรูปรี เป็นเหลี่ยมเล็กน้อย มีความยาวประมาณ 0.8 มิลลิเมตร ผลแก่แล้วแตก 3 พู ขนาดยาว 102-1.3 มิลลิเมตร กว้าง 1.5 มิลลิเมตร มีร่องชัดเจน บนผิวมีขน เมล็ด ขนาด ยาว 0.8 มิลลิเมตร กว้าง 0.4-0.5 มิลลิเมตร สีน้ำตาล ผิวเรียบ มีร่องตื้นๆ

พบเป็นวัชพืชที่มีการแพร่กระจายทั่วไป ทั้งพื้นที่ทำการเกษตร และพื้นที่ไม่ทำการเกษตร พบได้ทั่วไปทุกภาค สามารถผลิตเมล็ดได้เป็นจำนวนมาก มักพบในกระถางไม้ประดับ จึงมีโอกาสแพร่กระจายไปกับการค้าขายไม้ประดับไปยังที่ต่าง และมีโอกาสติดไปกับผลผลิต เนื่องจากเมล็ดมีขนาดเล็ก มีจำนวนค่อนข้างมาก

***Euphorbia reniformis* Blume.**

Euphorbia reniformis Blume. (รูปที่ 9) เป็นได้ทั้งพืชปีเดียว หรือพืชข้ามปี ต้นสูงได้ถึง 30 เซนติเมตร แตกแขนงเล็กน้อย มีรากแก้ว ลำต้นและส่วนของใบสีม่วง มีขนอ่อนปกคลุมบนใบ ยาว 0.2-0.8 มิลลิเมตร กระจายหนาแน่น ใบแบบตรงข้าม ค่อนข้างห่าง มีหูใบระหว่างก้านใบ

ขนาด 0.5-1 มิลลิเมตร ก้านใบยาว 1.5-2.5 มิลลิเมตร แผ่นใบรูปไข่ ส่วนที่กว้างที่สุด ยาว 10-14 มิลลิเมตร กว้าง 6.8 มิลลิเมตร ดอกมักจะเป็นกลุ่ม 5.15 ดอก เป็นกระจุก อยู่ตามซอกใบ ฐานดอกแทบไม่มี ยาว 0.7-1 มิลลิเมตร ผล มีก้านผลยาว 0.7-1.5 มิลลิเมตร ขนาด กว้าง 1.2-1.3 มิลลิเมตร ยาว 1.5 มิลลิเมตร เมล็ด ยาว 0.9-1.0 มิลลิเมตร กว้าง 0.7-0.8 มิลลิเมตร สีน้ำตาล ผิวเรียบ

พบในพื้นที่ทำการเกษตร จังหวัดสระบุรี และจังหวัดลพบุรี และยังไม่พบแพร่ระบาดไปในพื้นที่อื่นๆ มีโอกาสติดไปกับผลผลิต เนื่องจากเมล็ดมีขนาดเล็ก มีจำนวนค่อนข้างมาก

***Euphorbia protrata* Aiton, Hort. Kew. ed.**

Euphorbia protrata Aiton, Hort. Kew. ed. พืชปีเดียว ต้นสูงได้ถึง 15 เซนติเมตร มีลำต้นจำนวนมาก สีเขียวเข้ม ถึงสีแดง มีขนสั้นนุ่มปกคลุม ยาว 0.1-0.2 มิลลิเมตร ลำต้นมักจะแผ่ขยายเท้านั้น ไม่ตั้งตรง ใบ แบบตรงข้าม มีหูใบระหว่างก้าน ยาว 0.3-0.7 มิลลิเมตร รูปสามเหลี่ยมและจะลดรูปไป ก้านใบยาว 0.5-1 มิลลิเมตร แผ่นใบรูปไข่กลับ-รูปไข่ ส่วนที่ใหญ่ที่สุดยาว 3.5-6 กว้าง 2.5 มิลลิเมตร ดอก สีชมพู มีต่อสีม่วง ขนาดเล็ก 2-4 ต่อม ออกตรงซอกใบ มีใบเลี้ยงเสมือนกลีบดอก ขนาด ยาว 2 กว้าง 0.7-1.2 มิลลิเมตร มีขนปกคลุมจำนวนมาก ก้านชูเกสรตัวเมีย ยาว 0.2-0.3 มิลลิเมตร ผล มีก้าน ยาว 0.5-1.2 มิลลิเมตร ผลแห้งแตก 3 พู ขนาดยาว 1.1-1.2 มิลลิเมตร กว้าง 1.2-1.3 มิลลิเมตร มีร่องลึก ผิวเรียบ หรือบางส่วนมีขนอ่อนปกคลุม เมล็ด ขนาดยาว 0.9 กว้าง 0.6 มิลลิเมตร สีแดง สีเหลืองถึงสีน้ำตาล ไม่มีตุ่มบนผิวแต่มีรอยตาราง 4-5 รอย เป็นร่องขวาง

พบทั้งในพื้นที่ดอน และพื้นที่ชื้นแฉะ ภาคเหนือ และภาคกลาง ทั้งพื้นที่ทำการเกษตร และพื้นที่ไม่ทำการเกษตร สามารถผลิตเมล็ดได้เป็นจำนวนมาก มักพบในกระถางไม้ประดับ จึงมีโอกาสแพร่กระจายไปกับการค้าขายไม้ประดับไปยังที่ต่าง และมีโอกาสติดไปกับผลผลิต เนื่องจากเมล็ดมีขนาดเล็ก มีจำนวนค่อนข้างมาก

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์ Euphorbia พบวัชพืชสกุลนี้ ได้แก่ หญ้ายาง *Euphorbia heterophylla* L. ใบต่างดอก *Euphorbia cyathophora* Murr น้ำนมราชสีห์ทะเล *Euphorbia atoto* G.Forst. *Euphorbia serpens* Kunth in Humb *Euphorbia bifida* (Hook. & Arn.) น้ำนมราชสีห์ *Euphobia hirta* L. *Euphorbia thymifolia* L. *Euphorbia reniformis* Blume. และ *Euphorbia protrata Aiton, Hort. Kew. ed. Aiton, Hort. Kew. ed.* ลักษณะเด่นของวัชพืชวงศ์นี้คือ มียางสีขาว และเมล็ดมีลักษณะ 3 พู ชัดเจน โดยเมล็ดมีขนาดเล็ก มีขนาดไม่แตกต่างกันมาก โดยมีตัวอย่างแห้ง และตัวอย่างเมล็ดเก็บรักษาอยู่ ณ กลุ่มวิจัยวัชพืช เพื่อใช้เปรียบเทียบและจัดจำแนกสำหรับผู้ที่สนใจ

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิยาของเมล็ดวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์ ทำให้ได้ตัวอย่างวัชพืช และเมล็ด ที่สามารถตรวจสอบ-ยืนยันได้ ซึ่งขณะนี้ถูกเก็บรักษาไว้ที่กลุ่มวิจัยวัชพืช กรมวิชาการเกษตร โดยจะเป็นประโยชน์ต่อบุคคลากรของกรมวิชาการเกษตร หน่วยงานการศึกษา และหน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับความหลากหลายทางชีวภาพ เพื่อการยืนยันหรือตอบโต้ทางการค้า การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ตลอดจนการจัดการวัชพืชที่ถูกชนิด

2. ได้คู่มือการตรวจสอบเมล็ดวัชพืช ดังตารางแสดงการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์ โดยเป็นประโยชน์ต่อบุคคลกรของกรมวิชาการเกษตร หน่วยงานการศึกษา และหน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับความหลากหลายทางชีวภาพ โดยสามารถระยุชนิดของวัชพืชได้เบื้องต้น และหากต้องการความชัดเจนในชนิดวัชพืชนั้นๆ สามารถนำตัวอย่างที่เก็บได้มาเปรียบเทียบได้ที่กลุ่มวิจัยวัชพืชต่อไป

3.จากการศึกษาพบการแพร่กระจายของเมล็ดวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์ มักติดไปกับวัสดุปลูก เช่น การจำหน่ายไม้กระถาง หรือการเปลี่ยนถ่ายดิน จากพื้นที่หนึ่งไปยังอีกพื้นที่หนึ่ง ด้วยขนาดเมล็ดที่มีขนาดเล็ก และจำนวนการผลิตปริมาณมาก ทำให้ยากต่อการกำจัด มีการแพร่กระจายได้ง่าย

ทั้งนี้วัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์มักก่อให้เกิดผลกระทบต่อเกษตรกรผู้ปลูกไม้กระถางเพื่อการค้า เนื่องจากโตเร็วและมีจำนวนมาก ทำให้เกิดการแก่งแย่งน้ำและธาตุอาหาร ทำให้ไม้กระถางเจริญเติบโตช้า และไม่ได้คุณภาพตามที่ตลาดต้องการ เกษตรกรควรกำจัดในระยะที่วัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์ยังไม่ออกดอกและติดเมล็ด เพื่อเป็นการตัดวงจรการผลิตเมล็ด และกำจัดให้หมดสิ้นไปได้โดยเร็ว

เอกสารอ้างอิง

ประสาน วงศาโรจน์. 2540. การจัดการวัชพืชในนาข้าว. กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร. 175 หน้า.

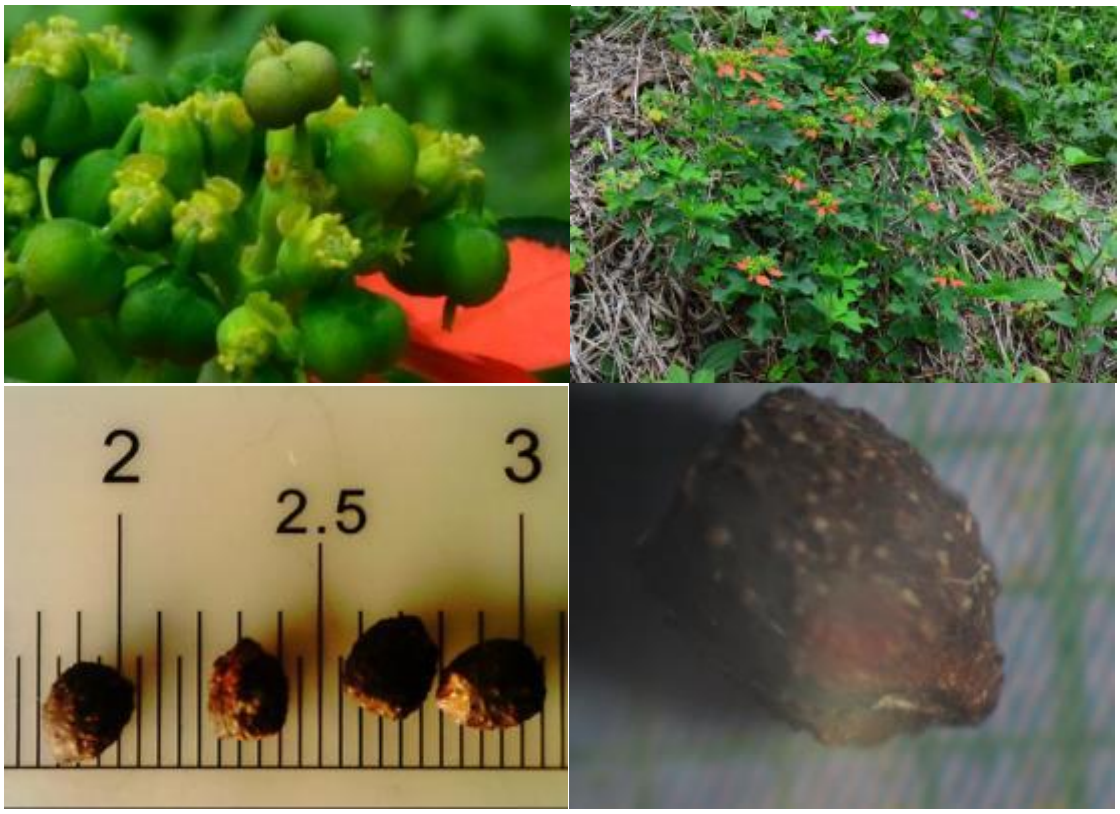
อำไพ ยงบุญเกิด.2518. วัชพืชบางชนิดในนาข้าว. สาขาพฤกษศาสตร์ กองวิทยาการ กรมวิชาการเกษตร. 62 หน้า.

Anonymous. 2009. Aquatic Plant Management - Aquatic Herbicides . http://www.ecy.wa.gov/programs/wq/plants/management/aqua028.html August 29, 2009.

Staff, O. 2009. Herbicide Recommendations for Water Weeds: Algae and Vascular Submergents. http://www.omafra.gov.on.ca/english/crops/pub75/19watalg.htm August 29, 2009.

ภาคผนวก

รูปที่ 1 หญ้ายาง *Euphorbia heterophylla* L.

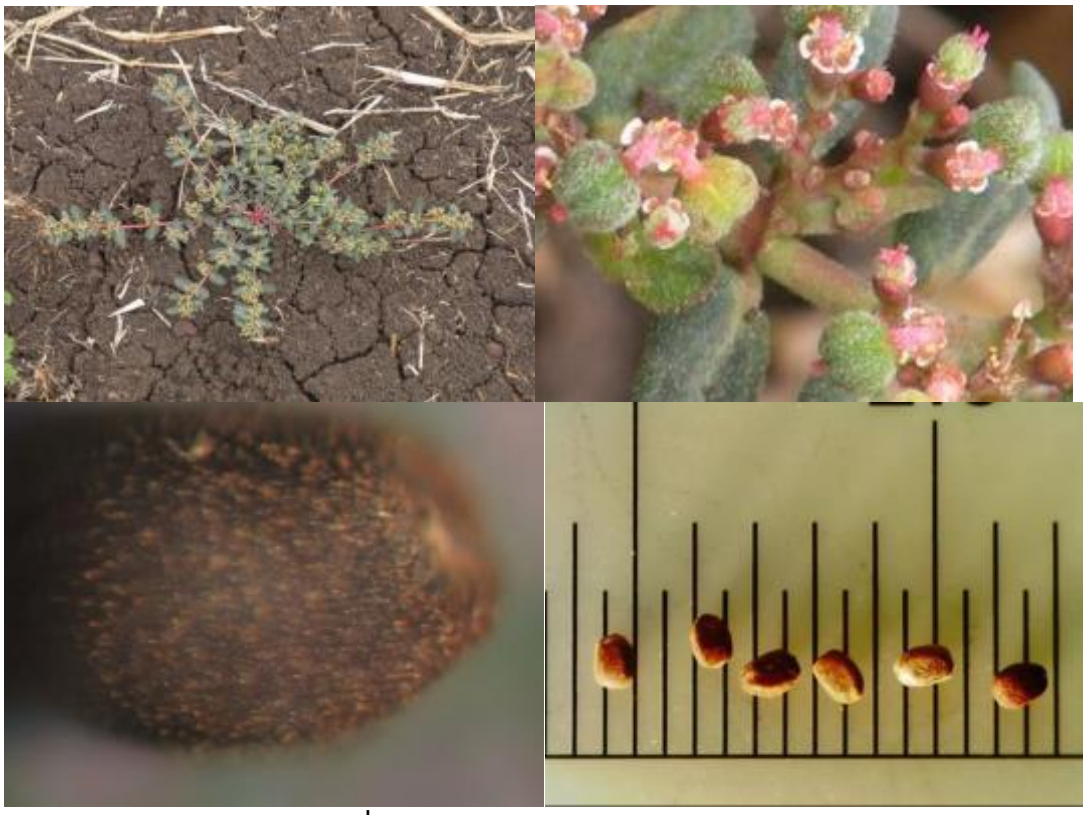


รูปที่ 2 ใบต่างดอก *Euphorbia cyathophora* Murr

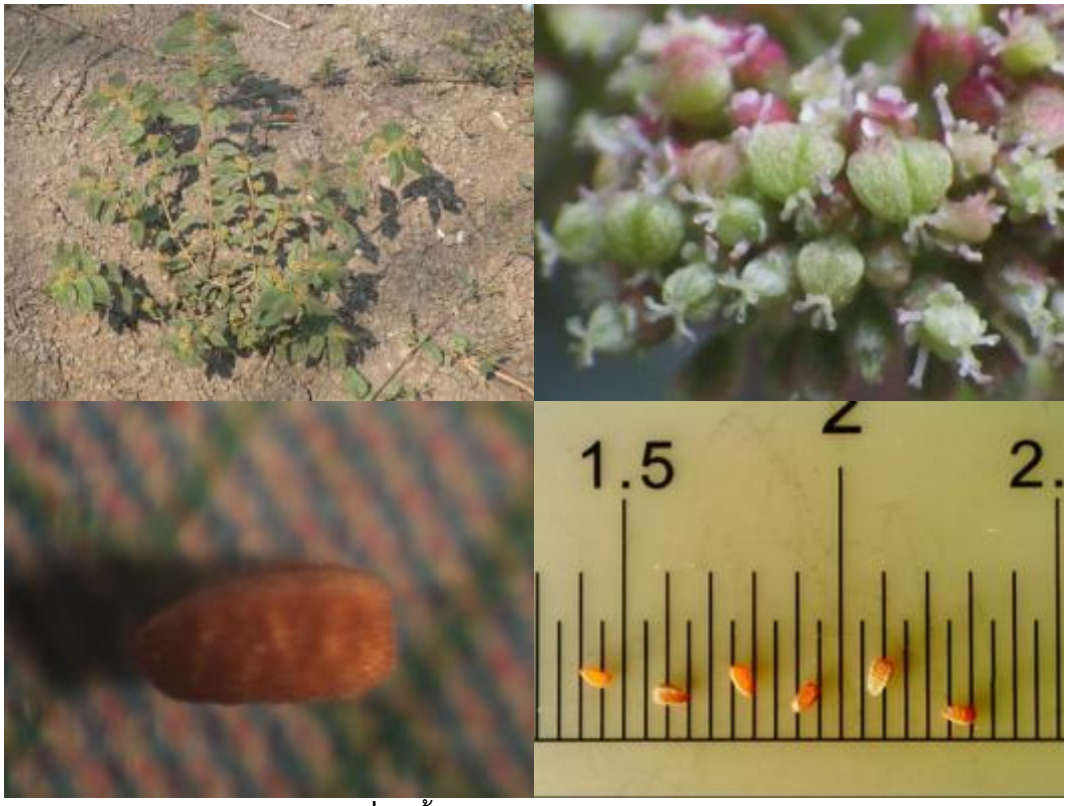
รูปที่ 3 น้ำนมราชสีห์ทะเล *Euphorbia atoto*G.Forst.

รูปที่ 4 สลัดไดสาละวิน น้ำนมราชสีห์สาละวิน
Euphorbia parkeri Binojkumar & Balakrishnan

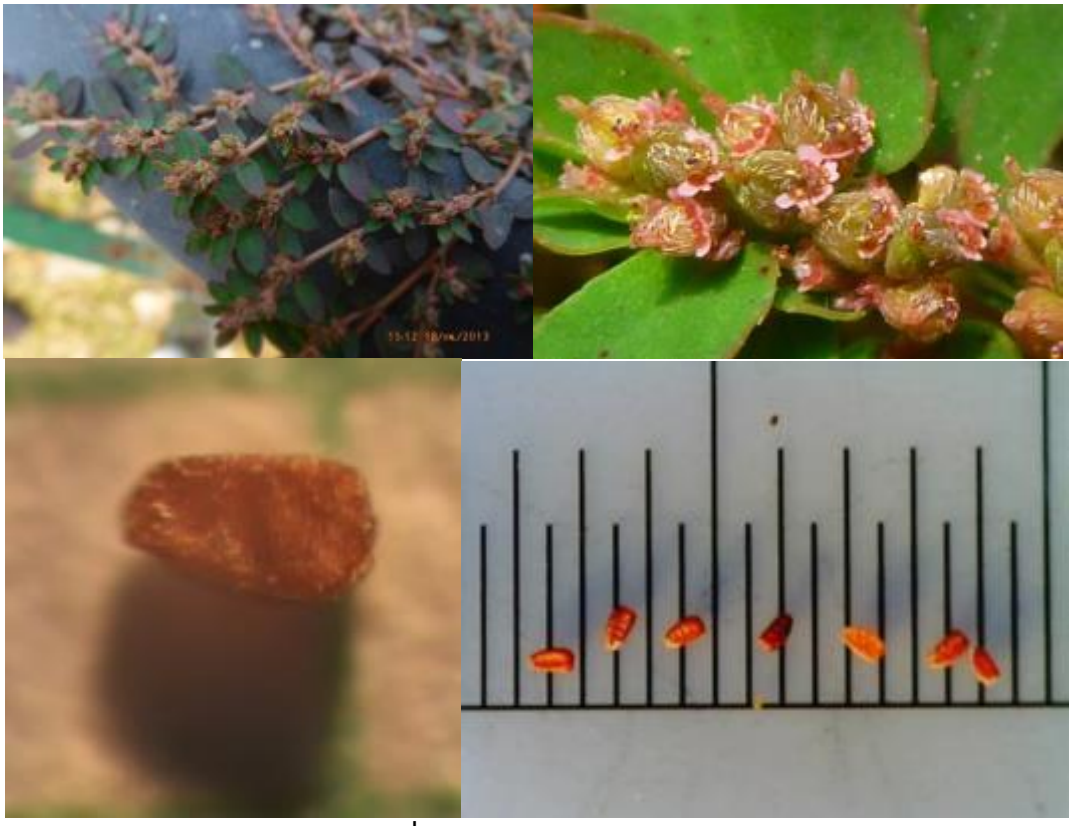
รูปที่ 5 *Euphorbia serpens* Kunth in Humb



รูปที่ 6 *Euphorbia bifida* (Hook. & Arn.)



รูปที่ 7 น้ำนมราชสีห์ *Euphobia hirta* L.

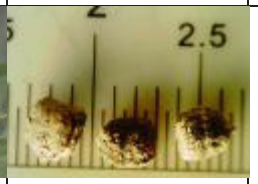
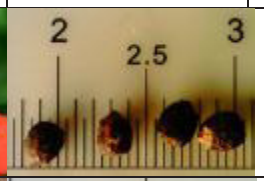
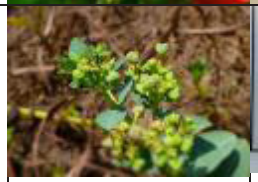
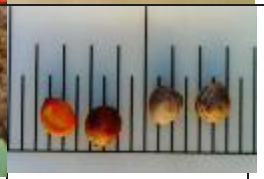
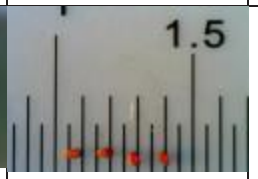
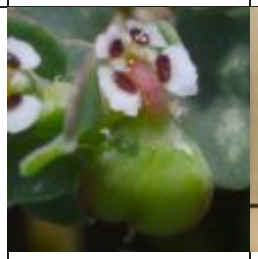
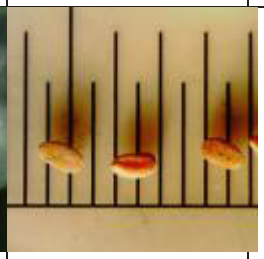


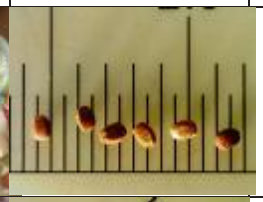
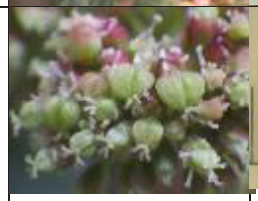
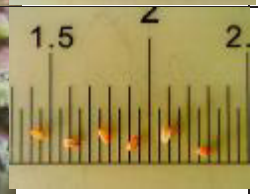
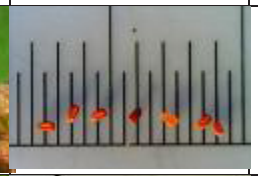
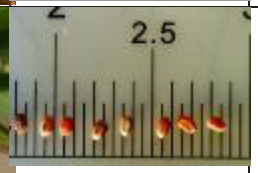
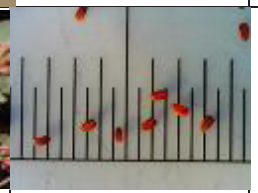
รูปที่ 8 *Euphorbia thymifolia* L.

รูปที่ 9 *Euphorbia reniformis* Blume.

รูปที่ 10 *Euphorbia protrata* Aiton, Hort. Kew. ed.

ตารางเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์

ชื่อวิทยาศาสตร์	ลักษณะวัชพืช	เมล็ด	รูปร่าง	ขนาดเมล็ด		สีเมล็ด	ลักษณะผิว
				กว้าง	ยาว		
หญ้ายาง *Euphorbia heterophylla* L.			กลม-รี	1.8-2.0	1.8-2.5	น้ำตาลเข้ม	ขรุขระ ไม่เรียบ
ใบต่างดอก *Euphorbia cyathophora* Murr			กลม-รี	1.2-1.8	1.2-1.8	น้ำตาลดำ	ไม่เรียบ มีตุ่มเล็กๆ
น้ำนมราชสีห์ทะเล *Euphorbia atoto*G.Forst.			กลม-รี	1.1-1.2	1.4-1.5	น้ำตาล	เรียบ
สลัดไดสาละวิน น้ำนมราชสีห์สาละวิน *Euphorbia parkeri* Binojkumar & Balakrishnan			ยาว-รี	0.7-0.8	1.2-1.3	น้ำตาล	ไม่มีปุ่มแต่มีร่องตามขวาง
Euphorbia serpens Kunth in Humb			ยาว-รี	0.6-0.7	1.2-1.3	น้ำตาลอ่อน น้ำตาลแดง	เรียบ

ชื่อวิทยาศาสตร์	ลักษณะวัชพืช	เมล็ด	รูปร่าง	ขนาดเมล็ด		สีเมล็ด	ลักษณะผิว
				กว้าง	ยาว		
Euphorbia bifida (Hook. & Arn.)			ยาว-รี	0.8-0.9	1.4-1.8	น้ำตาลอ่อน	ไม่เรียบ
น้ำนมราชสีห์ *Euphobia hirta* L.			ยาว-รี	2.5-3.0	3.25-3.5	น้ำตาลอ่อน	เรียบ
Euphorbia thymifolia L.			กลม-รี	0.7-0.8	0.4-0.5	สีน้ำตาลออกเหลือง	เรียบ
Euphorbia reniformis Blume.			กลม-รี	0.7-0.8	0.9-1.0	สีน้ำตาล	เรียบ มีร่องตื้น
Euphorbia protrata Aiton, Hort. Kew. ed.			ยาว-รี	0.5-0.6	0.9-1.0	สีเหลืองอมแดงน้อยๆ , สีเหลือง สีน้ำตาลอ่อน	มีร่องตามขวางชัดเจน 4-5 รอย

ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของสาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M King & H. Rob.)

Biology and ecology of Praxelis (*Praxelis clematidea* R.M. King & H. Rob.)

ยุรวรรณ อนันตนมณี[1/] จรรยา มณีโชติ[2/] สิริชัยสาธุวิจารณ์[1/]

สุพัตรา ชาวกงจักร์[3/]

[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[3/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาฬสินธุ์ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3

บทคัดย่อ

ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของสาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M King & H. Rob.) ดำเนินการที่โรงเรือนกลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชและพื้นที่เกษตรกรรมในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออก ในปี 2554-56 พบว่า สาบม่วงเป็นพืชฤดูเดียวมีอายุตั้งแต่เริ่มงอกจนติดเมล็ดประมาณ 45-50 วัน ดอกสีม่วงมีประมาณ 35 ดอกต่อต้นและสามารถสร้างเมล็ดได้ถึง 30-40 เมล็ดต่อดอก ไม่พบระยะพักตัวของเมล็ดสามารถเจริญเติบโตได้เมื่อได้รับความชื้นและแสง สาบม่วงมีเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดและเจริญเติบโตได้ดีในดินทราย (31.2%) รองลงมา คือ ดินร่วน (28.6%) ดินเหนียว (20.8%) และ ดินลูกรัง (14%) ตามลำดับ

การแพร่กระจายของสาบม่วง พบการแพร่กระจายของสาบม่วงในแปลงปลูกมันสำปะหลัง ยางพารา สับปะรด และไม้ผล ค่อนข้างหนาแน่น ซึ่งพบในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง(65%) ยางพารา (20%) สับปะรด(12%) และ ไม้ผล (3%)

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-03-08-54

คำนำ

สาบม่วง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Praxelis clematidea* R.M.King & H.Rob. อยู่ในวงศ์ Asteraceae มีแหล่งกำเนิดอยู่ที่ ทางเหนือของประเทศอาเจนตินา ทางใต้ของประเทศบราซิล ประเทศปารากวัย ประเทศโบลิเวีย และประเทศเปรู (Anonymous, 2003) เป็นพืชฤดูเดียว ความสูง 0.2-1.0 เมตร ลำต้นเป็นทรงกระบอกมีขน ใบมีรูปร่างคล้ายเพชร ขอบใบหยักเป็นซี่อยู่ระหว่าง 5-8 ซี่ ช่อดอกมีสีม่วงประกอบด้วยดอกย่อย 30-50 ดอกย่อย เมล็ดมีสีดำมีขนฟูอยู่รวมกันเป็นกระจุก (Anonymous, 2003) สาบม่วง, *P. clematidea* มีลักษณะคล้ายสาบแร้งสาบกา ในประเทศไทย พบครั้งแรกในแปลงทุเรียน จังหวัดจันทบุรี ประมาณปี พศ.2546 เนื่องจากมีลักษณะดอกคล้ายสาบแร้งสาบกา แต่ใบคล้ายสาบเสือ จึงเข้าใจผิดว่าเป็นวัชพืชในตระกูลเดียวกับสาบเสือ ในขณะนั้นได้มีการตั้งชื่อว่า หญ้าสาบ ใช้ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Chromolaena* sp. (นิรนาม, 2547) ต่อมาจากการสืบค้นพบว่าชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *P. clematidea* (Anonymous, 2003) สาบม่วงเป็นวัชพืชที่ใช้เมล็ดในการขยายพันธุ์และยังสามารถใช้ส่วนแขนงลำต้นที่ติดกับดินงอกรากเจริญเป็นต้นใหม่ได้ นอกจากนี้สาบม่วงยังมีการเจริญเติบโตและสร้างเมล็ดได้เร็ว แพร่กระจายโดย ลม วัสดุทางการเกษตร เครื่องจักรกลการเกษตร หรือแม้แต่กระทั่งมนุษย์เอง และยังสามารถปรับตัวให้อยู่รอดในสภาพอากาศและถิ่นที่อยู่ได้อย่างกว้างขวาง

การเจริญเติบโต การพัฒนา และการขยายพันธุ์ของวัชพืช ต้องอาศัยทั้งปัจจัยภายในและภายนอก ซึ่งปัจจัยภายใน ได้แก่ ช่วงการพักตัวของเมล็ดวัชพืช การงอกของเมล็ด การเจริญและพัฒนาการของต้นอ่อน การเจริญเติบโต การออกดอก การติดเมล็ด ระยะสุขแก่ของเมล็ด และตายของวัชพืช ปัจจัยภายนอก เช่น น้ำ ภูมิอากาศ แสง อุณหภูมิ ชนิดดิน พันธุกรรมพืช ฮอร์โมน และธาตุอาหารพืช เหล่านี้เป็นต้น ส่งผลต่อการเจริญเติบโต และการดำรงพันธุ์ของพืชทั้งทางตรง และทางอ้อม วงจรชีวิตของวัชพืช การขยายพันธุ์ และการพักตัวของเมล็ดในดินจึงมีความสำคัญมาก ต่อการอยู่รอดของวัชพืชในสภาพสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (Radosevich และ Holt, 1984)

เนื่องจากเมล็ดสาบม่วงสามารถปลิวลมได้จึงพบการระบาดไปได้ทั่วทุกพื้นที่ ทั้งในแปลงสับปะรด ยางพารา มันสำปะหลัง รวมถึงในแปลงหญ้าอาหารสัตว์ โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แต่ยังไม่ทราบถึงปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสาบม่วง วัชพืชที่พบในแต่ละพื้นที่มีลักษณะที่มีการเจริญเติบโตแตกต่างกันไปขึ้นกับสภาพพื้นที่ และภูมิอากาศที่แตกต่างกัน ดังนั้นการศึกษาพื้นฐานทางด้านชีววิทยา และนิเวศวิทยาของวัชพืชจะช่วยให้สามารถวางแผนในการจัดการวัชพืชได้อย่างเหมาะสม และตรงประเด็นปัญหาของวัชพืช ทำให้สามารถลดการใช้สารกำจัดวัชพืชที่เกินความจำเป็นซึ่งอาจมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และระบบนิเวศเกษตร ความสัมพันธ์ระหว่างวัชพืช และสิ่งแวดล้อม ระบบการปลูกพืช และการจัดการพื้นที่เพาะปลูก(ดวงพร, 2544) ดังนั้นการจัดการสาบม่วงที่มีประสิทธิภาพ จำเป็นต้องศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับประชากรของเมล็ดวัชพืช รวมทั้งชีววิทยาของวัชพืชที่สำคัญเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการวางแผนการจัดการต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดพิกัด GPS
2. กระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 นิ้ว
3. ดินปลูก ได้แก่ ดินร่วน ดินทราย ดินเหนียว และดินลูกรัง
4. กล้องถ่ายรูป
5. อุปกรณ์บันทึกข้อมูล

วิธีการ

1. ศึกษาชีววิทยาของสาบม่วงในห้องปฏิบัติการและปลูกในดินชนิดต่างๆ

1.1 ทำการเพาะเมล็ดสาบม่วงในห้องปฏิบัติการโดยเพาะเมล็ดในจานเพาะเพื่อทดสอบเปอร์เซนต์ความงอก จำนวน 5 ซ้ำ ซ้ำละ 50 เมล็ด

1.2 นำเมล็ดสาบม่วงที่ได้จากการสำรวจมาทำการปลูกทดสอบเพื่อดูการเจริญเติบโต ในดิน 4 ชนิด ได้แก่ ดินร่วน ดินทราย ดินเหนียว และดินลูกรัง ในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 นิ้ว จำนวน ชนิดละ 15 กระถาง กระถางละ 50 เมล็ด ไว้ในโรงเรือน เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตทุกๆ 3 วัน

2. ศึกษานิเวศวิทยาและการแพร่กระจายของสาบม่วง

ทำการสำรวจการแพร่กระจายของสาบม่วงในพื้นที่เกษตรกรรม โดยใช้ทำการสำรวจชนิดและปริมาณของวัชพืช โดยใช้ Sampling plot ขนาด 0.5x0.5 เมตร โดยวิธี Unrestricted sampling method (Anonymous., 1982) ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออก จำนวน 100 แปลง เพื่อเก็บข้อมูลการแพร่กระจาย และจดบันทึกข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) ชนิดดิน และชนิดพืชปลูกที่พบสาบม่วงแพร่กระจาย

เวลาและสถานที่

ดำเนินการที่โรงเรือนกลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และพื้นที่เกษตรกรรมในภาคตะวันออกเฉียงเหนือภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออก ระหว่างปี 2554-2556

ผลการทดลองและวิจารณ์

ชีววิทยาของสาบม่วง

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

สาบม่วงจัดอยู่ในวงศ์ Asteraceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Praxelis clematidea R.M. King & H. Rob. จัดเป็นพืชฤดูเดียว (annul) มีลำต้นตั้งตรงแตกกิ่งตามข้อ ดอกสีม่วง พบแพร่กระจายเกือบทั่วทุกพื้นที่ในประเทศไทยทั้งในพื้นที่เกษตรกรรม และไม่ได้ทำการเกษตร โดยมีลักษณะทั่วไปดังนี้

ลำต้น มีลักษณะลำต้นตั้งตรง ที่ลำต้นจะมีขนเส้นเล็กปกคลุมอยู่ทั่วทั้งลำต้นและกิ่ง มีความสูงลำต้นประมาณ 40-80 เซนติเมตร

ใบ เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ ใบจะมีขนปกคลุมทั่วทั้งใบ ปลายใบเหลมใบมีลักษณะคล้ายหอก ขอบใบหยักคล้ายฟันเลื่อยมีประมาณ 6-8 หยัก ใบจะออกเรียงเป็นใบเดี่ยวอยู่ตรงข้ามกันเป็นคู่ๆ มีขนาดใบยาวประมาณ 2-7 เซนติเมตร กว้างประมาณ 2-3 เซนติเมตร

ดอก ลักษณะดอกเป็นสีม่วง ออกดอกเป็นช่ออยู่ส่วนยอดของต้น มีขนาดช่อดอกยาวประมาณ 5 มิลิลิเมตร ถึง 1 เซนติเมตร ใน 1 ช่อดอกประกอบด้วยดอกย่อยประมาณ 30-40 ดอกย่อย ใน 1 ต้น มีจำนวนดอกเฉลี่ยประมาณ 35 ดอกต่อต้น

เมล็ด ลักษณะเมล็ดจะมีสีน้ำตาลเข้มจนถึงดำ มีลักษณะคล้ายหอกเมล็ดเรียวเล็กปลายแหลม มีขนาดเมล็ดประมาณ 3 มิลลิเมตร ที่ปลายเมล็ดด้านหนึ่งจะมีเส้นขนขนาดเล็กกระจุกอยู่มีความยาวประมาณ 3-4 มิลลิเมตร มีสีน้ำตาลอ่อน ช่วยให้สามารถปลิวแพร่กระจายไปกับลม ใน 1 ดอกสามารถผลิตเมล็ดได้ประมาณ 30-40 เมล็ด

<u>วงจรชีวิตสาบม่วง</u>

จากการศึกษาวงจรชีวิตของสาบม่วงโดยทำการเพาะเมล็ดในกระถางพลาสติก ขนาด 10 นิ้ว รดน้ำวันละ 2 ครั้ง เช้า เย็น ปล่อยให้มีการเจริญเติบโตตามธรรมชาติ ตั้งแต่เริ่มเพาะเมล็ดจนถึงติดเมล็ด พบว่า สาบม่วงจะมีใบเลี้ยงคู่แรกโผล่พ้นดินเมื่อ อายุได้ประมาณ 9-12 วัน และเมื่อต้นสาบม่วงเจริญเติบโตได้ประมาณ 2-3 สัปดาห์ จะเริ่มมีใบจริงคู่แรก และมีการพัฒนาทางด้านลำต้นและจำนวนใบเพิ่มขึ้น และเมื่ออายุได้ประมาณ 30- 35 วัน จะเริ่มมีตุ่มดอกชัดเจน และดอกมีพัฒนาการไปเรื่อยๆ จนแก่และติดเมล็ด รวมเป็นระยะเวลาทั้งสิ้นประมาณ 45-50 วัน (ตารางที่ 3)

<u>ความงอกของเมล็ดสาบม่วงในห้องปฏิบัติการและในดินชนิดต่างๆ</u>

ทดสอบความงอกของเมล็ดสาบม่วงในสภาพมีแสงและไม่มีแสงจากการทดลองพบว่าเมล็ดสาบม่วงที่เพาะภายใต้สภาพที่มีแสง มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูง 47.7% ส่วนภายใต้สภาพไม่มีแสงเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเพียง 3.2% แต่ลักษณะของเมล็ดที่งอกจะมีเพียงรากสีขาวไม่มีใบ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในปี 2554 ที่ได้ทำการทดสอบความงอกของเมล็ดสาบม่วงในห้องปฏิบัติการ ซึ่งพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสาบม่วงภายใต้สภาพมีแสงจะสูงกว่าภายใต้สภาพไม่มีแสง 26% และ0% ตามลำดับ จากการเพาะทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสาบม่วงในห้องปฏิบัติการพบว่า หลังจากเพาะเมล็ดได้ประมาณ 3-5 วัน เมล็ดจะแทงรากสีขาวออกมา มีความยาวรากประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร มีใบเลี้ยงคู่แรกเมื่ออายุได้ประมาณ 7-10 วันและมีความยาวรากเฉลี่ยอยู่ที่ประมาณ 3-5 เซนติเมตร มีขนาดความสูงต้นอยู่ที่ประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดวัชพืชในสภาพดินปลูกพบว่า เมล็ดจะมีใบเลี้ยงคู่แรกโผล่พ้นดินเมื่อ อายุได้ประมาณ 9-12 วัน และเมื่อต้นสาบม่วงเจริญได้ประมาณ 2-3 สัปดาห์ จะเริ่มมีใบจริงคู่แรก

ทำการปลูกทดสอบความงอกของเมล็ดสาบม่วงในดินชนิดต่างๆ ได้แก่ ดินร่วน ดินทราย ดินเหนียวดินลูกรัง หลังจากเพาะเมล็ดได้ 2 สัปดาห์ พบว่า เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดมีความแตกต่างกัน โดยในดินทราย (31.2%) มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่า ดินร่วน (28.6%) ดินเหนียว (20.8%) และ ดินลูกรัง (14%) ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ศึกษาการเจริญเติบโตของสาบม่วงในดิน 4 ชนิด ทำการศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของสาบม่วงในดิน 4 ชนิด ได้แก่ ดินร่วน ดินทราย ดินเหนียวและดินลูกรัง พบว่า สาบม่วงที่ปลูกในดินทรายจะมีการเจริญเติบโตดีและมีความสูงต้น จำนวนใบ ความยาวราก มากกว่า สาบม่วงที่ปลูกในดินร่วน ดินเหนียว และ ดินลูกรัง โดยสาบม่วงที่ปลูกในดินทรายมีความสูงของลำต้นมากกว่าและ

แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับดินชนิดอื่นๆ โดยความสูงต้นสาบม่วงที่ปลูกในดินทรายจะมีความสูงอยู่ที่ 50 เซนติเมตร รองลงมาเป็นดินร่วนมีความสูงต้น 44.8 เซนติเมตร ส่วนในดินเหนียวและดินลูกรังมีความสูงต้นอยู่ที่ 33 และ 30.2 เซนติเมตร ตามลำดับ จำนวนใบของสาบม่วงที่ปลูกทดสอบในดิน 4 ชนิด พบว่า ดินทราย ดินร่วน ดินเหนียว มีจำนวนใบไม่แตกต่างกันทางสถิติแต่แตกต่างกันกับจำนวนใบของสาบม่วงที่ปลูกในดินลูกรังที่มีจำนวนใบน้อยกว่าสาบม่วงที่ปลูกในดินชนิดอื่นๆโดย ดินทรายมีจำนวนใบเฉลี่ย 48.6 ใบ รองลองมาเป็นดินร่วนมีจำนวนใบ 45.5 ใบ ดินเหนียวมีจำนวนใบ 42.7 ใบ และดินลูกรังมีจำนวนใบ 34.8 ใบ ความยาวรากของสาบม่วงที่ปลูกในดินทั้ง 4 ชนิด พบว่า สาบม่วงที่ปลูกในดินทรายมีความยาวราก 11.3 เซนติเมตร มากกว่าและแตกต่างทางสถิติกับดินชนิดอื่นๆ ส่วนจำนวนดอกและจำนวนข้อของสาบม่วงในดินทั้ง 4 ชนิด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3)

นิเวศวิทยาและการแพร่กระจายของสาบม่วง

สำรวจการแพร่กระจายของสาบม่วง ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น มหาสารคาม กาฬสินธุ์ ร้อยเอ็ด เลย นครพนม และหนองคาย ภาคกลาง จังหวัดลพบุรี ราชบุรีภาคตะวันออก จังหวัดระยอง ฉะเชิงเทรา และภาคเหนือ จังหวัดนครสวรรค์ กำแพงเพชร เชียงราย เชียงใหม่ จำนวน 170 แปลง พบว่ามีวัชพืชที่พบทั้งหมด 23 ชนิด และพบสาบม่วงแพร่กระจายในทุกพื้นที่ที่ทำการสำรวจ สามารถแบ่งประเภทวัชพืชที่พบออกเป็น 3 ประเภทคือ วัชพืชใบกว้าง วัชพืชใบแคบและ กก โดยพบวัชพืชใบกว้าง 15 ชนิด ได้แก่ สาบม่วง น้ำนมราชสีห์ กระเพราผี ตีนตุ๊กแก หญ้าท่าพระ กระดุมใบเล็ก ผักปลาบ ผักเสี้ยน ลูกใต้ใบ ไมยราบ หญ้าละออง หญ้ายางถั่วผี ผักโขม ปอวัชพืช วัชพืชใบแคบมี 7 ชนิด หญ้าขจรจบดอกเล็ก หญ้าตีนนก หญ้านกสีชมพู หญ้าปากควาย หญ้าตีนติด หญ้าแพรก หญ้ารังนก และกก 1 ชนิด คือ แห้วหมู ทำการสำรวจในแปลงปลูกมันสำปะหลังและยางพารา พบการแพร่กระจายค่อนข้างหนาแน่น ในแปลงปลูกพืชของเกษตรกร รวมทั้งในพื้นที่ไม่ได้ทำการเกษตรและริมถนน ในการสำรวจพบว่าในแปลงจะมีต้นสาบม่วงเจริญเติบโตครบทุกระยะ ตั้งแต่ ต้นอ่อนที่ใบเลี้ยงกำลังโผล่พ้นดิน จนถึงต้นที่ติดเมล็ด ในแปลงที่สำรวจ (ตารางที่ 4)

เนื่องจากมันสำปะหลังเป็นพืชที่มีพื้นที่ปลูกค่อนข้างมากจึงพบการแพร่กระจายของสาบม่วงมากกว่าพืชอื่นคิดเป็น 65% ของจำนวนแปลงที่ทำการสำรวจ รองลงมาได้แก่ ยางพารา (20%) สับปะรด (12%) และไม้ผล (3%) ตามลำดับ และจากการสำรวจทำให้ทราบว่าสาบม่วงมีการแพร่กระจายครอบคลุมพื้นที่หลายจังหวัดและสามารถเจริญเติบโตได้ทุกสภาพพื้นที่ เมื่อนำข้อมูลการสำรวจมาสร้างเป็นแผนที่ (ภาพที่ 3) จะเห็นว่า พื้นที่ที่ทำการสำรวจค่อนข้างกระจายตัว และพบสาบม่วงกระจายอยู่ทั่วไป แสดงให้เห็นว่า สาบม่วงมีความสารมารถในการแพร่กระจายและเจริญเติบโตได้เกือบทุกพื้นที่ ซึ่งจากการสำรวจพื้นที่ต่างๆส่วนใหญ่จะมีลักษณะดินเป็นดินทราย และดินร่วนปนทราย สอดคล้องกับการทดลองศึกษาการเจริญเติบโตของสาบม่วงในดิน 4 ชนิด ที่ผลการทดลองทำให้ทราบว่าสาบม่วงเจริญเติบโตได้ดีในสภาพของดินทราย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. สาบม่วงเป็นพืชฤดูเดียวมีอายุตั้งแต่เริ่มงอกจนติดเมล็ดประมาณ 45-50 วัน มีดอกประมาณ 35 ดอกต่อต้นและ สามารถสร้างเมล็ด 30-40 เมล็ดต่อดอก ไม่พบระยะพักตัวของเมล็ด สามารถเจริญเติบโตได้เมื่อได้รับความชื้นและแสง เมล็ดสาบม่วงต้องการแสงในการงอกสาบม่วงมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงและสามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินทราย (31.2%) ซึ่งมีเปอร์เซนต์ความงอกสูงกว่า ดินร่วน (28.6%) ดินเหนียว (20.8%) และ ดินลูกรัง (14%) ตามลำดับ และสาบม่วงมีการเจริญเติบโตในดินทราย ได้ดีกว่าในดินชนิดอื่น

2. จากการสำรวจการแพร่ระบาดของสาบม่วงจำนวน 170 แปลง ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคเหนือ พบการแพร่กระจายของสาบม่วงในพื้นที่การเกษตร ได้แก่พื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง(65%) ยางพารา(20%) สับปะรด(12%) และ ไม้ผล (3%) นอกจากนี้ในพื้นที่ว่างเปล่าไม่ได้ทำการเกษตรก็พบการแพร่กระจายของสาบม่วงเช่นกัน เมล็ดสาบม่วงสามารถแพร่กระจายโดยลม น้ำ การนำพาของสัตว์ ติดไปตามเสื้อผ้าและเครื่องมือทางการเกษตร จึงทำให้ แพร่กระจายได้รวดเร็ว อีกทั้งมีลักษณะของดินในพื้นที่ที่ทำการสำรวจส่วนใหญ่เป็นดินทรายและร่วนปนทราย จึงเจริญเติบโตได้ดีในเกือบทุกพื้นที่

คำขอบคุณ

ผู้ทดลองขอขอบคุณ ผู้ร่วมงานทดลองและผู้ให้คำปรึกษาทุกท่าน ที่ให้คำแนะนำจนงานทดลองนี้สำเร็จได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ดวงพร สุวรรณกุล และรังสิต สุวรรณเขตนิคม. (2544). วัชพืชในประเทศไทย. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิรนาม. กรมวิชาการเกษตร. 2547. คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืช และการใช้สารกำจัดวัชพืช ปี 2547. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. 123 น.

Anonymouse. 2003 . Australian Weed Management. www.weeds.gov.au/.../alert/p-clematidea.html. 20 August 2009.

Radosevich, S.R., and J.S.Holt. 1984. Weed Ecology, Implications for weed management. John Wiley and sons, New York

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 การเจริญเติบโตและพัฒนาการของสาบม่วง

สัปดาห์ที่	การเจริญเติบโตและพัฒนาการของสาบม่วง
1	-
2	ใบเลี้ยงเริ่มโผล่พ้นดิน
3	ใบเลี้ยงเริ่มโผล่พ้นดินและเริ่มมีใบจริงคู่แรก และมีการเจริญข้อปล้อง 2-3 ข้อ
4	มีใบจริง 2-3 คู่ และมีการเจริญทางลำต้นมีข้อปล้อง 4-6 ข้อ
5	มีใบจริงและมีการเจริญทางลำต้นมีข้อปล้อง 6-7 ข้อ เริ่มมีการพัฒนาของดอกชัดเจนมีตุ่มดอก
6	ดอกบาน (ทยอยบานเรื่อยๆ)เริ่มติดเมล็ด
7	กลีบดอกแห้งร่วง เมล็ดแก่

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสาบม่วงในดิน 4 ชนิด ที่ 2 สัปดาห์

ชนิดดิน	เปอร์เซ็นต์ความงอก
ดินทราย	31.2
ดินร่วน	28.6
ดินเหนียว	20.8
ดินลูกรัง	14

ตารางที่ 3 ผลการเจริญเติบโตของสาบม่วงในดิน 4 ชนิด

ชนิดดิน	การเจริญเติบโตของสาบม่วง				
	ความสูงต้น	จำนวนใบ	ความยาวราก	จำนวนดอก^{ns}	จำนวนข้อ^{ns}
ดินร่วน	44.8 ab	48.6 a	6.7 b	47.28	6.6
ดินทราย	50.7 a	45.5 a	11.3 a	51.58	6.5
ดินเหนียว	33.0 b	42.7 a	7.9 ab	33.70	6.5
ดินลูกรัง	30.2 b	34.8 b	7.7 ab	23.58	6.4
C.V. (%)	11.5	22.5	26.7	35.5	10.8

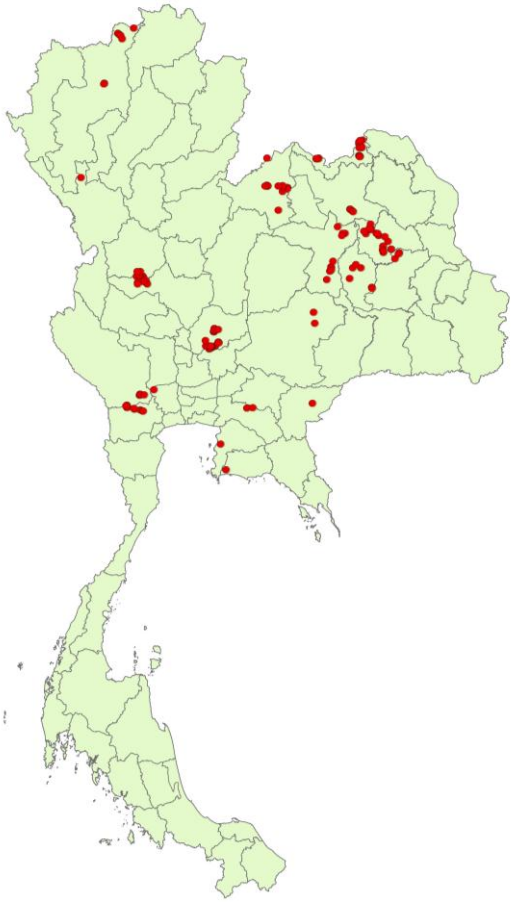
1/ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 4 ความถี่ของพื้นที่เกษตรกรรมที่ทำการสำรวจพบการแพร่กระจายของสาบม่วง

ชนิดพืชปลูก	จำนวนแปลงที่พบสาบม่วง	% Total
มันสำปะหลัง	110	65
ยางพารา	34	20
สับปะรด	21	12
ไม้ผล	5	3
รวม	170	100

ภาพที่ 1 ลักษณะของดอกสาบม่วงจนถึงติดเมล็ด

ภาพที่ 2 ลักษณะของเมล็ดสาบม่วง



ภาพที่ 3 แผนที่การสำรวจพบการแพร่กระจายของสาบม่วง จำนวน 170 แปลง

ภาพที่ 4 การแพร่กระจายของสาบม่วงในแปลงยางพารา สับปะรดและมันสำปะหลัง

สัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลลูกใต้ใบ *Phyllanthus* L.
Seed Morphology of *Phyllanthus* Weeds.

ธัญชนก จงรักไทย[1/] ศิริพร ซึงสนธิพร[1/] กาญจนา พฤกษพันธ์[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยพฤกษศาสตร์และพิพิธภัณฑ์พืช สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช

บทคัดย่อ

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลลูกใต้ใบ มีเพื่อทราบชนิด การแพร่กระจาย และลักษณะสัณฐานวิทยาเมล็ดของวัชพืชในสกุลลูกใต้ใบ และรวบรวมตัวอย่างวัชพืช และเมล็ดวัชพืชสำหรับการอ้างอิงในการศึกษา ซึ่งอยู่ในระหว่างการทดลองซึ่งยังไม่สิ้นสุดระยะเวลา ผลที่ได้จากการศึกษา พบ ตัวอย่างแห้งในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ ได้แก่ *Phyllanthus urinaria* L. *P. amarus* Schumach ex Thonn., *P. nirui* auct.nonL., *P. amarus* และ *P.urinaria* และจัดทำตัวอย่างแห้งตัวอย่างวัชพืชสกุลลูกใต้ใบที่ได้จากการสำรวจ โดยอยู่ระหว่างตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง และถ่ายภาพลักษณะต้น และสัณฐานวิทยาของเมล็ด

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-03-10-56

คำนำ

ประเทศไทยมีพืชในวงศ์เปล้า (Euphorbiaceae) มากถึง 433 ชนิด ซึ่งกระจายอยู่ใน 87 สกุล (Kongkanda Chayamarit and Perer C. Van Welzen, 2005) สกุลซึ่งมีทั้งที่เป็นพืชเศรษฐกิจ ไม้ประดับ และวัชพืช เช่น ยางพารา (*Hevea brasiliensis* (Willd. ex A.Juss.) Mull.Arg.) มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) ต้นพญาไร้ใบ (*Euphorbia tirucalli* L.) ตำแยแมว (*Acalypha indica* L.) เป็นต้น ส่วนที่อยู่ในสกุลลูกใต้ใบ (*Phyllanthus* L.) มีหลายชนิดที่เป็นวัชพืชทั่วไป และบางชนิดมีสรรพคุณทางสมุนไพร ลูกใต้ใบ ซึ่งมีชื่อไทยเพียงชื่อเดียว แต่มีถึง 3 ชนิด ได้แก่ *Phyllanthus urinaria* L. *P. amarus* Schumach ex Thonn., และ *P. niruri* auct.non L. ทั้งสามชนิดเป็นวัชพืชในพืชไร่หลายชนิด และพืชผักในบางพื้นที่ *P. amarus* และ *P.urinaria* มีสรรพคุณทางสมุนไพรมากมาย เช่น ใช้แก้โรคดีซ่าน เป็นยาขับปัสสาวะ เป็นยาฝาดสมาน บำรุงธาตุ เป็นต้น (ก่องกานดา, 2548)

เมล็ดวัชพืชเป็นส่วนสำคัญทำหน้าที่เป็นส่วนขยายพันธุ์ การทราบลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืช จะสามารถช่วยให้การตรวจสอบชนิดเมล็ดวัชพืชที่ปะปนไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ถูกต้องและรวดเร็วขึ้น สามารถนำข้อมูลไปประยุกต์ใช้แนะนำเกษตรกร ผู้สนใจ ในการป้องกันการเจือปนปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืชสกุลนี้ในเมล็ดพันธุ์ของพืชปลูก วัสดุปลูก และอุปกรณ์ทางการเกษตรได้ อันเป็นการช่วยลดการระบาด และแพร่กระจายโดยการปนเปื้อนไปกับเมล็ดพันธุ์ของพืชปลูก วัสดุปลูก และอุปกรณ์ทางการเกษตรได้ นอกจากนี้ยังสามารถใช้เป็นคู่มือในการสำรวจชนิดและจำนวนเมล็ดของวัชพืชที่อยู่ในดินในฤดูปลูก เพื่อคาดคะเนถึงผลเสียหายที่จะเกิดขึ้นและสามารถเลือกวิธีจัดการได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป (ดวงพรและรังสิต, 2544)

Muenscher, 1980 กล่าวว่าวัชพืชร้ายแรงหลายชนิดสามารถสร้างเมล็ดจำนวนมาก เมล็ดมีการพักตัวเมื่อสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม หรือมีอายุยาว นอกจากนี้หลายชนิดยังมีขนาดเล็ก ยากต่อการตรวจสอบ หรือมีขนาดใกล้เคียงกับเมล็ดพืชปลูก ทำให้แยกออกจากเมล็ดพันธุ์พืชปลูกได้ยาก

การศึกษานี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลน้ำนมราชสีห์ ซึ่งมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของวัชพืชชนิดต่างๆ ในสกุลน้ำนมราชสีห์ และเพื่อรวบรวมตัวอย่างวัชพืช และเมล็ดวัชพืช สำหรับการอ้างอิง เพื่อแยกแยะให้เห็นความแตกต่าง และรวบรวมชนิดที่มีคุณสมบัติเป็นพืชสมุนไพร เพื่อเป็นตัวอย่างสดและแห้งเพื่อประโยชน์ในการสืบค้นต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1 กล้องถ่ายรูปแบบดิจิตอล
2 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope)
3 เลนส์ขยาย 10 เท่า สำหรับการตรวจสอบเบื้องต้นในภาคสนาม
4 เครื่องวัดพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS)
5 กรรไกร มีด เสียม หรือพั่ว สำหรับตัด/ขุด ตัวอย่างพืช

6 แผงอัดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมกระกาษฟูก ฟองน้ำ และหนังสือพิมพ์ พร้อมเชือกไส้ตะเกียง และป้ายชื่อสำหรับผูกตัวอย่างพืช

7 กระดาษติดตัวอย่างพืช

8 กล่องใส่เมล็ดพืช

9 ขวดแก้ว และน้ำยาสำหรับดองตัวอย่างพืช (หากจำเป็น)

10 น้ำยาชุปตัวอย่างวัชพืช ประกอบด้วย ฟีนอล เมอคิวลิคคลอไรด์

11 การบูร

12 อุปกรณ์อื่นๆ ที่จำเป็น เช่น ถุงพลาสติกขนาดต่างๆ กระถางขนาดต่างๆ พร้อมดินและป้ายปัก สำหรับปลูกพืชตัวอย่างเพื่อเก็บเมล็ด และศึกษารายละเอียดของพืชเพิ่มเติม

13 สมุดบันทึก

วิธีการ

1 การสำรวจและเก็บตัวอย่าง

- กำหนดพื้นที่สำรวจ วางแผนการสำรวจเก็บตัวอย่าง แบบการสืบพบ (detection survey) โดยมีพืชสกุลลูกใต้ใบ เป็นพืชเป้าหมาย ในพื้นที่การเกษตรและสิ่งแวดล้อม

- สำรวจและเก็บตัวอย่างพืชทุกชนิดที่มีลักษณะของพืชสกุลลูกใต้ใบ ตามภูมิภาคต่างๆ ของประเทศไทย นำมาปลูกที่กลุ่มวิจัยวัชพืช เพื่อตรวจสอบชนิด และจัดทำตัวอย่างแห้ง

2 การตรวจสอบชนิดพืช โดยเทียบตัวอย่างพืชในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ อาคารพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร กรมวิชาการเกษตร หอพรรณไม้ กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช พิพิธภัณฑ์พืช ศ. กสิน สุวตะพันธุ์ ภาควิชาพฤษศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น และองค์การสวนพฤกษศาสตร์ รวมถึงสอบถามจากผู้ทรงคุณวุฒิ ของแต่ละวงศ์หรือสกุลของพืชนั้น ๆ ตลอดจนการตรวจสอบกับเอกสารคู่มือต่างๆ

3. การศึกษาลักษณะเมล็ด รวบรวมเมล็ดที่แก่จัดจากพื้นที่ หรือต้นที่นำมาปลูก ณ เรือนทดลองกลุ่มวิจัยวัชพืช ศึกษาลักษณะ รูปร่าง สี และลักษณะผิวเมล็ด ด้วยแว่นขยาย หรือกล้องกำลังขยายต่ำของแต่ละชนิด บันทึกภาพลักษณะเมล็ด นำมาเปรียบเทียบลักษณะของแต่ละชนิด เพื่อการจัดทำคู่มือสำหรับจำแนกต่อไป

4 การเก็บตัวอย่างเมล็ดวัชพืช เพื่อเก็บผลที่แก่เต็มที่ เลือกเมล็ดที่ไม่ถูกแมลงทำลาย และไม่เป็นโรค ทำความสะอาดเมล็ด ไม่ให้มีส่วนอื่นปะปน ผึ่งแดดให้แห้ง เพื่อลดความชื้นในเมล็ด นำใส่กล่องพลาสติกใส ปิดให้สนิท เพื่อกันแมลงเข้าทำลาย ปิดป้ายระบุชนิด วงศ์ วัน/เดือน/ปี ที่เก็บ ผู้เก็บ ให้เรียบร้อย เก็บรักษา ณ กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5 การจัดทำตัวอย่างแห้ง เก็บวัชพืชที่มีใบและดอกสมบูรณ์ ไม่ถูกแมลงทำลาย หากพืชมีขนาดเล็ก ควรมีราก ต้น ใบ –ดอก ครบ หากเป็นพืชไร้ดอก ควรมีส่วนที่ใช้ในการขยายพันธุ์ หรือลักษณะอื่นที่สามารถใช้ในการตรวจวิเคราะห์ชนิดได้ อัดในแผงอัดพรรณไม้ ขนาดประมาณ 50 x30 เซนติเมตร อย่างน้อยชนิดละ 2 ตัวอย่าง เมื่อแห้งแล้วติดลงบนกระดาษขาว ขนาด 45 x 30 เซนติเมตร พร้อมติดป้าย ระบุ ชื่อวัชพืช สถานที่ – นิเวศน์ พืชอาศัย วัน-เวลา ชื่อผู้เก็บ เก็บรักษา ณ กลุ่มวิจัยวัชพืช และพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ กรมวิชาการเกษตร

6 การเก็บตัวอย่างเมล็ดวัชพืช เก็บเมล็ดที่แก่เต็มที่ ไม่ถูกแมลงทำลาย และไม่เป็นโรค ทำความสะอาดเมล็ด ไม่มีส่วนอื่นปะปน ผึ่งแดดให้แห้ง เพื่อลดความชื้นในเมล็ด นำใส่กล่องพลาสติก ปิดให้สนิท เพื่อกันแมลงเข้าทำลาย เก็บรักษา ณ กลุ่มวิจัยวัชพืช เพื่อใช้ในการตรวจสอบ สืบค้นต่อไป

การบันทึกข้อมูล

ข้อมูลภาคสนาม : สถานที่หรือพิกัด สภาพนิเวศ ชนิดพืชปลูก ชนิดลักษณะวัชพืช วัน/เดือน/ปี ที่เก็บ และข้อมูลอื่นๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการตรวจสอบชนิด

ข้อมูลในห้องปฏิบัติการ : ขนาด รูปร่าง สี ลักษณะผิวเมล็ด และภาพเมล็ด นำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบลักษณะที่สามารถใช้ระบุชนิดจากเมล็ดและจัดทำคู่มือ

การตรวจสอบชนิดพืชโดยการเทียบกับตัวอย่างพันธุ์ไม้ในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ 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

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชสกุลลูกใต้ใบ ระยะเวลา 1 ปี (ปีงบประมาณ 2555) พบ ตัวอย่างแห้งในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพสิรินธร พืชในสกุลลูกใต้ใบ คือ พบ พืชสกุลลูกใต้ใบ ได้แก่ *Phyllanthus urinaria* L. *P. amarus* Schumach ex Thonn., *P. nirui* auct.nonL., *P. amarus* และ *P.urinaria* และตัวอย่างวัชพืชสกุลลูกใต้ใบที่ได้จากการสำรวจ และอยู่ระหว่างตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องต่อไปการดำเนินการ ณ กลุ่มวิจัยวัชพืช คือ การตรวจสอบชนิดวัชพืชสกุลลูกใต้ใบที่ยังไม่ทราบชื่อ โดยปลูกรวบรวมไว้ที่เรือนทดลองกลุ่มวิจัยวัชพืช ในปีงบประมาณ 2556 ได้จัดทำตัวอย่างวัชพืชแห้ง เพื่อเก็บรักษาไว้ในการประกอบการตรวจสอบชนิด และศึกษาลักษณะทางสรีระวิทยา ถ่ายภาพลักษณะต้น และเมล็ด โดยขณะนี้อยู่ระหว่างการดำเนินการจัดทำ

เอกสารอ้างอิง

ก่องกานดา ชยามฤต. 2548. พืชที่มีประโยชน์วงศ์เปล้า. บริษัท ประชาชน จำกัด, กรุงเทพฯ. 282 หน้า

ดวงพร สุวรรณกุล และรังสิต สุวรรณเขตนิคม. 2544. สัณฐานวิทยาของเมล็ดวัชพืชในประเทศไทย. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 146 น.

Muenscher, W. C. 1980. Weeds. 2nd edition. Cornell University Press, Ithaca and London.

ภาคผนวก

ลักษณะต้นและผลของวัชพืชสกุลลูกใต้ใบที่อยู่ระหว่างการจัดจำแนกที่ถูกต้อง

ชนิดของแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย
Study of the Rare and Endanger Insects Species in the Southern Part of Thailand

สุนัดดา เชาวลิต ชมัยพร บัวมาศ อิทธิพล บรรณาการ
เกศสุดา สนศิริ สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชนิดของแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย เพื่อประเมินสถานภาพของแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ ให้ได้ชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง เขตการแพร่กระจาย พร้อมจัดทำฐานข้อมูลแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ซึ่งสามารถนำไปใช้อ้างอิงทางวิชาการ สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2556 จากแหล่งที่มีสภาพป่าอุดมสมบูรณ์ ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย จากการศึกษาครั้งนี้พบแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ ทั้งหมด 11 ตัวอย่าง จำแนกได้ 4 ชนิด ได้แก่ ผีเสื้อร่อนลมสยาม (Siam Tree Nymph); *Idea leuconoe* (Lepidoptera: Danaidae) จำนวน 2 ตัวอย่าง ผีเสื้อค้างคาว (Giant Uranid Moth); *Lyssa zampa* Butler (Lepidoptera: Uraniidae) จำนวน 2 ตัวอย่าง และด้วงดินปีกแผ่น (Violin Beetle); *Mormolyce phyllodes* Hegenb (Coleoptera: Carabidae) จำนวน 3 ตัวอย่าง หิ่งห้อยยักษ์ (Giant Firefly); *Lampigera* sp. (Coleoptera: Lampyridae) จำนวน 4 ตัวอย่าง ตัวอย่างแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ทั้งหมดนำเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-02-00-02-54

คำนำ

แมลงหายากในความหมายของพิพิธภัณฑ์แมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร หมายถึง แมลงที่พิจารณาจากตัวอย่างที่เก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยเป็นชนิดที่จับได้เมื่อ 30-40 ปีมาแล้ว และสำรวจไม่พบแมลงชนิดนั้นอีก หรือพบแต่มีปริมาณน้อยมาก รวมทั้งแมลงที่มีอยู่ในบัญชีรายชื่อในอนุสัญญา CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) หรือ อนุสัญญาระหว่างประเทศว่าด้วยการค้า ซึ่งพืชและสัตว์ป่าที่กำลังสูญพันธุ์ ในบัญชีหมายเลข 2 องุ่น (2540) ได้รายงานว่าในประเทศไทยมีการค้าขายแมลงกันมาก จึงควรมีการอนุรักษ์แมลงที่หายากและสวยงามและได้ร่วมกับกรมป่าไม้กำหนดชนิดแมลงที่ต้องมีการอนุรักษ์ 13 ชนิด เป็นแมลงด้วงปีกแข็ง 4 ชนิด และผีเสื้อ 9 ชนิด เข้าไว้ใน พ.ร.บ.สงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า ปี พ.ศ.2535 เพื่อป้องกันการล่าและค้าแมลงที่หายากและใกล้สูญพันธุ์ นอกจากนี้ องุ่น (2543) รายงานว่าพบแมลงอนุรักษ์ 19 ชนิด ในประเทศไทย ในจำนวนนี้มี 13 ชนิด เป็นสัตว์คุ้มครอง ซึ่งประกาศอยู่ในบัญชีท้ายกฎกระทรวงฉบับที่ 4 (2537) ออกตามความในพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2535 และประกาศในราชกิจจานุเบกษา ฉบับกฤษฎีกา เล่ม 111 ตอนที่ 31 ก ลงวันที่ 16 พฤศจิกายน 2537

ประเทศไทยมีความหลากหลายทางด้านแมลงสูงทั้งด้านจำนวนชนิดและปริมาณ แต่จากสภาพแวดล้อมปัจจุบันนี้เกิดสภาวะโลกร้อน (Global Warming) ที่หมายถึงการเปลี่ยนแปลงในระดับโลก อันเป็นผลมาจากกิจกรรมการเบียดเบียนและทำลายธรรมชาติ โดยไม่ตระหนักถึงคุณค่าและผลที่จะติดตามมา โดยเฉพาะปัญหาในการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซน์ (CO_2) สู่ชั้นบรรยากาศ ซึ่งก่อให้เกิดปรากฏการณ์เรือนกระจก การกระทำดังกล่าวก่อให้เกิด การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Climate Change) ซึ่งก็คือความเปลี่ยนแปลงของดิน ฟ้า อากาศ ในระดับโลก ระดับภูมิภาค หรือระดับท้องถิ่น ที่เกิดขึ้นแล้วในอดีต กำลังเกิดขึ้นในปัจจุบัน หรืออาจจะเกิดขึ้นในอนาคต (โชติชัย, 2552) และส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศของแมลง ประกอบกับแมลงบางชนิดมีรูปร่างแปลก สวยงาม เป็นที่ต้องการและแสวงหาเพื่อสะสมไว้เป็นสมบัติส่วนตัวหรือซื้อขายแลกเปลี่ยน จึงมีการล่าจับแมลงกันมากเพื่อประโยชน์ทางการค้า จากปัญหาของระบบนิเวศที่เปลี่ยนแปลงไปรวมทั้งมีธุรกิจค้าแมลงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วนี้ ทำให้น่าเป็นห่วงว่าแมลงอาจขาดแหล่งที่อยู่อาศัยและแหล่งอาหารหรือถูกจับไปเป็นจำนวนมาก มีผลให้แมลงบางชนิดที่มีปริมาณน้อยอยู่แล้วในธรรมชาติอาจสูญพันธุ์ไปได้ ดังนั้นจึงได้ดำเนินการศึกษาชนิดของแมลงอนุรักษ์โดยเฉพาะแมลงที่สวยงามและหายาก ซึ่งมีการล่า การค้ามากไม่ให้สูญพันธุ์ไปจากประเทศไทย โดยเฉพาะในพื้นที่ภาคใต้นั้นยังมีทรัพยากรธรรมชาติที่อุดมสมบูรณ์ มีสภาพป่าเป็นป่าดิบชื้น มีความหลากหลายทางชีวภาพรวมถึงความหลากหลายของชนิดแมลง และพื้นที่ดังกล่าวยังไม่มีการศึกษาชนิดของแมลงอนุรักษ์ ดังนั้นจึงได้เนินการศึกษาชนิดแมลงอนุรักษ์ โดยเฉพาะแมลงที่สวยงามและหายาก และจากข้อมูลที่ได้ยังก่อให้เกิดประโยชน์ต่อการประเมินสถานภาพของแมลงหายาก แมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ และแมลงที่สูญพันธุ์แล้วได้อีกด้วย

การรวบรวมและเก็บรักษาตัวอย่างแมลง แมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ แมลงหายาก/ใกล้สูญพันธุ์ ในพิพิธภัณฑ์ และทั้งการจัดทำฐานข้อมูล พบว่าได้มีการจัดพิมพ์เอกสารวิชาการการเก็บรักษาตัวอย่างแมลงเพื่อการศึกษาวิจัยสำหรับแนะนำการเก็บและรักษาตัวอย่างแมลงก่อนนำส่ง เพื่อขอรับบริการการตรวจวิเคราะห์นอกจากนี้ ศิริณี (2545ก.) ยังได้จัดพิมพ์เอกสารเรื่อง พิพิธภัณฑ์-นิทรรศการแมลง และพิพิธภัณฑ์แมลง (ศิริณี, 2545ข.)

จากการสืบค้นข้อมูลแมลงในพิพิธภัณฑ์แมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เพื่อประกอบการวิเคราะห์ชนิดแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย พบว่ามีแมลงหลายชนิดที่สำรวจไม่พบมาเป็นเวลานานกว่า 30 ปี หรือสำรวจพบแต่มีปริมาณน้อยมาก ได้แก่

ผีเสื้อถุงทองปักษ์ใต้ *Troides amphrysus* Cramer (Lepidoptera: Papilionidae) ปัจจุบันมีตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์แมลงทั้งหมด 4 ตัวอย่าง สำรวจพบเมื่อ พ.ศ. 2502 จำนวน 1 ตัวอย่าง, พ.ศ. 2503 จำนวน 1 ตัวอย่าง และ พ.ศ. 2549 จำนวน 2 ตัวอย่าง

ผีเสื้อถุงทองป่าสูง *Troides helena* Linnaeu (Lepidoptera: Papilionidae) ปัจจุบันมีตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์แมลงทั้งหมด 2 ตัวอย่าง สำรวจพบเมื่อ พ.ศ. 2503 จำนวน 1 ตัวอย่าง และ พ.ศ. 2515 จำนวน 1 ตัวอย่าง

ผีเสื้อหางติ่งสะพายเขียว *Papilio palinurus* Fabricius (Lepidoptera: Papilionidae) ปัจจุบันมีตัวอย่างแมลงทั้งหมด 6 ตัวอย่าง สำรวจพบเมื่อ พ.ศ. 2458 จำนวน 1 ตัวอย่าง, พ.ศ. 2478 จำนวน 1 ตัวอย่าง, พ.ศ. 2502 จำนวน 2 ตัวอย่าง, พ.ศ. 2523 จำนวน 1 ตัวอย่าง และมี 1 ตัวอย่างที่ไม่ระบุช่วงเวลา

ผีเสื้อนางพญากอดเฟรย์ *Stichophthalma godfreyi* Rothschild (Lepidoptera: Amathusiidae) ปัจจุบันมีตัวอย่างแมลง 1 ตัวอย่าง สำรวจพบเมื่อ พ.ศ. 2519

ผีเสื้อหางยาวตาเคียวปีกลายหยัก *Actias maenas* Doubleday (Lepidoptera: Saturniidae) ปัจจุบันมีตัวอย่างแมลงทั้งหมด 5 ตัวอย่าง สำรวจพบเมื่อ พ.ศ. 2512 จำนวน 1 ตัวอย่าง, พ.ศ. 2513 จำนวน 1 ตัวอย่าง และ พ.ศ. 2540 จำนวน 1 ตัวอย่าง

ด้วงไวโอลิน *Mormolyce phyllodes* Hagenbach (Coleoptera: Carabidae) ปัจจุบันมีตัวอย่างแมลงทั้งหมด 6 ตัวอย่าง สำรวจพบเมื่อ พ.ศ. 2482 จำนวน 1 ตัวอย่าง, พ.ศ. 2496 จำนวน 1 ตัวอย่าง, พ.ศ. 2549 จำนวน 3 ตัวอย่าง และมี 1 ตัวอย่างที่ไม่ระบุช่วงเวลาเก็บ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1) ตัวอย่างแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ ที่รวบรวมได้จากแหล่งที่มีสภาพป่าอุดมสมบูรณ์

2) อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ชุดกับดักแสงไฟ (จอผ้าขาวขนาด 3×3 เมตร หลอดไฟแสงจันทร์, หลอดไฟแสงสีม่วง) ขวดฆ่า ขวดดอง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ซองกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง ถังรักษาความเย็น

3) สารเคมีต่างที่ใช้เก็บตัวอย่างแมลง เช่น เอทิลอะซีเตท แอลกอฮอล์ 80%

4) กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereomicroscope ,compound microscope และกล้องถ่ายภาพ

5) อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา roting และกระดาษไขเขียนแบบ

6) เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์

วิธีการ

1) สืบค้นข้อมูลแมลงในพิพิธภัณฑ์แมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เพื่อประกอบการวิเคราะห์ชนิดแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย

2) สำรวจและรวบรวมตัวอย่างแมลงจากแหล่งที่มีสภาพป่าอุดมสมบูรณ์ เช่น จากสวนพฤกษศาสตร์ สถานีวิจัย และบริเวณที่มีป่าไม้อุดมสมบูรณ์ต่างๆ ในเขตพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย โดยใช้ข้อมูลการสำรวจพบแมลงจากพิพิธภัณฑ์แมลงเป็นแนวทางในการวางแผนการออกสำรวจ โดยออกสำรวจทุกๆ 2 เดือน ในระยะเวลา 5 ปี

3) บันทึกลักษณะของพื้นที่ที่ทำการสำรวจแมลง รวมทั้งเก็บรายละเอียดเกี่ยวกับความชื้นสัมพัทธ์ อุณหภูมิ ความสูงจากระดับน้ำทะเล วันเดือนปี ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง และสถานที่ที่เก็บตัวอย่าง

4) นำตัวอย่างแมลงที่รวบรวมได้ มาจัดรูปร่างและตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิดจากลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่างลักษณะ ขนาด และสี เป็นต้น โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดแมลง ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ ซึ่งทำให้ทราบถึงชนิดของแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์

5) บันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแมลงโดยการถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ รวมถึงให้รายละเอียดบนแผ่นป้ายบันทึกของแมลงแต่ละตัว โดยบันทึกรายละเอียดของแมลงชนิดต่างๆที่สำรวจพบ และข้อมูลอื่นที่สำคัญ ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ที่จำแนกได้ วัน/เดือน/ปี สถานที่พบตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

6) นำข้อมูลและตัวอย่างแมลงที่บันทึกได้เปรียบเทียบกับข้อมูลและตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์โดยดูจำนวนที่มีในพิพิธภัณฑ์ ปีที่จับได้ครั้งสุดท้าย ศึกษาค้นคว้าข้อมูลจากเอกสารต่างๆ ถึงสถานภาพความมากน้อยของแมลงเหล่านั้น

7) จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบการเก็บรักษาตัวอย่างสากล โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากล

8) สรุปและจัดทำรายงานผลการวิจัย เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการทำการวิจัยต่อไป

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2553 – สิ้นสุด เดือนกันยายน 2558

สถานที่ พื้นที่ป่าอุดมสมบูรณ์ทางภาคใต้ของประเทศไทย และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลงกลุ่มกีฏและสัตวิวทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาชนิดของแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย พบแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ ทั้งหมด 11 ตัวอย่าง จำแนกได้ 4 ชนิด ดังตาราง

ตาราง แสดงชนิดของแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย

	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	อาหาร	แหล่งที่สำรวจพบ	จำนวน (ตัวอย่าง)
1	*Idea leuconoe* Erichson (Lepidoptera: Danaidae)	ผีเสื้อร่อนลมสยาม (Siam Tree Nymph)	-	จังหวัดภูเก็ต	2
2	*Lyssa zampa* Butler (Lepidoptera: Uraniidae)	ผีเสื้อค้างคาว (Giant Uranid Moth)	-	จังหวัด กระบี่ และสุราษฎร์ธานี	2
3	*Mormolyce phyllodes* Hegenb (Coleoptera: Carabidae)	ด้วงดินปีกแผ่น (Violin Beetle)	-	จังหวัดระนอง สุราษฎร์ธานี และภูเก็ต	3
4	*Lampigera* sp. (Coleoptera: Lampyridae)	หิ่งห้อยยักษ์, หิ่งห้อยช้าง (Giant Firefly)	หอยฝาเดียว	จังหวัดตรัง, ชุมพร	4

รายละเอียดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์แต่ละชนิด

***Idea leuconoe* Erichson** (ภาพที่ 1 ก)

อันดับ (Order) Lepidoptera
วงศ์ (Family) Danaidae
ชื่อสามัญ (Common name) ผีเสื้อร่อนลมสยาม (Siam Tree Nymph)
ลักษณะสำคัญ

ขนาดลำตัววัดจากขอบปีกด้านหนึ่งถึงขอบปีกอีกด้านหนึ่งกว้าง 12.6 เซนติเมตร ลำตัวเรียวยาว หัวสีดำ อกและปล้องท้องสีขาวสลับดำ ปีกคู่หน้าพื้นปีกสีขาว เส้นปีกสีดำมีจุดสีตดกระจายทั่วทั้งปีก คล้ายผีเสื้อร่อนลมน้อยและร่อนลมมลายู แตกต่างกันที่ตำแหน่งของจุด และขนาดปีกที่ใหญ่กว่าปีกคู่หลังคล้ายปีกคู่หน้า

แหล่งที่สำรวจพบ: อำเภอถลาง จังหวัดภูเก็ต
สถานภาพ: เป็นแมลงหายากใกล้สูญพันธ์

***Lyssa zampa* Butler** (ภาพที่ 1 ข)

อันดับ Lepidoptera
วงศ์ Uraniidae
ชื่อสามัญ ผีเสื้อค้างคาว: Giant Uranid Moth, Long-tailed Moth
ลักษณะสำคัญ

ขนาดลำตัววัดจากขอบปีกด้านหนึ่งถึงขอบปีกอีกด้านหนึ่งกว้าง 11.0-14.0 เซนติเมตร ลำตัวมีขนสีน้ำตาลเทาปกคลุม ปีกค่อนข้างบอบบาง ลวดลายปีกเพศผู้และเพศเมียคล้ายกันแต่เพศผู้

สีเข้มกว่า ปีกคู่หน้าและคู่หลังมีแถบสีขาวพาดขวางปีก ปีกคู่หลังขอบปีกด้านนอกมีติ่งคล้ายหางสองติ่ง ปลายติ่งที่ยาวมีสีขาว

แหล่งที่สำรวจพบ : จังหวัด กระบี่ และสุราษฎร์ธานี

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย: จังหวัดกรุงเทพมหานคร เชียงใหม่ นครศรีธรรมราช อุทัยธานี นครราชสีมา

สถานภาพ: เป็นแมลงที่กำหนดไว้ในบัญชีรายชื่อของอนุสัญญา CITES

Mormolyce phyllodes **Hegenb** (ภาพที่ 1 ค)

อันดับ Coleoptera

วงศ์ Carabidae

ชื่อสามัญ ด้วงดินปีกแผ่น : Violin Beetle

ลักษณะสำคัญ

เป็นด้วงในวงศ์ด้วงดิน มีลักษณะเด่นที่มีรูปร่างคล้ายไวโอลิน จึงเรียก “Violin Beetle” ลำตัวและปีกมีลักษณะแบน สีน้ำตาลคล้ายใบไม้แห้ง อกที่มีรูปร่างคล้ายหอก ขอบหยักไม่เป็นระเบียบ ปีกขรุขระ ขอบเรียบ รูปโค้งมนได้รูป

แหล่งที่สำรวจพบ: จังหวัดระนอง สุราษฎร์ธานี และภูเก็ต

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย: จังหวัดชัยภูมิ พิษณุโลก เชียงใหม่ นครราชสีมา ตรัง ลำปาง เลย นครนายก อุทัยธานี มีรายงานการพบเฉพาะในคาบสมุทรตอนใต้ของไทย ตั้งแต่จังหวัดนครศรีธรรมราช จนถึงประเทศมาเลเซีย จากข้อมูลการสำรวจในระหว่างปี 2547-2548 พบติดกับดักแสงไฟในท้องที่จังหวัดนครศรีธรรมราช ตรัง นราธิวาส และเพชรบุรี

สถานภาพ: เป็นแมลงที่กำหนดไว้ในบัญชีรายชื่อของอนุสัญญา CITES และในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร มีตัวอย่างทั้งหมด 6 ตัวอย่าง สำรวจพบเมื่อ พ.ศ. 2482 จำนวน 1 ตัวอย่าง, พ.ศ. 2496 จำนวน 1 ตัวอย่าง, พ.ศ. 2549 จำนวน 3 ตัวอย่าง และมี 1 ตัวอย่างที่ไม่ระบุช่วงเวลาเก็บ

Lampigera **sp.** (ภาพที่ 1 ง)

อันดับ Coleoptera

วงศ์ Lampyridae

ชื่อสามัญ หิ่งห้อยยักษ์, หิ่งห้อยช้าง (Giant Firefly)

ลักษณะสำคัญ

ตัวเต็มวัยเพศผู้มีปีกขนาดลำตัว 2 เซนติเมตร หัวสีดำ ปล้องออกมีแผ่นแข็งสีน้ำตาลอ่อนขยายคลุมอกทั้งสามปล้อง ปีก 2 คู่สีน้ำตาลเทาปกคลุมส่วนท้อง ปล้องทำแสงตั้งอยู่ที่ปล้องท้องสองปล้องสุดท้าย กระพริบแสงส่งสัญญาณเพื่อการสื่อสารในการดำรงชีวิตหรือหาคู่ผสมพันธุ์ ตัวเต็มวัยเพศเมียไม่มีปีกลักษณะเหมือนหนอนมีขนาดค่อนข้างใหญ่ลำตัวยาวถึง 6-10 เซนติเมตร มีแผ่นแข็งหุ้มลำตัวสีขาว-น้ำตาลอ่อน ต่างจากตัวหนอนที่มีแผ่นแข็งบริเวณหัวและอกสีน้ำตาลเข้ม บริเวณลำตัวสีดำ อวัยวะทำแสงอยู่ที่ปล้องท้องปล้องสุดท้าย

แหล่งที่สำรวจพบ: จังหวัดระนอง สุราษฎร์ธานี และภูเก็ต

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย: จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง แม่ฮ่องสอน จันทบุรี ชุมพร นครศรีธรรมราช พัทลุง และตรัง

สถานภาพ: เป็นแมลงหายากใกล้สูญพันธ์

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาครั้งนี้พบแมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ ทั้งหมด 11 ตัวอย่าง จำแนกได้ 4 ชนิด ได้แก่ ผีเสื้อร่อนลมวยาม (Siam Tree Nymph); *Idea leuconoe* (Lepidoptera: Danaidae) จำนวน 2 ตัวอย่าง ผีเสื้อค้างคาว (Giant Uranid Moth); *Lyssa zampa* Butler (Lepidoptera: Uraniidae) จำนวน 2 ตัวอย่าง และด้วงดินปีกแผ่น (Violin Beetle); *Mormolyce phyllodes* Hegenb (Coleoptera: Carabidae) จำนวน 3 ตัวอย่าง หิ่งห้อยยักษ์, หิ่งห้อยช้าง (Giant Firefly); *Lampigera* sp. (Coleoptera: Lampyridae) จำนวน 4 ตัวอย่าง

การศึกษาแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ นอกจากจะมีประโยชน์อย่างมาก ต่อการประเมินสถานภาพของแมลงที่พบ และเป็นโอกาสให้ผู้วิจัยได้ค้นหาพืชอาหาร เพื่อที่จะสามารถนำมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณและปล่อยคืนสู่ธรรมชาติ ข้อมูลทั้งหมดที่ได้ยังเป็นประโยชน์ในการจัดทำฐานข้อมูลทรัพยากรพันธุกรรมของแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ในประเทศไทย เพื่อเป็นแหล่งสืบค้นของนักวิชาการ นักเรียน นักศึกษาและบุคคลทั่วไป อีกทั้งเป็นข้อมูลสนับสนุน / ยืนยัน / เพิ่มเติม ในการจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงอนุรักษ์ของประเทศไทย ตามบัญชีรายชื่ออนุสัญญา CITES ดังนั้น ควรมีการศึกษาวิจัยในเรื่องนี้อย่างจริงจังและต่อเนื่องไม่มีวันสิ้นสุด หากต้องการที่จะฟื้นฟู ปรับปรุงสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมกับแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ชนิดต่างๆ อันจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งทั้งทางตรงและทางอ้อม ในการอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุกรรมแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ให้คงอยู่ในธรรมชาติอย่างสมดุลและยั่งยืนตลอดไป

เอกสารอ้างอิง

โชติชัย สุวรรณาภรณ์ . 2552. ผลกระทบ และแนวทางการแก้ไขปัญหา Climate Change. สำนักงานเศรษฐกิจการคลัง.

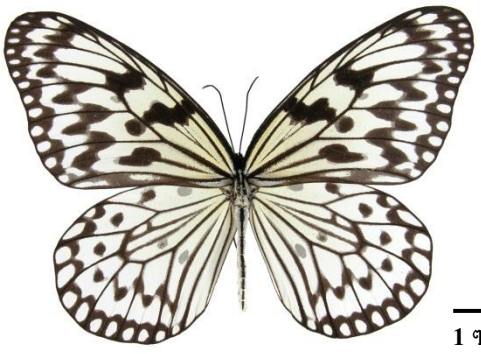
ศิริณี พูนไชยศรี. 2545ก. พิพิธภัณฑ์นิทรรศการแมลง. แผ่นพับ. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตรกรุงเทพฯ. พิมพ์ครั้งที่ 1.

ศิริณี พูนไชยศรี. 2545ข. พิพิธภัณฑ์แมลง. แผ่นพับ. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร,

องุ่น ลิ่ววานิช. 2540. การอนุรักษ์แมลงในประเทศไทย. ว. กีฏ. สัตว. 19(2): 95-99.

องุ่น ลิ่ววานิช และ สุระ พิมพะสาลี. 2543. แมลงอนุรักษ์. เอกสารวิชาการแผ่นพับ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

Hollaway, J. D. 2530. The Moth of Borneo. United Selangor Press Sdn., Bhd., Kuala Lampur, Malaysia.



ก

ข

ค

ง.

ภาพที่ 1 แมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย

ก. ผีเสื้อร่อนลมสยาม (Siam Tree Nymph); *Idea leuconoe*

ข. ผีเสื้อค้างคาว (Giant Uranid Moth); *Lyssa zampa* Butler

ค. ด้วงดินปีกแผ่น (Violin Beetle); *Mormolyce phyllodes* Hegenb

ง. หิ่งห้อยยักษ์ (Giant Firefly) *Lampigera* sp.

ความหลากชนิดของแมลงปออันดับโอโดนาทา (Odonata) ในภาคเหนือของประเทศไทย

Species Diversity of Dragonflies in Order Odonata in the Northern Part of Thailand

อิทธิพล บรรณาการ สุนัดดา เชาวลิต ชมัยพร บัวมาศ
ชฎาภรณ์ เฉลิมวิเชียรพร เกศสุดา สนศิริ สิทธิศิโรดมภ์ แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจ รวบรวมแมลงปอในเขตภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2555 ถึงเดือนกันยายน 2556 นำตัวอย่างแมลงปอที่รวบรวมได้มาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานเพื่อตรวจจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สามารถจำแนกชนิดแมลงปอได้ 2 วงศ์ (Family) 4 ชนิด 291 ตัวอย่าง ซึ่งจัดอยู่ในอันดับ (Order) Odonata วงศ์ Libellulidae ได้แก่ แมลงปอบ้านไร่เคลือบโลหะปลายใส *Rhyothemis plutonia* Selys 31 ตัวอย่าง แมลงปอบ้านแผ่นปีกกว้าง *Pantala flavescens* (Fabricius) 116 ตัวอย่าง แมลงปอบ้านใหม่เฉียง *Neurothemis fluctuans* (Fabricius) 127 ตัวอย่าง และวงศ์ Platycnemididae คือแมลงปอเข็มน้ำตก *Coeliccia chromothorax* (Selys) 17 ตัวอย่าง การทดลองเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุดต้องดำเนินการต่อในปี 2557

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-02-00-03-54

คำนำ

ในจำนวนแมลงทั้งหลายแมลงปอนับว่าเป็นแมลงที่มีขนาดใหญ่และสีสันสวยงามชนิดหนึ่ง เป็นแมลงที่คุ้นเคยและอยู่ใกล้ตัวมนุษย์ แมลงปอเป็นสัตว์ที่ล่าสัตว์อื่นกินเป็นอาหาร ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัย มีธรรมชาติของการเป็นตัวห้ำตลอดชีวิต กินแมลงเกือบทุกชนิดและทุกตัวที่อ่อนแอกว่า เช่น ยุง ริ้น แมลงวัน ผีเสื้อ ผึ้ง รวมทั้งแมลงปอด้วยกันเอง แมลงปอเป็นสัตว์ที่ไม่มีอันตรายต่อมนุษย์ มีประโยชน์สำหรับการควบคุมทางชีวภาพ และสามารถเป็นตัวบ่งชี้ถึงความอุดมสมบูรณ์ของสภาพแวดล้อมได้เป็นอย่างดี (Charles and Norman, 2005) แมลงปอจะหายไปถ้าน้ำเริ่มสกปรกและเน่าเสีย ประเทศไทยมีการค้นพบแมลงปอมากกว่า 295 ชนิด แต่เนื่องจากภาวะโลกร้อน สถานการณ์ป่าไม้ และแหล่งน้ำในประเทศไทยถูกทำลายจนเหลือน้อยลง ทำให้การศึกษาและค้นพบแมลงปอเป็นไปด้วยความยากลำบากมากขึ้น เพราะป่าไม้เป็นที่อยู่เพียงแหล่งเดียวที่เหมาะสมกับแมลงปอมากที่สุด ถึงแม้ว่าเราจะสามารถปลูกป่าทดแทนได้แต่สภาพแวดล้อมก็ไม่สมบูรณ์เท่ากับในธรรมชาติ ปัจจุบันสภาพทางภูมิศาสตร์และสภาพแวดล้อมทางตอนเหนือของประเทศไทยนั้นมีความอุดมสมบูรณ์มากกว่าภูมิภาคอื่นๆ ทั้งในเรื่องของสภาพอากาศ พื้นที่ป่าไม้ แม่น้ำ และน้ำตก อาทิ ลักษณะภูมิประเทศของจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง และลำพูน มีทั้งพื้นที่ภูเขา พื้นที่ป่าต้นน้ำลำธาร พื้นที่ราบลุ่มน้ำ ที่ราบเชิงเขา และพื้นที่เกษตรกรรม จึงเป็นพื้นที่ที่มีความเหมาะสมสำหรับการศึกษาความหลากชนิดของแมลงปอ การศึกษาความหลากชนิดและการเก็บรวมรวมตัวอย่างแมลงปอจะได้จำนวนตัวอย่างแมลงปอและข้อมูลที่เป็นประโยชน์อย่างมาก ในการศึกษาถึงจำนวนชนิด ชื่อวิทยาศาสตร์ และเขตการแพร่กระจายของแมลงปอในภาคเหนือ รวมถึงสภาพความอุดมสมบูรณ์ของสิ่งแวดล้อม รวมทั้งได้ตัวอย่างแมลงปอเพื่อเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง เพื่อใช้เป็นแหล่งข้อมูล สืบค้นอ้างอิง สำหรับนักวิชาการ นักวิจัย นิสิต นักศึกษา เกษตรกร อีกด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ตัวอย่างตัวเต็มวัยแมลงปอและตัวอ่อนที่รวบรวมได้จากแปลงปลูกพืช พื้นที่ป่าไม้ แม่น้ำ และน้ำตก อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ขวดฆ่าที่บรรจุสารเอทิลอะซีเตท ขวดดอง ปากคีบพู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ซองกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง ถังรักษาความเย็น อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิม เข็มหมุดหัวกลม ไม้จัดรูปร่างแมลง ปากคีบ โหลชื้น ตู้อบแมลง อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น น้ำกลั่น alcohol 50-100%, sodium hydroxide 10%, clove oil และ canada balsam เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล่องสไลด์ถาวร ตู้อบสไลด์ถาวร กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope กล้องถ่ายภาพ อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotring และกระดาษไขเขียนแบบ เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของแมลงปอ

วิธีการ

สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของแมลงปอจากเอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้อง ดำเนินการสำรวจ และเก็บรวบรวมตัวอย่างในเขตภาคเหนือตอนบน (เชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง ลำพูน แพร่) สำรวจและเก็บตัวอย่างแมลงปอทุกๆ 2 เดือน เดินสำรวจแมลงปอ โดยเฉพาะบริเวณใกล้แหล่งน้ำในพื้นที่เกษตรกรรม ที่ราบเชิงเขา พื้นที่ราบลุ่มน้ำ พื้นที่ป่าต้นน้ำลำธาร พื้นที่ภูเขา ถ่ายภาพและเก็บตัวอย่าง โดยใช้สวิงช้อนตัวอ่อนในแหล่งน้ำ เก็บรักษาในหลอดบรรจุแอลกอฮอล์ 80% และใช้สวิงโฉบตัวเต็มวัยและในขวดฆ่าที่บรรจุสารเอทิลอะซิเตท หลังจากแมลงปอตายต้องจัดส่วนหางซึ่งมีลักษณะผอมเรียวบางและหัก

ง่ายให้มีสภาพคงเดิม โดยใช้เส้นขนที่มีความแข็ง (ขนหมูหรือขนหางม้า) แทงผ่านจากส่วนอกไปยัง ส่วนท้องแต่ไม่ให้สุดปลายส่วนท้อง เพราะอวัยวะสืบพันธุ์เป็นลักษณะสำคัญที่ใช้ในการวิเคราะห์จะเสียหาย เก็บตัวเต็มวัยในซองกระดาษรูปสามเหลี่ยม บันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่าง ลักษณะ ขนาด สี วัน เดือนปี ชื่อผู้เก็บ สภาพแวดล้อม อุณหภูมิ และพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) เป็นต้น นำแมลงปอที่รวบรวมไปจัดรูปร่าง (set) ตามวิธีการของ Poonchaisri (2004) และนำมาศึกษาชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของ Charles and Johnson (2005) Paulson (2009) และ พิสุทธิ์ (2541) รวมทั้งศึกษาเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ บันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยการถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ รวมถึงให้รายละเอียดบนแผ่นป้ายบันทึกของขวดดองตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ที่จำแนกได้ วัน/เดือน/ปี สถานที่เก็บตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง จัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) สกุล และชนิดของแมลงปอ ที่รวบรวมได้พร้อมภาพประกอบ จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของการเก็บรักษาตัวอย่างแมลง เพื่อใช้ในการตรวจสอบสืบค้นและอ้างอิง

เวลาและสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2555 ถึง เดือนกันยายน 2556

สถานที่ 1. เขตภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย (เชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง ลำพูน แพร่)

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สามารถจำแนกชนิดแมลงปอได้ 2 วงศ์ 4 ชนิด 291 ตัวอย่าง ซึ่งจัดอยู่ในอันดับ Odonata วงศ์ Libellulidae ได้แก่ แมลงปอบ้านไร่เคลือบโลหะปลายใส *Rhyothemis plutonia* Selys 31 ตัวอย่าง แมลงปอบ้านแผ่นปีกกว้าง *Pantala flavescens* (Fabricius) 116 ตัวอย่าง แมลงปอบ้านใหม่เฉียง *Neurothemis fluctuans* (Fabricius) 127 ตัวอย่าง และวงศ์ Platycnemididae คือแมลงปอเข็มน้ำตก *Coeliccia chromothorax* (Selys) 17 ตัวอย่าง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาความหลากชนิดของแมลงปออันดับโอโดนาทา (Odonata) ในภาคเหนือของประเทศไทย โดยการสำรวจ รวบรวมแมลงปอในเขตภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2555 ถึง เดือนกันยายน 2556 โดยเฉพาะบริเวณใกล้แหล่งน้ำในพื้นที่เกษตรกรรม ที่ราบเชิงเขา พื้นที่ราบลุ่มน้ำ พื้นที่ป่าต้นน้ำลำธาร พื้นที่ภูเขา ถ่ายภาพและเก็บตัวอย่าง นำตัวอย่างแมลงปอที่รวบรวมได้มาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานเพื่อตรวจจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สามารถจำแนกชนิดแมลงปอได้ 2 วงศ์ 4 ชนิด 291 ตัวอย่าง ซึ่งจัดอยู่ในอันดับ Odonata วงศ์ Libellulidae ได้แก่ แมลงปอบ้านไร่เคลือบโลหะปลายใส *Rhyothemis plutonia* Selys 31 ตัวอย่าง แมลงปอบ้านแผ่นปีกกว้าง *Pantala flavescens* (Fabricius) 116 ตัวอย่าง แมลงปอบ้านใหม่เฉียง *Neurothemis fluctuans* (Fabricius)

127 ตัวอย่าง และวงศ์ Platycnemididae คือแมลงปอเข็มน้ำตก *Coeliccia chromothorax* (Selys) 17 ตัวอย่าง การทดลองเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุดต้องดำเนินการต่อ ในปี 2557

เอกสารอ้างอิง

พิสุทธิ์ เอกอำนวย. 2541. แมลงปอของไทย Dragonflies and Damselflies from Thailand. พิมพ์ครั้งที่ 2. บริษัท เลิฟแอนด์ลิพเพรส จำกัด. 168 หน้า.

Charles, A. T. and N. F. Johnson. 2005. Borror and Delong's Introduction to the Study of Insects. 7th ed. Brooks/Coles. USA. 864 p.

Paulson, D. 2009. Dragonflies and Damselflies of the west. Princeton University Press. New Jersy, USA. 535 p.

Poonchaisri, S. 2004. Preserving Insect Specimens for Research. The Agricultural Co-Operative Ferderation of Thailand., Limited. Bangkok. 32 p.

ภาคผนวก

Rhyothemis plutonia Selys

Pantala flavescens (Fabricius)

Neurothemis fluctuans (Fabricius)

Coeliccia chromothorax (Selys)

ความหลากชนิดของตั๊กแตนหนวดสั้นวงศ์ Arcrididae ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย

Specief Diversity of Grasshoppers Family Arcrididae In The Southern Part Thailand

สุนัดดา เชาวลิต ชมัยพร บัวมาศ อิทธิพล บรรณาการ
เกศสุดา สนศิริ สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาความหลากชนิดของตั๊กแตนหนวดสั้นวงศ์ Arcrididae ในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย ให้ทราบชนิด พืชอาหาร และเขตการแพร่กระจาย เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานศึกษาวิจัย การวินิจฉัยชนิดแมลงศัตรูพืช รวมถึงการจำทำรายชื่อแมลงศัตรูพืช ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2556 ในพื้นที่เกษตร และป่าภาคใต้ของประเทศไทย นำตัวอย่างที่สำรวจได้มาจำแนกชนิด ใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช การศึกษาครั้งนี้ใช้ตั๊กแตนหนวดสั้นวงศ์ Arcrididae จำนวน 295 ตัวอย่าง จำแนกได้ 13 ชนิด ได้แก่ Acrida bicolor (Thunberg, 1815); Apalacris varicornis Walk, 1870; Atractomorpha crenulata (Fabricius, 1793); Aularches miliaris (Linnaeus, 1758); Crondracris rosea (De Geer, 1773); Cyrtacanthacris tatarica (Linné, 1758); Gonista bicolor (De Haan, 1842); Oxya japonica (Thunberg, 1824); Oxya hyla Serville, 1831; Patanga succincta (Linnaeus, 1763); Pternoscirta caliginosa (De Haan, 1842); Stenocatantops splendens (Thunberg, 1815); Trilophidia annulata (Thunberg, 1815) ตัวอย่างตั๊กแตนหนวดสั้นวงศ์ Arcrididae ทั้งหมดที่จำแนกชนิดแล้วนำเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-02-00-04-54

คำนำ

ตั๊กแตนหนวดสั้นเป็นแมลงที่มีความหลากหลายของรูปร่างลักษณะค่อนข้างมาก มีขนาดลำตัวแตกต่างกัน การเจริญเติบโต เป็นแบบเปลี่ยนแปลงรูปร่างทีละน้อย (gradual metamorphosis) ตัวอ่อนเรียกว่า nymph มีอุปนิสัยการกินอาหาร ที่อยู่อาศัย และลักษณะทั่วไปใกล้เคียงกับตัวเต็มวัย ต่างกันที่ขนาดลำตัว และการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ ตั๊กแตนหนวดสั้นพบอาศัยอยู่ทั่วไป ตามทุ่งหญ้า ป่าเขา รวมถึงพื้นที่เพาะปลูกทางการเกษตร หลายชนิดจัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ เนื่องจากทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยกินพืชและผลผลิตทางการเกษตรเป็นอาหารทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ หลายชนิดเป็นอาหารของสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ในธรรมชาติ จึงนับว่ามีความสำคัญในห่วงโซ่อาหาร ช่วยเพิ่มสมดุลในระบบนิเวศน์ และมีอีกหลายชนิดที่มนุษย์สามารถนำมาบริโภคเป็นอาหารได้ นับเป็นแหล่งโปรตีนทางเลือกอีกรูปแบบในอนาคต การระบาดหรือเพิ่มปริมาณของตั๊กแตนหนวดสั้นเกิดจากองค์ประกอบหลายปัจจัยด้วยกัน เช่น สภาพแวดล้อมต่างๆ ที่เปลี่ยนแปลงไป สภาวะโลกร้อนในปัจจุบัน อาจจะมีผลให้วงจรชีวิตของตั๊กแตนสั้นลง การปลูกพืชชนิดเดียวกันในพื้นที่กว้างๆ ทำให้ตั๊กแตนมีแหล่งที่มีพืชอาหารอุดมสมบูรณ์ เพิ่มปริมาณขึ้นอย่างรวดเร็ว การทำลายป่าเพื่อเปลี่ยนเป็นพื้นที่การเกษตรซึ่งเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยและเป็นแหล่งอาหารของตั๊กแตนหลายชนิด ทำให้เกิดการอพยพจากป่ามาสู่พื้นที่เกษตรมากขึ้น ปัจจุบันนี้พื้นที่ภาคใต้มีการส่งเสริมการปลูกพืชน้ำมัน เพื่อตอบสนองความต้องการด้านพลังงานของประเทศ มีการขยายแปลงเพาะปลูกให้มีขนาดใหญ่ในบริเวณเดียวกัน ซึ่งอาจจะมีผลต่อการดำรงอยู่และหายไป หรือการเพิ่มปริมาณขึ้นอย่างรวดเร็วของตั๊กแตนหลายชนิด ดังนั้นการศึกษาความหลากชนิดของตั๊กแตนหนวดสั้นวงศ์ Arcrididae ในพื้นที่ภาคใต้ จึงนับว่าเป็นงานที่สำคัญและมีประโยชน์อย่างยิ่ง เพื่อเป็นแหล่งรวบรวมข้อมูลต่าง ๆ เช่น จำนวนชนิด ลักษณะความแตกต่าง พืชอาหาร และเขตการแพร่กระจาย ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานมีความสำคัญอย่างมากสำหรับงานศึกษาวิจัยในลำดับ ต่อไป

ตั๊กแตนเป็นแมลงที่มีความหลากหลายของชนิดค่อนข้างมาก ประกอบด้วยแมลงหลายวงศ์ด้วยกัน ทั่วโลกมีประมาณ 22 วงศ์ (Grzimek et al. 2004, Rowell and Flook 2001) สำหรับในประเทศไทย Hutacharern et al. (2007) รายงานไว้ 10 วงศ์ วงศ์ที่พบบ่อยที่สุด ได้แก่ วงศ์ Acrididae จำแนกได้ 47 ชนิด อาศัยอยู่ทั้งพื้นที่เกษตร และพื้นที่ป่าทั่วไป สมุทร (2524) ศึกษาตั๊กแตนหนวดสั้นในประเทศไทย โดยแบ่งตามความสำคัญทางเศรษฐกิจออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ กลุ่มที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ คือตั๊กแตนที่เคยระบาด ทำลายพืชสำคัญมาแล้ว มี 7 ชนิด กลุ่มที่มีแนวโน้มที่จะมีความสำคัญทางเศรษฐกิจในอนาคต คือชนิดที่เคยปรากฏและมีประชากรหนาแน่นบางพื้นที่ แต่ยังไม่ระบาดในพื้นที่กว้าง มี 7 ชนิดและกลุ่มที่ไม่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจยังไม่ระบุจำนวนชนิด บุปผา (2526) ศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานตั๊กแตนหนวดสั้น วงศ์ Acrididae ในนาข้าว พบ 22 ชนิด ณัฐกฤต และคณะ (2544) สำรวจชนิดตั๊กแตนในพื้นที่ปลูกอ้อยและข้าวโพด พบ 10 ชนิด นอกจากนี้ตั๊กแตนหนวดสั้นอีกหลายชนิดที่เป็นที่รู้จักและมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น ตั๊กแตนปาทังกา APPPC (1987) รายงานการแพร่ระบาดในประเทศจีน อินเดีย ญี่ปุ่น ลาว เวียดนาม และประเทศไทย พบว่าเป็นศัตรูสำคัญของพืชไม่น้อยกว่า 34 ชนิด เช่น ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าว อ้อย ปาล์มน้ำมัน และถั่วเหลือง CABI (2007) รายานการแพร่ระบาดตั๊กแตนผี ในประเทศบังคลาเทศ อินเดีย อินโดนีเซียและประเทศไทย พืชอาหารหลักได้แก่ มะพร้าว ในแง่ของการนำมาใช้ประโยชน์

องุ่น (2531) นำแมลงกินได้ทั้งหมดกว่า 100 ชนิดมาวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร ตั๊กแตนปาทังกาพบว่าให้โปรตีนมากที่สุด ระเบียบวิธีการทดลอง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1) ตัวอย่างตั๊กแตนหนวดสั้น ที่รวบรวมได้จากแปลงปลูกพืช

2) อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ขวดฆ่า ขวดดอง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ซองกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง ถังรักษาความเย็น

3) สารเคมีต่างๆ เช่น เอทิลอะซีเตท แอลกอฮอล์ 80%

4) อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น น้ำกลั่น alcohol 50-100%, sodium hydroxide 10%, clove oil และ canabalsam เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล่องสไลด์ถาวร ตู้อบสไลด์ถาวร

5) กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereomicroscope ,compound microscope และกล้องถ่ายภาพ

6) อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา roting และกระดาษไขเขียนแบบ

7) เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของตั๊กแตนหนวดสั้น และตัวอย่างตั๊กแตนหนวดสั้น ในพิพิธภัณฑ์แมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

วิธีการ

1) สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างตั๊กแตนหนวดสั้นวงศ์ Arcrididae จากพื้นต่างๆ เช่น พื้นที่เพาะปลูกทางการเกษตร ทุ่งหญ้า ป่าเขา ทางภาคใต้ของประเทศไทย

2) เก็บตัวอย่างโดยใช้สวิงจับแมลง (insect net) โฉบ เพื่อเก็บตัวอย่างตั๊กแตนหนวดสั้นในช่วงเวลากลางวัน และติดตั้งกับดักแสงไฟ (light trap) เพื่อดึงดูดตั๊กแตนหนวดสั้นที่ออกหากินตอนกลางคืน ฆ่าตัวเต็มวัยในขวดฆ่า (killing jar) ซึ่งใส่สารฆ่าแมลงเอทิลอะซิเตท หลังจากตั๊กแตนตายแล้ว ห่อในกระดาษห่อแบบท๊อฟฟี่ บันทึกรายละเอียดเกี่ยวกับตัวอย่างแมลง ได้แก่ พืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่เก็บตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง บันทึกรายละเอียดสภาพแวดล้อม เช่น พิกัดทางภูมิศาสตร์ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ เป็นต้น จากนั้นนำตัวอย่างใส่กล่องกระดาษ เก็บรวมไว้ในกล่องรักษาความเย็นเพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างเน่า ตัวอ่อนที่ต้องการเลี้ยงให้เป็นตัวเต็มวัยนำใส่กล่องพลาสติกพร้อมใส่พืชอาหาร บันทึกรายละเอียดเช่นเดียวกับตัวเต็มวัย รวมทั้งบันทึกโดยการถ่ายภาพ นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการ นอกจากการเก็บตัวอย่างตั๊กแตนจากสภาพธรรมชาติแล้ว มีตัวอย่างตั๊กแตนที่มีอยู่เดิมในพิพิธภัณฑ์ กรมวิชาการเกษตร ตัวอย่างที่ได้รับจากนักวิชาการ และตัวอย่างจากผู้มาขอรับบริการตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด เพื่อใช้ในการศึกษาครั้งนี้ด้วย

3) ตัวเต็มวัยที่ตายแล้วนำไปจัดรูปร่างบนไม้จัดรูปร่างตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร้สนิม ปักที่กึ่งกลางบริเวณอก ใช้ปากคีบจัดขาทั้ง 3 คู่ ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดินโดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด นำไปอบให้แห้งในตู้อบ (oven) ปรับอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 15-30 วัน ขึ้นกับขนาดตัวอย่าง

4) นำตัวอย่างตั๊กแตนหนวดสั้นที่รวบรวมได้มาตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด โดยดูลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น ขนาดลำตัว รูปร่าง ลักษณะ และสี เป็นต้น โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิด ตั๊กแตนหนวดสั้นวงศ์ Arcrididae ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์

5) ตัวอย่างตั๊กแตนที่มีการจัดจำแนกแล้ว บันทึกรายละเอียดของแมลงบนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่าง จากนั้นนำจัดเก็บลงในกล่องกระดาษสี่เหลี่ยมสีขาว จัดเรียงตามอักษรของลำดับชนิด นำจัดเข้าลิ้นชักในตู้เก็บแมลงจัดเก็บแมลงในพิพิธภัณฑ์แมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2553 – สิ้นสุด เดือนกันยายน 2556

สถานที่ แหล่งปลูกพืชสำรวจจากพื้นที่เกษตรและพื้นที่ป่า ทางภาคใต้ของประเทศไทย และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลงกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาความหลากชนิดของตั๊กแตนหนวดสั้น วงศ์ Arcrididae ในพื้นที่ภาคใต้ ของประเทศไทย ผลการตรวจวิเคราะห์ตามหลักอนุกรมวิธาน รวมทั้งเปรียบเทียบกับตัวอย่างตั๊กแตนหนวดสั้น วงศ์ Arcrididae ที่มีในพิพิธภัณฑ์แมลงของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร สามารถวิเคราะห์ชนิด ได้ 13 ชนิด โดยมีรายละเอียด ดังนี้

	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	พืชอาหาร	เขตการแพร่กระจาย	จำนวน (ตัวอย่าง)
1	*Acrida bicolor* (Thunberg, 1815) (Figure 1 a)	ตั๊กแตนหัวแหลม (Acrida Locust)	-	จังหวัดภูเก็ต	5
2	*Apalacris varicornis* Walk, 1870 (Figure 1 b)	Apalacris Locust	-	จังหวัด ปัตตานี ยะลา นราธิวาส	32
3	*Atractomorpha crenulata* (Fabricius, 1793) (Figure 1 c)	ตั๊กแตนหัวแหลม (Acrida Locust)	ข้าว	จังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช	11
4	*Aularches miliaris* (Linnaeus, 1758) (Figure 1 d)	ตั๊กแตนผี (Spotted grasshopper)	ใบมะพร้าว	จังหวัดชุมพร	136

	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	พืชอาหาร	เขตการแพร่กระจาย	จำนวน (ตัวอย่าง)
5	*Crondracris rosea* (De Geer, 1773) (Figure 1 e)	ตั๊กแตนฝ้าย Cotton Locust	ข้าวโพด ข้าว	จังหวัดชุมพร สงขลา	13
6	*Cyrtacanthacris tatarica* (Linné, 1758) (Figure 1 f)	ตั๊กแตนข้าวลาย (Cyrtacanthacris Locust)	ข้าวโพด อ้อย ละหุ่ง ถั่วลิสง	จังหวัดสตูล	3
7	*Gonista bicolor* (De Haan, 1842) (Figure 1 g)	Gonista Locust	ข้าว หญ้า	จังหวัดสงขลา ตรัง	3
8	*Oxya japonica* (Thunberg, 1824) (Figure 1 h)	ตั๊กแตนข้าวเล็ก (Small rice grasshopper)	ข้าว หญ้า	จังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี ระนอง กระบี่ และภูเก็ต	29
9	*Oxya hyla* Serville, 1831 (Figure 2 a)	ตั๊กแตนข้าวเล็ก (Smaller Rice Grasshopper)	ข้าว	กระบี่ ชุมพร นครศรีธรรมราช	12
10	*Patanga succincta* (Linnaeus, ๑๗๖๓) (Figure 2 b)	ตั๊กแตนปาทังก้า (Bombay Locus)	ข้าวโพด ข้าว	จังหวัดสตูล ชุมพร	6
11	*Pternoscirta caliginosa* (De Haan, ๑๘๔๒) (Figure 2 c)	ตั๊กแตนขาลายข้างแถบ (Rutus grasshopper)	-	สุราษฎร์ธานี ตรัง และพัทลุง	30
12	*Stenocatantops splendens* (Thunberg, ๑๘๑๕) (Figure ๒ d)	Srenocatantops Locust	-	จังหวัดชุมพร ยะลา	10
13	*Trilophidia annulata* (Thunberg, 1815) (Figure 2 e)	ตั๊กแตนหญ้า Trilophidia Locust	หญ้า	จังหวัดชุมพร	8

สรุปผลการวิจัยและคำแนะนำ

จำแนกได้ 13 ชนิด ได้แก่ Acrida bicolor (Thunberg, 1815); Apalacris varicornis Walk, 1870; Atractomorpha crenulata (Fabricius, 1793); Aularches miliaris (Linnaeus, 1758); Crondracris rosea (De Geer, 1773); Cyrtacanthacris tatarica (Linné, 1758); Gonista

bicolor (De Haan, 1842); Oxya japonica (Thunberg, 1824); Oxya hyla Serville, 1831; Patanga succincta (Linnaeus, 1763); Pternoscirta caliginosa (De Haan, 1842); Stenocatantops splendens (Thunberg, 1815); Trilophidia annulata (Thunberg, 1815) ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของตั๊กแตนหนวดสั้นทุกชนิดที่สำรวจกัดกินส่วนเจริญของพืช ตัวอย่างตั๊กแตนหนวดสั้นวงศ์ Arcrididae ทั้งหมดนำเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

ณัฐกฤต พิทักษ์ และ อนุวัฒน์ จันทรสุวรรณ. 2544. เอกสารวิชาการ แมลงศัตรูอ้อยโรงงาน อ้อยเคี้ยว อ้อยคั้นน้ำ และการป้องกันกำจัด. กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูข้าวโพดและพืชไร่อื่นๆ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 102 หน้า

บุปผา เหล่าสินชัย วิทย์ นามเรืองศรี และ ม.ร.ว. จิราพันธ์ จันทรทัต. 2526. การศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานของตั๊กแตนหนวดสั้นในนาข้าวในประเทศไทย. กลุมงานอนุกรมวิธานและวิจัยไร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 18 หน้า

สมุทร มงคลกิติ. 2524. ตั๊กแตนที่สำคัญและการป้องกันกำจัด. เอกสารประกอบการบรรยาย ในการอบรมเรื่อง “แมลง-สัตว์ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด” กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 26 หน้า

องุ่น ลิ่ววานิช. 2531. แมลงกินได้. กสิกร 61(6):545-551

APPPC, 1987. Insect pests of economic significance affecting major crops of the countries in Asia and the Pacific region. Technical Document No. 135. Bangkok, Thailand: Regional FAO Office for Asia and the Pacific (RAPA), 56 pp.

CABI . 2007. The 2007 Edition of the Crop Protection Compendium. CD-ROM. CAB International,

Hutacharern , C. , T. Nopachon and Chutima D. 2007. Checklists of Insects and Mites in Thailand. Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation Minisrty of Natural Resources and environment. 77-80.

Dirsh. V.M., 1965. The African genera of Acridiidea. The Syndiscs of The Cambridge University Press. London. 578 pp.

Grzimek, B., D. G. Kleiman, V. Geist, and M. C. McDade. 2004. *Grzimek's* Animal Life Encyclopedia. Detroit: Thomson-Gale

Rowell, H. and P. Flook. 2001. Caelifera. Shorthorned grasshoppers, locusts and relatives. Tree of Life Web Project. Retrieved April 8, 2007.

ภาคผนวก

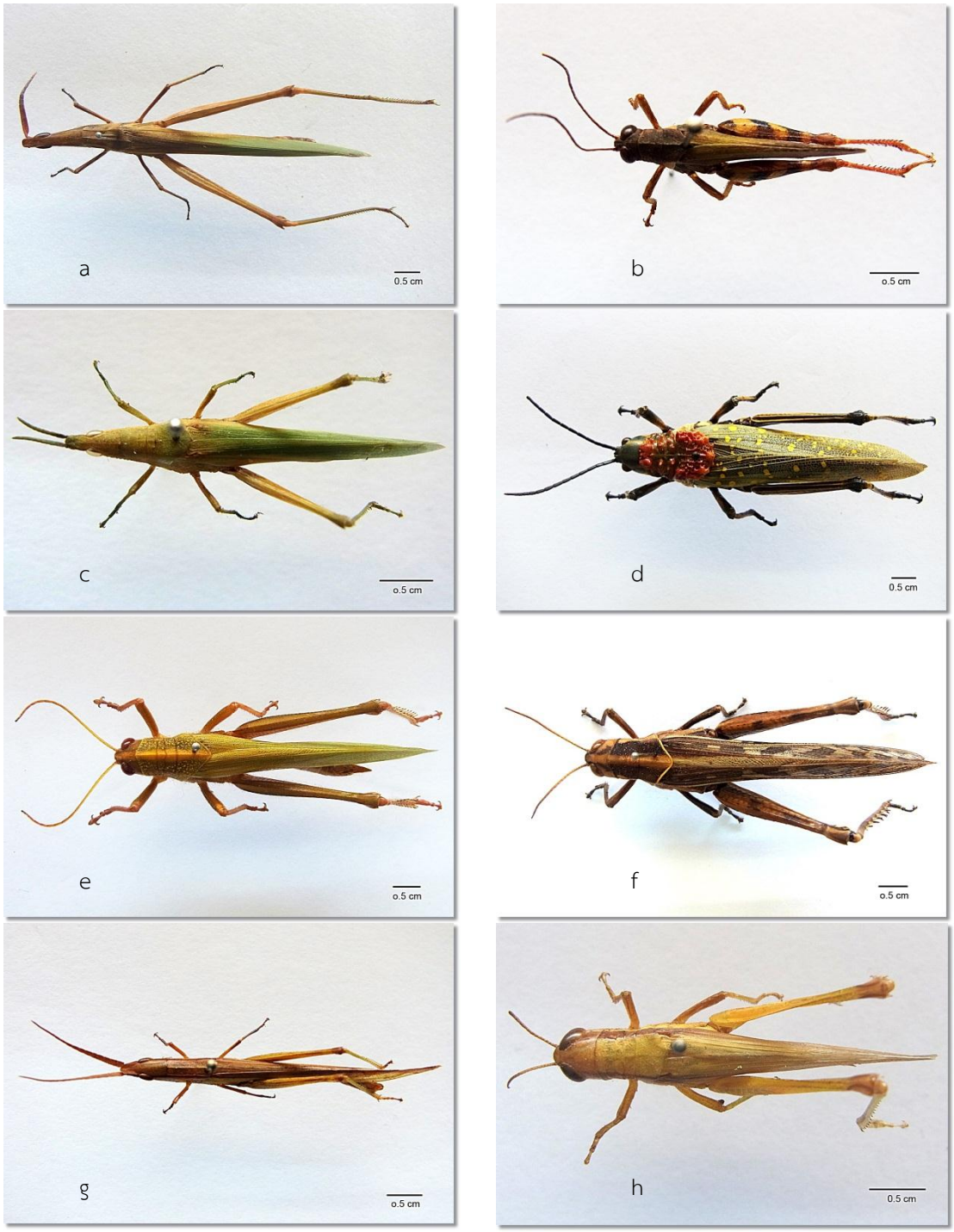


Figure 1 The Family Arcrididae In The Southern Part Thailand

a. *Acrida bicolor* (Thunberg, 1815)
b. *Apalacris varicornis* Walk, 1870
c. *Atractomorpha angusta* Karsch, 1888
d. *Aularches miliaris* (Linnaeus, 1758)
e. *Crondracris rosea* (De Geer, 1773)
f. *Cyrtacanthacris tatarica* (Linné, 1758)
g. *Gonista bicolor* (De Haan, 1842)
h. *Oxya japonica* (Thunberg, 1824)

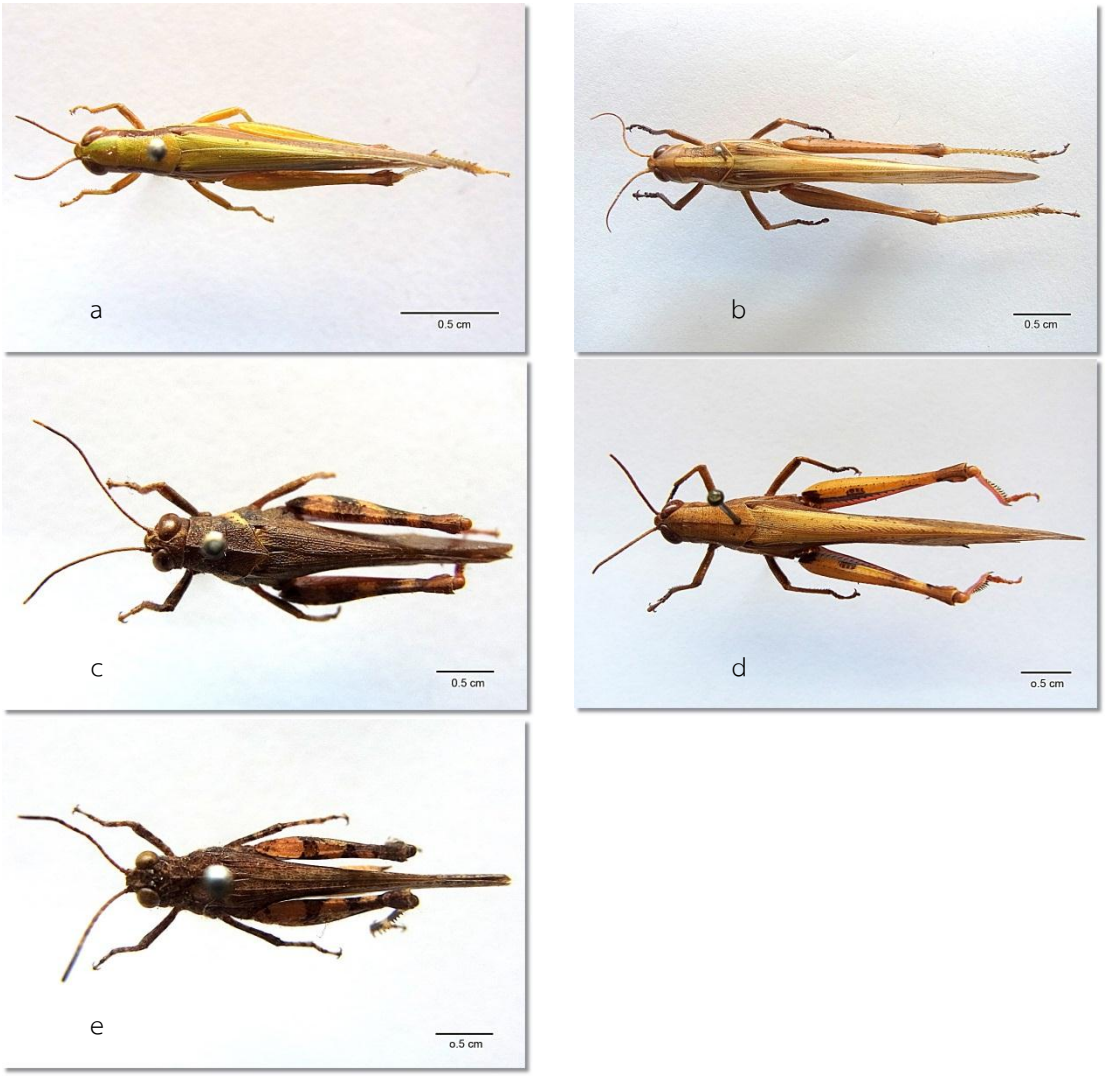


Figure 2 The Family Arcrididae In The Southern Part Thailand

a. *Oxya hyla* Serville, 1831

b. *Patanga succincta* (Linnaeus, 1763)

c. *Pternoscirta caliginosa* (De Haan, 1842)

d. *Stenocatantops splendens* (Thunberg, 1815)

e. *Trilophidia annulata* (Thunberg, 1815)

ความหลากชนิดของมดในพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก และป่าธรรมชาติของจังหวัดตาก

Species Diversity of Ants at Center of Agricultural and Development;Tak and Natural Forest of Tak Province

ชมัยพร บัวมาศ[1/] ชลิดา อุณหวุฒิ[1/] ลักขณา บำรุงศรี[1/]
ประยูร สมฤทธิ์[2/]
[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2

บทคัดย่อ

การศึกษาความหลากชนิดของมดในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก จังหวัดตาก ระหว่างตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2556 ได้สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างมด จากแปลงปลูกชา กาแฟ อะโวกาโด และ มะคาเดเมีย โดยใช้วิธีวางกับดักน้ำหวาน กับดักชีส กับดักหลุม ร่อนซากใบไม้ และการจับด้วยมือ นำตัวอย่างทั้งหมดมาจำแนกชนิด พบมดทั้งสิ้น 55 ชนิด 37 สกุล 8 วงศ์ย่อย โดยแปลงชา และอะโวกาโด พบมดจำนวน 31 ชนิด แปลงกาแฟ จำนวน 29 ชนิด และแปลงมะคาเดเมีย จำนวน 22 ชนิด เมื่อพิจารณาชนิดมดที่เด่นในพื้นที่ พบว่า แปลงมะคาเดเมีย มีมดจำนวน 8 ชนิด แปลงอะโวกาโด ชาและกาแฟ มีจำนวน 7, 5 และ 3 ชนิด และมีมดน้ำผึ้ง (*Anoplolepis gracilipes* Smith) เป็นมดที่พบทุกครั้งและทุกพื้นที่สำรวจ มดก้นห้อยธรรมดา (*Dolichoderus thoracicus* Smith) พบทุกครั้งของการสำรวจในแปลงมะคาเดเมีย อะโวกาโด และกาแฟ ขณะที่มดไอ้ชื่นดำ (*Odontoponera denticulata* Smith) พบในแปลงมะคาเดเมีย อะโวกาโด และชา นอกจากนี้ยังพบชนิดมดที่เป็นรายงานการพบครั้งแรก (new recorded) ในประเทศไทย จำนวน 1 ชนิด คือ *Cerapachys sauteri* Forel ซึ่งพบในแปลงกาแฟ

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-02-00-05-54

คำนำ

มด เป็นแมลงสังคม ที่จัดอยู่ในอันดับ (Oder) Hymenoptera วงศ์ (Family) Formicidae สามารถอาศัยอยู่ได้ทั้งในพื้นที่ธรรมชาติและพื้นที่เกษตร พบทั้งในดิน ตามซากพืช ใต้ก้อนหิน ตามต้นไม้หรือไม้พื้นล่าง เป็นต้น จึงทำให้มดมีความหลากหลายทั้งด้านชนิดและแหล่งที่อยู่อาศัย มดมีความสำคัญในการดำรงไว้ซึ่งความสมดุลตามธรรมชาติในระบบนิเวศ เนื่องจากมดสามารถทำหน้าที่ได้หลายบทบาท โดยมดส่วนใหญ่เป็นตัวห้ำ (predators) หรือกินซาก(scavengers) แต่บางชนิดกินทั้งพืชและสัตว์ (omnivores) บางชนิดมีการพึ่งพาอาศัยอยู่ร่วมกับสัตว์อื่น และพืชอีกหลายชนิด

ในปัจจุบันมีหลายหน่วยงานได้ริเริ่มศึกษาความหลากชนิดของมด แต่ยังไม่มีข้อมูลที่ครอบคลุมในแต่ละระบบนิเวศ และโดยส่วนใหญ่จะศึกษาเฉพาะมดที่อาศัยอยู่ในป่า การศึกษาชนิดมดที่อยู่ในระบบนิเวศเกษตรยังมีข้อมูลน้อยมาก Pitaksa *et al*. (1998) ได้รายงานว่าพบมด 6 ชนิด ในไร่สับปะรด และยังขาดการศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับกิจกรรมทางการเกษตรที่มีผลต่อจำนวนชนิดของมดในแต่ละพื้นที่ซึ่งเป็นข้อมูลที่สามารถนำไปสู่การประเมินสถานภาพของมดที่สัมพันธ์กับกิจกรรมทางการเกษตร ซึ่งพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก ตั้งอยู่ ณ ดอยมูเซอ ตำบลแม่ท้อ จังหวัดตาก มีพื้นที่ทั้งหมดประมาณ 3,000 ไร่ มีพื้นที่ป่าธรรมชาติล้อมรอบ สภาพอากาศหนาวเย็นเกือบตลอดปีภายในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตากมีการค้นคว้าและวิจัยพืชชนิดต่างๆ มากมาย ทั้งไม้เมืองหนาว เช่น กาแฟ อะโวกาโด้ มะคาเดเมียนัท ชา ลินจี่ กุหลาบ กล้วยไม้ป่า ดอกหน้าวัว พืชผักพื้นเมือง และพืชสมุนไพรต่างๆ มากมาย ซึ่งก่อให้เกิดกิจกรรมทางการเกษตรต่างๆ ในพื้นที่ เช่น การไถพรวน การกำจัดวัชพืช การตัดแต่งกิ่ง การใส่ปุ๋ย การใช้สารเคมีกำจัดแมลง เป็นต้น ซึ่งกิจกรรมเหล่านี้ล้วนทำให้เกิดการสูญเสียความหลากหลากหลายทางชีวภาพ ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่อยู่ภายในพื้นที่ซึ่งการเข้าไปศึกษาเป็นข้อมูลที่สามารถนำไปสู่การประเมินสถานภาพของมดที่สัมพันธ์กับกิจกรรมทางการเกษตรและการวางแผนแนวทางการอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพเพื่อการจัดการพื้นที่เกษตรอย่างยั่งยืนได้ในอนาคตศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างมด
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างมด ได้แก่ แอลกอฮอล์ 70 – 80% ปากคีบ ขวดดองตัวอย่างแมลง คัตเตอร์ กรรไกรตัดกิ่ง กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก กับดักน้ำหวาน กับดักชีส กับดักหลุม ถาดและตะแกรงร่อนซากใบไม้
3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการจัดรูปร่างมด ได้แก่ เข็มไร้สนิมแมลง กระดาษสามเหลี่ยม กาวลาเท็กซ์ ไม้จัดรูปร่างแมลง ตู้อบ
4. กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope และ กล้องถ่ายภาพ
5. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดมด

วิธีการ

1.สำรวจและรวบรวมมดจากพื้นที่ต่างๆ ทั้งพื้นที่แปลงเกษตรและป่าธรรมชาติ เพื่อให้ครอบคลุมแหล่งที่อยู่อาศัยของมด โดยจะดำเนินการเก็บตัวอย่างมดตามวิธีดังนี้

1.1 การเก็บโดยใช้มือ เก็บมดที่อาศัยอยู่ตามต้นไม้ ไม้พื้นล่าง ไม้พุ่มหรือวัชพืช โดยใช้ปากคีบและใช้สวิงโฉบโดยจับมดใส่ในขวดเก็บตัวอย่าง วิธีการนี้จะได้ตัวอย่างมดที่อาศัยตามต้นไม้หรือกลุ่มมดที่กินน้ำหวานจากแมลงที่อาศัยอยู่ตามต้นไม้ ไม้พุ่ม หรือวัชพืช

1.2 การร่อนซากพืช ทำการร่อนซากพืชที่ปกคลุมผิวดิน เก็บซากพืชที่อยู่ในแปลงใส่ในตะแกรงร่อนที่มีถาดรองรับด้านล่างและใช้ปากคีบจับมดใส่ในขวดเก็บตัวอย่าง

1.3. การร่อนดิน โดยใช้พลั่วหรือเสียมขุดดินในแปลงนำมาร่อนในตะแกรงที่มีถาดรองรับด้านล่าง ใช้ปากคีบจับมดใส่ในขวดเก็บตัวอย่าง ซึ่งการเก็บมดในวิธีนี้จะทำการเก็บหลังจากเก็บมดโดยใช้กับดักน้ำหวานแล้ว วิธีนี้เป็นการเก็บมดที่อาศัยอยู่ในดิน

1.4 การใช้เหยื่อล่อ เช่นการใช้น้ำหวาน หรือใช้เนยแข็ง วางเป็นจุดๆ เพื่อล่อมดให้ออกมากินเหยื่อที่วางไว้ หลังจากนั้นใช้ปากคีบจับมดใส่ในขวดเก็บตัวอย่าง

2. การบันทึกรายละเอียดของข้อมูลแมลง ในแต่ละพื้นที่ที่ทำการสำรวจตัวอย่างจะต้องบันทึกข้อมูลดังนี้ พิกัดภูมิศาสตร์ วัน เดือน ปี สถานที่ที่เก็บ และชื่อผู้เก็บ เพื่อนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐาน

3. การเตรียมตัวอย่าง โดยนำตัวอย่างที่รวบรวมได้นำไปจัดรูปร่าง ใช้เข็มไร้สนิมปักที่กึ่งกลางบริเวณอกถ้าเป็นตัวขนาดใหญ่ แต่ถ้าขนาดเล็กนำติดกระดาษสามเหลี่ยมขนาดเล็ก (card point) และนำไปอบให้แห้ง

4. จำแนกชนิดมดและจัดเก็บในพิพิธภัณฑ์ นำตัวอย่างมดที่จำแนกชนิดแล้วให้จัดเก็บลงในกล่องกระดาษสี่เหลี่ยมสีขาว จัดเรียงตามอักษรของลำดับ ชนิด นำจัดเข้าลิ้นชักในตู้เก็บแมลง บันทึกข้อมูลแต่ละตัวอย่างบนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่างแมลง (labeling specimen)

5.นำข้อมูลจำนวนชนิดมดที่ได้มาหาความสัมพันธ์กับข้อมูลกิจกรรมทางการเกษตรเพื่อประมวลผลต่อไป

6. จัดเก็บตัวอย่างมดที่จัดรูปร่างและอบแห้ง รวมทั้งเพลี้ยแป้งในกล่องใส่สไลด์ถาวร ไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลงโดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามหลักสากล

เวลาสถานที่

เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2553 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2556

สถานที่ : 1. ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาความหลากชนิดของมดในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก จังหวัดตาก ระหว่างตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2556 ได้สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างมด จากแปลงปลูกชา กาแฟ อะโวกาโด และมะคาเดเมีย (ภาพที่ 1) โดยใช้วิธี กับดักน้ำหวาน กับดักชีส กับดักหลุม ร่อนซากใบไม้ และการจับด้วยมือ นำตัวอย่างทั้งหมดมาจำแนกชนิด พบมดทั้งสิ้น 55 ชนิด 37 สกุล 8 วงศ์ย่อย (ตารางที่ 1)

แปลงมะคาเดเมีย พบมดจำนวน 22 ชนิด มี จำนวน 8 ชนิดที่พบบ่อย ได้แก่มดน้ำผึ้ง (*Anoplolepis gracilipes* Smith) มดก้นห้อยธรรมดา (*Dolichoderus thoracicus* Smith) มดไอ้ชื่นดำ (*Odontoponera denticulata* Smith) *Nylanderia* sp.1 *Nylanderia* sp.2 มดก้นรูป

หัวใจ (*Crematogaster coriaria*) มดง่าม (*Pheidole sp.1*) *Tetramorium ciliatum* และมีเพียง 3 ชนิดที่พบทุกครั้งในการสำรวจ ได้แก่ มดน้ำผึ้ง (*Anoplolepis gracilipes* Smith) มดก้นห้อยธรรมดา (*Dolichoderus thoracicus* Smith) และมดไอ้ชี่นดำ (*Odontoponera denticulata* Smith)

แปลงอะโวกาโด พบมดจำนวน 31 ชนิด มีมดจำนวน 7 ชนิดที่พบบ่อย ได้แก่ มดน้ำผึ้ง (*Anoplolepis gracilipes* Smith) มดก้นห้อยธรรมดา (*Dolichoderus thoracicus* Smith) มดไอ้ชี่นดำ (*Odontoponera denticulata* Smith) *Nylanderia* sp.1 *Pachycondyla chinensis Tetramorium sp.5 Diacamma rugosum* และมีเพียง 3 ชนิดเท่านั้นที่พบทุกครั้งในการสำรวจ ได้แก่ มดน้ำผึ้ง (*Anoplolepis gracilipes* Smith) มดก้นห้อยธรรมดา (*Dolichoderus thoracicus* Smith) และมดไอ้ชี่นดำ (*Odontoponera denticulata* Smith)

แปลงชา พบมดจำนวน 31 ชนิดเท่ากันกับแปลงอะโวกาโด มีมดจำนวน 4 ชนิดมดที่พบบ่อย ได้แก่ มดน้ำผึ้ง (*Anoplolepis gracilipes* Smith) มดไอ้ชี่นดำ (*Odontoponera denticulata* Smith) *Pachycondyla astuta* และ *Tetramorium ciliatum* และมีเพียง 2 ชนิดที่พบทุกครั้งของการสำรวจ ได้แก่ มดน้ำผึ้ง (*Anoplolepis gracilipes* Smith) และมดไอ้ชี่นดำ (*Odontoponera denticulata* Smith)

แปลงกาแฟ พบมดจำนวน 29 ชนิด มีมดจำนวน 3 ชนิดที่พบบ่อย ได้แก่ มดน้ำผึ้ง (*Anoplolepis gracilipes* Smith) และ มดก้นห้อยธรรมดา (*Dolichoderus thoracicus* Smith) และ *Leptogenys kittili* และมีเพียง 2 ชนิดที่พบทุกครั้งในการสำรวจ ได้แก่ มดน้ำผึ้ง (*Anoplolepis gracilipes* Smith) และ มดก้นห้อยธรรมดา (*Dolichoderus thoracicus* Smith)

จากการสำรวจแปลงปลูกพืชทั้ง 4 ชนิดพบว่าแปลงมะคาเดเมียมีจำนวนชนิดน้อยกว่าแปลงอื่นๆ คือ 22 ชนิดแต่มีจำนวนชนิดที่พบบ่อยมากถึง 8 ชนิดและมีซึ่งมากกว่าแปลงปลูกพืชอื่นๆ อาจจะมาจากลักษณะของแปลงปลูกมะคาเดเมียที่มีอายุสูง ต้นค่อนข้างใหญ่ พื้นที่ด้านล่างมีการจัดการอย่างดี ไม่มีวัชพืชปกคลุมซึ่งแตกต่างกับอีก 3 พื้นที่

นอกจากนี้ยังพบชนิดมดที่เป็นรายงานการพบครั้งแรก (new recorded) ในประเทศไทย จำนวน 1 ชนิด คือ *Cerapachys sauteri* Forel ซึ่งพบในแปลงกาแฟ

รายละเอียดของชนิดมดที่พบทั่วไป

***Anoplolepis gracilipes* Fr.Smith** (ภาพที่ 2 ก)

ชื่อสามัญภาษาไทย มดน้ำผึ้ง

ชื่อสามัญภาษาอังกฤษ yellow crazy ant

ลักษณะสำคัญ เป็นมดขนาดกลาง มีความยาว 4.3-5.2 มิลลิเมตร ลำตัวสีน้ำตาลอมเหลือง ส่วนท้อง สีน้ำตาลดำ หนวดเป็นแบบหักข้อศอก จำนวน 11 ปล้อง ตากลมสีดำ อกปล้องแรก และปล้องที่ 2 ยาว ส่วนปล้องที่ 3 ค่อนข้างกลม ขายาว เอวประกอบด้วย 1 ปล้อง ส่วนท้องกลม

Dolichoderus thoracicus Smith (ภาพที่ 2 ข)

ชื่อสามัญภาษาไทย มดก้นห้อยธรรมดา

ชื่อสามัญภาษาอังกฤษ ant

ลักษณะสำคัญ เป็นมดขนาดเล็ก-กลาง ความยาว 2.3-4.5 มิลลิเมตร สีน้ำตาลแดง ผิวลำตัวเรียบมัน มีขนขึ้นปกคลุมทั้งลำตัว ปลายหนวด 2 ปล้องขยายใหญ่ ตารวมเจริญดี สันหลังส่วนอกปล้อง 2 และ 3 โค้งมน อกปล้องที่ 3 ค่อนข้างเรียบ เอว 2 ปล้อง ปล้องแรกเป็นปุ่มคล้ายสามเหลี่ยมและมีก้านเอวค่อนข้างยาว ส่วนปล้องที่ 2 ค่อนข้างกลม ท้องเป็นรูปวงรีเรียบมันมีขนปกคลุม

Odontoponera denticulata Smith (ภาพที่ 2 ค)

ชื่อสามัญภาษาไทย มดไอ้ขี่นดำ

ชื่อสามัญภาษาอังกฤษ ant

ลักษณะสำคัญ เป็นมดขนาดกลาง มีความยาว 3.0-3.6 มิลลิเมตร ลำตัวมีสีน้ำตาลเข้ม มีเส้นขนยาวจำนวนมากปกคลุมลำตัว แต่ส่วนท้องจะมีสีดำหรือสีเข้มกว่าส่วนหัวและอก ส่วนของหัวและลำตัวเป็นหลุมขรุขระมีขนยาวปกคลุมตลอดลำตัว หนวดเป็นแบบหักข้อศอก จำนวน 9 ปล้อง ร่องพักหนวดลึกเห็นได้ชัดเจน ตารวมเจริญดี ส่วนของอกค่อนข้างสั้น ด้านบนของส่วนอกมีลักษณะเป็นแผ่นบางๆ คล้ายโล่ยื่นออกมาทางด้านข้างของลำตัว propodeum มีหนามยาว 1 คู่ เอวมี 2 ปล้อง เมื่อมองทางด้านข้าง เอวปล้องแรกคล้ายสามเหลี่ยม ปล้องที่ 2 ค่อนข้างกลม ส่วนท้องมันเป็นรูปทรงรี

Crematogaster coriaria Mayr (ภาพที่ 2 ง)

ชื่อสามัญภาษาไทย มดก้นรูปหัวใจ

ชื่อสามัญภาษาอังกฤษ ant

ลักษณะสำคัญ เป็นมดขนาดเล็ก ความยาว 1.3-2.0 มิลลิเมตร ส่วนหัวสีดำ ส่วนอกและส่วนท้องสีเหลืองสลับดำ หนวดแบบหักข้อศอกสีเหลือง สันหลังของส่วนอกโค้งขึ้นเล็กน้อย ไม่มีขน ขายาว สีเหลือง เดินเร็วมาก เอวประกอบด้วย 1 ปล้อง ส่วนท้องปกคลุมเอว

Diacamma rugosum (Le Guillou) (ภาพที่ 2 จ)

ชื่อสามัญภาษาไทย -

ชื่อสามัญภาษาอังกฤษ ant

ลักษณะสำคัญ เป็นมดขนาดกลาง มีความยาว 4.7 มิลลิเมตร ลำตัวมีสีน้ำตาลถึงดำ ลำตัวเรียวยาว ผิวลำตัวเป็นร่องตามความยาวลำตัวตั้งแต่ส่วนหัวจนถึงปล้องท้องส่วนกลาง ส่วนท้องปล้องที่ 7-9 เรียบ มีขนสั้นปกคลุมเล็กน้อย หนวดแบบหักข้อศอก ขอบหน้าของฐานริมฝีปากเป็นรูปสามเหลี่ยมเล็กน้อย propodeum เป็นร่องยาว เอวมี 1 ปล้อง ไม่ปรากฏหนาม

รายละอียดของชนิดมดที่พบครั้งแรกแรก (new recorded) ในประเทศไทย

Cerapachys sauteri Forel (ภาพที่ 3)

ชื่อสามัญภาษาไทย -

ชื่อสามัญภาษาอังกฤษ ant

ลักษณะสำคัญ เป็นมดขนาดใหญ่ มีความยาว 3.5-4.0 มิลลิเมตร ลำตัวมีสีดำ ลำตัวเรียวยาว ผิวลำตัวขรุขระ มีขนสั้นปกคลุม หนวดแบบหักข้อศอก ขอบหน้าของฐานริมฝีปากเป็นรูปสามเหลี่ยม propodeum เรียบ เอวมี 1 ปล้อง ด้านบนมีหนาม 1 คู่ เห็นได้ชัดเจน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาความหลากชนิดของมดในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก จังหวัดตาก ระหว่างตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2556 ได้สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างมด จากแปลงปลูกชา กาแฟ อะโวกาโด และ มะคาเดเมีย โดยใช้วิธีวางกับดักน้ำหวาน กับดักชีส กับดักหลุม ร่อนซากใบไม้ และการจับด้วยมือ นำตัวอย่างทั้งหมดมาจำแนกชนิด พบมดทั้งสิ้น 55 ชนิด 37 สกุล 8 วงศ์ย่อย โดยแปลงชา และอะโวกาโด พบมดจำนวน 31 ชนิด แปลงกาแฟ จำนวน 29 ชนิด และแปลงมะคาเดเมีย จำนวน 22 ชนิด เมื่อพิจารณาชนิดมดที่เด่นในพื้นที่ พบว่า แปลงมะคาเดเมีย มีมดจำนวน 8 ชนิด แปลงอะโวกาโด ชาและกาแฟ มีจำนวน 7, 5 และ 3 ชนิด และมีมดน้ำผึ้ง (*Anoplolepis gracilipes* Smith) เป็นมดที่พบทุกครั้งและทุกพื้นที่สำรวจ มดก้นห้อยธรรมดา (*Dolichoderus thoracicus* Smith) พบทุกครั้งของการสำรวจในแปลงมะคาเดเมีย อะโวกาโด และกาแฟ ขณะที่มดไอ้ชื่นดำ (*Odontoponera denticulata* Smith) พบในแปลงมะคาเดเมีย อะโวกาโด และชา นอกจากนี้ยังพบชนิดมดที่เป็นรายงานการพบครั้งแรก (new recorded) ในประเทศไทย จำนวน 1 ชนิด คือ *Cerapachys sauteri* Forel ซึ่งพบในแปลงกาแฟ แม้ว่ามดส่วนใหญ่ที่พบจะเป็นมดที่พบทั่วไปในพื้นที่เกษตรอื่นๆ หรือชนิดมดที่พบในพื้นที่ป่าที่มีการปลุกรุกทำลาย แต่จากการพบมดที่ยังไม่เคยมีการรายงานในประเทศไทยมาก่อนทำให้น่าสังเกตว่า ในสภาพของพื้นที่แปลงกาแฟ น่าจะมีลักษณะเฉพาะที่จะพบมดบางชนิดที่มีแหล่งอาศัยเฉพาะ ซึ่งจำเป็นต้องศึกษาละเอียดและนำปัจจัยแวดล้อมต่างๆ มาประกอบการวิเคราะห์ เพื่อนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ต่อไป และตัวอย่างที่ได้นำมาเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร เพื่อตรวจสอบความถูกต้อง พร้อมจัดทำฐานข้อมูล นำไปใช้อ้างอิงทางวิชาการสำหรับงานอนุกรมวิธานและงานกีฏวิทยาด้านอื่นๆ นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูเพื่อประกอบในงานสำคัญด้านการส่งออก และนำเข้าสินค้าเกษตร

คำขอบคุณ

รศ.ดร.เดชา วิวัฒน์วิทยา ผู้ดูและพิพิธภัณฑ์มด ที่อนุญาตให้เข้าไปเปรียบเทียบตัวมดในพิพิธภัณฑ์

เอกสารอ้างอิง

Hollodobler, S. O. and E. O. Wilson. 1990. **Ants**. Springer Verlage, Berlin. 732 pp.

Pitaksa,C., A. Chantarasuwan and A. Kongkanjana. 1998. Ant Control in Pineapple Field. *In* **The Third International Pineapple Symposium**, November 17-20, Pattaya, Thailand.

ภาคผนวก

ก

ข

ค

ง

ภาพที่ 1 แปลงพืชทั้ง 4 ชนิดที่ทำการเก็บตัวอย่าง ของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก

ก แปลงกาแฟ

ข แปลงอะโวกาโด

ค แปลงมะคาเดเมีย

ง แปลงชา

ก

ข

ค

ง

จ

ภาพที่ 2 ชนิดมดที่พบทั่วไปในแปลงอะโวกาโด มะคาเดเมีย กาแฟ และชา ของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก

ก มดน้ำผึ้ง (*Anoplolepis gracilipes* Fr.Smith)

ข มดก้นห้อยธรรมดา *Dolichoderus thoracicus* Smith

ค มดไอ้ชี่นดำ *Odontoponera denticulata* Smith

ง มดก้นรูปหัวใจ *Crematogaster coriaria* Mayr

จ มด *Diacamma rugosum* (Le Guillou))

1 mm

ภาพที่ 3 ชนิดมดที่เป็นรายงานการพบครั้งแรก (new recorded) ในประเทศไทย *Cerapachys sauteri* Forel

ตารางที่ 1 รายชื่อชนิดมดที่พบในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก จังหวัดตาก

วงศ์ (family)	วงศ์ย่อย (subfamily	สกุล (Genus)	ชนิด (species)
Formicidae	Aenictinae	*Aenictus*	sp.1
Formicidae	Cerapachyinae	*Cerapchys*	*sauteri*
Formicidae	Dolichoderinae	*Dolichoderus*	sp.1
Formicidae	Dolichoderinae	*Dolichoderus*	*thoracicus*
Formicidae	Dolichoderinae	*Philidris*	sp.1
Formicidae	Dolichoderinae	*Technomyrmex*	sp.1
Formicidae	Ectatomminae	*Gnamptogenys*	*bicolor*
Formicidae	Ectatomminae	*Gnamptogenys*	sp.1
Formicidae	Formicinae	*Anoplolepis*	*gracilipes*
Formicidae	Formicinae	*Camponotus*	*cicutellus*
Formicidae	Formicinae	*Camponotus*	*tanae*
Formicidae	Formicinae	*Nylanderia*	sp.1
Formicidae	Formicinae	*Nylanderia*	sp.2
Formicidae	Formicinae	*Nylanderia*	sp.3
Formicidae	Formicinae	*Oecophylla*	*smaragdina*
Formicidae	Formicinae	*Polyrachis*	sp.1
Formicidae	Formicinae	*Polyrachis*	sp.2
Formicidae	Formicinae	*Prenolepis*	sp.1
Formicidae	Myrmicinae	*Crematogaster*	*coriaria*

วงศ์ (family)	วงศ์ย่อย (subfamily	สกุล (Genus)	ชนิด (species)
Formicidae	Myrmicinae	*Crematogaster*	sp.1
Formicidae	Myrmicinae	*Momomorium*	*pharaonis*
Formicidae	Myrmicinae	*Myrmecina*	sp.1
Formicidae	Myrmicinae	*Oligomyrmex*	sp.1
Formicidae	Myrmicinae	*Pheidole*	sp.1
Formicidae	Myrmicinae	*Pheidole*	sp.2
Formicidae	Myrmicinae	*Pheidole*	sp.3
Formicidae	Myrmicinae	*Pheidole*	sp.4
Formicidae	Myrmicinae	*Pheidole*	sp.5
Formicidae	Myrmicinae	*Pheidole*	sp.6
Formicidae	Myrmicinae	*Pheidole*	sp.7
Formicidae	Myrmicinae	*Pheidole*	sp.8
Formicidae	Myrmicinae	*Pheidologeton*	*affinis*
Formicidae	Myrmicinae	*Strumigenys*	sp.1
Formicidae	Myrmicinae	*Tetramorium*	*ciliatum*
Formicidae	Myrmicinae	*Tetramorium*	sp.1
Formicidae	Myrmicinae	*Tetramorium*	sp.3
Formicidae	Myrmicinae	*Tetramorium*	sp.4
Formicidae	Myrmicinae	*Tetramorium*	sp.5
Formicidae	Myrmicinae	*Tetramorium*	sp.6
Formicidae	Myrmicinae	*Tetramorium*	sp.7
Formicidae	Myrmicinae	*Tetramorium*	sp.8
Formicidae	Myrmicinae	*Tetramorium*	sp.9
Formicidae	Myrmicinae	*Vollenhovia*	*emeryi*
Formicidae	Ponerinae	*Anochetus*	sp.1
Formicidae	Ponerinae	*Diacamma*	*rugosum*
Formicidae	Ponerinae	*Diacamma*	sp.7 of AMK
Formicidae	Ponerinae	*Hypoponera*	sp.1
Formicidae	Ponerinae	*Leptogenys*	*diminuta*
Formicidae	Ponerinae	*Leptogenys*	*kittili*
Formicidae	Ponerinae	*Leptogenys*	sp.5
Formicidae	Ponerinae	*Odontoponera*	*denticulata*
Formicidae	Ponerinae	*Pachycondyla*	*astuta*
Formicidae	Ponerinae	*Pachycondyla*	*chinensis*
Formicidae	Ponerinae	*Pachycondyla*	sp.1
Formicidae	Pseudomyrmecinae	*Tetraponera*	sp.1

ความหลากชนิดของด้วงงวงในเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช
Species Diversity of Weevils at Sakaerat Biosphere Reserves

อิทธิพล บรรณาการ จารุวัตถ์ แต้กุล สุนัดดา เชาวลิต
ชมัยพร บัวมาศ เกศสุดา สนศิริ สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาความหลากชนิดของด้วงงวงในเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช โดยการสำรวจและรวบรวมด้วงงวงในพื้นที่สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช จังหวัดนครราชสีมา ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึง เดือนกันยายน 2556 นำตัวอย่างด้วงงวงที่รวบรวมได้มาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานด้านสัณฐานวิทยา (Morphology) เพื่อตรวจจำแนกชนิดโดยตรวจวิเคราะห์ชนิดใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และเปรียบเทียบกับตัวอย่างด้วงงวงในพิพิธภัณฑ์แมลง ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สามารถจำแนกชนิดด้วงงวงได้ 12 วงศ์ย่อย (Subfamily) 28 ชนิด 302 ตัวอย่าง ซึ่งจัดอยู่ในอันดับ (Order) Coleoptera วงศ์ (Family) Curculionidae วงศ์ย่อย Apioninae คือ *Apion* sp. วงศ์ย่อย Attelabinae คือ *Apoderus notatus* Fabricius วงศ์ย่อย Baridinae ได้แก่ *Baris* sp., *Corpus* sp., *Pempherulus* sp. วงศ์ย่อย *Brentinae* คือ *Cordus plumipennis* วงศ์ย่อย Cryptorynchinae ได้แก่ *Sternochetus olivieri* (Faust), *Sybulus* sp1., *Sybulus* sp2. วงศ์ย่อย Curculioninae คือ *Balaninus* sp. วงศ์ย่อย Entiminae ได้แก่ *Astycus lateralis*, *Eugnathus alterans*, *Hypomeces squamosus* (Fabricius), *Phrixopogon hausti* Marshall, *Phytoscaphus* sp. *Platytrachelus paviei* Aurivillius, *Sepiomus* sp., *Trachelisus bioculatus* วงศ์ย่อย Ereminae คือ *Cyphicerus* sp. วงศ์ย่อย Erirhininae คือ *Tadius* sp. วงศ์ย่อย Molytinae ได้แก่ *Acicnemis* sp., *Alcidodes* obesus, *Alcidodes* sp2., *Colobodes* sp. วงศ์ย่อย Rhynchitinae คือ *Rhynchites* sp1., *Rhynchites* sp2., *Rhynchites* sp3. และวงศ์ย่อย Rhynchophorinae คือ *Cosmopolites sodidus* (Germar) ด้วงงวงทั้งหมดพบในเนื้อไม้ใบไม้ และจากกับดักแสงไฟ ทำให้ทราบชนิด ลักษณะการทำลาย และเขตการแพร่กระจายของด้วงงวงในเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช จัดทำแนวทางการวินิจฉัยชนิดและถ่ายภาพลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธานของด้วงงวงทั้ง 28 ชนิด นำตัวอย่างด้วงงวงจัดเก็บในพิพิธภัณฑ์แมลงพร้อมนำข้อมูลที่รวบรวมได้จัดทำฐานข้อมูลพิพิธภัณฑ์แมลงกรมวิชาการเกษตร สำหรับใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานประกอบการจัดทำรายชื่อชนิดแมลงศัตรูพืชรองรับปัญหาด้านการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร และทราบถึงเขตการแพร่กระจายของด้วงงวงในเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-02-00-06-54

Abstract

Surveying and collecting of weevils in Family Curculionidae was studied in Sakaerat Biospere Reserves, Nakhon Ratchasrima province, Thailand during October 2010 to September 2013. Weevils were taken to Entomology and Zoology Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture for detecting by study the taxonomy and morphology and compared with the specimens of weevils in DOA Insect Museum. The result from surveying and collecting weevils, 302 were found to be weevils in Subfamily Apioninae; *Apion* sp. **Subfamily** Attelabinae; *Apoderus notatus* Fabricius Subfamily Baridinae; *Baris* sp., *Corpus* sp., *Pempherulus* sp. Subfamily *Brentinae*; *Cordus plumipennis* Subfamily Cryptorynchinae; *Sternochetus olivieri* (Faust), *Sybulus* sp1., *Sybulus* sp2. Subfamily Curculioninae; *Balaninus* sp. Subfamily Entiminae; *Astycus lateralis*, *Eugnathus alterans*, *Hypomeces squamosus* (Fabricius), *Phrixopogon hausti* Marshall, *Phytoscaphus* sp. *Platytrachelus paviei* Aurivillius, *Sepiomus* sp., *Trachelisus bioculatus* Subfamily Ereminae; *Cyphicerus* sp. Subfamily Erirhininae; *Tadius* sp. Subfamily Molytinae; *Acicnemis* sp., *Alcidodes obesus*, *Alcidodes* sp2., *Colobodes* sp. Subfamily Rhynchitinae; *Rhynchites* sp1., *Rhynchites* sp2., *Rhynchites* sp3. and Subfamily Rhynchophorinae; *Cosmopolites sodidus* (Germar). Key and photographic taxonomic characters of 28 species were provided.

คำนำ

ด้วงงวง (weevils, snout beetles) จัดเป็นวงศ์ (Family) ที่มีความหลากชนิดและจำนวนมากที่สุดของแมลงในอันดับด้วง (Order Coleoptera) มีขนาดแตกต่างกันตั้งแต่ 2 - 25 มิลลิเมตร ตัวเต็มวัยมีลักษณะเด่นที่บริเวณปากจะเป็นงวงยาวชี้ไปข้างหน้ามีกรามและฟันอยู่ที่ส่วนปลาย บางชนิดมีงวงที่ยาวมากซึ่งอาจยาวกว่าครึ่งหนึ่งของลำตัว แต่โดยทั่วไปแล้วงวงจะมีขนาดสั้น มีหนวดแบบหักศอก (geniculate) ระยะหนอนไม่มีขา หัวและฟันเจริญดี ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยเจาะอาศัยอยู่ในเนื้อไม้ทั้งไม้สดและไม้แห้ง ตัวอ่อนหลายชนิดอาศัย กัดกินอยู่ในรากพืช เมล็ดพืช สร้างความเสียหายกับผลผลิตทางการเกษตร พืชปลูก ไม้ดอกไม้ประดับ ผลไม้ และพืชผัก เช่น ด้วงงวงชนิด *Anthonomus pomorum* ทำลายตาดอกแอปเปิ้ล แมลงค่อมทอง สกุล *Phyllobius* spp. กัดกินทำลายใบพืช และตัวอ่อนด้วงงวงชนิด *Otiorhynchus sulcatus* กัดกินรากพืช นอกจากนี้ยังมีด้วงงวงอีกหลายชนิดที่เป็นปัญหาในการส่งออกและนำเข้าผลผลิตทางการเกษตร เช่น ด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง *Sternochetus olivieri* ซึ่งเป็นปัญหาในการส่งออกมะม่วงจากประเทศไทยไปยังประเทศมาเลเซีย และด้วงงวงขั้วผลส้ม *Pantomorus cervinus* ซึ่งเป็นปัญหาในการนำเข้าผลส้มจากออสเตรเลีย (ศิริณี และ ชลิดา, 2551) ด้วงงวงจึงเป็นแมลงที่น่าเรียนรู้และทำความรู้จักอย่างยิ่ง แหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช (Sakaerat Biospere Reserves) เป็นแหล่งสงวนชีวมณฑลของโลกซึ่งได้รับการรับรองจากองค์การ UNESCO ภายใต้โครงการมนุษย์และชีวมณฑล (Man and Biosphere, MAB) ในปี 2519 เดิมเป็นสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มีพื้นที่ปกคลุมด้วยป่าไม้สำคัญ 2 ชนิด คือ ป่าดิบแล้ง (Dry Evergreen Forest) และป่าเต็งรัง (Dry

Dipterocarp Forest) รวมประมาณ 48,800 ไร่ พื้นที่นี้มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง ประกอบด้วยชนิดพันธุ์พืช สัตว์ และแมลงจำนวนมาก อาทิ ด้วงงวง โดยความหลากชนิดและปริมาณของตัวอ่อนและตัวเต็มวัยด้วงงวง มีบทบาทสำคัญในระบบห่วงโซ่อาหารคือเป็นอาหารของสัตว์อื่นๆ เช่น นก และแมลงห้ำต่างๆ ทำให้ระบบนิเวศ มีความสมดุล ซึ่งนับวันพื้นที่ป่าก็จะถูกบุกรุกทำลายกลายเป็นชุมชน ป่าลดน้อยลง พันธุ์พืช สัตว์ และแมลงก็จะค่อยๆสูญสิ้นไป ได้มีการศึกษาด้านพันธุ์พืชต่างๆ แต่ยังไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับด้วงงวงในเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช จึงสมควรสำรวจและศึกษาชนิดของด้วงงวง การศึกษาความหลากชนิดของด้วงงวงในเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช นั้นจะได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์อย่างมาก ในการศึกษาวิจัยและรวบรวมการแพร่กระจายของด้วงงวงในเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างตัวเต็มวัยด้วงงวงและหนอนที่รวบรวมได้จากเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ขวดฆ่าที่บรรจุสารเอทิลอะซีเตท ขวดดอง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ซองกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง ถังรักษาความเย็น ฯลฯ
3. อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิม เข็มหมุดหัวกลม ไม้จัดรูปร่างแมลง ปากคีบโหลชื้น ตู้อบแมลง ฯลฯ
4. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น น้ำกลั่น แอลกอฮอล์ 50-100%, กรดอะซิติก, โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 10%, โคลฟออย เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล่องสไลด์ถาวร ตู้อบสไลด์ถาวร กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope กล้องถ่ายภาพ
5. อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotting และกระดาษไขเขียนแบบ
6. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของด้วงงวง

วิธีการ

การศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน

1. สำรวจและเก็บรวบรวมด้วงงวงในบริเวณป่าดิบแล้งและป่าเต็งรัง ทุกๆ 2 เดือน เดินสำรวจด้วงงวง ถ่ายภาพและเก็บตัวอย่าง โดยเก็บตัวอ่อนในหลอดบรรจุแอลกอฮอล์ 80 % และตัวเต็มวัยในขวดฆ่าที่บรรจุสารเอทิลอะซิเตท หลังจากด้วงตายให้เก็บตัวเต็มวัยในกระดาษรูปสามเหลี่ยมโดยห่อแบบท๊อฟฟี่ บันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่าง ลักษณะ ขนาด สี พืชอาศัย วันเดือนปี ชื่อผู้เก็บ สภาพแวดล้อม อุณหภูมิ และพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) เป็นต้น ในเวลากลางคืนจะเก็บตัวอย่างด้วงงวงจากกับดักแสงไฟ (light trap)
2. นำตัวอย่างด้วงงวงที่รวบรวมได้มาศึกษาชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของด้วงงวง ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ บันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยการถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ รวมถึงให้รายละเอียดบนแผ่นป้ายบันทึกของขวดดองตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ที่จำแนกได้ วัน/เดือน/ปี สถานที่เก็บตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

3. จัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) สกุล และชนิดของด้วงงวง ที่รวบรวมได้พร้อมภาพประกอบ จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของการเก็บรักษาตัวอย่างแมลง

เวลาและสถานที่: เดือน ตุลาคม 2553 ถึง เดือน กันยายน 2556

1. เขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช จังหวัดนครราชสีมา
2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและรวบรวมตัวอย่างด้วงงวงสามารถวิเคราะห์ชนิดด้วงงวง ได้ 12 วงศ์ย่อย 28 ชนิด (Table 1) ผลการศึกษาตามอนุกรมวิธานของตัวเต็มวัยด้วงงวง พบว่าด้วงงวงเป็นแมลงในอันดับ Coleoptera วงศ์ Curculionidae เป็นแมลงที่มีขนาดลำตัวเล็กประมาณ 2 - 25 มิลลิเมตร ตัวเต็มวัยมีลักษณะเด่นที่บริเวณปากจะเป็นงวงยาวชี้ไปข้างหน้ามีกรามและฟันอยู่ที่ส่วนปลาย บางชนิดมีงวงที่ยาวมากซึ่งอาจยาวกว่าครึ่งหนึ่งของลำตัว แต่โดยทั่วไปแล้วงวงจะมีขนาดสั้น มีหนวดแบบหักศอก (geniculate) ระยะหนอนไม่มีขา หัวและฟันเจริญดี รูปร่างลักษณะทั่วๆ ไปดัง Figure 1 สามารถนำมาจัดทำแนวทางการวินิจฉัยชนิดด้วงงวงโดยปรับปรุงมาจาก แนวทางการวินิจฉัยชนิดของ Triplehorn and Johnson (2005) และ White (1983) รวมทั้งเปรียบเทียบกับตัวอย่างด้วงงวงที่มีในพิพิธภัณฑ์แมลงของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ดังนี้

แนวทางการวินิจฉัยชนิดของด้วงงวง วงศ์ Curculionidae

1 - Body elongated-oval or narrow.....2
- Body board or pear-shaped.....4

2 - Head bent down; antenna straight; short and boarded snout; pronotum with saw – tooth margin; base of elytra protrude and hairy.....
.....**Subfamily Ereminae**
- Head prognathus or less pear-shaped: long or vertically mandilble.....3

3 - Antenna elbowed; pronotum narrower than base of elytra.....
.....**Subfamily Curculioninae**
- Antenna bead liked; pronotum less pear-shaped; elytra striate parallel and light strips.....**Subfamily Brentinae**

4 - Hairy and shiny or appressed scales.....5
- Pear-shaped or robust form or dark color.....6

5 - Pronotum round puncture; Elytra with long striped parallel.....
.....**Subfamily Erirhininae**
- Pronotum pear-shaped; head with big compound eyes; elytra with round puncture and hairy.....**Subfamily Rhynchitinae**

6 - Body very small; head short; antenna straight; long snout; elytra with longitudinal suture.....**Subfamily Apioninae**

- Body is bigger than former; antenna straight or elbow; short snout.....7

7 - Head very long; antenna straight; elytra longitudinal with round puncture..... .....**Subfamily Attalabinae**

- Head short; body dark color and robust form; antenna elbow.....8

8 - Head beneath pronotum; deep groove snout; pronotum sculpturing; elytra ventral channel extended beyond prosternum into mesosternu..... .....**Subfamily Cryptorynchinae**

- Head normally visible; snout short and board; pronotum striped and round puncture.....9

8 - Pronotum with round puncture and upward-extended mesepimera; elytra truncated by elytral humeri and visible in dorsal view.....**Subfamily Baradinae**

- Pronotum striped arched margin.....10

10 - Elytra prominent tubercles and hairy scale.....**Subfamily Molytinae**

- Elytra not prominent tubercles and hairy scale.....11

11 - Elytra tape.....**Subfamily Rynchophorinae**

- Elytra not tapering, suture and vestigial, some fused humri rounded..... .....**Subfamily Entiminae**

รายละเอียดของด้วงงวงแต่ละวงศ์ย่อย

วงศ์ย่อย Ereminae

Cyphicerus sp. (Fig. 2)

รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ

ลำตัว (body) เรียวยาวคล้ายรูปไข่ ขนาดประมาณ 6-10 มิลลิเมตร

ส่วนหัว (head) ตารวมใหญ่ ส่วนหัวงุ้มลง ปากเป็นแผ่นกว้างและสั้น หนวดมีลักษณะเป็นเส้นตรง ปล้องหนวดสามปล้องสุดท้ายมีขนาดใหญ่

ส่วนอก (thorax) บริเวณขอบของอกปล้องแรก (pronotum) มีลักษณะคล้ายฟันเลื่อย ฐานของปีกคู่หน้านูนขึ้นอย่างเห็นได้ชัด และมีเส้นขนปกคลุมทั่วปีกและลำตัว

พบอาศัยกัดกินอยู่ในเศษซากไม้ผุพัง และในส่วนเปลือกของต้นไม้ที่มีชีวิต ในต่างประเทศพบมากในต้นโอ๊คและไม้โอ๊คแปรรูป

วงศ์ย่อย Curculioninae

Balaninus sp. (Fig. 3)

รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ

ลำตัว เรียวยาวคล้ายรูปไข่ ขนาดประมาณ 5-8 มิลลิเมตร

ส่วนหัว ตารวมมีขนาดเล็ก ส่วนหัวยื่นไปข้างหน้า ปากมีลักษณะเป็นงวงที่ยาวมาก และส่วนกราม (mandible) อยู่ในแนวตั้ง หนวดมีลักษณะงอเป็นข้อศอก ส่วนของ pulp แข็งและสั้น

ส่วนอก อกปล้องแรกมีขนาดแคบกว่าฐานของปีกคู่หน้า

พบอาศัยกัดกินทั้งต้นไม้ที่มีชีวิตและต้นไม้ที่ผุพัง หลายชนิดเป็นศัตรูสำคัญของพืช พบทำลายพืชในส่วนรากพืช ตัวอ่อนอาศัยกัดกินอยู่ส่วนเจริญของพืช ตัวเต็มวัยบางชนิดทำลายในส่วนผล เช่น ลูกนัท และพืชอื่นๆ

วงศ์ย่อย Brentinae

Cordus plumipennis (Fig. 4)

รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ

ลำตัว เรียวยาว ขนาดประมาณ 7-8 มิลลิเมตร

ส่วนหัว ตารวมมีขนาดใหญ่ ส่วนหัวยื่นไปข้างหน้า หนวดมีลักษณะเป็นเส้นตรง ปล้องหนวดสามปล้องท้ายมีขนาดใหญ่

ส่วนอก ฐานของอกปล้องแรกมีขนาดกว้างกว่าขอบบน ทำให้มีลักษณะคล้ายลูกแพร์ ขอบปีกคู่หน้ายาวตรงและขนาดกันทั้งปีก และมีแถบสีขาวสั้นๆ บนปีก

พบอาศัยกัดกินทั้งต้นไม้ที่มีชีวิตและต้นไม้ที่ผุพัง ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัย (Hangay and Zborowski, 2010)

วงศ์ย่อย Erirhininae

Tadius sp. (Fig. 5)

รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ

ลำตัว สีเข้ม ลักษณะแข็งแรง (robust form) ขนาดประมาณ 7-9 มิลลิเมตร

ส่วนหัว ตารวมมีขนาดใหญ่ ส่วนหัวยื่นไปข้างหน้า หนวดมีลักษณะงอเป็นข้อศอก ส่วนของ pulp แข็งและสั้น

ส่วนอก พบกลุ่มเกล็ด (scale) กระจายบนอกปล้องแรก มีแถบเกล็ดสีขาวยาวขนานกันตลอดตั้งแต่ฐานปีกจนถึงส่วนปลายปีก

ตัวอ่อนอาศัยกัดกินพืชในกลุ่มพืชน้ำ (aquatic plants) และมักพบด้วงงวงในวงศ์ย่อยนี้บริเวณแหล่งน้ำ เช่น *Lissorhoptrus oryzophilus* Kuschel (Rice water weevil) นอกจากนี้ยังพบกัดกินพืชตระกูลหญ้า โดยตัวอ่อนจะอาศัยกัดกินบริเวณราก และตัวเต็มวัยจะกินใบ ในพิพิธภัณฑ์แมลงพบกินใบกล้วยไม้ช้าง

วงศ์ย่อย Rynchitinae

Rhynchites sp1. (Fig. 6)

Rhynchites sp2. (Fig. 7)

Rhynchites sp3. (Fig. 8)

รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ

ลำตัว มีสีสดมันวาว ปกคลุมด้วยขนหนาแน่นตลอดทั้งลำตัว ขนาดประมาณ 2-14 มิลลิเมตร

ส่วนหัว ตารวมมีขนาดใหญ่ ส่วนหัวยื่นไปข้างหน้า หนวดมีลักษณะเป็นเส้นตรง ปล้องหนวดสามปล้องท้ายมีขนาดใหญ่

ส่วนอก ฐานของอกปล้องแรกมีขนาดกว้างกว่าขอบบน ทำให้มีลักษณะคล้ายลูกแพร์ มีเส้นขนกระจายหนาแน่น กระจายบนอกปล้องแรก ร่องหลุม (punctures) บนปีกคู่หน้ามีรูปร่างเป็นวงกลม ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยบางชนิดเป็นศัตรูพืชโดยพบกัดกินใบมะม่วง ในประเทศไทยพบทำลายมะม่วง

ในจังหวัดฉะเชิงเทรา และกัดกินทำลายกุหลาบในส่วนตา ลักษณะการทำลายเป็นหลุมลึก ทำให้ต้นชะงักการเจริญเติบโตนอกจากนี้ยังพบทำลายผลไม้บางชนิดอีกด้วย

วงศ์ย่อย Apioninae

Apion sp. (Fig. 9)

รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ

ลำตัว สีดำ มีขนาดเล็กมาก ลักษณะคล้ายลูกแพร์ ขนาดประมาณ 2-3 มิลลิเมตร

ส่วนหัว ตารวมมีขนาดเล็ก ส่วนหัวสั้นและยื่นไปข้างหน้า หนวดมีลักษณะเป็นเส้นตรง ปล้องหนวดสามปล้องท้ายมีขนาดใหญ่

ส่วนอก อกปล้องแรกมีรูปร่างเรียวยาวคล้ายสี่เหลี่ยมคางหมู ไม่พบกลุ่มเกล็ดและร่องหลุมบนอก ปีกคู่หน้ามีร่องหลุ่มเป็นเส้นยาวตั้งแต่ฐานปีกจนถึงปลายปีก และบริเวณกลางปีกมีลักษณะโค้งนูนขึ้นอย่างเห็นได้ชัด

ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยกัดกินเจริญเติบโตอยู่ในพืชหลายชนิด ทั้งในส่วนเมล็ด ใบ และลำต้น เป็นสาเหตุหลักของการเกิดปมบนส่วนต่างๆ ของพืช ตัวเต็มวัยบางชนิดทำลายพืชจนเป็นรูกลวง พบลงทำลายปาล์มน้ำมันและอาศัยเป็นจำนวนมากในต้นเต่าร้าง

วงศ์ย่อย Attalabine

Apoderus notatus Fabricius (Fig. 10)

รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ

ลำตัว สีน้ำตาลแดง ส่วนท้องใหญ่และกว้างกว่าส่วนอก ขนาดประมาณ 9-12 มิลลิเมตร

ส่วนหัว ตารวมมีขนาดใหญ่ ส่วนหัวยาวมากยื่นไปข้างหน้า ปากสั้น ฐานของส่วนหัวมีขนาดแคบส่วนบน คล้ายรูปสามเหลี่ยมหัวกลับ หนวดมีลักษณะเป็นเส้นตรง ปล้องหนวดสามปล้องท้ายมีขนาดใหญ่

ส่วนอก อกปล้องแรกเรียวยาว มีรูปร่างเรียวยาวคล้ายสี่เหลี่ยมคางหมู ไม่พบกลุ่มเกล็ดและร่องหลุมบนอก ปีกคู่หน้ามีสันนูนยาว และมีร่องหลุ่มเป็นเส้นยาวตั้งแต่ฐานปีกจนถึงปลายปีก และบริเวณปลายส่วนท้องใหญ่กว่าบริเวณตอนต้นของส่วนท้องอย่างชัดเจน

ตัวเต็มวัยเพศเมียของด้วงงวงชนิดนี้วางไข่ที่เส้นใบและจะกัดใบเพื่อใช้เป็นที่อยู่อาศัยของตัวอ่อน ตัวอ่อนบางชนิดอาศัยในผลไม้และตาของพืช ใช้ลักษณะความแตกต่างของกรามในการจำแนกชนิด ในประเทศไทยมีรายงานพบกัดกินใบชมพู่มะเหมี่ยว หูกวาง ยาง และมะม่วง

วงศ์ย่อย Cryptorynchinae

Sternochetus olivieri (Faust) (Fig. 11)

Sybulus sp1. (Fig. 12)

Sybulus sp2. (Fig. 13)

รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ

ลำตัว รูปร่างกลมรี สีเข้ม ขนาดประมาณ 7-9 มิลลิเมตร

ส่วนหัว ไม่มีตาเดี่ยว ตารวมใหญ่ ส่วนหัวยื่นยาวออกคล้ายงวง และมีปากแบบกัดกินอยู่ที่ส่วนปลายสุด หนวดมีลักษณะแบบข้อศอกผสมแบบลูกตุ้ม ส่วนของ pulps แข็ง สั้น

ส่วนอก อกปล้องแรกมีเกล็ดสีดำกระจายรอบสันหลังของส่วนอก ปีกคู่หน้ามีลักษณะหนาแข็ง บริเวณโคนปีกถึงปลายปีกมีลักษณะแคบลง มีร่องหลุมบนปีก มีทั้งกลุ่มเกล็ดสีขาวและสีดำเป็นกลุ่มๆ หรือกระจายทั่วปีก

ด้วงงวงในวงศ์ย่อยนี้บางชนิดเป็นแมลงศัตรูสำคัญของมะม่วง เช่น *Sternochetus olivieri* (Faust) ด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง ทั้งนี้ประเทศไทยเคยประสบปัญหาการส่งออกมะม่วงไปยังประเทศมาเลเซีย เนื่องจากประเทศมาเลเซียรายงานว่าพบด้วงงวงในสกุลนี้ติดไปกับผลมะม่วง โดยด้วงชนิดนี้จะอาศัยอยู่ภายในเมล็ด และเนื้อมะม่วง ทำให้ยากต่อการตรวจสอบ นอกจากนี้ยังทำให้เกิดรอยแผลบนผลผลิต ทำให้ราคาตกต่ำ อีกทั้งยังทำให้เกิดเชื้อราบนผิวผลไม้ได้ ตัวเต็มวัยสามารถพักตัวในดินได้เป็นระยะเวลานานข้ามปี (อิทธิพล และคณะ, 2552)

วงศ์ย่อย Baradinae

Baris sp. (Fig. 14)

Corpus sp. (Fig. 15)

Pempherulus sp. (Fig. 16)

รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ

ลำตัว แข็ง สั้น ขนาดประมาณ 4-7 มิลลิเมตร

ส่วนหัว ตารวมมีขนาดใหญ่เกือบเต็มพื้นที่ของส่วนหัว หัวกลมและปากงุ้มลงด้านล่าง บางชนิดปากแข็งสั้น บางชนิดปากยาว หนวดมีลักษณะงอเป็นข้อศอก ส่วนของ pulp แข็งและสั้น

ส่วนอก อกปล้องแรกมีขนาดใหญ่และกว้าง และมีร่องหลุมกระจายทั่วอกปล้องแรก ปีกคู่หน้ามีสันนูนขนานกันจากส่วนฐานของปีกถึงส่วนปลาย และมีร่องหลุ่มเรียงตัวกันจำนวนมากภายในช่องสันนูน

วงศ์ย่อยนี้เป็นวงศ์ย่อยที่มีจำนวนชนิดมากที่สุด มีขนาดลำตัวเล็ก แข็ง สั้น พบกัดกินใบของพืชสมุนไพร เช่น พริกไทย และพืชปลูกบางชนิด เช่น มันฝรั่ง มะเขือยาว แห้วจีน และฝ้าย เป็นต้น ตัวอ่อนอาศัยในลำต้น ตัวเต็มวัยกัดกินทำลายใบ ในต่างประเทศพบทำลายใบยาสูบ นอกจากนี้ยังทำให้พืชเกิดปมอีกด้วย

วงศ์ย่อย Molytinae

Acicnemis sp. (Fig. 17)

Alcidodes obesus (Fig. 18)

Alcidodes sp2. (Fig. 19)

Colobodes sp. (Fig. 20)

รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ

ลำตัว รูปทรงกระบอก สีเข้ม มีกลุ่มเกล็ดปกคลุมละเอียดทั่วลำตัว บางชนิดมีกลุ่มเกล็ดมากจนเหมือนเป็นเส้นขน ขนาดประมาณ 4-14 มิลลิเมตร

ส่วนหัว ตารวมมีขนาดเล็ก หัวและปากงุ้มลงด้านล่าง บริเวณปลายปากขยายกว้าง หนวดมีลักษณะงอเป็นข้อศอก ส่วนของ pulp ยาว

ส่วนอก อกปล้องแรกมีขนาดใหญ่ ภายในร่องหลุมบนส่วนอกและปีกมีเกล็ดขนอยู่ภายในบริเวณปีกคู่หน้ามีสันนูนและร่องหลุมขนาดต่างๆ กัน บางชนิดมีกลุ่มเกล็ดยาวขึ้นละเอียดจนมองดูคล้ายกลุ่มขนรอบลำตัว

ด้วงงวงในวงศ์ย่อยนี้เป็นศัตรูสำคัญของพืชตระกูลสน ตัวอ่อนเจริญเติบโตภายในกิ่งและพุ่มไม้ โดยเจาะรูเป็นอุโมงค์อาศัยอยู่ภายใน รวมถึงลำต้นและอาจทำให้ต้นสนยืนต้นตาย นอกจากนี้ยังทำลายไม้ผล รวมถึงไม้เนื้อแข็งอื่นๆ เช่น ไม้โอ๊ค เป็นต้น

วงศ์ย่อย Rhynchophorinae

Cosmopolites sodidus (Germar) (Fig. 21)

รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ

ลำตัว คล้ายทรงกระบอก แต่ส่วนปลายท้องจะคอดแหลม ลำตัวแข็งแน่น สีเข้ม มีขนาดต่างกันตั้งแต่ 10-50 มิลลิเมตร

ส่วนหัว ตารวมมีขนาดใหญ่ หัวและปากงุ้มลงด้านล่าง บริเวณโคนของปลายปากใหญ่กว่าส่วนปลายปากมีขนาดหนา ใหญ่ และค่อนข้างแข็ง หนวดมีลักษณะงอเป็นข้อศอก ส่วนของ pulp สั้น

ส่วนอก อกปล้องแรกมีขนาดใหญ่ มีร่องหลุมกระจายตัวละเอียดบนอกปล้องแรก บริเวณปีกคู่หน้ามีสันนูนที่บริเวณฐานปีก และมีสันนูนตามแนวยาวไปจนถึงปลายปีก ภายในช่องระหว่างสันนูนมีร่องหลุมเรียงติดต่อกันจำนวนมาก ส่วนปลายของปีกทั้งสองข้างเว้าแหลม ทำให้มองจากด้านบนจะเป็นว่าส่วนท้องของด้วงงวงในวงศ์ย่อยนี้มีลักษณะแหลมกว่าวงศ์ย่อยอื่นๆ

ด้วงงวงในวงศ์ย่อยนี้เป็นศัตรูสำคัญของกล้วย และพืชตระกูลปาล์ม เช่น *Rhynchophorus ferrugineus* ลักษณะการทำลายจะเริ่มจากตัวเต็มวัยวางไข่ที่บริเวณลำต้นของพืช และตัวอ่อนจะเจาะเข้าไปอาศัยและกัดกินภายในส่วนกลางของลำต้น ทำให้ต้นปาล์มยืนต้นตาย นับว่าด้วงงวงในวงศ์ย่อยนี้เป็นศัตรูสำคัญของพืชตระกูลปาล์ม

วงศ์ย่อย Entiminae

Astycus lateralis (Fig. 22)

Eugnathus alterans (Fig. 23)

Hypomeces squamosus (Fabricius) (Fig. 24)

Phrixopogon hausti Marshall (Fig. 25)

Phytoscaphus sp. (Fig. 26)

Platytrachelus paviei Aurivillus (Fig. 27)

Sepiomus sp. (Fig. 28)

Trachelisus bioculatus (Fig. 29)

รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ

ลำตัว อ้วน ส่วนท้ายป้อม มีขนกระจายรอบลำตัว มีขนาดต่างกันตั้งแต่ 7-18 มิลลิเมตร

ส่วนหัว ตารวมมีขนาดไม่ใหญ่มากนัก หัวและปากยื่นไปด้านหน้า ปากมีขนาดกว้างและสั้น หนวดมีลักษณะงอเป็นข้อศอก ส่วนของข้อต่อหนวด (pedicel) ค่อนข้างยาว

ส่วนอก อกปล้องแรกมีขนาดต่างกัน มีทั้งร่องหลุมและเส้นขนกระจายตัวบนอกปล้องแรก บริเวณปีกคู่หน้า มีร่องหลุมเรียงติดต่อกันจำนวนมากทำให้เห็นเหมือนเส้นที่เป็นสันนูน ปลายของส่วนท้องและปีกใหญ่และป้อม

ด้วงงวงในวงศ์ย่อยนี้บางชนิดไม่สามารถบินได้ เนื่องจากปีกคู่หน้าเชื่อมติดกัน เป็นศัตรูสำคัญของพืชไร่หลายชนิด เช่น อ้อย ข้าวโพด กาแฟ ถั่วเหลือง และฝ้าย นอกจากนี้ยังพบทำลายกุหลาบและพืชที่ปลูกในโรงเรือน ด้วงงวงชนิดที่สำคัญในวงศ์ย่อยนี้คือ *Pantamorus cervinus* (Fuller rose weevil) หรือ ด้วงงวงขั้วผลส้มที่มีปัญหาการติดมาจากการนำเข้าผลส้มจากประเทศออสเตรเลียมายังประเทศไทย บางชนิดทำลายพืชที่ปลูกในเมืองหนาว และบางชนิดอาศัยอยู่ในเศษซากพืชซากสัตว์รวมถึงมูลของสัตว์อื่นๆ ด้วย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาความหลากชนิดของด้วงงวงในเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช โดยการสำรวจและรวบรวมด้วงงวงในพื้นที่สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช จังหวัดนครราชสีมา ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2556 นำตัวอย่างด้วงงวงที่รวบรวมได้มาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานด้านสัณฐานวิทยาเพื่อตรวจจำแนกชนิดโดยตรวจวิเคราะห์ชนิดใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และเปรียบเทียบกับตัวอย่างด้วงงวง ในพิพิธภัณฑ์แมลง ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สามารถจำแนกชนิดด้วงงวงได้ 12 วงศ์ย่อย (Subfamily) 28 ชนิด 302 ตัวอย่าง ซึ่งจัดอยู่ในอันดับ (Order) Coleoptera วงศ์ (Family) Curculionidae วงศ์ย่อย Apioninae คือ *Apion* sp. วงศ์ย่อย Attelabinae คือ *Apoderus notatus* Fabricius วงศ์ย่อย Baridinae ได้แก่ *Baris* sp., *Corpus* sp., *Pempherulus* sp. วงศ์ย่อย *Brentinae* คือ *Cordus plumipennis* วงศ์ย่อย Cryptorynchinae ได้แก่ *Sternochetus olivieri* (Faust), *Sybulus* sp1., *Sybulus* sp2. วงศ์ย่อย Curculioninae คือ *Balaninus* sp. วงศ์ย่อย Entiminae ได้แก่ *Astycus lateralis*, *Eugnathus alterans*, *Hypomeces squamosus* (Fabricius), *Phrixopogon hausti* Marshall, *Phytoscaphus* sp. *Platytrachelus paviei* Aurivillius, *Sepiomus* sp., *Trachelisus bioculatus* วงศ์ย่อย Ereminae คือ *Cyphicerus* sp. วงศ์ย่อย Erirhininae คือ *Tadius* sp. วงศ์ย่อย Molytinae ได้แก่ *Acicnemis* sp., *Alcidodes obesus*, *Alcidodes* sp2., *Colobodes* sp. วงศ์ย่อย Rhynchitinae คือ *Rhynchites* sp1., *Rhynchites* sp2., *Rhynchites* sp3. และวงศ์ย่อย Rhynchophorinae คือ *Cosmopolites sodidus* (Germar) ด้วงงวงทั้งหมดพบในเนื้อไม้ ใบไม้ และจากกับดักแสงไฟ ทำให้ทราบชนิด ลักษณะการทำลาย และเขตการแพร่กระจายของด้วงงวงในเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช จัดทำแนวทางการวินิจฉัยชนิดและถ่ายภาพลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธานของด้วงงวงทั้ง 28 ชนิด นำตัวอย่าง ด้วงงวงจัดเก็บในพิพิธภัณฑ์แมลง พร้อมนำข้อมูลที่รวบรวมได้จัดทำฐานข้อมูลพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร ตัวอย่างที่ได้จากการสำรวจ เก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลงกรมวิชาการเกษตร เพื่อตรวจสอบความถูกต้อง พร้อมจัดทำฐานข้อมูล นำไปใช้อ้างอิงทางวิชาการสำหรับงานอนุกรมวิธานและงานกีฏวิทยาด้านอื่นๆ นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรู เพื่อประกอบในงานสำคัญด้านการส่งออกและนำเข้าสินค้าเกษตรตลอดจนใช้ในด้านการกักกันพืช ซึ่งเป็นไปตามมาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measure: SPS Agreement) ขององค์การการค้าโลก (WTO) ที่ประเทศสมาชิกรวมทั้งประเทศไทยจะต้องใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชเพื่อปกป้องสุขภาพมนุษย์ สัตว์ พืชและสิ่งแวดล้อม (อรุณี, 2543) และทราบถึงเขตการแพร่กระจายของด้วงงวงในเขตสงวนชีวมณฑลสะแกราช

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ นายทักษิณ อาชวาคม ผู้อำนวยการสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช ต.อุดมทรัพย์ อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้พื้นที่เพื่อสำรวจความหลากชนิดของด้วงงวง รวมถึงการอำนวยความสะดวกต่างๆ ทั้งในส่วนของเจ้าหน้าที่นำทางในเส้นทางศึกษาธรรมชาติ และที่พักระหว่างการทำวิจัยตั้งแต่ ปี พ.ศ. 2554-2556 (3 ปี) จึงขอขอบพระคุณมา ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

ศิริณี พูนไชยศรี และ ชลิดา อุณหวุฒิ. 2551. จดหมายข่าวผลิใบ. 11(9): 6-9.

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

อิทธิพล บรรณาการ สุนัดดา เชาวลิต และ ศิริณี พูนไชยศรี. 2552. จำแนกชนิดด้วงงวงสกุล *Sternochetus* spp. แก้ปัญหาส่งออกมะม่วงไปมาเลเซีย. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 9. วันที่ 24-26 พฤศจิกายน 2552. จ.อุบลราชธานี.

Hangay, G. and P. Zborowski. 2010. A Guide to the Beetles of Australia. CSIRO Publishing. Collingwood. Victoria, Australia. 238 pp.

Triplehorn, C.A. and N.F. Johnson. 2005. 7th ed. Borror and DeLong’s Introduction to the study of insects. Thomson Brooks/Cole, Belmont, CA. 864 pp.

White, R. E. 1983. Beetles. A Field Guide to the Beetles. Houghton Mifflin Company. Boston, New York. 366 pp.

ภาคผนวก

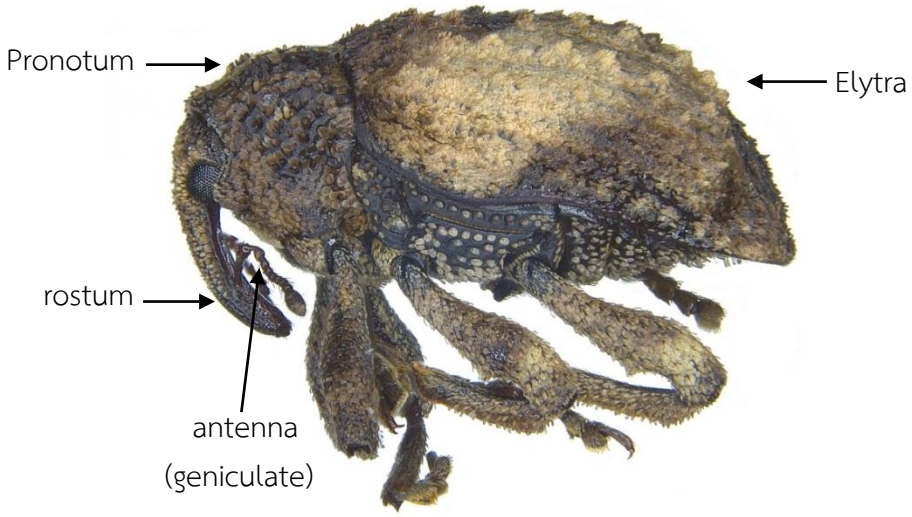


Figure 1 Morphology of Weevil in Family Curculionidae (อิทธิพล และคณะ, 2552)

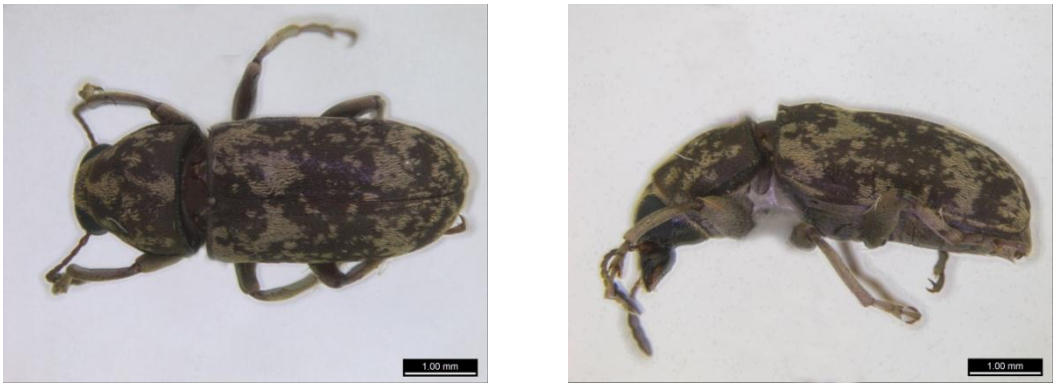


Figure 2 Morphology of *Cyphicerus* sp.

Figure 3 Morphology of *Balaninus* sp.

Figure 4 Morphology of *Cordus plumipennis*

Figure 5 Morphology of *Tadius* sp.

Figure 6 Morphology of *Rynchites* sp1.

Figure 7 Morphology of *Rynchites* sp2.

Figure 8 Morphology of *Rynchites* sp3.

Figure 9 Morphology of *Apion* sp.

Figure 10 Morphology of *Apoderus notatus* Fabricius

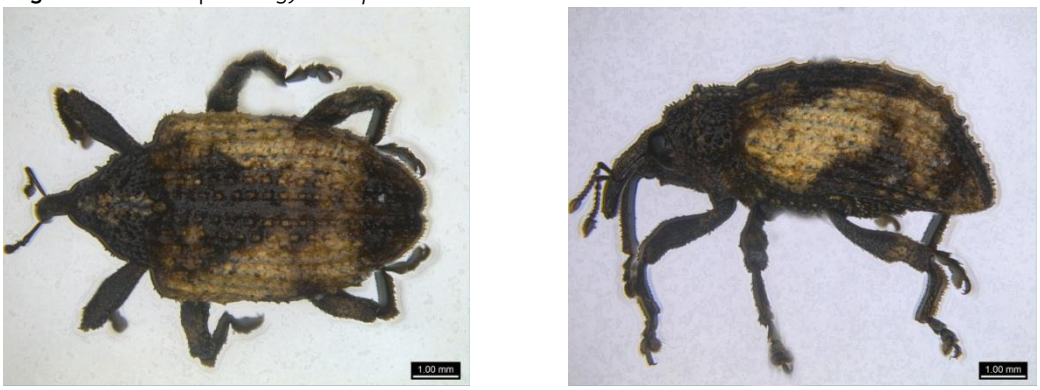


Figure 11 Morphology of *Sternochetus olivieri* (Faust)

Figure 12 Morphology of *Sybulus* sp1.

Figure 13 Morphology of *Sybulus* sp2.

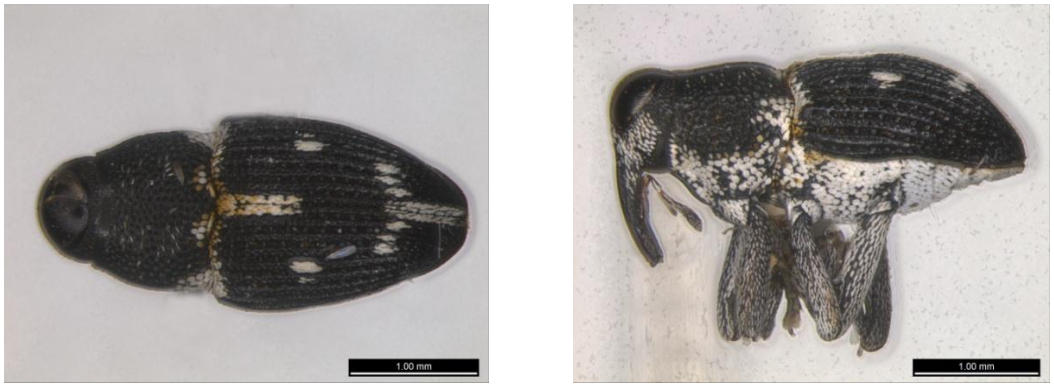


Figure 14 Morphology of *Baris* sp.

Figure 15 Morphology of *Corpus* sp.

Figure 16 Morphology of *Phempherulus* sp.

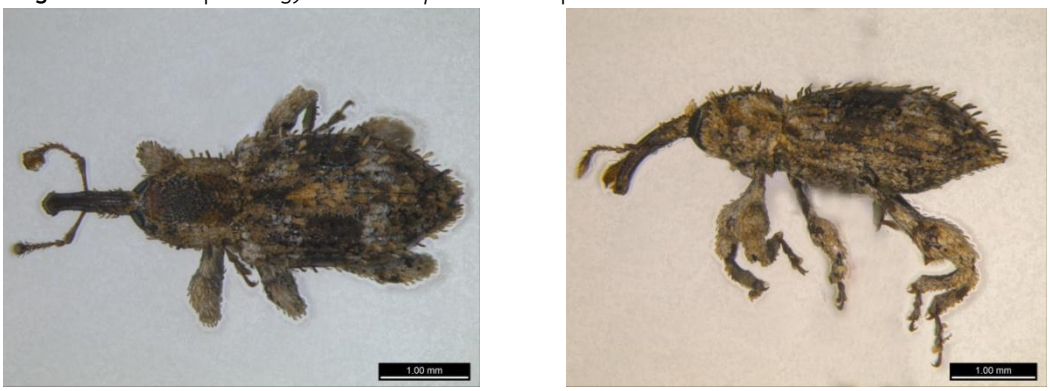


Figure 17 Morphology of *Acicnemis* sp.

Figure 18 Morphology of *Alcidodes obesus*

Figure 19 Morphology of *Alcidodes* sp2.

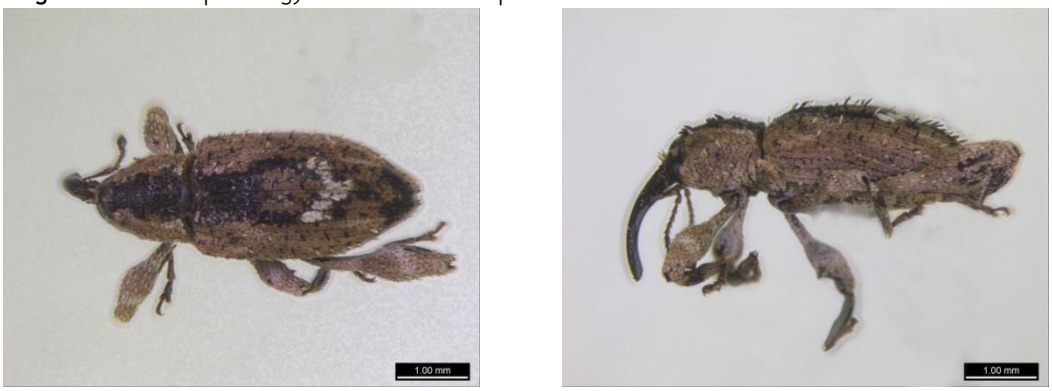


Figure 20 Morphology of *Colobodes* sp.

Figure 21 Morphology of *Cosmopolites sodidus* (Germar)

Figure 22 Morphology of *Astycus lateralis*

Figure 23 Morphology of *Eugnathus alterans*

Figure 24 Morphology of *Hypomeces squamosus*

Figure 25 Morphology of *Phrixopogon hausti* Marshall

Figure 26 Morphology of *Phytoscaphus* sp.

Figure 27 Morphology of *Platytrachelus paviei* Aurivillius

Figure 28 Morphology of *Sepiomus* sp.

Figure 29 Morphology of *Trachelisus bioculatus*

Table 1 The numbers of weevils were collected from various areas in Sakaerat Biosphere Reserves (During October 2011 to September 2013)

Subfamily	Genus	Year			Total
		2011	2012	2013	
Apioninae	*Apion* sp.	80			80
Attelabinae	*Apoderus notatus*	1			1
Baridinae	*Baris* sp.			6	6
	Corpus sp.			3	3
	Pempherulus sp.			8	8
Brentinae	*Cordus plumipennis*			26	26
Cryptorhynchinae	*Sternochetus olivieri*			4	4
	Sybulus sp1.	1			1
	Sybulus sp2.		2		2
Curculioninae	*Balaninus* sp1.		1		1
Entiminae	*Astycus lateralis*	2			2
	Eugnathus alterans			17	17
	Hypomeces squamosus		26		26
	Phrixopogon hausti		28		28
	Phytoscaphus sp.	1			1
	Platytrachelus paviei		8		8
	Sepiomus sp.			32	32
	Trachelisus bioculatus		4		4
Ereminae	*Cyphicerus* sp.	1			1
Erirhininae	*Tadius* sp.	1			1
Molytinae	*Acicnemis* sp.			7	7
	Alcidodes obesus		2		2
	Alcidodes sp2.			1	1
	Colobodes sp.	1			1
Rhynchitinae	*Rhychites* sp1.		8		8
	Rhychites sp2.			23	23
	Rhychites sp3.			1	1
Rhynchophorinae	*Cosmopolites sodidus*		7		7
Total	**28**	**88**	**86**	**128**	**302**

การวิจัยและพัฒนาการผลิตชุดตรวจสอบเชื้อไวรัส *Sugarcane mosaic virus* subgroup *Maize dwarf mosaic virus*

Research and development of test kit for detection of *Sugarcane mosaic virus* subgroup *Maize dwarf mosaic virus*.

เยาวภา ตันติวานิช[1/] ศิวิไล ลาภบรรจบ[2/]

[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน

บทคัดย่อ

การนำเทคนิค Gold labeled IgG flow test (GLIFT) มาพัฒนาและปรับใช้เป็นชุดตรวจสอบไวรัสโรคใบด่างข้าวโพด (SCMV) ที่สามารถตรวจสอบได้แม่นยำ ใช้ง่าย สะดวกและอ่านผลได้รวดเร็ว โดยอาศัยหลักการทางเซรุ่มวิทยา (serology) และ lateral flow technique บนแผ่นไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน (Nitrocellulose membrane; NCM) การเตรียมและทดสอบคุณภาพ IgG ของ SCMV โดยการตรวจสอบด้วยวิธี Dot immunobinding assay (DIBA) เตรียม Gold conjugated IgG โดยนำอนุภาคทอง (colloidal gold) มาเชื่อมต่อ (conjugate) กับ IgG ของ SCMV และเตรียม conjugated release pad (CRP) โดยใช้ปริมาณ 100-120 ไมโครลิตร/15–18 เซนติเมตร (6.6 ไมโครลิตร/เซนติเมตร) ทำเส้น control line ด้วย GAR (Goat anti rabbit เข้มข้นอัตรา 1:3) และ test line ด้วย IgG ของ SCMV ปริมาณ 40 ไมโครลิตร/2.5 X 18 เซนติเมตร (2.2 ไมโครลิตร/เซนติเมตร) บนแผ่น NCM (วัสดุเป็น S&S – AE 99, ขนาด 8 ไมโครเมตร) เมื่อประกอบเป็นชุดตรวจสอบแล้ว และทำการทดสอบกับน้ำคั้นใบข้าวโพดจากต้นข้าวโพดที่เป็นโรคพบว่า ชุดตรวจสอบ GLIFT kit ที่ได้พัฒนาปรับใช้ครั้งนี้สามารถตรวจสอบไวรัสใบด่างข้าวโพดได้ที่ความเข้มข้น 1 : 10 โดยสามารถทราบผลได้ภายในระยะเวลาที่รวดเร็ว คือ เส้น control line และ test line ปรากฏสีในเวลาประมาณ 5 นาที

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-01-04-54

คำนำ

ข้าวโพดเป็นธัญพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจมากพืชหนึ่งของโลก ผลผลิตประมาณครึ่งหนึ่งใช้เป็นอาหารมนุษย์ ใช้บริโภคทั้งภายในประเทศและส่งขายต่างประเทศ ได้แก่ ญี่ปุ่น ฮ่องกง ไต้หวัน และสิงค์โปร์ จึงจัดเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2546) ประเทศไทยเป็นประเทศผู้ส่งออกข้าวโพดหวานเป็นอันดับ 4 ของโลก ทำรายได้เข้าประเทศปีละประมาณ 600-900 ล้านบาท โดยส่งออกข้าวโพดในรูปของข้าวโพดหวาน บรรจุกระป๋อง ข้าวโพดหวานแช่แข็ง ข้าวโพดฝักอ่อนบรรจุกระป๋อง ครีมข้าวโพด เมล็ดพันธุ์ ข้าวโพดหวาน และข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2547) ข้าวโพดหวานจัดเป็นข้าวโพดที่สำคัญที่สุดในการส่งออก ในปี 2548 ประเทศไทยส่งออกข้าวโพดหวานในรูปแบบต่างๆ เป็นมูลค่ารวม 3,200 ล้านบาท แต่ในช่วงที่ผ่านมาพบว่าเกษตรกรประสบปัญหาความแห้งแล้งร่วมกับการระบาดของไวรัสและโรคใบไหม้แผลใหญ่จากเชื้อราทำให้ปริมาณผลผลิตลดลง ไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด ตั้งแต่ปี 2547 เป็นต้นมา

โรคไวรัสที่สำคัญของข้าวโพดที่เคยมีรายงานในประเทศไทย ได้แก่ โรคใบด่างลายที่เกิดจากเชื้อ *Maize dwarf mosaic virus*-B (MDMV-B) (ธีระ, 2532) ซึ่งปัจจุบันชื่อได้เปลี่ยนเป็น *Sugarcane mosaic virus* สายพันธุ์ MDB (SCMV-MDB) ตามข้อกำหนดของ ICTV (International committee for taxonomy of Viruses) เชื้อ *Sugarcane mosaic virus* หรือ SCMV จัดอยู่ในจีนัส *Potyvirus* แฟมิลี่ *Potyviridae* เข้าทำลายพืชเศรษฐกิจหลายชนิด ได้แก่ อ้อย ข้าวโพด และ ข้าวฟ่าง (Pirone, 1972; Teakle *et al*.,1989) เดิม SCMV มีชื่อเรียกหลายชื่อ เช่น grass mosaic virus หรือ maize dwarf mosaic virus strain B (MacKenzie , 1966; Louie และ Knoke, 1975; Shukla; 1989) ไวรัสมีอนุภาคเป็นท่อนยาวคด ขนาดประมาณ 750 นาโนเมตร ถ่ายทอดได้ด้วยวิธีกลและแมลงจำพวกเพลี้ยอ่อนหญ้า (*Hysteronerura setariae* Thos.) และเพลี้ยอ่อนข้าวโพด (*Rhopalosiphum maidis* Fitch.) ไม่ถ่ายทอดผ่านเมล็ด พืชอาศัยจำกัดอยู่ในวงศ์ Gramineae ผลจากการปลูกเชื้อโดยวิธีสัมผัสลงบนพืชในวงศ์ Gramineae 26 ชนิด และวงศ์Leguminosae 7 ชนิด พบว่าพืชส่วนมากแสดงลักษณะอาการของโรคคล้ายกัน คือ ในระยะแรก หลังการปลูกเชื้อ 5-7 วัน เกิดอาการด่างประเป็นขีดเล็ก ๆ สีขาวบริเวณโคนใบ จากนั้นอาการด่างจะแพร่กระจายทั่วใบแต่สังเกตอาการได้ชัดเจนบริเวณใบอ่อน ส่วนพืชในวงศ์ Leguminosae ที่ใช้ทดสอบปรากฏว่าไม่เกิดอาการของโรค (ธีระ, 2532) SCMV มีหลายสายพันธุ์ จัดแบ่งได้เป็น 4 subgroups ได้แก่ 1) Johnson grass mosaic virus 2) Maize dwarf mosaic virus 3) Sugarcane mosaic virus 4) Sorghum mosaic virus (Shukla *et al*., 1989)

ปี พ.ศ. 2547 พิสสวรรณ และคณะ ได้รายงานว่าพบเชื้อ เชื้อ *Maize chlorotic mottle virus* (MCMV) เข้าทำลายข้าวโพดหวานจากจังหวัดตาก เรียกชื่อโรคว่า โรคใบด่างประจุดเหลืองจำแนกเชื้อโดยผลการตรวจวินิจฉัยทางซีรัมวิทยา ชีวโมเลกุล ร่วมกับการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของโปรตีนห่อหุ้มอนุภาค และจัดว่าเป็นไวรัสที่ก่อให้เกิดความเสียหายรุนแรง ทำให้เกิดอาการด่างและแผลไหม้บนใบ ลำต้น และฝักข้าวโพดอย่างรุนแรง ต่อมาพบโรคใบด่างประจุดเหลืองในข้าวโพดจากแหล่งปลูกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดนครราชสีมา ในช่วงปี 2547-2548 เกษตรกรพบโรคใบด่างและใบไหม้ของข้าวโพดระบาดกว้างขวางในหลายพื้นที่ เช่น จังหวัดนครราชสีมา สระบุรี แต่เมื่อตรวจสอบใบข้าวโพดที่เป็นโรคด้วยแอนติซีรัมต่อเชื้อ SCMV ไอโซเลทที่แยกจากอ้อยแล้ว พบปฏิกิริยาไม่ชัดเจน แต่ตรวจพบอนุภาคไวรัสรูปท่อนยาวคดในใบข้าวโพดดังกล่าว การทดลองครั้งนี้จึงมี

จุดประสงค์เพื่อศึกษาจำแนกเชื้อไวรัส สาเหตุโรคใบด่างลายของข้าวโพด ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ การเตรียมไวรัสบริสุทธิ์ รวมทั้งศึกษาข้อมูลของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส (Coat protein gene or CP gene) เพื่อจัดจำแนกชนิดของเชื้อ

ปัจจุบันมีการใช้เทคนิคการตรวจสอบสาเหตุโรคหลายชนิดในการตรวจสอบไวรัสนี้ เช่น เทคนิค dot blot hybridization Direct antigen coating ELISA (DAC-ELISA) Tissue blot immunoassay (TBIA) RT-PCR และ Real Time PCR ซึ่งเทคนิคต่างๆ เหล่านั้นอาจต้องใช้เวลาในการตรวจสอบนาน และ/หรือมีค่าใช้จ่ายสูง ไม่สะดวกต่อการปฏิบัติงานในภาคสนามและการให้บริการตรวจสอบผลิตผลเกษตร ทั้งนี้จึงได้มีการพัฒนาวิธีการตรวจสอบไวรัสของกล้วยไม้และไวรัสของมันฝรั่งโดยวิธี Gold labeled IgG flow test (GLIFT) ทำให้การตรวจสอบมีความสะดวกขึ้นมากและอ่านผลได้ในเวลารวดเร็ว คือ ใช้เวลาในการตรวจเพียง 5 นาที (สุรภี และคณะ, 2547 และ กิตติศักดิ์ และคณะ, 2549) นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาและนำวิธี GLIFT ไปปรับใช้ในการผลิตชุดตรวจวินิจฉัยโรคไวรัสและแบคทีเรียของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดอื่น ๆ อีกหลายโรคด้วยกัน (สุรภี และคณะ, 2551) งานวิจัยนี้จึงได้นำ เทคนิค GLIFT Kit (Gold Labeling IgG Flow Test) มาปรับใช้ในการตรวจสอบไวรัสชนิดนี้ เพื่อให้สามารถตรวจสอบไวรัสได้อย่างมีประสิทธิภาพ สะดวกรวดเร็ว และถูกต้องแม่นยำมากขึ้น สามารถควบคุมโรคอย่างได้ผลและมีประสิทธิภาพ สามารถดำเนินการป้องกันกำจัดโรคได้อย่างรวดเร็วและทันต่อเหตุการณ์ การตรวจวินิจฉัยโรคพืชนอกจากต้องเป็นวิธีการที่แม่นยำ และสะดวกแล้ว ควรที่จะสามารถใช้ตรวจสอบได้เองในผู้ใช้ทุกระดับ รวมทั้งต้องมีราคาที่ไม่แพงมาก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แอนติซีรัมของไวรัสใบด่างข้าวโพด *Sugarcane mosaic virus* subgroup MDB (SCMV-MDB)
2. แผนไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน (Nitrocellulose membrane ; NCM)
3. สารละลายอนุภาคทองแขวนลอย (Colloidal Gold)
4. Goat Anti Rabbit IgG
5. แผ่น conjugated release pad (CRP)
6. 0.1 M phosphate buffer, pH 7.2 0.5 M sodium citrate buffer pH 8.0 carbonate buffer pH 9.6 0.5 M Potassium phosphate buffer pH 7.5

วิธีการ

1. การเตรียมไวรัสที่ใช้ในการทดลองจากตัวอย่างข้าวโพดหวานที่เป็นโรคและการเพิ่มปริมาณเชื้อไวรัส

เก็บตัวอย่างข้าวโพดที่แสดงอาการใบด่างและมีอาการเตี้ยแคระจากแปลงปลูก ตรวจสอบไวรัสด้วย เทคนิค Indirect ELISA (DAC-ELISA) โดยใช้ polyclonal antibody ต่อเชื้อ SCMV โดยบดตัวอย่างใบข้าวโพดใน carbonate buffer (0.015M Na_2CO_3, 0.035M $NaHCO_3$ pH 9.6) ในอัตราใบพืช 1 กรัม ต่อบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร (1:20) ดูดน้ำคั้นปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ในหลุมของ ELISA plate บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ครบเวลาแล้วล้างด้วยสารละลาย PBST (140 mM Na_2CO_3, 2mM KH_2HPO_4, 8 mM $Na_2HPO42H_2O$, 2 mM

KCl, 0.05% Tween20) เตรียมแอนติซีรัมเจือจาง 1:1000 ใน conjugate buffer (PBST, 2% polyvinyl- pyrrodidone, 0.2% ovalbumin) ใส่ลงในหลุมๆ ละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ล้างด้วยสารละลาย PBST จากนั้นเติม anti rabbit IgG alkaline phosphatase conjugate ใน conjugate buffer ที่เจือจางในอัตรา 1:30,000 หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ล้างออกและเตรียมสารละลาย substrate p-Nitrophenyl phosphate ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรใน substrate buffer (diethanolamine 9.7%, pH 9.8) ใส่หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาด้วยสารละลาย 3M KOH หลุมละ 50 ไมโครลิตร อ่านค่า ELISA (O.D.) ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร

ตัวอย่างข้าวโพดที่ให้ผลการตรวจวินิจฉัยโรคทางซีรัมวิทยาเป็นบวก นำมาเพิ่มปริมาณบนข้าวฟ่างพันธุ์ UT432B โดยบดใบข้าวโพดใน 0.1 M phosphate buffer, pH 7.2 ในอัตราใบพืชสด 1 กรัมต่อบัฟเฟอร์ 10 มิลลิลิตรในโกร่งอบฆ่าเชื้อ และแช่เย็น ด้วยไนโตรเจนเหลวจนใบพืชละเอียด ผสมด้วยบัฟเฟอร์และแช่ในน้ำแข็ง หลังจากนั้นนำไปปลูกเชื้อด้วยวิธีกล โดยโรยผงคาร์บอรันดัมลงผสมในน้ำคั้นใบพืช ใช้นิ้วมือจุ่มลงในน้ำคั้น และทาใบพืชให้ทั่วทั้งใบ เก็บรักษาในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลองที่กันแมลงได้ ภายหลังข้าวฟ่างแสดงอาการใบด่าง เก็บใบมาเพื่อใช้ในการเตรียมไวรัสให้บริสุทธิ์

2. การเตรียมไวรัสบริสุทธิ์

ตัดใบข้าวฟ่างเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 1x1 เซนติเมตร น้ำหนัก 150 กรัม แช่แข็งที่ –20 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 1 คืน นำมาบดในเครื่องบด Blender โดยเติม 0.5 M sodium citrate buffer pH 8.0 ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ที่ผสม 2-mercaptoethanol ปริมาตร 3 มิลลิลิตร กรองผ่านผ้าขาวบางกำจัดเศษพืช เอาแต่ส่วนน้ำคั้น ปริมาตรประมาณ 300 มิลลิลิตร เติมคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 150 มิลลิลิตร กวนบนน้ำแข็ง นาน 45 นาที จากนั้นหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที เก็บน้ำใสปริมาตร 300 มิลลิลิตร ใส่บีกเกอร์ แล้วเติม polyethylene glycol 6000 อัตรา 5% และ triton X-100 อัตรา 1% ของปริมาตรของเหลว กวนบนน้ำแข็ง นาน 1.30 ชั่วโมง แล้วหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที เทของเหลวทิ้ง ละลายตะกอนด้วยสารละลาย 0.5 M Potassium phosphate buffer pH 7.5 ที่เติม 0.5M Urea ปริมาตร 100 มิลลิลิตร กวนในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นานข้ามคืน จากนั้นนำมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาที เก็บของเหลวที่มีไวรัส นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 40,000 rpm นาน 1.30 ชั่วโมงที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ละลายตะกอนด้วยสารละลาย 0.05M Potassium phosphate buffer pH 7.0 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

3. การผลิตแอนติบอดีของเชื้อ SCMV

การผลิตแอนติบอดีของเชื้อ SCMV สาเหตุโรคใบด่างของข้าวโพด เตรียมแอนติเจนโดยการเพิ่มปริมาณเชื้อไวรัสในข้าวฟ่าง การแยกเชื้อไวรัสค่อนข้างบริสุทธิ์จากข้าวฟ่างด้วยวิธีหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วต่ำสลับสูง (differential centrifugation) ได้สารละลายไวรัสค่อนข้างบริสุทธิ์ มีความเข้มข้น 45 มก./มล. ผลิตแอนติซีรัมในกระต่ายด้วยวิธีการฉีดเข้าผิวหนัง การทดสอบไตเตอร์ด้วยวิธี ELISA พบว่าแอนติซีรัมที่ผลิตได้มีไตเตอร์ตั้งแต่ 1: 2,048 ถึง 1: 32,768 และมีความจำเพาะเจาะจงต่อเชื้อ SCMV สามารถนำไปใช้ตรวจไวรัส SCMV ในพืช ด้วยวิธีการต่างๆ ทางเซรัมวิทยา

4. ผลิตชุดตรวจสอบไวรัสวิธี GLIFT kit

4.1 การสกัด Immuno gamma-globulin (IgG) ของเชื้อ SCMV นำแอนติซีรัมที่มีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อ SCMV มาแยกเฉพาะส่วนอิมมูโนโกลบูลิน (IgG) ออกจากสารอื่นๆ ในเซรุ่มนั้น โดยใช้การตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต (ammonium sulfate precipitation) (Hampton *et al,*1990) นำ แอนติซีรัม 1 มิลลิลิตรผสมกับ น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 1 มิลลิลิตร หยด saturated ammonium sulfate pH 7.2 ปริมาตร 1.3 มิลลิลิตร ที่แช่เย็น ค่อยๆ หยดบนเครื่องกวน (stirring) ทำให้มีแอนติซีรัม มีความเข้มข้นของ ammonium sulfate 40 เปอร์เซ็นต์ ผสมบนเครื่องกวนต่อไป 30 นาที เก็บไว้ข้ามคืนในตู้เย็น นำมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บตะกอนค่อยๆ ละลายตะกอนด้วย Phosphate buffer Saline (PBS) (0.01 M phosphate buffer pH 7.2 และ 0.15 M NaCl) 1 มิลลิลิตร เติม น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 1 มิลลิลิตร และ saturated ammonium sulfate 1.02 มิลลิลิตร ทำให้แอนติซีรัมมีความเข้มข้นของ ammonium sulfate 33% ผสมบนเครื่องกวน 30 นาที ตกตะกอนที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ละลายตะกอนด้วย PBS 1.5 มิลลิลิตร นำไปทำให้ ammonium sulfate เจือจางโดย dialysis ใน PBS ที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง โดยมีการเปลี่ยน PBS ทุกๆ 4 ชั่วโมง นำมากรองผ่าน filter ขนาด 0.2 ไมครอน เก็บ IgG ไว้ที่ –20 องศาเซลเซียส

4.2 ทดสอบคุณภาพของ IgG โดยนำ IgG ของเชื้อ SCMV ที่ได้มาวัดความเข้มข้น ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ช่วงคลื่นแสง 280 นาโนเมตร เจือจางให้เชื้อมีค่า O.D. เท่ากับ 1.4 โดยใช้ครึ่งเท่าของ PBS เพื่อให้มีปริมาณโปรตีน 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปทดสอบคุณภาพโดยการตรวจเชื้อ SCMV ในตัวอย่างข้าวโพดด้วยวิธี Indirect Dot Immunobinding assay (DIBA) (Hampton *et al*, 1990 โดยใช้ IgG ของเชื้อ SCMV ที่เจือจาง 1: 500

4.3 การเตรียม Gold conjugated IgG ทำการติดฉลาก IgG ของ SCMV ด้วยอนุภาคทอง โดยนำ IgG ของ SCMV 100 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายอนุภาคทองแขวนลอย (Colloidal Gold) (ของ DCN Diagnostic Consulting Network, Biodot, USA) ปริมาณ 10 มิลลิลิตร นำมากวนด้วย magnetic stirrer นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เติมสารละลาย bovine serum albumin (BSA) ที่เข้มข้น 10% กวนเบาๆ อีก 30 นาที แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงเพื่อตกตะกอน IgG ที่ติดสลากด้วยอนุภาคทอง (gold particle labeled IgG) ที่ความเร็ว 9,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดน้ำใสทิ้งแล้วละลายตะกอนด้วย gold diluted buffer pH 7.4 ให้มีปริมาณ 500-600 ไมโครลิตร จะมีความเข้มข้นของสารละลายเป็น 0.5 ที่ OD 540 เติม sucrose ในอัตรา 20 เปอร์เซ็นต์ เขย่าเบาๆ ให้ละลาย

4.4 การเตรียมแผ่น conjugated release pad (CRP) นำแผ่น CRP (วัสดุเป็น cotton linters paper) มาตัดให้มีขนาดกว้างประมาณ 0.8–1.0 เซนติเมตร ยาวประมาณ 15–18 เซนติเมตร วางลงบนกระดาษขาวที่สะอาด ใช้ภู่กันเบอร์ 0 จุ่ม Gold conjugated IgG ป้ายลงบน CRP ตรงกึ่งกลางแผ่น โดยใช้ Gold conjugated IgG ปริมาณ 100 – 120 ไมโครลิตร/15–18 เซนติเมตร แล้วนำไปอบแห้ง ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ห่อด้วยอลูมินั่มฟอล์ย เก็บไว้ในที่แห้ง

4.5 การทำเส้น test line และ control line โดยนำแผ่น NCM (วัสดุเป็น S&S – AE 99, size 8 ไมโครเมตร) ขนาดกว้าง 2.5 เซนติเมตร ตัดให้มีความยาว 18 เซนติเมตร (ขึ้นกับ

ขนาดของ backing) ทำเครื่องหมายด้วยดินสอที่ด้านบนของแผ่น เป็นตำแหน่ง control line ที่อยู่ห่างจากริมด้านบนของแผ่น NCM 1 เซนติเมตร และเส้น test line อยู่ถัดลงมาจาก control line 0.5 เซนติเมตร ใช้ปากกาหมึกซึม (ขนาดปาก 0.5-0.7 มิลลิเมตร) จุ่ม GAR (Goat anti rabbit เข้มข้นอัตรา 1:3) ปริมาณ 40 ไมโครลิตร/แผ่น ลากเส้น control line โดยใช้ไม้บรรทัดวางเป็นแนวเส้นตรง แตะปากกาลงและลากเส้นจากซ้ายไปทางขวาช้าๆ จนสุดปลาย NCM ทั้งนี้ไม่ต้องออกแรงกด หากปากกาแห้งให้จุ่ม GAR ใหม่ แล้วลากเส้นต่อ ให้ขนาดเส้นที่เปียกบนแผ่น NCM มีขนาดเท่าๆ กันทั้งเส้นใช้ปากกาด้ามใหม่ (ขนาดปาก 0.5-0.7 มิลลิเมตร) จุ่มซับ IgG ของ RRSV (เข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาณ 40 ไมโครลิตร/แผ่น ลากเส้น test line ปฏิบัติเช่นเดียวกันกับ control line นำไปอบแห้งที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง

4.6 การประกอบเป็นชุดตรวจสอบ

- นำแผ่น backing หรือ พลาสติก ขนาด 11X18 เซนติเมตร ที่เคลือบกาวไว้ 1 ด้าน
- ลอกกระดาษปิดกาวออกตรงกลางที่ตำแหน่งของ NCM วางแผ่น NCM ลงให้เรียบ
- ลอกกระดาษปิดกาวออกตรงตำแหน่งของ CRP วางแผ่น CRP ให้เกยทับ NCM ประมาณ 1-2 มิลลิเมตร
- ลอกกระดาษปิดกาวออกตรงตำแหน่งของ Sample application pad (SAP) วางแผ่น SAP เกยแผ่น CRP 1-2 มิลลิเมตร
- ลอกกระดาษปิดกาวออกตรงตำแหน่งของ absorbing pad (Wick) วางแผ่น Wick เกยทับแผ่น NCM 1-2 มิลลิเมตร
- ตัดด้วยที่ตัดกระดาษให้มีความกว้างเป็น 0.42 - 0.45 เซนติเมตร
- บรรจุชุดตรวจสอบลงตลับ ทดสอบคุณภาพกับตัวอย่างน้ำคั้นพืชที่เจือจาง 1:10 เท่า
- เก็บ GLIFT kit ไว้ในถุงอลูมินั่มฟอล์ย และเก็บที่อุณหภูมิห้องที่แห้ง

4.7 การเตรียมตัวอย่างและทดสอบประสิทธิภาพชุดตรวจสอบ บดตัวอย่างใบข้าวโพดจากต้นที่เป็นโรคใบด่างและต้นข้าวโพดปกติใน extraction buffer อัตรา 1 : 10 (ตัวอย่างใบข้าวโพด : buffer) หยดน้ำคั้นจากใบข้าวโพดลงในชุดตรวจสอบ GLIFT kit ชุดละ 3 -4 หยด ตรวจผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น เพื่อทดสอบคุณภาพของชุดตรวจสอบไวรัสใบหงิก GLIFT kit ที่ได้พัฒนาขึ้นในครั้งนี้

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม ๒๕๕๔ – กันยายน ๒๕๕๖

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสกัด Immuno gamma-globulin (IgG) ของ RRSV นำ IgG ที่ได้มาปรับความเข้มข้น ให้มีความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วทำการทดสอบคุณภาพของ IgG ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการตรวจสอบไวรัสใบด่างข้าวโพด โดยวิธี DIBA พบว่า IgG ที่ผลิตได้สามารถตรวจหาไวรัสโรคใบด่างของข้าวโพดและมีค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมในการตรวจสอบด้วยวิธี DIBA คือ 1: 500

นำ IgG ที่เตรียมได้ไป conjugate กับสารละลายอนุภาคทองแขวนลอย (colloidal gold) ได้เป็น IgG ที่ติดสลากด้วยอนุภาคทอง (gold conjugated IgG or gold particle labeled IgG) ทำการเตรียมแผ่น CRP โดยใช้ภู่กันจุ่มและป้ายลงบนแผ่น CRP ปริมาณ 100 – 120 ไมโครลิตร/แผ่น (15 – 18 เซนติเมตร) แล้วนำไปอบแห้ง ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ห่อด้วยอลูมินั่มฟอล์ย เก็บไว้ในที่แห้ง จากนั้นได้นำแผ่น NCM มาทำเส้น test line และ control line โดยใช้ปากกาหมึกซึมจุ่ม GAR ลากเส้น control line เป็นแนวเส้นตรง จากซ้ายไปทางขวาสุดปลาย NCM แล้วใช้ปากกาด้ามใหม่จุ่ม IgG ของ SCMV ลากเส้น test line ปริมาณ 40 ไมโครลิตร/แผ่น จากนั้นนำไปอบแห้งที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง นำแผ่น CRP ที่ป้ายด้วย IgG ที่ติดสลากด้วยอนุภาคทอง และแผ่น NCM ที่ได้ลากเส้น test line และ control line มาประกอบเป็นชุดตรวจสอบ บนแผ่น backing โดยประกอบร่วมกับแผ่น SAP และแผ่น wick เป็นชุดตรวจสอบ GLIFT kit

เมื่อนำชุดตรวจสอบ GLIFT kit มาทำการตรวจสอบไวรัส SCMV ในน้ำคั้นจากใบข้าวโพดที่เป็นโรคใบด่าง ต้นข้าวปกติ และสารละลายไวรัสที่บริสุทธิ์ที่เจือจางในสารละลาย phosphate buffer pH 7.4 อัตรา 1 : 100 พบว่า ชุดตรวจสอบ GLIFT kit ที่พัฒนาในครั้งนี้ สามารถตรวจสอบไวรัส SCMV จากตัวอย่างน้ำคั้นใบข้าวโพดที่เป็นโรคใบด่างที่ความเข้มข้น 1 : 10 และสารละลายไวรัสที่บริสุทธิ์ที่ความเข้มข้น 1 :100 โดย test line ปรากฏสีขึ้นมา เช่นเดียวกับ control line ภายในระยะเวลาประมาณ 5 นาที โดยที่ตัวอย่างน้ำคั้นใบข้าวโพดจากต้นปกติปรากฏเฉพาะ control line

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การพัฒนาชุดตรวจสอบ GLIFT kit เพื่อตรวจสอบไวรัสใบด่างของข้าวโพดในครั้งนี้ สามารถตรวจสอบไวรัสใบด่างจากตัวอย่างน้ำคั้นใบข้าวโพดที่เป็นโรคใบด่างที่ความเข้มข้น 1 : 10 โดย test line และ control line ปรากฏสีภายในระยะเวลาประมาณ 5 นาที ดังนั้นเทคนิค Gold labeled IgG flow test (GLIFT) นี้ สามารถนำมาปรับใช้ในการผลิตชุดตรวจสอบ GLIFT kit เพื่อตรวจหาไวรัสใบด่างของข้าวโพด เพื่อให้นักวิชาการ และเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง สามารถนำไปใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคใบด่างของข้าวโพดได้ด้วยตนเอง รวมทั้งสามารถนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดต้านทานโรคไวรัส SCMV รวมทั้งการตรวจหาเชื้อไวรัสใบด่างในพืชอาศัยชนิดต่างบริเวณรอบๆ พื้นที่ปลูก ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการเฝ้าระวังการระบาดของโรคใบด่างข้าวโพดด้อีกทางหนึ่ง

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางสาวรุ่งนภา ทองเครั่ง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ที่ให้ความช่วยเหลือในการดำเนินงานทดลองครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2550. การผลิตชุดตรวจสอบไวรัสพืช (GLIFT kit) เพื่อใช้เอง. เอกสาร

ประกอบการฝึกอบรม. 13- 14 ธันวาคม 2550. กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มงานวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 50 หน้า.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2547. **ข้าวโพด**. แหล่งที่มา: http://www. 210. 86. 142. 87/. 30 มกราคม 2549.

กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร สุรภี กีรติยะอังกูร และเยาวภา ตันติวานิช. 2549. GLIFT Kit เพื่อการตรวจสอบเชื้อ Potato Virus Y ในมันฝรั่ง. วารสารวิชาการเกษตร 24 (2) : 168-177.

ธีระ สูตะบุตร. 2532. โรคไวรัสและโรคคล้ายไวรัสของพืชสำคัญในประเทศไทย. บริษัทฟันนี่พับบลิชชิ่ง ,กรุงเทพฯ

พิสสวรรณ เจียมสมบัติ, อมรรัตน์ หล้าพรหม และ วิมล สีเทา. 2547. การตรวจพบ *Maize chlorotic mottle virus* เข้าทำลายข้าวโพดหวานร่วมกับ *Sugarcane mosaic virus*. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

สุรภี กีรติยะอังกูร ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์ และกิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร. 2547. ชุดตรวจสอบโรคไวรัสกล้วยไม้ในกล้วยไม้. วารสารโรคพืช 18 (1-2) : 1-14.

สุรภี กีรติยะอังกูร วันเพ็ญ ศรีทองชัย ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และเยาวภา ตันติวานิช. 2551. โครงการผลิต GLIFT kit เพื่อตรวจวินิจฉัยโรคไวรัสและแบคทีเรียของพืชเศรษฐกิจเชิงพานิชย์. รายงานผลวิจัยเรื่องเต็ม กรมวิชาการเกษตร. 67 หน้า.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2546. **สถิติการเกษตร**. [ออนไลน์] http://www.doae.go.th/plant/sweetcorn/, 30 มกราคม 2549.

ICTVdB Mangement. 2006. **00. 074. 0. 05. 001. *Maize chlorotic mottle virus*.** ICTVdB – The Universal Virus Database, version 4. Available Source: [ออนไลน์] htt://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/, April 4, 2006.

Louis, R. and Knoke, J.K. 1975.*Pl. Dis. Reptr* 59 : 518

MacKenzie, D.R., Wernham, C.C. and Ford, R.E. 1966. Pl. Dis. Reptr 50 : 814

Pirone, T.P. 1972. Sugarcane mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of plant virus No.88.

Teakle, D.S., D.D. Shukla, and R.E.Ford. 1989. Sugarcane mosaic virus. CMI/AAB Description of plant viruses. No.342

Shukla, D.D. andC.W. Ward. 1989. Identification and classification of potyviruses on the basis of coat protein sequence data and serology. Arch. Virol. 106:171-200.

ภาคผนวก

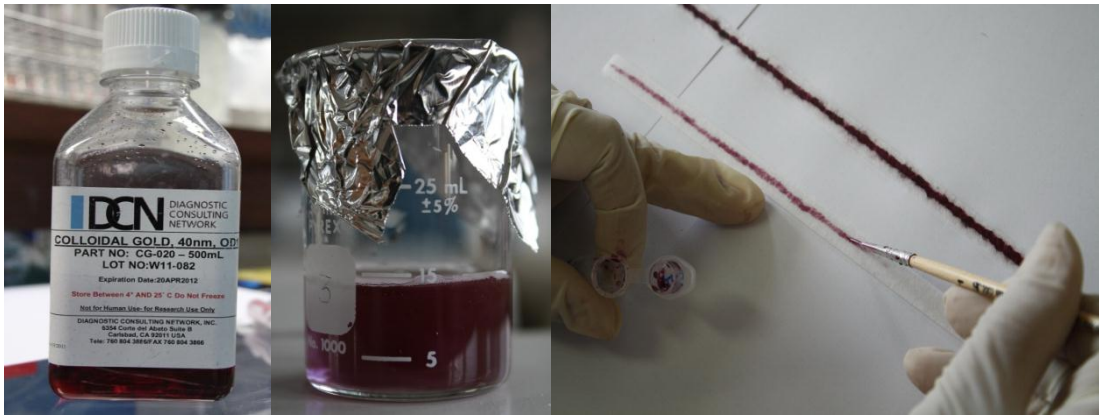


Figure 1. Collodal dold and preparing of gold conjugated IgG pad

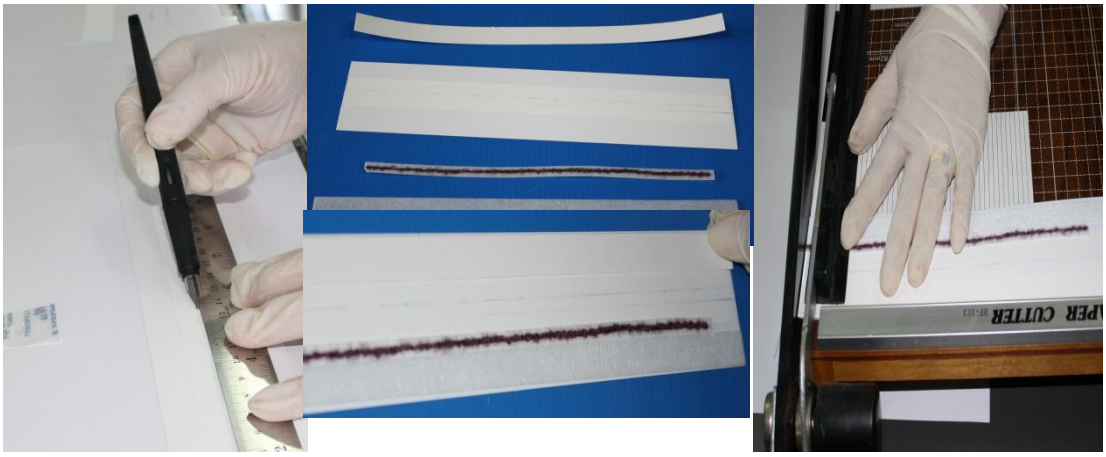


Figure 2. Assemble for GLIFT stripe

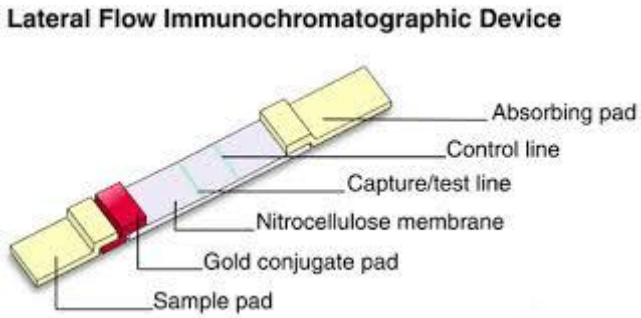


Figure 3. Diagram of GLIFT kit

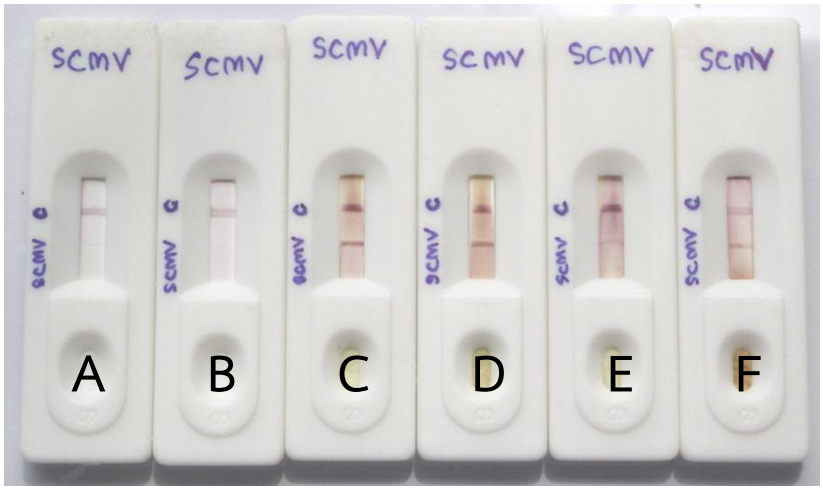


Figure 4 The result of SCMV detection on corn leaves by GLIFT Kit
A, B : Negative reaction; purple color stripe in only control line
C-F : Positive reaction; purple color stripe in both test line and control line

การพัฒนาชุดตรวจสอบแบบ Lateral flow test strip เพื่อตรวจสอบแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli*

Development of Lateral flow test strip for *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* detection

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ทิพวรรณ กันหาญาติ ทัศนาพร ทัศคร
รุ่งนภา ทองเครั่ง
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ชุดตรวจสอบ Lateral flow test strip ถูกพัฒนาเพื่อตรวจสอบแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* ในกล้วยไม้ โดยอาศัยหลักการทางเซรุ่มวิทยา (serology) และ lateral flow test บนแผ่นไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน (Nitrocellulose membrane ; NCM) โดยการเตรียมและทดสอบคุณภาพ IgG ของแอนติซีรั่มของแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ด้วยวิธี Dot immunobinding assay (DIBA) การเตรียม Gold conjugated IgG โดยนำอนุภาคทอง (colloidal gold) มาเชื่อมต่อ (conjugate) กับ IgG ของแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* และเตรียม conjugated release pad (CRP) โดยใช้ปริมาณ 100-120 ไมโครลิตร/15 – 18 เซนติเมตร (6.6 ไมโครลิตร/เซนติเมตร) ผลการทดสอบชนิดของ membrane ที่เหมาะสมในการทำชุดตรวจสอบ พบว่า membrane S&S AE 99 และ membrane S&S AE 100 ให้ผลการทดสอบในการทำtest line ได้ดีมาก และดี ตามลำดับ ทำชุดตรวจสอบ Lateral flow test strip โดยทำเส้น control line ด้วย GAR (Goat anti rabbit เข้มข้นอัตรา 1:3) และ test line ด้วย IgG ของ แบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ปริมาณ 40 ไมโครลิตร/2.5 X 18 เซนติเมตร (2.2 ไมโครลิตร/เซนติเมตร) บนรแผ่น membrane S&S AE 99 เมื่อประกอบเป็นชุดตรวจสอบแล้ว ทำการทดสอบกับสารแขวนลอยแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ความเข้มข้น 10^8 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร พบว่า ชุดตวจสอบ Lateral flow test strip สามารถตรวจสอบแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ได้อย่างรวดเร็ว โดยเส้น control line และ test line ปรากฏสี ในเวลาประมาณ 5 นาที จากการทดสอบประสิทธิภาพของความไวในการตรวจสอบแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* พบว่า สามารถตรวจพบแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ได้ในปริมาณต่ำสุดที่ 10^4 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-01-05-54

คำนำ

กล้วยไม้เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ไทยครองสัดส่วนการส่งออกกล้วยไม้อันดับหนึ่งของโลก สำหรับมูลค่าการค้ากล้วยไม้ของโลกปี พ.ศ. 2550 สูงกว่า 155 ล้านดอลลาร์สหรัฐ (คิดเป็นมูลค่าประมาณ 5,337 ล้านบาท) โดยไทยเป็นประเทศผู้ส่งออกกล้วยไม้อันดับหนึ่งของโลก โดยเฉพาะกล้วยไม้เมืองร้อน และในปี พ.ศ. 2550 ไทยมีสัดส่วนส่งออกกล้วยไม้ตัดดอกสูงถึงร้อยละ 70 ของตลาดโลก รองลงมาได้แก่ สิงคโปร์ นิวซีแลนด์ เกาหลีใต้ และออสเตรเลียเป็นต้น แต่การผลิตกล้วยไม้ประสบปัญหาการระบาดของศัตรูพืช นอกจากนี้ในปัจจุบันได้มีการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ชนิดใหม่ๆขึ้นมาที่อ่อนแอต่อศัตรูพืช ทำให้แต่การผลิตกล้วยไม้ประสบปัญหามากขึ้น โดยเฉพาะโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากแบคทีเรีย แต่เดิมพบเป็นเพียงเล็กน้อย แต่ในปัจจุบันพบปัญหาโรคที่เกิดจากแบคทีเรียระบาดอย่างมาก และด้วยสภาพภูมิอากาศปัจจุบัน ภาวะโลกร้อนได้ส่งผลกระทบโดยทางตรงและทางอ้อมต่อ สภาพแวดล้อมและ มนุษย์ และ สิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ โดยเฉพาะจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช ทำมีการปรับสภาพให้มีกิจกรรมต่างๆเปลี่ยนแปลงไป จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชในเขตร้อน ที่มีการปรับตัวให้รุนแรงขึ้น สามารถเข้าทำลายพืชอาศัยเพิ่มมากขึ้น โรคแบคทีเรียของกล้วยไม้ที่สำคัญมีอยู่ 3 ชนิด ได้แก่ โรคเน่าสีน้ำตาล (brown rot) เกิดจากแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* (*Pseudomonas gladioli)* (Chuenchitt *et al.,*1983; สุเนตรา และสิริลักษณ์, 2532; ปิยะรัตน์ และจงวัฒนา, 2551) โรคใบจุด (leaf spot) เกิดจากแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae (Pseudomonas cattleyae)* (นิยมรัฐ, 2547; ปิยะรัตน์ และจงวัฒนา, 2551) และโรคเน่าและ (soft rot) เกิดจากแบคทีเรีย *Erwinia carotovora subsp. Carotovora* (นิยมรัฐ, 2538; ปิยะรัตน์ และจงวัฒนา, 2551) แต่โรคที่พบระบาดมากในแปลงปลูกในปัจจุบันได้แก่ โรคเน่าสีน้ำตาลและโรคใบจุด ซึ่ง Chuenchitt *et al.* (1983) ได้รายงานการพบการระบาดของโรคเน่าสีน้ำตาลของกล้วยไม้ตระกูลหวายที่เกิดจากแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* ในเขตหนองแขม กรุงเทพฯ ซึ่งเป็นแหล่งผลิตกล้วยไม้ขนาดใหญ่ของประเทศไทย โดยทำความเสียหายถึงร้อยละ 50 ของกล้วยไม้ที่ปลูก ดังนั้นการที่สามารถตรวจสอบและจำแนกชนิดของแบคทีเรียได้อย่างรวดเร็วทำให้สามารถป้องกันกำจัดโรคที่เกิดจากแบคทีเรียได้อย่างทันต่อสถานการณ์ ทำให้สามารถเก็บดอกจำหน่าย การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาการพัฒนาชุดตรวจสอบแบบ Lateral flow test strip เพื่อตรวจสอบแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* ชุดตรวจสอบนี้สมารถนำไปใช้ในการตรวจสอบในแปลงปลูกและรู้ผลการตรวจภายในเวลา 5-10 นาที ทำให้เกษตรกรสามารถป้องกันกำจัดได้อย่างถูกต้อง รวดเร็ว

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย

2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven)
3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น
4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ
5. วัสดุการเกษตร ได้แก่ ดิน กระถางต้นไม้ ปุ๋ย
6. โรงเรือนปลูกพืชทดลอง

วิธีการ

การเตรียมแอนติเจน (Antigen)

นำเชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* ที่จำแนกชนิดและทดสอบความรุนแรงโรคแล้วมาเลี้ยงบนอาหารแข็ง PSA (Potato semi-synthetic agar) ให้มีอายุ 48 ชั่วโมง นำมาล้างเซลล์แบคทีเรีย 3 ครั้งด้วยสารละลาย phosphate buffer saline (PBS) (Allan and Kelman, 1977) แล้วนำไปตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 12,000 g เป็นเวลา 20 นาที นำเซลล์แบคทีเรียที่ล้างแล้วมาละลายในPBSจากนั้นนำไปทำการ fix เซลล์แบคทีเรีย ด้วย 2% glutaraldehyde (Allan and Kelman, 1977) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำมาทำให้ glutaraldehyde เจือจางหมดไปโดยการ dialysis ใน PBS ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที โดยเปลี่ยน PBS ทุกๆ 4 ชั่วโมง เก็บสารละลายเชื้อแบคทีเรียที่ได้ไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการฉีดกระต่ายต่อไป

การผลิตแอนติซีรัม

ทำการละลายเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากการ fix เซลล์ด้วย glutaraldehyde แล้วปรับความเข้มข้นของแบคทีเรียให้ได้ประมาณ 10^9 หน่วยโคโลนี ต่อมิลลิลิตร ด้วย PBS จากนั้นนำไปผสมกับ Freund's incomplete adjuvant ในอัตรา 1:1 ผสมให้เข้ากันเพื่อนำไปฉีดเข้าใต้ผิวหนังของกระต่ายทดลองพันธุ์ New Zealand สีขาว โดยก่อนการฉีด 1 สัปดาห์ เจาะเก็บเลือดกระต่ายไว้ก่อนเพื่อใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (Normal serum) จากนั้นนำสารละลายแบคทีเรียที่ผสมกับ adjuvant แล้วฉีดเข้าใต้ผิวหนังของกระต่าย โดยฉีดอาทิตย์ละหนึ่งครั้ง รวมระยะเวลาทั้งสิ้น 4 สัปดาห์ หลังการฉีดครั้งสุดท้าย 1 อาทิตย์ เจาะเก็บเลือดกระต่าย 3 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ แยกและเก็บแอนติซีรัม โดยนำเลือดกระต่ายที่ได้ตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เม็ดเลือดแดงแข็งตัว จากนั้นใช้เข็มลนไฟฆ่าเชื้อ แล้วกรีดที่ผิวตรงรอยต่อระหว่างบีกเกอร์กับเลือดจนรอบ นำบีกเกอร์ไปตั้งทิ้งไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C นาน 12 ชั่วโมง แล้วนำเอาเฉพาะส่วนน้ำใสมาปั่นตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 g นาน 10 นาทีที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อเอาส่วนเม็ดเลือดแดงออกไป นำส่วนน้ำใสที่ได้ซึ่งเป็นแอนติซีรัมเก็บแช่แข็งไว้

ทดสอบประสิทธิภาพของแอนติซีรัม

โดยนำแอนติบอดีที่ได้แต่ละครั้ง มาทำให้เจือจางจนถึง 1: 10^6 และทดสอบปฏิกิริยากับแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ที่ความเข้มข้น 10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร โดยเทคนิค วิธี Dot Immunobinding assay (DIBA) (Hamplton et al, 1990)

ผลิตชุดตรวจสอบไวรัสวิธี Lateral flow test strip

การสกัด Immunoglobulin (IgG) ของแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* นำแอนติซีรั่มที่มีความเฉพาะเจาะจงกับแบคทีเรีย *B. gladioli* มาแยกเฉพาะส่วนอิมมูโนโกลบูลิน (IgG) ออกจากสารอื่น ๆ ในเซรุ่มนั้น โดยใช้การตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต (ammonium sulfate precipitation) (Hampton el al,1990) นำ 1 มิลลิลิตรของแอนติซีรั่มผสมกับ 1 มิลลิลิตรของน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ หยด 1.3 มิลลิลิตร ของ saturated ammonium sulfate pH 7.2 ที่แช่เย็น ค่อย ๆ หยดบนเครื่องกวน (stirring) ทำให้มีแอนติซีรั่ม มีความเข้มข้นของ ammonium sulfate 40% ผสมบนเครื่องกวนต่อไป 30 นาที เก็บไว้ข้ามคืนในตู้เย็น นำมาหมุนเหวี่ยงที่ 8,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บตะกอนค่อย ๆ ละลายตะกอนด้วย 1 มิลลิลิตร ของ Phosphate buffer Saline (PBS) (0.01 M phosphate buffer pH 7.2 และ 0.15 M NaCl) เติม 1 มิลลิลิตร น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ และ 1.02 มิลลิลิตรของ saturated ammonium sulfate ทำให้แอนติซีรัมมีความเข้มข้นของ ammonium sulfate 33% ผสมบนเครื่องกวน 30 นาที ตกตะกอนที่ 8,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ละลายตะกอนด้วย 1.5 มิลลิลิตร ของ PBS นำไปทำให้ ammonium sulfate เจือจางโดย dialysis ใน PBS ที่ 40C เป็นเวลา 36 ชั่วโมง โดยมีการเปลี่ยน PBS ทุก ๆ 4 ชั่วโมง นำมากรองผ่าน filter ขนาด 0.2 ไมครอน เก็บ IgG ไว้ที่ –20°C

การทดสอบคุณภาพ IgG โดยนำ IgG ของแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ที่ได้มาวัดความเข้มข้น ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ช่วงคลื่นแสง 280 นาโนเมตร เจือจางให้เชื้อมีค่า O.D. เท่ากับ 1.4 โดยใช้ครึ่งเท่าของ PBS เพื่อให้มีปริมาณโปรตีน 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นำไปทดสอบคุณภาพโดยการตรวจแบคทีเรีย pv. *gladioli* pv. *gladioli* ที่ความเข้มข้น 10^{8} หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร ด้วยวิธี Indirect Dot Immunobinding assay (DIBA) (Hampton *el al*,1990 โดยใช้ IgG ของแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ที่เจือจาง 1: 500

การติดฉลาก IgG ของแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ด้วยอนุภาคทอง เตรียมสารละลายแขวนลอยอนุภาคทอง โดยนำ 1% gold chloride ที่ต้มเดือดแล้วมาเติม sodium citrate ทำให้เย็นลง แล้ววัดความเข้มข้นด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ช่วงคลื่นแสง 530 นาโนเมตร ให้มีค่า O.D. เท่ากับ 0.5 ได้อนุภาคทองแขวนลอยในสารละลาย ขนาด 40 นาโนเมตร นำ IgG ของแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* จำนวน 2 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลายทองแขวนลอย 200 มิลลิลิตร กวนบนเครื่องกวนนาน 60 นาที แล้วเติมสารละลาย bovine serum albumin (BSA) ปั่นเก็บตะกอน แล้วปรับให้ได้ค่า 0.5 ที่ OD 540

การทดสอบชนิดของ membrane ที่เหมาะสมและการทดสอบปฏิกิริยาของชุดตรวจสอบกับแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli*

ทำการทดสอบ membrane ที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาของIgG ของแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* บนเส้น test line โดยทดสอบกับ membrane 4 ชนิด ได้แก่

1) membrane S&S AE 100 ขนาด 12 ไมโครเมตร
2) membrane S&S AE 99 ขนาด 8 ไมโครเมตร
3) membrane Millipore HC 100 ขนาด 10 ไมโครเมตร
4) membrane Immunopore FP 100 ขนาด 5 ไมโครเมตร

นำแผ่น membrane ขนาดกว้าง 2.5 เซนติเมตร ตัดให้มีความยาว 18 เซนติเมตร ทำเครื่องหมายด้วยดินสอที่ด้านบนของแผ่น เป็นตำแหน่ง control line ที่อยู่ห่างจากริมด้านบนของแผ่น membrane 1 เซนติเมตร และเส้น test line อยู่ถัดลงมาจาก control line 0.5 เซนติเมตร ใช้ปากกาหมึกซึม (ขนาดปาก 0.5-0.7 มิลลิเมตร) จุ่ม GAR (Goat anti rabbit เข้มข้นอัตรา 1:3) ปริมาณ 40 ไมโครลิตร/แผ่น ลากเส้น control line โดยใช้ไม้บรรทัดวางเป็นแนวเส้นตรง แตะปากกาลงและลากเส้นจากซ้ายไปทางขวาช้า ๆ จนสุดปลาย membrane ทั้งนี้ไม่ต้องออกแรงกด หากปากกาแห้งให้จุ่ม GAR ใหม่ แล้วลากเส้นต่อ ให้ขนาดเส้นที่เปียกบนแผ่น membrane มีขนาดเท่า ๆ กันทั้งเส้น ใช้ปากกาด้ามใหม่ (ขนาดปาก 0.5-0.7 มิลลิเมตร) จุ่มซับ IgG ของแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* (เข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาณ 40 ไมโครลิตร/แผ่น ลากเส้น test line ปฏิบัติเช่นเดียวกันกับ control line นำไปอบแห้งที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง

การประกอบเป็นชุดตรวจสอบ Lateral flow test strip

- วางmembrane ที่มี test line และ control line ลงในช่องที่กำหนดบนแผ่พลาสติกกาวรองพื้น (plastic backing polymer) ที่มีขนาด 6x18 เซนติเมตร
- วางแผ่น CRP ที่ป้ายด้วย IgG ของแบคทีเรีย pv. *gladioli* pv. *gladioli* ติดฉลากด้วยอนุภาคทอง ให้เกยทับ membrane ประมาณ 1-2 มิลลิเมตร
- วางแผ่นรับตัวอย่าง (Sample application pad) เกยแผ่น CRP 1-2 มิลลิเมตร
- วางแผ่นกระดาษซับชนิดหนา (wicking paper) เกยทับแผ่น NCM 1-2 มิลลิเมตร
- ตัดชุดที่ประกอบเสร็จแล้วออกเป็นเส้นให้มีความกว้าง 0.4 เซนติเมตร
- บรรจุชุดตรวจสอบลงตลับพลาสติก นำไปทดสอบปฏิกริยากับแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli*
- เก็บ Lateral flow test strip ไว้ในถุงอลูมินั่มฟอล์ย และเก็บที่อุณหภูมิห้องที่แห้ง
- ทดสอบปฏิกิริยาของชุดตรวจสอบกับแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* นำชุดตรวจที่เตรียมไว้ข้างต้นมาทำการทดสอบปฏิกริยากับแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* โดยนำสารแขวนลอยแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ที่ระดับความเข้มข้น 10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร หยดลงบนแผ่นรับตัวอย่างของชุดตรวจสอบจำนวน 3 หยดต่อตลับ ตรวจผลของการเกิดปฏิกริยาบน membrane ทั้ง 4 ชนิดเปรียบเทียบกัน

ทดสอบความเฉพาะเจาะจงของชุดเตรียมสอบ

ทำการทดสอบความเฉพาะเจาะจงกับแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ในกล้วยไม้ทดสอบกับแบคทีเรียอื่นๆ ที่อยู่ในกล้วยไม้ โดยนำชุดตรวจที่เตรียมไว้ข้างต้นมาทำการทดสอบปฏิกริยากับแบคทีเรียชนิดอื่นๆที่แยกได้จากกล้วยไม้ และแบคทีเรียชนิดอื่นๆที่สามารถเกิดโรคกับกล้วยไม้ได้ ได้แก่ *Erwinia carotovora , E. chrysanthemi, Acidivorax avenae pv. cattaryae* เปรียบเทียบกับแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* นำสารแขวนลอยแบคทีเรียต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้น 10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร หยดลงบนแผ่นรับตัวอย่างของชุดตรวจสอบจำนวน 3 หยดต่อตลับ ตรวจผลของการเกิดปฏิกริยา ถ้าปฏิกริยาเป็นบวกจะปรากฏแถบสีทั้ง control line และ test line หากปฏิกริยาเป็นลบจะปรากฏสีเฉพาะ control line เท่านั้น

ทดสอบประสิทธิภาพของความไว (sensitivity) ในการตรวจแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli*

โดยนำชุดตรวจที่เตรียมไว้ข้างต้นมาทำการทดสอบประสิทธิภาพของความไว (sensitivity) ในการตรวจแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* โดยนำสารแขวนลอยแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* pv. *gladioli* ที่ระดับความเข้มข้น 10-10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร หยดลงบนแผ่นรับตัวอย่างของชุดตรวจสอบจำนวน 3 หยดต่อตลับ ตรวจผลของการเกิดปฏิกริยา ในกรณีตัวอย่างที่ตรวจสอบมีแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* จะปรากฏแถบสีทั้ง control line และ test line หากไม่มีแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* จะปรากฏสีเฉพาะ control line เท่านั้น

เวลาและสถานที่

ต.ค.53 – ก.ย.56 ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การผลิตและทดสอบประสิทธิภาพของแอนติซีรั่ม

การผลิตแอนติเซรั่ม ของแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* เพื่อใช้ผลิตชุดตรวจสอบ Lateral flow test strip โดยการแยกสกัดโปรตีน Membrane protein complex บริสุทธิ์จากผนังเซลแบคทีเรีย*B. gladioli* pv. *gladioli* โดยวิธี Li CL_2 extraction เพื่อใช้เป็นแอนติเจน นำแอนติเจนบริสุทธิ์พร้อมที่จะฉีดกระต่าย ฉีดแอนติเจนเข้าไปในกระต่ายเพื่อผลิตแอนติซีรัม โดยฉีดกระต่ายจำนวน 4 ครั้ง เจาะเลือดกระต่ายทุกอาทิตย์ จำนวน 4 ครั้ง นำเลือดกระต่ายมาแยกเอาแอนติซีรั่มโดยแยกเฉพาะน้ำเหลืองทิ้งเม็ดเลือดแดง ได้แอนติซีรั่มจำนวน 30 ml นำแอนติซีรั่มมาทดสอบประสิทธิภาพโดยนำมาทำให้เจือจางจนถึง 1: 10^6 และทดสอบปฏิกิริยากับแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ที่ความเข้มข้น 10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร โดยเทคนิค DIBA ได้ค่า titer คือ 1: 25,000 ทดสอบความเฉพาะเจาะจงของแอนติซีรั่ม ได้ความเฉพาะเจาะจงของแอนติซีรั่มที่มีต่อแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ที่ 10^4 cfu/ml สกัด IgG จากแอนติซีรั่มเพื่อใช้ในการผลิตชุดตรวจสอบ

ผลิตชุดตรวจสอบไวรัสวิธี Lateral flow test strip

การสกัด Immunoglobulin (IgG) จากแอนติซีรั่มต่อแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* และทดสอบคุณภาพ

จากการสกัด IgG ของแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ได้ IgG ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ OD 6.5 ที่ช่วงคลื่นแสง 280 นาโนเมตร นำ IgG ที่ได้มาปรับความเข้มข้นให้มีค่า O.D. เท่ากับ 1.4 เพื่อให้มีปริมาณโปรตีน 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แล้วทำการทดสอบคุณภาพของ IgG ที่ความเข้มข้น 1:10, 1:100, 1:500, 1:1,000 และ 1:5,000 ในการทำปฏิกิริยากับแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ที่ความเข้มข้น 10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร โดยวิธี DIBA พบว่า IgG ที่ผลิตได้สามารถทำปฏิกิริยากับแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* และมีค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมในการตรวจสอบด้วยวิธี DIBA คือ 1:500

การติดฉลาก IgG ของแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ด้วยอนุภาคทอง,การเตรียมแผ่น Conjugated release pad (CRP), การทดสอบชนิดของ membrane ที่เหมาะสมและการทดสอบปฏิกิริยาของชุดตรวจสอบกับแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli*

นำ IgG ที่เตรียมได้ไป conjugate กับสารละลายอนุภาคทองแขวนลอย (colloidal gold) ได้เป็น IgG ที่ติดสลากด้วยอนุภาคทอง (gold conjugated IgG or gold particle labeled IgG) ทำการเตรียมแผ่น CRP โดยใช้พู่กันจุ่มและป้ายลงบนแผ่น CRP ปริมาณ 100 – 120 ไมโครลิตร/แผ่น (15 – 18 เซนติเมตร) แล้วนำไปอบแห้ง ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ห่อด้วยอลูมินั่มฟอล์ย เก็บไว้ในที่แห้ง จากนั้นทดสอบชนิดของ membrane ที่เหมาะสมสำหรับใช้ประกอบชุดตรวจสอบ ได้นำแผ่น membrane ทั้ง 4 ชนิด มาทำเส้น test line และ control line แล้วประกอบเป็นชุดตรวจสอบโดยนำแผ่น CRP ที่ป้ายด้วย IgG ที่ติดสลากด้วยอนุภาคทอง และแผ่น membrane ที่ได้ลากเส้น test line และ control line ประกอบลงบนแผ่น backing โดยประกอบร่วมกับแผ่น SAP และแผ่น wick ผลการทดสอบพบว่า membrane S&S AE 99 ให้ผลดีที่สุด รองลงมา คือ membrane S&S AE 100 โดยให้ปฏิกิริยาของเส้น test line ที่ดีมาก และดี ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ทดสอบความเฉพาะเจาะจงของชุดเตรียมสอบ

ทำการทดสอบความเฉพาะเจาะจงกับแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ในกล้วยไม้ และทดสอบกับแบคทีเรียอื่นๆ ที่อยู่ในกล้วยไม้ ผลการทดสอบพบว่า ชุดตรวจสอบ เป็นผลบวกเฉพาะกับแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* แต่ชุดตรวจสอบที่ผลิตได้ให้ผลการทดสอบที่เป็นลบกับ *Erwinia carotovora , E. chrysanthemi, Acidivorax avenae pv. cattaryae* และ

ชุดตรวจสอบที่ผลิตได้ ให้ผลการทดสอบเป็นผลบวกกับแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าของพืชตระกูลแตง แต่ชุดตรวจสอบที่ผลิตได้ให้ผลการทดสอบที่เป็นลบกับเชื้อแบคทีเรีย *Bukhoderia gladioli* pv. *gladioli*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Erwinia chrysanthemi*, *Pantoea sp.*, *Xanthomonas campestris* pv *campestris*, *Ralstonia solanacearum* และเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจพบบนผิวใบกล้วยไม้ที่มีลักษณะโคโลนีแตกต่างกัน จำนวน 7 ลักษณะ ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับวิธีการทดสอบความจำเพาะเจาะจงด้วยวิธีการ indirect ELISA แสดงว่าชุดตรวจสอบอิมมูโนสตริปเมื่อนำมาตรวจกับตัวอย่างกล้วยไม้จึงมีความจำเพาะเจาะจงกับเชื้อแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *cattleyae*

ทดสอบประสิทธิภาพของความไว (sensitivity) ในการตรวจแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli*

จากการทดสอบประสิทธิภาพความไวของชุดตรวจสอบในการตรวจสอบแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ในกล้วยไม้ พบว่าชุดตรวจสอบสามารถตรวจสอบแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ในน้ำคั้นใบกล้วยไม้ ได้ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 10^4-10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร โดยปรากฏแถบสีม่วงทั้ง control line และ test line ในตลับที่หยดด้วยสารแขวนลอยความเข้มข้นตั้งแต่ 10^4-10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตรภายใน 5 นาที ซึ่งเป็นปฏิกิริยาเป็นบวก ในขณะที่ตลับที่หยดด้วยสารแขวนลอยความเข้มข้นตั้งแต่ 10 -10^3 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร เกิดปฏิกิริยาเป็นลบ โดยปรากฏแถบสีม่วงเฉพาะ control line เท่านั้น ชุดตรวจสอบไม่สามารถตรวจหาแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ในน้ำคั้นใบกล้วยไม้ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่า 10^4 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร แสดงว่าชุดตรวจสอบมีประสิทธิภาพในการตรวจสอบแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ในน้ำคั้นใบกล้วยไม้ได้ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 10^4 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร เป็นต้นไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การพัฒนาชุดตรวจสอบ Lateral flow test strip เพื่อตรวจสอบแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ในกล้วยไม้ ในครั้งนี้ สามารถตรวจสอบแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ในกล้วยไม้ จากตัวอย่างน้ำคั้นในกล้วยไม้ ที่ความเข้มข้น 10^4 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร เป็นต้นไป โดย test line และ control line ปรากฏแถบสีม่วงภายในระยะเวลาประมาณ 5 นาที ดังนั้นเทคนิค Gold labeled IgG flow test นี้ สามารถนำมาปรับใช้ในการผลิตชุดตรวจสอบ Lateral flow test strip เพื่อตรวจสอบแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ในกล้วยไม้ เพื่อให้นักวิชาการ และเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง สามารถนำไปใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคเน่าของกล้วยไม้ ที่เกิดจากแบคทีเรีย *B. gladioli* pv. *gladioli* ได้ด้วยตนเอง รวมทั้งสามารถนำไปใช้ในตรวจสอบต้นพันธุ์ในกล้วยไม้ ก่อนปลูกเพื่อลดการระบาดของโรค การนำไปใช้เป็นเครื่องมือในผลิตหัวพันธุ์ปลอดโรคและสามารถใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจสอบรับรองในงานกักกันพืชด้วย

เอกสารอ้างอิง

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. คู่มือโรคไม้ดอกไม้ประดับและการป้องกันกำจัด. กลุ่มวิจัยโรคพืชผักไม้ดอกและไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพมหานคร. 50 หน้า.

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2547. โรคของกล้วยไม้และการป้องกันกำจัด.หน้า 47-74. ใน เอกสารวิชาการกล้วยไม้. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

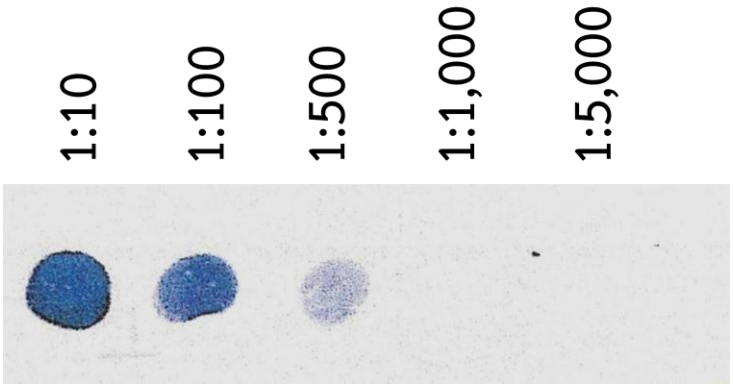
ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และจงวัฒนา พุ่มหิรัญ 2551. การศึกษาโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2551 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

สุเนตรา ภาวิจิตร สุทธิพงษ์ ญาณวารี และ ศิริลักษณ์ โล่สวัสดิ์. 2532. การศึกษาสาเหตุโรคเน่าของกล้วยไม้สกุลหวายทางเคมีและฟิสิกส์. รายงานความก้าวหน้าผลงานวิจัย กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 30-40.

อนุพันธ์ อิฐรัตน์ .2542. ภัยเงียบจากคลอรีน. เอกสารประกอบการบรรยาย ณ ห้องประชุมกำธร สุวรรณกิจ กรมอนามัย.

Chandrkrachang, S.2002. The applications of chitin and chitosan in agriculture in Thailand, in: K. Suchiva, S. Chandrkrachang, P. Methacanon, M.G. Peter (Eds.), Advances in Chitin Science, vol. 5:458-462.

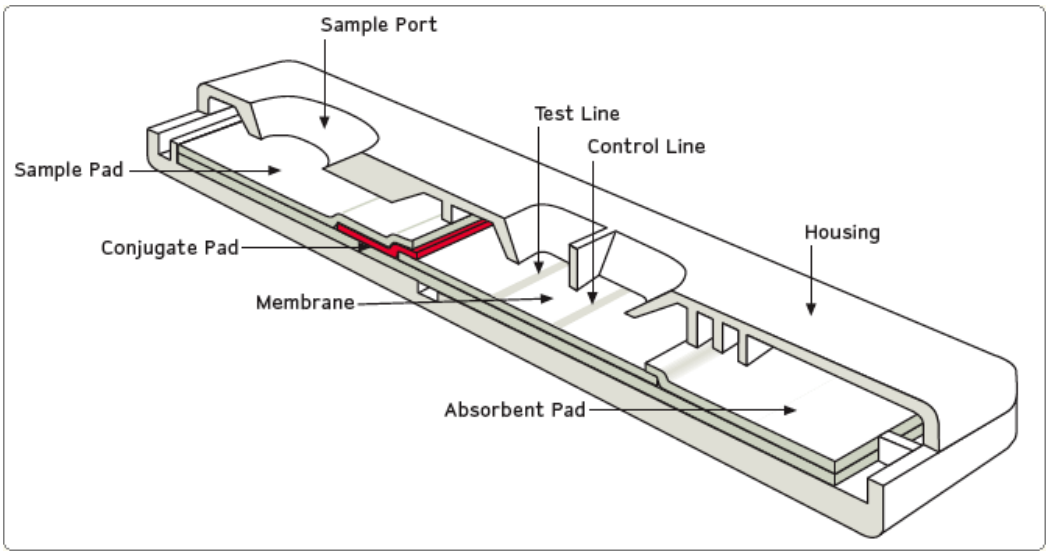
Chuenchitt, S. 1982. A new bacterial disease on orchids Dendrobium sp. caused by Pseudomonas gladioli. Kasetsart J. (Sci) 17 : 27-32.



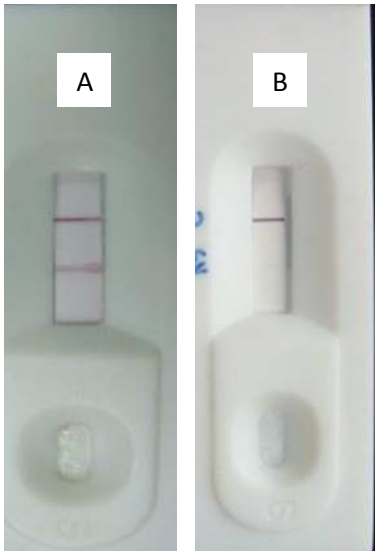
ภาพที่ 1 การทดสอบคุณภาพ IgG ของแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. *Gladioli* โดยวิธี Dot-Immunobinding assay (DIBA)

ตารางที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพของชนิดของ membrane ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตชุดตรวจสอบ producing Lateral flow test strip

IgG	S&S AE 100 size 12 um	S&S AE 99 size 8 um	Millipore HC 100 size 10 um	Immunopore FP size 5 um
IgG RS (test line)	Good	Excellent	Fair	Fair
IgG GAR (control line)	Good	Excellent	Fair	Fair



ภาพที่ 2 แผนภาพแผนภาพองค์ประกอบของชุดตรวจสอบ Lateral flow test strip composition



A : Positive reaction; purple color stripe in both test line and control line

B : Negative reaction; purple color stripe in only control line

ภาพที่ 4 The result of *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* detection on Orchid by Lateral flow test strip

การผลิตชุดตรวจสอบ *Bean yellow mosaic virus* สำเร็จรูปโดยเทคนิค Gold labeling IgG flow test

Production of Gold labeling IgG flow test for detecting *Bean yellow mosaic virus*

สิทธิศักดิ์ แสไพศาล กาญจนา วาระวิชะนี
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการศึกษา Gold Labeling IgG Flow Test (GLIFT) ในการตรวจเชื้อ *Bean yellow Mosaic virus* (BYMV) โดยใช้หลักการทางเซรุ่มวิทยาและ lateral flow technique บนแผ่น nitrocellulose membrane ที่ใช้ทดสอบ 7 ชนิด เลือกใช้อนุภาคของทอง (colloidal gold) ขนาด 40 นาโนเมตร มาต่อเชื่อมกับ IgG ของเชื้อ BYMV ทำการ conjugate กับ IgG ของไวรัส พบว่าไม่เกิดปฏิกิริยาบนเส้น test line แต่ control line เกิดในทุกชนิดของ nitrocellulose membrane ดังนั้นจึงทำการเปรียบเทียบชนิดของบัฟเฟอร์และไนโตรเซลลูโลสเมมเบรนอีกครั้ง เพื่อดูปฏิกิริยาของเส้น test line และ control line รวมทั้งทำการปรับเปลี่ยนปริมาณในการ spray การ conjugate กับ IgG ของ BYMV หรือปรับความเข้มข้นของ IgG เพื่อทดสอบปฏิกิริยาให้สามารถตรวจและเกิดปฏิกิริยาได้แถบแบนชัดเจน ก่อนที่จะทำการประกอบและตรวจสอบประสิทธิภาพความไว (sensitivity) ในการตรวจสอบเชื้อ BYMV ต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-01-07-56

คำนำ

แกลดิโอลัสมีมากกว่า 150 ชนิด มีทั้งกลิ่นหอมและไม่มีกลิ่น ปัจจุบันมีพันธุ์ที่ปลูกเป็นการค้าเกือบ 3,000 พันธุ์ สำหรับพันธุ์ที่ปลูกในประเทศไทยไม่แน่นอน เพราะได้มีการสั่งพันธุ์ แกลดิโอลัสใหม่ ๆ เข้ามาปลูกอยู่เสมอ เพราะต้องการให้ตรงกับความนิยมของผู้ใช้ และคุณภาพ ของพันธุ์ที่ได้จากการเก็บหัวพันธุ์มาปลูกจะลดลง แกลดิโอลัสจัดเป็นไม้ดอกเมืองหนาว ที่มีการผลิตเป็นการค้ามาไม่นาน ตลาดยังไม่กว้างขวาง ราคาของดอกแกลดิโอลัสจะแตกต่างไปตามคุณภาพ ซึ่งเป็นไปตามขนาดความยาวของก้านดอกเป็นสำคัญ ราคาเฉลี่ยจะอยู่ระหว่าง 1-8 บาท ต่อช่อดอก ปัจจุบันแกลดิโอลัสหรือซ่อนกลิ่นฝรั่ง เป็นไม้ตัดดอกที่ได้รับความนิยมสูงมีสีสันสะดุดตา เช่น สีขาว เหลือง ชมพู แดง ม่วง ส้ม มีช่อดอกยาว เหมาะสำหรับปลูกเพื่อตัดดอกเป็นการค้า เพราะสามารถตัดช่อดอกได้ตั้งแต่ดอกยังไม่บาน และปัจจุบันนี้พื้นที่การปลูกแกลดิโอลัสส่วนใหญ่จะเป็นบริเวณจังหวัดทางภาคเหนือ เช่น เชียงใหม่ เชียงราย และในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น อ.ปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา และในพื้นที่บริเวณเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ ส่วนใหญ่แกลดิโอลัสที่ปลูกจะส่งมาขายยังตลาด ในกรุงเทพมหานคร และส่งไปขายยังตลาดต่างประเทศอีก เช่น ซาอุดิอาระเบีย แคนาดา ซึ่งประสบปัญหาเกี่ยวกับดอกไม่สม่ำเสมอ ค่าขนส่งสูง ปลายช่อดอกโค้งงอ รวมทั้งปัญหาของโรคและแมลงที่ทำให้คุณภาพดอกลดลง โดยเฉพาะโรคใบด่างดอกด่างที่เกิดจากเชื้อไวรัส *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) ซึ่งเชื้อสามารถติดมากับหัวพันธุ์ที่นำเข้า รวมทั้งมีเพลี้ยอ่อนและเพลี้ยไฟเป็นแมลงพาหะ ทำให้เกิดการระบาดได้มากและรวดเร็ว ส่งผลโดยตรงต่อคุณภาพของดอกแกลดิโอลัส โดยจะมีอาการปรากฏชัดบนใบและดอก โดยจะเห็นรอยด่างเป็นทางทำให้ดอกไม่มีคุณภาพและไม่สมบูรณ์

Arneodo *et al.* (2005) ได้รายงานถึงการตรวจสอบในขั้นต้นของเชื้อไวรัส *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) ในแกลดิโอลัส โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน วิธีซีรัมและ RT-PCR ในการตรวจสอบจากใบของแกลดิโอลัสจำนวน 25 ตัวอย่าง พบว่า BYMV มีอนุภาคเป็น flexuous ยาวประมาณ 750 นาโนเมตร กว้าง 12-15 นาโนเมตร และยังพบ BYMV ใน faba bean (*Vicia faba* L.), Pae (*Pisum sativum* L.) และ Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) เป็นพืชอาศัยด้วย Meenu *et al.* (2002) ได้ศึกษา *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) ในแกลดิโอลัส 32 พันธุ์ โดยใช้เทคนิค ELISA, Immono electron microscopy และ RT-PCR โดยใช้ Primer ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อ BYMV จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการกระจายของเชื้อ BYMV ในต้นแกลดิโอลัสจะมีการกระจายในพันธุ์ที่มีลำต้นสูงและมีใบยาว Stein *et al.* (1994) ได้รายงานว่าเชื้อ *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) ไม่สามารถตรวจในหัวพันธุ์ได้ ทั้งวิธี ELISA และ RNA hybridization แต่จะตรวจสอบได้ในน้ำคั้นพืชจากส่วนของหัวพันธุ์ที่ตัดหรือเกิดบาดแผลมาแล้ว 2-5 อาทิตย์ เนื่องจากเชื้อไวรัส BYMV ในหัวพันธุ์ของแกลดิโอลัสนั้น จะมีปริมาณความเข้มข้นของเชื้อที่ต่ำ ดังนั้นการศึกษาและพัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อไวรัส *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) จึงมีความจำเป็นและมีความสำคัญต่อการตรวจสอบและคัดเลือกหัวพันธุ์ที่ปลอดโรค

การพัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อไวรัสที่ติดมากับหัวพันธุ์ จึงจัดว่ามีความจำเป็นเพื่อป้องกันการระบาด และเพื่อสนับสนุนการการผลิตแกลดิโอลัสให้มีคุณภาพ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้เพื่อวิจัยและพัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อไวรัส *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) ที่ติดมากับหัวพันธุ์แกลดิโอลัส ให้มีประสิทธิภาพ รวดเร็ว ถูกต้องและแม่นยำ เพื่อให้ได้หัวพันธุ์ที่มีคุณภาพและ

ปลอดโรค และเพื่อส่งเสริมการผลิตแกลดิโอลัสให้มีคุณภาพ เป็นการพัฒนาคุณภาพการผลิตในประเทศไทยให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- เครื่อง centrifuge และ เครื่อง Spectrophotometer
- แอนติซีรัม polyclonal antibody ของเชื้อ *Bean yellow mosaic virus* (BYMV)
- ตู้แช่แข็ง -20 และ -80 ^{0}C
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เช่น Goat Anti-Rabbit+Phosphatase, non-fat milk, FR-TR salt และ Nitrocellulose membrane เป็นต้น
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการผลิตชุดตรวจสอบไวรัสกล้วยไม้สำเร็จรูป เช่น Colloidal gold, Goat-anti mouse (GAM), Sucrose และ fiber glass เป็นต้น

วิธีการ

1. การเตรียมแอนติซีรัมและการสกัด IgG ของเชื้อไวรัส *Bean yellow mosaic virus* (BYMV)

สกัด IgG จากแอนติซีรัมของเชื้อ BYMV โดยนำแอนติซีรัม BYMV (ซื้อแอนติซีรัมจากบริษัทตัวแทนจำหน่ายในประเทศ) จำนวน 1 ml มาสกัด IgG โดยผสมกับ น้ำกลั่น 9 ml แล้วผสมกับ ammonium sulfate ที่อิ่มตัว 10 ml ผสมให้เข้ากันดี นำไปตกตะกอน 8,000 rpm นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 25^{0}C ละลายตะกอน ด้วย 4 ml ของ ½ เท่า PBS แล้วใส่ถุง dialysis tubing เพื่อละลาย ammonium sulfate ออกให้หมดโดยแช่ ใน ½ PBS 1 ลิตร นาน 3 ชั่วโมง 3 ครั้ง วัดความเข้มข้นของ IgG ที่ได้ด้วย spectrophotometer เพื่อ ปรับให้ IgG มีความเข้มข้นที่ OD_{280}= 1.4 มีความเข้มข้นของโปรตีน = 1 mg/ml ทดสอบคุณภาพ IgG ด้วยวิธี NCM-ELISA โดยเจือจาง IgG เป็น 1:500

2. การเตรียมสารละลายแขวนลอยอนุภาคทอง (colloidal gold)

เตรียมจากสารประกอบ $HAuCl_4$ เพื่อให้ได้อนุภาคทองที่บริสุทธิ์และมีขนาด 40 นาโนเมตร นำสารละลาย 1% ของ Gold chloride หรือ chloroauric acid ($HAuCl_4$, $AuCl_3$) จำนวน 1.2 ml ใส่ลงในน้ำกลั่นจำนวน 174 ml ที่ต้มเดือดแล้วนาน 2 นาที แล้วเติม Sodium citrate ลง 2 ml กวนต่อนาน 10 นาที แล้วนำมาแช่ในน้ำเย็นให้เย็นลง นำไปวัด OD 530 nm ให้ได้ค่าเท่ากับ 0.5 แล้วปรับเป็น pH 7.3 ด้วย 0.2 M K_2CO_3 ที่เตรียมใหม่และใช้ทันที (Hampton *et al*.,1990) แล้วนำสารละลายของ Colloidal Gold ไปใช้ในการ conjugate กับ IgG ของ BYMV

3. การติดสลาก IgG ของ BYMV ด้วยอนุภาคทอง

นำ IgG ของ BYMV เชื่อมเข้ากับ Colloidal Gold ได้เป็น Colloidial Gold conjugated IgG โดยผสม IgG ของ BYMV ที่มีความเข้มข้นของโปรตีนประมาณ 1 mg/ml กับ Colloidal Gold ในอัตรา 1:100 กวนเบาๆ ด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า (magnetic stirrer) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องแล้วเติมสารละลาย bovine serum albumin (BSA) ความเข้มข้น 10 % จำนวน 20 มิลลิลิตร กวนเบา ๆ อีก 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 9,000 รอบ/นาที นาน 40 นาที เพื่อตกตะกอน Colloidial Gold conjugated IgG ที่ติดสลากด้วยอนุภาคทอง (gold labeled IgG) แล้วละลายตะกอนด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Passive Gold Diluent ให้มีความเข้มข้นของสารละลาย

เป็น 0.5 ที่ OD 540 แล้วนำไปหยดหรือพ่น ลงบนแผ่นวัสดุใยแก้ว (fiber glass) โดยทดลองหยด Gold labeling IgG ในปริมาณ 2 μl/cm

การเตรียม Conjugate Release pad (CRP) ทำการพ่นปริมาณ Gold labeling IgG ของ BYMV ลงบนแผ่น CRP ซึ่งเป็นวัสดุใยแก้ว (fiber glass) ในปริมาณ 1.5 μl/เซนติเมตร แล้วนำไปอบแห้งในตู้อบควบคุมอุณหภูมิ (incubator) 37°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำ CRP ของ Gold labeling IgG ของ BYMV มาตัดเป็นชิ้นขนาด 0.5x0.5 เซนติเมตร เก็บในสภาพแห้งที่มีความชื้นไม่เกิน 40% ก่อนนำไปประกอบเป็น dipstick และประกอบเป็นชุดตลับตรวจสอบต่อไป

4. การเตรียม test line และ control line

ทำการพ่น IgG ด้วยเครื่องมือ spray ที่สามารถควบคุมแรงดัน ลงบนแผ่น NCM โดยทดลองเปรียบเทียบปริมาณของ IgG ของ BYMV ที่ต่างกัน 4 อัตราได้แก่ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 μl/cm ส่วนการเตรียมเส้นแสดงปฏิกิริยาควบคุม (control line) โดยการพ่น GAR ในอัตรา 1.0 μl/cm ลงบน NCM ในตำแหน่งห่างจาก test line ขึ้นไปด้านบนของ dip stick 0.5 cm แล้วนำไปอบแห้งเช่นเดียวกับ Conjugate Release pad (CRP) นาน 2 ชั่วโมง control line ทำไว้เพื่อให้ Gold labeling IgG ของ Rabbit IgG ละลายออกมาแล้วไหลไปจับกับ control line เพื่อเป็นการตรวจปฏิกิริยาการไหลของสารละลายที่ดี

5. การทดสอบคัดเลือกชนิดของเมมเบรนที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาของ PVA บนเส้น test line

ได้ทดลองใช้เมมเบรน 7 ชนิด คือ

1. Unisart CN 95
2. AE 100
3. AE 99
4. AE 98 Fast
5. Millipore HF 13504
6. Prisma 60
7. Unisart CN 140

ใช้เครื่องพ่นสารละลายควบคุมปริมาณ ทำการพ่น IgG ของ Goat anti-rabbit (GAR) โดยใช้ GAR ที่เจือจาง 1:3 ปริมาณ 1 μl/cm เป็นเส้น control line ใช้ IgG ของ BYMV พ่นเป็น test line ในปริมาณ 2 μl/cm ตามลำดับ ลงบนแผ่นเมมเบรน โดยเส้นทั้ง 2 มีระยะห่างกัน 0.5 เซนติเมตร และจัดให้อยู่กึ่งกลางของแผ่น NCM ที่มีความกว้าง 2.5 เซนติเมตร นำแผ่นที่พ่น IgG แล้วไปอบที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนนำมาทดสอบ (เส้น control line เป็นเส้นที่มีไว้ตรวจสอบการไหลของสารละลายทั้งหมดในชุดตรวจสอบว่ามีความสมบูรณ์ โดยปรากฏเป็นเส้นสีแดงเกิดจากปฏิกิริยาของ GAR กับ IgG ที่ผลิตมาจากกระต่ายและติดสลากอนุภาคทอง)

6. การเปรียบเทียบสารละลายบัฟเฟอร์ในการเตรียมตัวอย่างน้ำคั้นพืช

ทดลองใช้บัฟเฟอร์ ที่แตกต่างกัน 7 ชนิด บดตัวอย่างพืช คือ

PBS pH 7.4
PBS-T pH 7.4
TBS pH 7.4

TBS-T pH 7.4
extraction buffer 1 pH 8.6
extraction buffer 2 pH 7.5
general extraction buffer pH 7.4 (Agdia)

7. การประกอบและตรวจสอบ

นำ NCM บน Plastic Backing polyester ที่อบแห้งแล้ว มาลอกกระดาษปิดกาวออก วางแผ่น Conjugate Release pad ที่เป็น fiber glass ที่มี Gold labeled IgG และอบแห้งแล้วเกย ด้านล่างของแผ่น NCM 1 มิลลิเมตร ปิดทับ Conjugate Release pad ด้วย แผ่นรองรับตัวอย่างน้ำคั้นพืช (sample pad) ที่เป็น fiber glass โดยให้เกยประมาณ 1 มิลลิเมตร ปิดลงไปจนถึงปลายของแผ่น Backing พอดี วางแผ่นซับน้ำอย่างหนา (Wicking paper) ไว้ด้านบนของ NCM ประมาณ 1 มิลลิเมตร ทาบไป จนสุดปลายด้านบนของ Backing ตัดออกเป็น strip กว้าง 0.4 เซนติเมตร ด้วยเครื่องตัดแบบอัตโนมัติ

8. การทดสอบประสิทธิภาพความไว (sensitivity) ในการตรวจสอบเชื้อ BYMV

ทำการทดสอบประสิทธิภาพความไว (sensitivity) ของ Lateral flow test strip ในการตรวจสอบเชื้อ BYMV ในอัตราความเข้มข้นต่างๆ ด้วยการเจือจางน้ำคั้น ในอัตรา 1:10, 1:100, 1:200, 1:500, 1:1,000 และ 1:2,000 แล้วนำ Lateral flow test strip จุ่มลงในน้ำคั้นในปริมาณที่เท่ากัน อ่านผลปฏิกิริยาเปรียบทียบกัน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2556 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2557
สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสกัด IgG ของเชื้อไวรัส *Bean yellow mosaic virus* (BYMV)

การสกัด gamma-globulin (IgG) และปรับความเข้มข้นของ IgG IgG ที่สกัดออกมาเมื่อวัดความเข้มข้นของโปรตีน ด้วยเครื่อง spectrophotomer ได้ค่าความเข้มข้น IgG ของ BYMV เท่ากับ 6.0 ปรับให้ IgG มีความเข้มข้นที่ OD^{260} เท่ากับ 1.4 เพื่อให้ IgG ที่ได้นี้มีปริมาณโปรตีนเป็น 1 mg/ml ก่อนนำไป conjugate กับ colloidal Gold

2. การติดสลาก IgG ของ BYMV ด้วยอนุภาคทอง

ภายหลังจากการกวนกับ Sodium citrate จะได้สารละลายของ Colloidal Gold เป็นสี cherry red ซึ่งเป็นผลจากอนุภาคของทอง ที่มีลักษณะ monodisperse colloid ที่มีความคงตัวและมีขนาดประมาณ 40 nm มีความไวและคงรูปเมื่อนำไปใช้ในการ conjugate กับ IgG ของไวรัส (Hampton *et al*.,1990) ผลจากการทดลองหยอด Gold labeling IgG ในปริมาณ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 μl/cm พบว่าทุกอัตราไม่เกิดปฏิกิริยาของสีที่เส้น test line

3. การเตรียม test line และ การเตรียม control line

พบว่าการใช้ IgG ของ BYMV spray เป็น test line ปริมาณความเข้มข้นที่ 1.0, 1.5, 2.0 μl/cm ผลของปฏิกิริยาไม่ขึ้นแถบสี อาจเนื่องมาจากชนิดของไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน ความเข้มข้นในการ spray หรือความเข้มข้นของ IgG และแอนติซีรัมที่นำมาใช้ ส่วนการพ่น IgG ของ Goat anti-rabbit (GAR) โดยใช้ GAR ที่เจือจาง 1:3 ปริมาณ 1 μl/cm เป็นเส้น control line เพื่อเข้าไปทำปฏิกิริยา ผลของปฏิกิริยาชัดเจนดี แม้ว่าการใช้ Goat anti-rabbit ทำเป็น control line แผ่น conjugate Release pad ของ IgG BYMV ต้องเฉลี่ยไปทำปฏิกิริยากับทั้ง test line และ control line ดังนั้นจึงได้ทำการทดสอบชนิดของไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน

4. การทดสอบคัดเลือกชนิดของแผ่น ไนโตรเซลลูโลสเมมเบรนที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาของ BYMV บนเส้น test line

NCM / line	Unisart CN 95	AE 100	AE 99	AE 98 Fast	Millipore HF 13504	Prisma 60	Unisart CN 140
BYMV	-	-	-	-	-	-	-
Control line	++	+++	+++	+++	++	++	++

การเปรียบเทียบชนิดของแผ่นไนโตรเซลลูโลสเมมเบรนที่แตกต่างกัน 7 ชนิด พบว่าไม่เกิดปฏิกิริยาในทุกชนิดของไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน ซึ่งปัญหานี้อาจเนื่องมาจากชนิดของบัพเฟอร์ที่ใช้ในการบดตัวอย่าง ความเข้มข้นในการ spray หรือความเข้มข้นของ IgG และแอนติซีรัมที่นำมาใช้ และได้ดำเนินการเปรียบเทียบชนิดของบัพเฟอร์และไนโตรเซลลูโลสเมมเบรนที่ได้ดำเนินการไปแล้วอีกครั้ง เพื่อดูปฏิกิริยาของเส้น test line และ control line รวมทั้งทำการพัฒนาและปรับปรุงชุดตรวจสอบ ก่อนที่จะทำการประกอบและตรวจสอบประสิทธิภาพความไว (sensitivity) ในการตรวจสอบเชื้อ BYMV ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาชุด Gold labeling IgG flow test ตรวจสอบเชื้อ BYMV พบว่าการสกัด IgG ของเชื้อไวรัส *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) และทำการติดสลาก IgG ของ BYMV ด้วยอนุภาคทองขนาดประมาณ 40 nm เมื่อนำไปใช้ในการ conjugate กับ IgG ของไวรัส พบว่าไม่เกิดปฏิกิริยาบนเส้น test line ซึ่งสาเหตุอาจเกิดจากการใช้แอนติซีรัม polyclonal antibody ของเชื้อ BYMV รวมทั้งชนิดของบัพเฟอร์ที่ใช้ในการบดตัวอย่าง ปริมาณในการ spray หรือความเข้มข้นของ IgG ดังนั้นจึงได้ดำเนินการเปรียบเทียบชนิดของบัพเฟอร์และไนโตรเซลลูโลสเมมเบรนที่ได้ดำเนินการไป แล้วอีกครั้ง เพื่อดูปฏิกิริยาของเส้น test line และ control line รวมทั้งทำการปรับเปลี่ยนความ ปริมาณในการ spray และความเข้มข้นของ IgG เพื่อทดสอบปฏิกิริยาอีกครั้ง

ในการทดลองผลิต Gold labeling IgG flow test เพื่อตรวจสอบไวรัส BYMV โดยเลือกใช้หลักการทางเซรุ่มวิทยา (Serology) ร่วมกับการต่อเชื่อมแอนติซีรัมหรือ IgG ของไวรัส กับอนุภาคของสารมีสีได้แก่ Colloidal Gold โดยเลือกที่ขนาด 40 nm มาใช้ได้ และอนุภาคของสารดังกล่าวสามารถแสดงผลของปฏิกิริยาให้เห็นได้ชัดเจนเป็นสีสีชมพูเข้ม โดยนำ Colloidal Gold มา conjugate กับ IgG ไปทำปฏิกิริยาทางเซรุ่มวิทยากับอนุภาคของไวรัสในน้ำคั้นตัวอย่างที่เป็นโรคชนิดเดียวกับ IgG แล้วไหลผ่านไปบนแผ่นไนโตรเซลลูโลสเมมเบรนไปพบกับแถบ IgG ของไวรัส ที่วางแนวดักไว้ด้านบนของแผ่นไนโตรเซลลูโลส

เมมเบรนดังกล่าว เกิดลักษณะของปฏิกิริยาลูกโซ่แบบแซนวิชที่จับติดบนแผ่นไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน ตรงแนวของแถบ IgG ที่วางไว้จึงมองเห็นเป็นแนวเส้นตรงของปฏิกิริยาสีชมพูเข้มของอนุภาคทอง เทคนิคการตรวจสอบด้วยวิธี lateral flow test เป็นวิธีหนึ่งทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงในการวินิจฉัยโรค วิธีการนี้มีหลักการที่แอนตีบอดี้ที่มาจากแอนติเจนชนิดเดียวกันจะมีความเฉพาะเจาะจงในการจับติดกัน และการเคลื่อนย้ายของของเหลวในลักษณะ capillary จากล่างขึ้นสู่บน หรือจากซ้ายไปขวาในลักษณะ lateral flow จะช่วยให้แอนติเจนหรือตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบเคลื่อนย้ายเข้าหาแอนติบอดี (Haber and Knapen, 1989; Tseda *et al.*, 1992 and Tseda *et al.*, 1993) เมื่อเป็นชนิดเดียวกันย่อมเกิดปฏิกิริยาบน strip สังเกตเห็นแถบสี (band) ของอนุภาคและมีคุณสมบัติสามารถต่อเชื่อมกับแอนติซีรัมได้ ปฏิกิริยานี้ถูกกำหนดให้ไปเกิดขึ้นบน strip ชัดเจน ซึ่งขั้นตอนเหล่านี้ใช้เวลาในการตรวจสอบเพียง 5-10 นาที วิธีการนี้จึงเหมาะสมที่จะนำมาพัฒนาเพื่อใช้ตรวจสอบเชื้อไวรัส

เอกสารอ้างอิง

Arneodo, J.D., S. de Breuil, S.L. Lenardon, V.C. Conci and L.R. Conci. 2005. Detection of *Bean yellow mosaic virus* and *Cucumber mosaic virus* infecting gladiolus in Argentina. AGRISCIENTIA, VOL. XXII (2): 87-89.

Haber,S. and H.Knapen, 1989. Filter paper sero-assay (FiPSA) : A rapid, sensitive technique for sero –diagnosis of plant viruses. Can. J. plant Pathol. 11:109-113.

Meenu Katoch, Raja Ram, A. A. Zaidi and I. D. Garg, 2002. Status of *Bean yellow mosaic virus* on Gladiolus.

Stein A., A. Rosner and J. Hammond. 1994. Detection of *Bean yellow mosaic virus* in Gladioli Corms.

Tsuda, S., kameya-lwaki, M.,hanada, K., Kouda, Y., Hikata, M., and K.Tomaru. 1992. A novel detection and Identification technique for plant viruses; Rapid mmunofilter paper assay (RIPA), plant Dis. 76:466-469

Tsuda,S., kameya-lwaki, M.,hanada, K.,Kouda, Y.,Hikata, M.,Fujisawa I and K.Tomaru. 1993. Simultaneous Diagnosis for Plants Infected with Multiple viruses Employing Rapid Immunefilter Paper Assay (RIPA) with Two-Step method' Multi-RIPA. Ann. phythopath. Soc. Japan 59:200-203.

การพัฒนาชุดตรวจสอบไวรัส PVY PVX PVS ในมันฝรั่ง
Development for detecting of PVY PVX PVS in Potato

สิทธิศักดิ์ แสไพศาล[1/] วิวัฒน์ ภานุอำไพ[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตเชียงใหม่ สำนักวิจัยพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

บทคัดย่อ

การศึกษา Gold Labeling IgG Flow Test (GLIFT) ในการตรวจเชื้อ PVY PVX และ PVS โดยใช้หลักการทางเซรุ่มวิทยาและ lateral flow technique บนแผ่น nitrocellulose membrane ที่ใช้ทดสอบ 7 ชนิด เลือกใช้อนุภาคของทอง (colloidal gold) ขนาด 40 นาโนเมตร มาต่อเชื่อมกับ IgG ของเชื้อ PVY PVX และ PVS ทำการ conjugate กับ IgG ของไวรัส พบว่าการเกิดปฏิกิริยาบนเส้น test line ยังไม่ชัดเจน แถบแบนไม่เข้ม ส่วน control line เกิดในทุกชนิดของ nitrocellulose membrane จึงทำการเปรียบเทียบชนิดของบัพเฟอร์และไนโตรเซลลูโลสเมมเบรนอีกครั้ง เพื่อดูปฏิกิริยาของเส้น test line และ control line รวมทั้งทำการปรับเปลี่ยนปริมาณในการ spray และความเข้มข้นของ IgG และทำการ conjugate กับ IgG ของ PVY PVX และ PVS ใหม่เพื่อทดสอบปฏิกิริยาอีกครั้ง

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-01-08-56

คำนำ

จากการที่ประเทศไทยได้เปิดเขตการค้าเสรีกับหลายประเทศภายใต้หลักเกณฑ์ขององค์การการค้าโลก (World Trade Organization: WTO) ในการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร ประเทศไทยจำเป็นต้องยึดหลักการตามความตกลงว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures: SPS Agreement) มาตรการ SPS Agreement นี้ยึดหลักการทางวิทยาศาสตร์ และการประเมินความเสี่ยงเพื่อปกป้องสินค้าเกษตรจากศัตรูพืชที่ไม่เคยมีมาก่อน ซึ่งประเทศไทยมีการนำเข้าพืชจำนวนมากจากทั่วโลกในแต่ละปีและปัจจุบันประเทศไทยได้มีข้อตกลงเปิดการค้าเสรีกับหลายประเทศ มีการวางข้อกำหนดด้านคุณภาพของสินค้า ความปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมมาเป็นข้อกำหนดการนำเข้าสินค้า ดังนั้นแต่ละประเทศจำเป็นต้องมีข้อมูลด้านวิชาการที่ชัดเจนเพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนการเจรจาตกลงในเรื่องข้อกำหนดในแต่ละเรื่อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้อมูลด้านศัตรูพืชและการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืช ที่จะถูกหยิบยกขึ้นมาเป็นเรื่องการกีดกันทางการนำเข้าได้เป็นอย่างดี ในระยะเวลาที่ผ่านมาประเทศไทยได้มีการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งมากกว่าปีละ 8,000-12,000 ตัน จากหลายประเทศ ทั้งจากประเทศออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา สก๊อตแลนด์ เป็นต้น เนื่องจากประเทศไทยไม่สามารถผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งให้เพียงพอต่อความต้องการของผู้ปลูก แต่จากการนำเข้าหัวพันธุ์จากต่างประเทศมีปัญหาการติดเชื้อไวรัสเข้ามา ฝ่ายวิชาการกักพืชทำหน้าที่กักตรวจศัตรูพืชที่เป็นศัตรูพืชกักกัน ที่ติดเข้ามาโดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคของไวรัสที่ไม่เคยพบว่ามีรายงานในประเทศไทยมาก่อน แต่จากการที่มีการสั่งหัวพันธุ์เข้ามาเป็นจำนวนมากทำให้งานการตรวจมีปริมาณมาก ทั้งการตรวจก่อนนำเข้าและมีการเฝ้าระวังหลังนำเข้าโดยออกสำรวจและเก็บตัวอย่างในแปลงปลูกเพื่อตรวจหาเชื้อไวรัส ซึ่งมีรายงานจากต่างประเทศที่ตรวจพบเชื้อไวรัสทั้ง PVY PVX และ PVS โดย Gray *et al.* (2003) ได้สำรวจและเก็บตัวอย่างอาการใบด่างจากต้นมันฝรั่ง จำนวน 1,330 ต้น จาก 90 ฟาร์ม 300 ตัวอย่าง เก็บจากต้นมีอาการด่างอย่างชัดเจนและ 1,030 ตัวอย่าง สุ่มจากต้นทั่วๆ ไป และทำการตรวจทางเซรุ่มวิทยากับแอนติซีรัมของไวรัส 6 ชนิด ได้แก่ PVA, PVS, PVX, PVY, PVM และ PLRV ซึ่งในโปรแกรมการผลิตหัวพันธุ์รับรองได้ทำการตรวจสอบไวรัสทั้ง 6 ชนิด เพราะไวรัสทั้ง 6 ชนิดนี้ เป็นเชื้อไวรัสที่พบเสมอในแหล่งปลูกมันฝรั่งในสหรัฐอเมริกา ผลจากการสำรวจพบว่ามีการเข้าทำลายของเชื้อ PVY สูงที่สุดมีการเข้าทำลายถึง 68% และ PVS 61% ส่วน PVX มีเพียง 10 % ส่วนไวรัสอื่นๆ มีน้อยกว่า 1% Salim Khan *et al.* (2003) ได้พัฒนาวิธีจำแนกไวรัสที่รวดเร็ว ในห้องทดลองกับมันฝรั่ง 6 พันธุ์คือ Cardinal, Diamant, Dhera, Multa, Cilena and Sieglinde โดยการปลูกเชื้อไวรัส PVA, PVY, PVV, PVM, PVS, PVX และ PLRV บนต้นมันฝรั่ง แล้วจำแนกด้วยวิธี DAS-ELISA เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ปลูกเชื้อ กิตติศักดิ์และคณะ (2532) ได้ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจสอบเชื้อ PVX, PVY ด้วยวิธี EM, IEM และ ELISA พบว่าวิธี ELISA เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการตรวจสอบรวดเร็วและแม่นยำ ดีกว่าอีก 2 วิธี Tsuda *at al.*(1993) ได้พัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อไวรัสหลายๆชนิดด้วยวิธีรวดเร็ว (multi RIPA) และตรวจสอบอย่างรวดเร็วเพียง 2 ขั้นตอน บนแผ่นรองรับ แบบ Lateral flow test Hochleitner and Kraus (2002) ได้พัฒนาวิธี Lateral flow test ใช้ Colloidal Gold เป็นวัสดุแสดงปฏิกิริยาในการทำ dipstick ตรวจสอบไวรัสโดยใช้หลักการทางเซรุ่มวิทยา

ซึ่งจากจำนวนตัวอย่างที่ต้องตรวจมีปริมาณมากทำให้การตรวจมีปัญหาและทำให้ล่าช้า และความล่าช้าจากการที่มันฝรั่งพักตัวนานจึงไม่มีหน่ออ่อนไปตรวจ ดังนั้นจึงควรพัฒนาวิธีการตรวจสอบที่สามารถตรวจไวรัสจากหัวพันธุ์โดยตรง หรือพัฒนาวิธีการตรวจที่แม่นยำ สะดวก และรวดเร็ว ซึ่งจาก

เดิมได้พัฒนาเทคโนโลยีในการผลิตชุดตรวจสอบไวรัสอย่างง่ายของเชื้อไวรัส PVY บนหัวพันธุ์มันฝรั่งไปแล้วบนชุดตรวจสอบ ดังนั้นการพัฒนาวิธีการตรวจสอบที่สามารถตรวจไวรัสจากหัวพันธุ์มันฝรั่งได้ 3 ชนิด พร้อมกันในหนึ่งชุด คือ PVY PVX และ PVS จึงเป็นสิ่งที่ดีและมีความจำเป็น เพื่อให้สามารถตรวจได้มากขึ้น เร็วขึ้นและมีประสิทธิภาพมากขึ้น เพื่อรองรับการนำเข้ามันฝรั่งที่มีปริมาณมากขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- เครื่อง centrifuge และ เครื่อง Spectrophotometer
- แอนติซีรัม polyclonal antibody ของเชื้อ PVY PVX และ PVS
- ตู้แช่แข็ง -20 และ -80 ^{0}C
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เช่น Goat Anti-Rabbit+Phosphatase, non-fat milk, FR-TR salt และ Nitrocellulose membrane เป็นต้น
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการผลิตชุดตรวจสอบไวรัสกล้วยไม้สำเร็จรูป เช่น Colloidal gold, Goat-anti mouse (GAM), Sucrose และ fiber glass เป็นต้น

วิธีการ

1. การเตรียมแอนติซีรัมและการสกัด IgG ของเชื้อไวรัส PVY PVX และ PVS

สกัด IgG จากแอนติซีรัมของเชื้อ PVY PVX และ PVS โดยนำแอนติซีรัม PVY PVX และ PVS จำนวน 1 ml มาสกัด IgG โดยผสมกับ น้ำกลั่น 9 ml แล้วผสมกับ ammonium sulfate ที่อิ่มตัว 10 ml ผสมให้เข้ากันดี นำไปตกตะกอน 8,000 rpm นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 25^{0}C ละลายตะกอนด้วย 4 ml ของ ½ เท่า PBS แล้วใส่ถุง dialysis tubing เพื่อละลาย ammonium sulfate ออกให้หมดโดยแช่ ใน ½ PBS 1 ลิตร นาน 3 ชั่วโมง 3 ครั้ง วัดความเข้มข้นของ IgG ที่ได้ด้วย spectrophotometer เพื่อ ปรับให้ IgG มีความเข้มข้นที่ OD_{280}= 1.4 มีความเข้มข้นของโปรตีน = 1 mg/ml ทดสอบคุณภาพ IgG ด้วยวิธี NCM-ELISA โดยเจือจาง IgG เป็น 1:500

2. การเตรียมสารละลายแขวนลอยอนุภาคทอง (colloidal gold)

เตรียมจากสารประกอบ $HAuCl_4$ เพื่อให้ได้อนุภาคทองที่บริสุทธิ์และมีขนาด 40 นาโนเมตร นำสารละลาย 1% ของ Gold chloride หรือ chloroauric acid ($HAuCl_4$, $AuCl_3$) จำนวน 1.2 ml ใส่ลงในน้ำกลั่นจำนวน 174 ml ที่ต้มเดือดแล้วนาน 2 นาที แล้วเติม Sodium citrate ลง 2 ml กวนต่อนาน 10 นาที แล้วนำมาแช่ในน้ำเย็นให้เย็นลง นำไปวัด OD 530 nm ให้ได้ค่าเท่ากับ 0.5 แล้วปรับเป็น pH 7.3 ด้วย 0.2 M K_2CO_3 ที่เตรียมใหม่และใช้ทันที (Hampton *et al*., 1990) แล้วนำสารละลายของ Colloidal Gold ไปใช้ในการ conjugate กับ IgG ของ PVY PVX และ PVS

3. การติดสลาก IgG ของ PVY PVX และ PVS ด้วยอนุภาคทอง

นำ IgG ของ PVY PVX และ PVS เชื่อมเข้ากับ Colloidal Gold ได้เป็น Colloidial Gold conjugated IgG โดยผสม IgG ของ PVY PVX และ PVS ที่มีความเข้มข้นของโปรตีนประมาณ 1

mg/ml กับ Colloidal Gold ในอัตรา 1:100 กวนเบาๆ ด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า (magnetic stirrer) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องแล้วเติมสารละลาย bovine serum albumin (BSA) ความเข้มข้น 10 % จำนวน 20 มิลลิลิตร กวนเบา ๆ อีก 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 9,000 รอบ/นาที นาน 40 นาที เพื่อตกตะกอน Colloidial Gold conjugated IgG ที่ติดสลากด้วยอนุภาคทอง (gold labeled IgG) แล้วละลายตะกอนด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Passive Gold Diluent ให้มีความเข้มข้นของสารละลายเป็น 0.5 ที่ OD 540 แล้วนำไปหยดหรือพ่น ลงบนแผ่นวัสดุใยแก้ว (fiber glass) โดยทดลองหยด Gold labeling IgG ในปริมาณ 2 μl/cm

การเตรียม Conjugate Release pad (CRP) ทำการพ่นปริมาณ Gold labeling IgG ของ PVY PVX และ PVS ลงบนแผ่น CRP ซึ่งเป็นวัสดุใยแก้ว (fiber glass) ในปริมาณ 1.5 μl/cm แล้วนำไปอบแห้งในตู้อบควบคุมอุณหภูมิ (incubator) 37°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำ CRP ของ Gold labeling IgG ของ PVY PVX และ PVS มาตัดเป็นชิ้นขนาด 0.5x0.5 เซนติเมตร เก็บในสภาพแห้งที่มีความชื้นไม่เกิน 40% ก่อนนำไปประกอบเป็น dipstick และประกอบเป็นชุดตลับตรวจสอบต่อไป

4. การเตรียม test line และ control line

ทำการพ่น IgG ด้วยเครื่องมือ spray ที่สามารถควบคุมแรงดัน ลงบนแผ่น NCM โดยทดลองเปรียบเทียบปริมาณของ IgG ของ PVY PVX และ PVS ที่ต่างกัน 4 อัตราได้แก่ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 μl/cm ส่วนการเตรียมเส้นแสดงปฏิกิริยาควบคุม (control line) โดยการพ่น GAR ในอัตรา 1.0 μl/cm ลงบน NCM ในตำแหน่งห่างจาก test line ขึ้นไปด้านบนของ dip stick 0.5 cm แล้วนำไปอบแห้งเช่นเดียวกับ Conjugate Release pad (CRP) นาน 2 ชั่วโมง control line ทำไว้เพื่อให้ Gold labeling IgG ของ Rabbit IgG ละลายออกมาแล้วไหลไปจับกับ control line เพื่อเป็นการตรวจปฏิกิริยาการไหลของสารละลายที่ดี

5. การเปรียบเทียบสารละลายบัฟเฟอร์ในการเตรียมตัวอย่างน้ำคั้นพืช

ทดลองใช้บัฟเฟอร์ ที่แตกต่างกัน 7 ชนิด บดตัวอย่างพืช คือ

PBS pH 7.4

PBS-T pH 7.4

TBS pH 7.4

TBS-T pH 7.4

extraction buffer 1 pH 8.6

extraction buffer 2 pH 7.5

general extraction buffer pH 7.4 (Agdia)

6. การประกอบและตรวจสอบ

นำ NCM บน Plastic Backing polyester ที่อบแห้งแล้ว มาลอกกระดาษปิดกาวออก วางแผ่น Conjugate Release pad ที่เป็น fiber glass ที่มี Gold labeled IgG และอบแห้งแล้วเกยด้านล่างของแผ่น NCM 1 มิลลิเมตร ปิดทับ Conjugate Release pad ด้วย แผ่นรองรับตัวอย่างน้ำคั้นพืช (sample pad) ที่เป็น fiber glass โดยให้เกยประมาณ 1 มิลลิเมตร ปิดลงไปจนถึงปลายของแผ่น Backing พอดี วางแผ่นซับน้ำอย่างหนา (Wicking paper) ไว้ด้านบนของ NCM

ประมาณ 1 มิลลิเมตร ทาบไป จนสุดปลายด้านบนของ Backing ตัดออกเป็น strip กว้าง 0.4 เซนติเมตร ด้วยเครื่องตัดแบบอัตโนมัติ

7. การทดสอบประสิทธิภาพความไว (sensitivity) ในการตรวจสอบเชื้อ PVY PVX และ PVS

ทำการทดสอบประสิทธิภาพความไว (sensitivity) ของ Lateral flow test strip ในการตรวจสอบเชื้อ PVY PVX และ PVS ในอัตราความเข้มข้นต่างๆ ด้วยการเจือจางน้ำคั้น ในอัตรา 1:10, 1:100, 1:200, 1:500, 1:1,000 และ 1:2,000 แล้วนำ Lateral flow test strip จุ่มลงในน้ำคั้นในปริมาณที่เท่ากัน อ่านผลปฏิกิริยาเปรียบเทียบกัน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2556 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2557

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสกัด IgG ของเชื้อไวรัส PVY PVX และ PVS

การสกัด gamma-globulin (IgG) และปรับความเข้มข้นของ IgG IgG ที่สกัดออกมาเมื่อวัดความเข้มข้นของโปรตีน ด้วยเครื่อง spectrophotomer ได้ค่าความเข้มข้น IgG ของ PVY PVX และ PVS เท่ากับ 6.0 ปรับให้ IgG มีความเข้มข้นที่ OD^{260} เท่ากับ 1.4 เพื่อให้ IgG ที่ได้นี้มีปริมาณโปรตีนเป็น 1 mg/ml ก่อนนำไป conjugate กับ colloidal Gold

2. การติดสลาก IgG ของ PVY PVX และ PVS ด้วยอนุภาคทอง

ภายหลังจากการกวนกับ Sodium citrate จะได้สารละลายของ Colloidal Gold เป็นสี cherry red ซึ่งเป็นผลจากอนุภาคของทอง ที่มีลักษณะ monodisperse colloid ที่มีความคงตัวและมีขนาดประมาณ 40 nm มีความไวและคงรูปเมื่อนำไปใช้ในการ conjugate กับ IgG ของไวรัส (Hampton *et al*., 1990) ผลจากการทดลองหยอด Gold labeling IgG ในปริมาณ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 μl/cm พบว่าทุกอัตราไม่เกิดปฏิกิริยาของสีที่เส้น test line

3. การเตรียม test line และการเตรียม control line

พบว่าการใช้ IgG ของ PVY PVX และ PVS spray เป็น test line ปริมาณความเข้มข้นที่ 1.0, 1.5, 2.0 μl/cm ผลของปฏิกิริยาไม่ขึ้นแถบสี อาจเนื่องมาจากชนิดของไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน ความเข้มข้นในการ spray หรือความเข้มข้นของ IgG และแอนติซิรัมที่นำมาใช้ ส่วนการพ่น IgG ของ Goat anti-rabbit (GAR) โดยใช้ GAR ที่เจือจาง 1:3 ปริมาณ 1 μl/cm เป็นเส้น control line เพื่อเข้าไปทำปฏิกิริยา ผลของปฏิกิริยาชัดเจนดีแม้ว่าการใช้ Goat anti-rabbit ทำเป็น control line แผ่น conjugate Release pad ของ IgG PVY PVX และ PVS ต้องเฉลี่ยไปทำปฏิกิริยากับทั้ง test line และ control line ดังนั้นจึงได้ทำการทดสอบชนิดของไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดลอง Gold labeling IgG flow test เพื่อตรวจสอบไวรัส PVY PVX และ PVS โดยใช้หลักการทางเซรุ่มวิทยา (Serology) ร่วมกับการต่อเชื่อมแอนติซีรัมหรือ IgG ของไวรัส กับอนุภาคของ

สารมีสีได้แก่ Colloidal Gold โดยเลือกที่ขนาด 40 nm มาใช้ได้ และอนุภาคของสารดังกล่าวสามารถแสดงผลของปฏิกิริยาให้เห็นได้ชัดเจนเป็นสีสีชมพูเข้ม โดยนำ Colloidal Gold มา conjugate กับ IgG ไปทำปฏิกิริยาทางเซรุ่มวิทยากับอนุภาคของไวรัสในน้ำคั้นตัวอย่างที่เป็นโรคชนิดเดียวกับ IgG แล้วไหลผ่านไปบนแผ่นไนโตรเซลลูโลสเมมเบรนไปพบกับแถบ IgG ของไวรัส ที่วางแนวดักไว้ด้านบนของแผ่นไนโตรเซลลูโลสเมมเบรนดังกล่าว เป็นลักษณะของปฏิกิริยาลูกโซ่แบบแซนวิชที่จับติดบนแผ่นไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน ตรงแนวของแถบ IgG ที่วางไว้จึงมองเห็นเป็นแนวเส้นตรงของปฏิกิริยาสีชมพูเข้มของอนุภาคทอง ซึ่งการตรวจสอบเชื้อไวรัสเพื่อการวินิจฉัยโรคมีด้วยกันหลายวิธี เช่นการตรวจหาอนุภาคของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Jesen and Gold, 1951) การตรวจสอบโดยวิธี ELISA (Enyzme Linked-Immuno Sorbent Assay) (Clark and Adam,1977) และการตรวจสอบด้วยวิธีอณูชีววิทยา แต่ละวิธีมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกันไปในการวินิจฉัยโรคอาจต้องพิจารณาจากหลากหลายวิธีประกอบกัน และควรหาวิธีการใหม่ๆมาช่วยเพิ่มการตรวจสอบให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น เทคนิคการตรวจสอบด้วยวิธี lateral flow test เป็นวิธีหนึ่งทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงในการวินิจฉัยโรค วิธีการนี้มีหลักการที่แอนตีบอดี้ที่มาจากแอนติเจนชนิดเดียวกันจะมีความเฉพาะเจาะจงในการจับติดกัน และการเคลื่อนย้ายของของเหลวในลักษณะ capillary จากล่างขึ้นสู่บน หรือจากซ้ายไปขวาในลักษณะ lateral flow จะช่วยให้แอนติเจนหรือตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบเคลื่อนย้ายเข้าหาแอนติบอดี (Haber and Knapen, 1989; Tseda *et al.*, 1992 and Tseda *et al.*, 1993) เมื่อเป็นชนิดเดียวกันย่อมเกิดปฏิกิริยาบน strip สังเกตเห็นแถบสี (band) ของอนุภาคและมีคุณสมบัติสามารถต่อเชื่อมกับแอนติซีรัมได้ ปฏิกิริยานี้ถูกกำหนดให้ไปเกิดขึ้นบน strip ชัดเจน ซึ่งขั้นตอนเหล่านี้ใช้เวลาในการตรวจสอบเพียง 5-10 นาที วิธีการนี้จึงเหมาะสมที่จะพัฒนาเพื่อใช้ตรวจสอบเชื้อไวรัส แต่จากการศึกษาชุด Gold labeling IgG flow test ตรวจสอบเชื้อ PVY PVX และ PVS พบว่าการเกิดปฏิกิริยาบนเส้น test line ยังไม่ชัดเจน จาง แถบแบนไม่เข้ม ซึ่งสาเหตุอาจเกิดจากแอนติซีรัม polyclonal antibody ของเชื้อ PVY PVX และ PVS รวมทั้งชนิดของบัพเฟอร์ที่ใช้ในการบดตัวอย่าง ความเข้มข้นในการ spray หรือความเข้มข้นของ IgG ดังนั้นจึงได้ดำเนินการเปรียบเทียบชนิดของบัพเฟอร์และไนโตรเซลลูโลสเมมเบรนที่ได้ดำเนินการไปแล้วอีกครั้ง เพื่อดูปฏิกิริยาของเส้น test line และ control line รวมทั้งทำการปรับเปลี่ยนปริมาณในการ spray และความเข้มข้นของ IgG เพื่อทดสอบปฏิกิริยาอีกครั้ง

เอกสารอ้างอิง

กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร สุรภี กีรติยะอังกูร และ นวลจันทร์ ดีมา 2532. การเปรียบเทียบวิธีการตรวจสอบเชื้อ PVX, PVY ด้วยวิธี EM, IEM และ ELISA. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2532. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตรกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า 103-109.

Clark, M.F and A.N. Adams. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of plant viruses. *J .Gen. Virol.* 34 : 475-483.

Gray, S., K. Perry and P. Baldauf. 2003. Report of 2003 Research activities funded by the Maine Potato Board.

Haber,S. and H.Knapen, 1989. Filter paper sero-assay (FiPSA) : A rapid, sensitive technique for sero –diagnosis of plant viruses. Can. J. plant Pathol. 11:109-113.

Hampton, H., E. Ball, and S. De Boer. 1990. Serological Methods for Detection and Identification of Viral and Bacterial Plant Pathogens. 389 pp.

Hochleitner,K. and H. Kraus. 2002. Introductory Workshop on Rapid Diagnostic Tests. BGM Company. Bangkok Thailand . 180 pp.

Jesen, D.D. and A.H. Gold. 1951. A virus ringspot of odontoglossum orchid symptom, transmission, and electron microscopy. Phytopathology 41 : 648-653.

Salim Khan M., M. I. Hoque, R. H. Sarker and H.-P. Muehlbach. 2003. Detection of Important Plant Viruses in In vitro Regenerated Potato Plants by Double Antibody Sandwich Method of ELISA. Plant Tissue Cult. 13(1) : 21-29, 2003.

Tsuda, S., kameya-lwaki, M.,hanada, K., Kouda, Y., Hikata, M., and K.Tomaru. 1992. A novel detection and Identification technique for plant viruses; Rapid mmunofilter paper assay (RIPA), plant Dis. 76:466-469

Tsuda,S., kameya-lwaki, M.,hanada, K.,Kouda, Y.,Hikata, M.,Fujisawa I and K.Tomaru. 1993. Simultaneous Diagnosis for Plants Infected with Multiple viruses Employing Rapid Immunefilter Paper Assay (RIPA) with Two-Step method' Multi-RIPA. Ann. phythopath. Soc. Japan 59:200-203.

พัฒนาเทคนิคการตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุโรคใบขาวอ้อย ด้วยกรดนิวคลีอิกตัวตรวจ

Development of the Detection Phytoplasma of Sugarcane White Leaf Disease by Nucleic Acid Probe

กาญจนา วาระวิชะนี วันเพ็ญ ศรีทองชัย ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

อ้อยเป็นพืชอุตสาหกรรมหลักอีกชนิดหนึ่งของประเทศไทยที่นำรายได้เข้าประเทศในปีหนึ่งๆ มากกว่าหมื่นล้านบาท และในปัจจุบันอ้อยยังเป็นวัตถุดิบที่สำคัญอย่างหนึ่งในอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอล จากศักยภาพดังกล่าวจึงต้องมีการขยายพื้นที่ปลูกให้เพิ่มมากขึ้นซึ่งส่วนใหญ่อยู่ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แต่ผลผลิตที่ได้ต่อหน่วยพื้นที่ปลูกกลับมีแนวโน้มลดลง ปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้อ้อยสูญเสียผลผลิตไปมาก คือ ปัญหาของโรคใบขาวที่เกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมา ในปัจจุบันยังไม่มีเทคโนโลยีใดที่สามารถแก้ไขปัญหานี้ได้ ดังนั้นวิธีการควบคุมการแพร่ระบาดของโรคที่ดีที่สุด คือ การปลูกอ้อยโดยใช้ท่อนพันธุ์ที่ปราศจากโรค ควบคู่กับการจัดการในแปลงผลิต ดังนั้น วิธีการตรวจสอบที่มีความแม่นยำจึงสามารถตรวจการปนเปื้อนโรคโดยทำการออกแบบไพร์เมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อย คือ ยีนในส่วน *secA* gene โดยออกแบบไพร์เมอร์ 2 คู่ คือ SecA-F & SecA-R และ SecAfor1 & SecArev3 ที่ให้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 400 เบส และ 800 เบส ตามลำดับ เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับข้อมูลใน genbank พบว่าเหมือน Sugarcane grassy shoot phytoplasma และ Sugarcane white leaf phytoplasma อยู่ในระดับ 97-98 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า expect value เท่ากับ 0.0 เมื่อนำมาสร้างกรดนิวคลีอิกตัวตรวจ พบว่า มีประสิทธิภาพการแสดงผลตรวจเทียบเท่ากับกรดนิวคลีอิกตัวตรวจในส่วนของ 16S rDNA ทั้งนี้~~ตาม~~การสร้างกรดนิวคลีอิกตัวตรวจจาก~~ยีน~~ *secA* gene ถือว่าเป็นอีกหนึ่งเครื่องมือที่สามารถนำมาใช้บูรณาการร่วมกันเพื่อยืนยันผลการตรวจสอบหาเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยทำให้ผลทดสอบที่ได้มีความถูกต้องและแม่นยำเพิ่มมากขึ้น

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-02-07-54

คำนำ

โรคใบขาวอ้อยเกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมามีลักษณะคล้ายกับแบคทีเรียขนาดเล็กที่สุด แต่ไม่มีผนังเซลล์ รูปร่างไม่แน่นอนมีขนาด 80-900 นาโนเมตร มีแมลงพาหะคือเพลี้ยจักจั่นสีน้ำตาล สามารถพบเชื้ออยู่ในกลุ่มเซลล์ท่ออาหารของต้นอ้อย อ้อยที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะมีใบสีขาว ต้นแคระแกร็น ใบแคบ เรียวเล็กกว่าปกติ แตกหน่อเร็ว หน่อที่แตกใหม่จะมีสีขาวมีลักษณะคล้ายกอตะไคร้ หากเป็นมากอ้อยจะตายภายใน 2-4 เดือน โรคใบขาวอ้อยสามารถติดไปได้กับท่อนพันธุ์ จึงเป็นปัญหาอย่างมากถ้าอ้อยมีอาการแฝงของโรคอยู่ หากเกษตรกรนำอ้อยที่มีอาการแฝงไปขยายพันธุ์จะทำให้เกิดการแพร่ระบาดของโรคอย่างกว้างขวางและรวดเร็วมากขึ้นหากเพลี้ยจักจั่นสีน้ำตาลช่วยถ่ายทอดโรคในสภาพแปลงปลูก ซึ่งในขณะนี้วิธีการควบคุมการแพร่ระบาดของโรคที่ดีที่สุด คือ การใช้ท่อนพันธุ์ที่สะอาดปราศจากโรค จึงเป็นที่มาของวิจัยเพื่อพัฒนากรดนิวคลีอิกตัวตรวจโรคใบขาวในอ้อยขึ้น เรียกว่าเทคนิคนิวคลีอิกไฮบริไดเซชั่น (nucleic acid hybridization) ซึ่งเทคนิคนี้สามารถตรวจหาดีเอ็นเอเป้าหมายได้ถึงระดับยีนโดยอาศัยหลักการจับคู่กันของลำดับเบสคู่สม โดยทั่วไปวิธีการนี้มีความไวและความจำเพาะสูงในการตรวจจับกรดนิวคลีอิกของไฟโตรพลาสมาถึงแม้ว่าเชื้อจะมีปริมาณน้อยกรดนิวคลีอิกตัวตรวจก็มีประสิทธิภาพในการตรวจจับได้ดี เมื่อทำการผลิตกรดนิวคลีอิกตัวตรวจแล้วยังสามารถเก็บไว้ได้นานและสามารถเพิ่มปริมาณได้ง่ายเมื่อต้องการใช้งาน และที่สำคัญกรดนิวคลีอิกตัวตรวจนี้สามารถใช้จำแนกเชื้อสาเหตุได้ถึงระดับสายพันธุ์ (พรทิพย์ และคณะ 2541) (Klinkong *et. al.*, 1993) แต่อย่างไรก็ตามก่อนการสร้างกรดนิวคลีอิกตัวตรวจที่มีประสิทธิภาพสูงนั้นต้องหายีนที่เหมาะสมก่อนเพื่อให้สามารถตรวจจับเชื้อสาเหตุโรคได้อย่างแม่นยำ จึงต้องทำการออกแบบไพร์เมอร์ที่มีความจำเพาะสูงกับเชื้อเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อย แล้วนำมาเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR แล้วนำไปผลิตเป็นกรดนิวคลีอิกตัวตรวจที่มีความจำเพาะสูงเป็นลำดับต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างอ้อยที่แสดงอาการโรคใบขาว
2. ตัวอย่างอ้อยปกติ
3. อุปกรณ์ด้านวิทยาศาสตร์ ได้แก่
   - โกร่งบดตัวอย่าง
   - กระติกสุญญากาศ
   - หลอดพลาสติกขนาด 2, 1.5 และ 0.5 ไมโครลิตร
   - ตู้แช่แข็ง -20 ^{0}C
   - อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath shaker)
   - เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง
   - เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (Centrifuge)
   - เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงควบคุมอุณหภูมิ (High Speed Centrifuge)
   - ตู้ดูดควันและสารพิษ (Hood)
   - เครื่อง Thermal cycler

- เครื่อง Gel electrophoresis
- เครื่อง Gel Documentation UV-transilluminator

4. สารเคมีวิทยาศาสตร์ ได้แก่
   - ไนโตรเจนเหลว
   - สารประกอบ CTAB buffer (2% CTAB, 100 mM Tris-HCl, pH 8.0, 20 mM EDTA, 1.4 M NaCl, 1.0% Na_2SO_3 และ 2.0% PVP-40; Na_2SO_3 และ PVP-40)
   - เอ็นไซม์ *Taq* DNA Polymerase, Recombinant (Invitrogen)
   - GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Fermentas)
   - Chloroform: Isoamyl alcohol (24:1)
   - Ethanol
   - TE Buffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0)
   - Agarose gel

วิธีการ

1.สำรวจและเก็บตัวอย่างพืช

เก็บตัวอย่างโรคอ้อยใบขาว จากแปลงปลูกอ้อย จ.กาญจนบุรี แล้วนำท่อนพันธุ์จากแปลงที่ไปสำรวจมาเก็บไว้ในเรือนทดลองเพื่อใช้เป็นแหล่งเชื้อต่อไป

2.ทดสอบหาวิธีการสกัดดีเอ็นเอที่เหมาะสมต่อเชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุใบขาวอ้อย

2.1 วิธีการสกัดดีเอ็นเอด้วย DNeasy Plant Mini Kit

ชั่งตัวอย่างใบพืชที่ทดสอบให้ได้น้ำหนัก 100 มิลลิกรัม แล้วใส่ลงในโกร่งบดให้ละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลว หลังจากนั้นเติมสารละลาย AP1 buffer ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ที่มี RNase A ปริมาตร 4 ไมโครลิตร บดตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วย้ายใส่หลอดไมโครทิวป์ขนาด 1.5 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วเติม AP2 buffer ปริมาตร 130 ไมโครลิตร ทำการผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วบ่มบนน้ำแข็ง นาน 10 นาที นำไปปั่นตกตะกอนเศษพืชที่ความเร็ว 11,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที แล้วดูดของเหลวใสส่วนบนปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่หลอดไมโครทิวป์ใหม่ แล้วเติม AP3/E buffer ปริมาตร 1.5 เท่าของปริมาตรสารละลาย (volume) ทำการผสมเบา ๆ ให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันแล้วดูดสารละลายปริมาตร 650 ไมโครลิตร ใส่ในหลอด DNeasy Mini column นำไปปั่นที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที ให้ตะกอนดีเอ็นเอเกาะที่แผ่นเมมเบรนของ DNeasy Mini column และล้างด้วย AW buffer ปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำไปปั่นที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที และตกตะกอนดีเอ็นเอด้วย AE buffer ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปปั่นที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที เก็บไว้ที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ทดสอบในขั้นตอนต่อไป

2.2 วิธีการสกัดดีเอ็นเอด้วย CTAB buffer (Doyle and Doyle, 1987)

ชั่งตัวอย่างใบพืชที่ทดสอบให้ได้น้ำหนัก 100 มิลลิกรัม แล้วใส่ลงในโกร่งบดให้ละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลว หลังจากนั้นเติมสารละลาย CTAB extraction buffer (2% CTAB, 100 mM Tris-HCl, pH 8.0 ; 20 mM EDTA, pH 8.0; 1.4 M NaCl, 1.0% Na_2SO_3 หรือ 2% 2-mercaptoethanol และ 2.0% PVP-40) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บดต่อให้เป็นเนื้อเดียวกัน ย้ายใส่หลอดไมโครทิวป์ขนาด 1.5 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน

30 นาที ปั่นตกตะกอนเศษพืชที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที แล้วดูดของเหลวใสส่วนบนปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่หลอดไมโครทิวป์หลอดใหม่ แล้วเติม chloroform: isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ทำการผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสชั้นบนใส่ในหลอดไมโครทิวป์หลอดใหม่ปริมาตร 300 ไมโครลิตร และเติม isopropanol (2 เท่าของปริมาตรส่วนใส) ปริมาตร 600 ไมโครลิตร เติม 3M sodium acetate,pH 5.2 (0.1 เท่าของปริมาตรส่วนใส) ปริมาตร 60 ไมโครลิตร เขย่าเบาๆ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส ข้ามคืน แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที เทส่วนใสทิ้งเก็บตะกอนมาล้างตะกอนด้วย 70% ethanol ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ผึ่งตะกอนกรดนิวคลีอิกให้แห้ง และละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ หรือ TE buffer ปริมาตร 25 ไมโครลิตร แล้วเก็บดีเอ็นเอที่สกัดแล้วไว้ที่ - 20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ทดสอบในขั้นต่อไป

3.ออกแบบไพร์เมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับ *secA* gene

ทำการออกแบบไพร์เมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับ *secA* gene ของเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยโดยโดยอาศัยฐานข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่มีอยู่ใน GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) **(ตารางที่ 1)** และมาวิเคราะห์เปรียบเทียบความเหมือนและความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม ClustalW2 (http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/) หลังจากนั้นใช้โปรแกรม Primer3 (http://simgene.com/Primer3) ออกแบบไพร์เมอร์ จำนวน 2 ชุด และคำนวณค่า Annealing Temperature (Tm °C) โดยใช้โปรแกรม Oligonucleotide Properties Calculator (http://www.basis.northwestern.edu/biotools/OligoCalc.html)

ตารางที่ 1 แสดงฐานข้อมูลเชื้อไฟโตพลาสมาจาก GenBank ที่เลือกสำหรับออกแบบไพร์เมอร์ จากส่วน *secA* gene แหล่งที่มา : http://www.ncbi.nlm.nih.gov/

Name	Acronym	Accession No.	Group (base on 16S rRNA)
Aster yellows witches'-broom phytoplasma AYWB	AYWB	CP000061	16SrI-A
Onion yellows phytoplasma OY-M DNA	OY-M	AP006628	16SrI-B
Mulberry dwarf phytoplasma strain MD-TA SecA (secA) gene	MD-TA	GU441574	16SrI-B
Himachal periwinkle phytoplasma partial secA gene	Himachal	FM991883	16SrI-B
Toona witches'-broom phytoplasma partial secA gene, isolate Himachal	Toona	FM991884	16SrI-B
Sesame phyllody phytoplasma (Thailand 16SrI) strain SEPL3 SecA (secA) gene, partial cds	SEPL3	JN977037	Thailand 16SrI
Paulownia witches'-broom phytoplasma strain YL07 SecA (secA) gene, complete cds	YL07	EU665493	16SrI-D
Palm lethal yellowing phytoplasma preprotein translocase subunit (secA) gene, complete cds	OY-W	EU267187	16SrIV-A
Jujube witches'-broom phytoplasma strain PY SecA (secA) gene, partial cds	JWBP	GU471766	16SrV (Elm yellows group)
Candidatus Phytoplasma mali strain AT complete chromosome	AT	CU469464	16SrX
Napier grass stunt phytoplasma SecA (secA) gene, partial cds	NPGS	EU168750	16SrXI (Rice yellow dwarf group).
Sugarcane white leaf phytoplasma isolate SCWL1SL secA (secA) gene, partial cds	NGSP-A	JF754450	16SrXI
Sugarcane white leaf phytoplasma strain KHO002 SecA gene, partial cds	SWL	JX987241	16SrXI
Sugarcane grassy shoot phytoplasma partial secA pseudogene	Ssgh	AM261834	16SrXl-B
Sugarcane grassy shoot phytoplasma partial secA gene for preprotein translocase secA subunit	Ssgh	AM261835	16SrXl-B
Sugarcane grassy shoot phytoplasma SecA (secA) gene, partial cds	Ssgh	DQ459440	16SrXl-B
Candidatus Phytoplasma pini strain PineBT	PineBT	JQ434465	16SrXXI; subgroup: 16SrXXI-A"

4. สังเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)

นำตัวอย่างดีเอ็นเอเชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุโรคใบขาวอ้อย และดีเอ็นเออ้อยปกติ ที่ได้สกัดด้วยวิธีการ DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) ทำการสังเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ด้วยเทคนิค PCR ด้วยไพร์เมอร์ 2 คู่ ที่ออกแบบให้มีความจำเพาะเจาะจงกับ *secA* gene

ส่วนประกอบสำคัญที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา PCR ปริมาตรรวมทั้งหมด 25 ไมโครลิตร ได้แก่

-	น้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (dH_2O)	17.0	ไมโครลิตร
-	10x buffer	2.5	ไมโครลิตร
-	$MgCl_2$ (25 mM)	1	ไมโครลิตร
-	dNTP (10 mM)	1	ไมโครลิตร
-	ไพรเมอร์ forward (10 pmol)	1	ไมโครลิตร
-	ไพรเมอร์ reverse (10 pmol)	1	ไมโครลิตร
-	platinum Taqmix (Invitogen,0.5unit/µl)	0.5	ไมโครลิตร
-	ดีเอ็นเอต้นแบบ	1	ไมโครลิตร
	รวม	**25.0**	**ไมโครลิตร**

นำมาส่วนประกอบการทำปฏิกิริยา PCR ผสมกัน แล้วนำไปทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมาย ด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิอัตโนมัติ (Thermal cycler) โดยตั้งโปรแกรมการทำงาน ดังนี้

ขั้นที่ 1: Pre-denaturing	94°C	นาน 3 นาที
ขั้นที่ 2: Denaturing	94°C	นาน 1 นาที
ขั้นที่ 3: Annealing	53 - 55°C	นาน 1 นาที
ขั้นที่ 4: Elongation	72°C	นาน 1 นาที
*** ปฏิกิริยาซ้ำขั้นที่ 2 - 4 จำนวน 29 รอบ**		
ขั้นที่ 5: Final-elongation	72°C	นาน 10 นาที
ขั้นที่ 6: Hold	15°C	นาน 15 นาที

นำผลิตภัณฑ์ DNA ที่ได้มาตรวจสอบขนาดด้วยเทคนิค gel electrophoresis โดยใช้ 1% agarose gel เตรียมในสารละลาย 0.5x TBE buffer แบ่งผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้มา 8 ไมโครลิตร ผสมกับ 6x loading dye 2 ไมโครลิตร โดยเปรียบเทียบขนาดกับ 100 bp DNA Ladder แล้วนำ agarose gel มาผ่านสนามไฟฟ้าที่ความต่างศักย์ 100 โวลต์ นาน 40 นาที จากนั้นนำ agarose gel มาย้อมด้วยสารละลาย ethidium bromide นาน 15 นาที และแช่น้ำเปล่า 10 นาที แล้วนำแผ่น agarose gel มาตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Gel Documentation UV-transilluminator ทำการบันทึกภาพและสรุปผลการทดลอง

5. การโคลนยีนและการวิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ *secA* gene

สารละลายพลาสมิดลูกผสมจากปฏิกิริยา ligation ปริมาตร 20 ไมโครลิตรใส่ในหลอดที่มีเซลล์แบคทีเรียเจ้าบ้าน *E. coli* ที่พร้อมรับ พลาสมิดลูกผสม (competent cell) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วนำพลาสมิดลูกผสมถ่ายเข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย *Escherichia coli* (*E. coli*) สายพันธุ์

DH 5α ด้วยวิธีการ heat shock transformation (Sambrook *et. al.,* 1989) หลังจากได้โคลนที่มีแถบดีเอ็นเอขนาดตามที่ต้องการแล้ว นำโคลนดังกล่าวส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง automated DNA sequencer (the BigDye® Terminator v3.1 cycle sequencing kit chemistry) ที่ First BASE Laboratories Sdn Bhd ประเทศมาเลเซีย แล้วนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาวิเคราะห์เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีรายงานในฐานข้อมูลของ GenBank ด้วยโปรแกรม Blastn (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ BLAST) เพื่อยืนยันว่าไพร์เมอร์ที่ออกแบบมีความเฉพาะเจาะจงต่อเชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุโรคใบขาวอ้อยจริง

6.การผลิตดีเอ็นเอตัวตรวจ (DNA probe) ที่จำเพาะต่อ *secA* gene เชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุโรคใบขาวอ้อย

นำผลผลิตจากปฏิกิริยา PCR ทำให้บริสุทธิ์ด้วยชุดสกัด agarose gel (QIAquick Gel Extraction Kit) (QIAGEN) ความเข้มข้นประมาณ 10 นาโนกรัม และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อให้ครบ 15 ไมโครลิตร แล้วนำไปต้มในน้ำเดือด นาน 5 นาที และแช่น้ำแข็งทันที นาน 5 นาที เพื่อให้ดีเอ็นเอเสียสภาพ จากนั้นเติมสารละลาย DIG High Prime DNA Labeling and Detection Starter Kit I (Roche) ปริมาตร 4 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน spin down นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ข้ามคืน และหยุดปฏิกิริยาด้วยสารละลาย 0.2 M EDTA (pH 8.0) ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ซึ่งในขั้นนี้จะได้ DNA probe ที่ถูกติดฉลากด้วย DIG (digoxigenin) เรียบร้อยแล้ว เพื่อใช้ในการตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิค dot blot hybridization ต่อไป

7.การตรวจสอบความเข้มข้นของดีเอ็นเอตัวตรวจ (DNA probe) ด้วยเทคนิค dot blot hybridization

หาความเข้มข้นที่เหมาะสมของดีเอ็นเอตัวตรวจ โดยเปรียบเทียบกับการเจือจาง (series dilution) ความเข้มข้นของ DNA control **ตามตารางที่ 2** และเตรียมสารละลายดีเอ็นเอตัวตรวจ (DNA probe) ที่ผลิตได้ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 10^{-1} 10^{-2} 10^{-3} 10^{-4} 10^{-5} 10^{-6} 10^{-7} และ 10^{-8} เท่า (10 fold dilution) จากนั้นหยดสารละลายดีเอ็นเอตัวตรวจ และ DNA control หยดละ 1 ไมโครลิตร ที่เตรียมความเข้มข้นต่าง ๆ ไว้ลงบนแผ่น nylon membrane ตามแผนผัง **ตามตารางที่ 3**

ตารางที่ 2 การเจือจาง (series dilution) ความเข้มข้น DNA control

Tube	From tube (µl)	DNA control(µl)	DNA Dilution Buffer3 (µl)	Final Concentration
1	Original	1	0	1 ng/µl
2	1	2	198	10 pg/µl
3	2	15	35	3 pg/µl
4	2	5	45	1 pg/µl
5	3	5	45	0.3 pg/µl
6	4	5	45	0.1 pg/µl
7	5	5	45	0.03 pg/µl
8	6	5	45	0.01 pg/µl
9	0	0	50	0 pg/µl

ตารางที่ 3 ผังการหยดสารละลาย DNA probe และ DNA control ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

DNA control	10^{0}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
DNA probe	10 ng/µl	10 pg/µl	3 pg/µl	1 pg/µl	0.3 pg/µl	0.1 pg/µl	0.03 pg/µl	0.01 pg/µl	0 pg/µl

8. การตรวจวินิจฉัยเชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุใบขาวอ้อย ด้วยเทคนิค dot blot hybridization จาก ดีเอ็นเอตัวตรวจ (DNA probe) ที่ผลิตได้

ตรวจด้วยดีเอ็นเอตัวตรวจ (DNA probe) สำหรับทำ dot blot hybridization โดยนำดีเอ็นเอที่สกัดจากพืชมาหยดลงบนแผ่น nylon membrane ปริมาตร 1 ไมโครลิตร แล้วหยด 2X SSC Denature solution (0.125 X SSC, 0.125 M NaOH) ปริมาตร 2 ไมโครลิตรเพื่อแยกดีเอ็นเอเป็นสายเดี่ยว ผึ่งให้แห้งหมาดๆ นำไปฉาย UV-transilluminator นาน 2 นาที เพื่อตรึงดีเอ็นเอให้ติดแน่นกับแผ่น nylon membrane ทำการ Prehybridize แผ่น membrane ด้วยสารละลาย DIG Easy Hyb ที่เตรียมไว้ โดยเขย่าเบา ๆ ในภาชนะที่ปิดฝาสนิท นาน 30 นาที นำไปเขย่าที่อุณหภูมิ 68 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ในขณะเดียวกันทำการเตรียมดีเอ็นเอตัวตรวจปริมาตร 5 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดไมโครทิวป์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปต้มในน้ำเดือนนาน 10 นาที แล้วแช่น้ำแข็งทันที และเติมในสารละลาย hybridization ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่อุณหภูมิ 68 องศาเซลเซียส นาน 16 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาล้างแผ่น nylon membrane ด้วย washing solution I (2 X SSC ที่มี 0.1% SDS) นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้องนาน 15 นาที และ washing solution II (0.5 X SSC ที่มี 0.1% SDS) นำไปเขย่าที่อุณหภูมิ 68 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วย้ายแผ่น nylon membrane ในสารละลาย anti-digoxigenin-alkaline phosphatase conjugate ที่เจือจาง 1 : 5000 ใน buffer2 เติมสารละลายซับสเตรท BCTP/NBT ใน Alkaline phosphatase ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เก็บแผ่นเมมเบรนบ่มในที่มืดและนิ่งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที สามารถอ่านผลจากของปฏิกิริยา hybridization จากความเข้มของจุดสีที่เกิดขึ้น จึงหยุดปฏิกิริยาด้วยน้ำกลั่น

9. ทำการบันทึกข้อมูล สรุปผล และเขียนรายงานผลการวิจัย

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2554-กันยายน 2555

สถานที่ กลุ่มงานไวรัสวิทยาและโรงเรือนทดลอง ของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1.ผลการสำรวจและเก็บตัวอย่างพืช

เก็บตัวอย่างใบอ้อยที่แสดงอาการใบขาว จากแปลงปลูกอ้อย จ.กาญจนบุรี **(ภาพที่ 1)** และนำมาสกัดดีเอ็นเอไว้ทดสอบในขั้นตอนสังเคราะห์ *secA* gene ด้วยเทคนิค PCR สำหรับตัวอย่างอ้อยปกตินำมาจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (tissue culture) ในส่วนท่อนพันธุ์ **(ภาพที่ 2)** จากแปลงที่สำรวจนำมาปลูกในกระถาง และเก็บไว้ในเรือนทดลองเพื่อใช้เป็นแหล่งเชื้อ และหลังจาก 2 สัปดาห์ ท่อนพันธุ์อ้อยเริ่มแตกใบใหม่ที่ยังคงแสดงลักษณะอาการใบขาวเช่นเดิม **(ภาพที่ 3)** และเนื่องมาจากพืชแสดงอาการโรคใบขาวรุนแรงส่งผลทำให้พืชไม่สามารถการสังเคราะห์แสงได้ตามปกติ จึงพบว่าใบอ้อยจะแห้งและตายในที่สุด ภายในระยะเวลา 2 เดือน

ภาพที่ 1 แสดงกออ้อยแตกใบใหม่เป็นสีขาว

อ้อยแตกใบยอดสีขาว และ
ขาวในลักษณะเดียวกัน

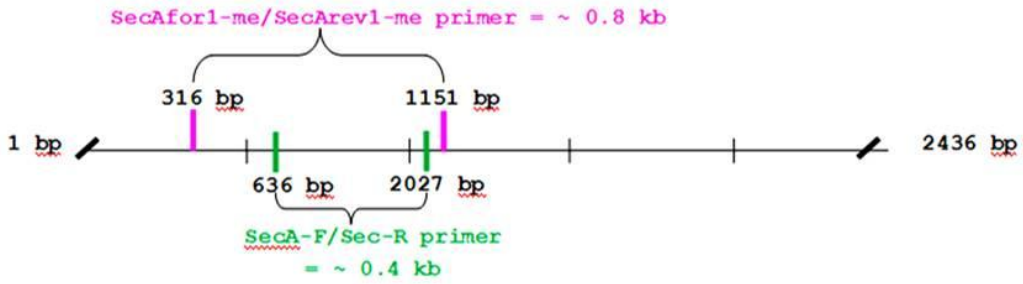
ภาพที่ 3 แสดงท่อนพันธุ์อ้อยเริ่มแตกใบใหม่ที่ยังคงแสดงลักษณะอาการใบขาวเช่นเดิม

2.ผลทดสอบหาวิธีการสกัดดีเอ็นเอที่เหมาะสมเชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุใบขาวอ้อย

ตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Spectrophotometer โดยการวัดที่ความยาวคลื่นแสง 260/280 นาโนเมตร เพื่อหาค่าความบริสุทธิ์และความเข้มเข้มข้นของดีเอ็นเอ พบว่า วิธี CTAB buffer มีค่าความเข้มข้นของดีเอ็นเอเฉลี่ย ประมาณ 50.35 ng/ul ส่วน DNeasy Plant Mini Kit ดีเอ็นเอที่สกัดจากมีค่าความเข้มข้นเฉลี่ย ประมาณ 125.35 ng/ul ทั้งนี้ จากค่าความบริสุทธิ์และความเข้มเข้มข้นของดีเอ็นเอ จึงเลือกวิธีการสกัดดีเอ็นเอแบบ DNeasy Plant Mini Kit อีกทั้งขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอสะดวกรวดเร็วใช้เวลาในประมาณ 30 นาทีเท่านั้น ส่วนการสกัดดีเอ็นเอ CTAB buffer ขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอยุ่งยากและใช้เวลาปฏิบัติงานถึง 2 วัน

3.ออกแบบไพร์เมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับ *secA* gene

ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของส่วนยีนที่มีศักยภาพเหมาะสมจาก GenBank สำหรับนำมาออกแบบไพร์เมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อย ในส่วน ***secA* gene** จำนวน 2 คู่ ไพร์เมอร์ คือ SecA-F/ SecA-R และ SecAfor1 / SecArev1 โดยแสดงตำแหน่งการออกแบบไพร์เมอร์ใน **ภาพที่ 4**



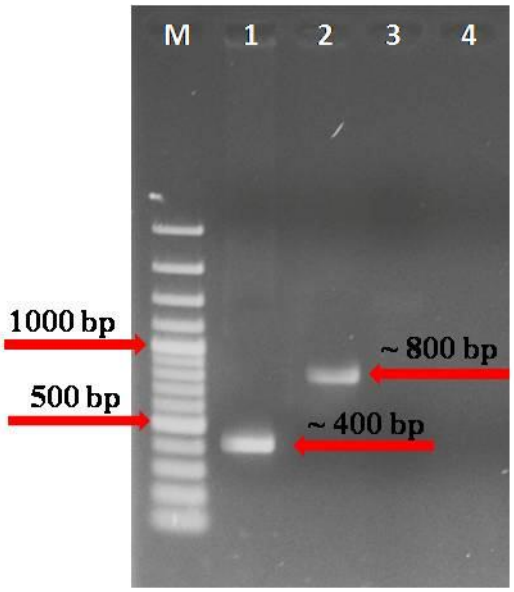
ภาพที่ 4 แสดงแผนภาพจำลองตำแหน่งการออกแบบไพร์เมอร์ส่วน *secA* gene ของ Palm lethal yellowing phytoplasma preprotein translocase subunit (secA), Accession No.EU267187

<u>หมายเหตุ</u> กำหนด Scale 2 cm เท่ากับ 0.5 kb

4. สังเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)

ผลการตรวจสอบดีเอ็นเอเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุใบขาวอ้อย ด้วยเทคนิค PCR โดยไพร์เมอร์ ทั้ง 2 คู่ คือ SecA-F/ SecA-R และ SecAfor1 / SecArev1 ได้ออกแบบให้มีความจำเพาะกับ ***secA* gene** ของเชื้อไฟโตพลาสมา ผลการตรวจสอบพบว่าได้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 400 bp จากคู่ไพร์เมอร์ SecA-F/ SecA-R และได้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 800 bp จากคู่ไพร์

เมอร์ SecAfor1 / SecArev1 (ภาพที่ 5) ซึ่งพบแถบดีเอ็นเอเพียงแถบเดียวและได้ขนาดเท่าหรือใกล้เคียงกับการออกแบบไพร์เมอร์ของทั้ง 2 คู่



ภาพที่ 5 แสดงผลการตรวจวินิจฉัยส่วน *secA* gene เชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุใบขาวอ้อยด้วยเทคนิค PCR

M = marker 100 bps DNA Ladder (fermentus)
ช่อง 1 = แสดงแถบดีเอ็นเอขนาด 400 bp จากคู่ไพร์เมอร์ SecA-F/ SecA-R
ช่อง 2 = แสดงแถบดีเอ็นเอขนาด 800 bp จากคู่ไพร์เมอร์ SecAfor1 / SecArev1
ช่อง 3 = ดีเอ็นเอจากอ้อยปกติ (Negative control)
ช่อง 4 = น้ำ

5. การโคลนยีนและการวิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ *secA* gene

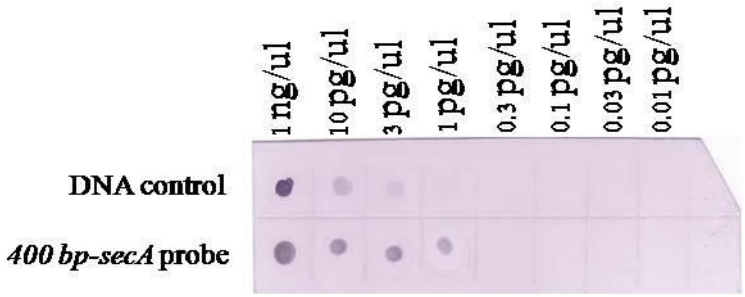
นำผลวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 800 เบสที่ได้มาเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีอยู่ในฐานข้อมูลของ GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez) ด้วยโปรแกรม Blastn (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ BLAST) พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของทุกตัวอย่างที่ส่งวิเคราะห์เป็นเชื้อไฟโตพลาสมา มีค่า % identity (ความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์) กับ Sugarcane grassy shoot phytoplasma และ Sugarcane white leaf phytoplasma อยู่ในระดับ 97-98 เปอร์เซ็นต์ มีค่า score อยู่ในช่วง 637-800 bits และมีค่า expect value เท่ากับ 0.0 ดังนั้น คู่ไพร์เมอร์ SecAfor1 / SecArev1 ที่ออกแบบ สามารถสังเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนของยีน ***secA*** gene ได้ความยาวขนาด 836 เบส เมื่อนำมาแปลรหัสลำดับอะมิโนได้ 278 อะมิโน **(ภาพที่ 6)** เมื่อพิจารณาค่า expect value อยู่ในช่วง 6e-172 9e-112 ถึง 0.0 มีค่า score อยู่ในช่วง 328-805 bits ซึ่งเป็นฐานข้อมูลที่แสดงจาก GenBank ดังนั้น ค่าทั้งหมดที่กล่าวมาแสดงให้เห็นว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ 836 เบสเป็นส่วน ***secA*** gene ของเชื้อโรคพืชในกลุ่มไฟโตพลาสมา >SecA Protein

EMKTGEGKTLTSVMPAYLNALSGESVHIVTVNEYLAQREAKGIISEIFIFLGLTVGLNIKEYNIEEKQKAY
NCDILYTTNSEIGFDYLRDNIEKKESNLLMKRDYNYVIIDEVDSVLIDEARTPLIISSYAKKEKKFYMDANR
FAKILKPHHYIIDLEANSIELTEEGIKKGENFFKIPNLYDSNNIVLLHCIKNALKAHFIMNKNKDYLVYKNN
VLIIDQFTGRTLEGRQFSDGLHQALEAKEGCIIKEETEIAATITYQNFFRIYKKISGMTGTAK

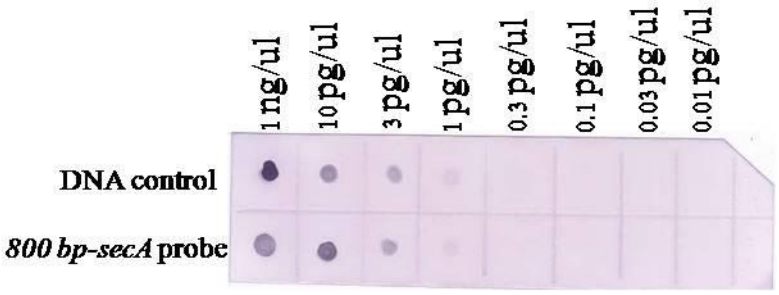
ภาพที่ 6 ลำดับลำดับอะมิโนเชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุใบขาวอ้อย จำนวน 278 อะมิโน

6.ผลการตรวจสอบความเข้มข้นและประสิทธิภาพที่เหมาะสมของดีเอ็นเอตัวตรวจ (DNA probe) ด้วยเทคนิค dot blot hybridization

ดีเอ็นเอตัวตรวจ (DNA probe) ที่ผลิตจาก PCR product ที่ขนาด 400 bp และ 800 bp จาก *secA* gene เชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุใบขาวอ้อย มีความเข้มข้นเท่ากับ 100 ng/ul โดยคำนวณจากความเข้มข้นต่ำสุดของดีเอ็นเอตัวตรวจที่ผลิตที่ 10^{-3} และ 10^{-4} ตามลำดับ เทียบกับความเข้มข้นของ DNA control 10 pg/ul และ 1 pg/ul ตามลำดับ (ภาพที่ 7 และภาพที่ 8)



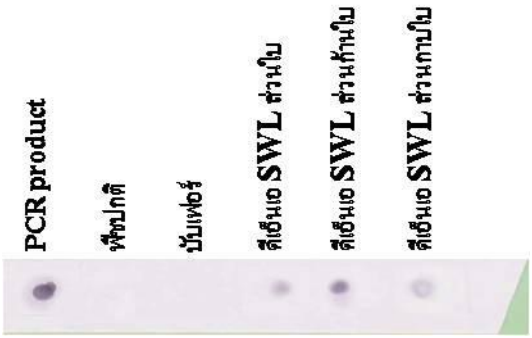
ภาพที่ 7 แสดงการตรวจสอบความเข้มข้นของดีเอ็นเอตัวตรวจที่ผลิตจาก secA gene ขนาด ~ 400 bp



ภาพที่ 8 แสดงการตรวจสอบความเข้มข้นของดีเอ็นเอตัวตรวจที่ผลิตจาก secA gene ขนาด ~ 800 bp

7.การตรวจวินิจฉัยเชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุใบขาวอ้อย ด้วยเทคนิค dot blot hybridization จาก ดีเอ็นเอตัวตรวจ (DNA probe) ที่ผลิตได้

เมื่อทดสอบประสิทธิภาพที่ของดีเอ็นเอตัวตรวจ พบว่า ให้สัญญาณไฮบริไดเซชั่นเกิดสีม่วงเกิดขึ้นกับตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดจากเชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุใบขาวอ้อย ซึ่งไม่พบปฏิกิริยาดังกล่าวในตัวอย่างดีเอ็นเอปกติ จากผลการทดลองพบความเข้มของสัญญาณไฮบริไดเซชั่นให้สีม่วงเข้มกับตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดจากก้านใบชัดที่สุด รองลงมาดีเอ็นเอที่สกัดจากกาบ และลำดับสุดท้ายตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดจากใบ **(ภาพที่ 9 และภาพที่ 10)** เนื่องจากเชื้อไฟโตพลาสมาเข้าทำลายพืชภายในท่ออาหาร (Lee *et al.*, 1993) ดังนั้น จึงพบสัญญาณดีเอ็นเอตัวตรวจเข้มกว่าดีเอ็นเอที่สกัดมาจากส่วนอื่น และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพดีเอ็นเอตัวตรวจ *secA* gene กับดีเอ็นเอตัวตรวจ 16S rDNA พบว่าความเข้มของสัญญาณไฮบริไดเซชั่นที่ให้สีม่วงกับดีเอ็นเอตัวอย่างที่สกัดจากเชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุใบขาวอ้อย ได้ความเข้มข้นใกล้เคียงจนไม่มีความแตกต่าง (ไม่ได้แสดงภาพ) ทั้งนี้ *secA* gene มีเพียง 1 ยีนในเซลล์ของเชื้อไฟโตรพลาสมาเท่านั้น (Kakizawa *et al.*, 2004) ดังนั้น การสร้างกรดนิวคลีอิกตัวตรวจจากยีน *secA* gene สามารถทำให้ผลทดสอบที่ได้มีความถูกต้องและแม่นยำเพิ่มมากขึ้น



ภาพที่ 9 แสดงผลการตรวจสอบการตรวจวินิจฉัยเชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุใบขาวอ้อย ด้วยตัวตรวจที่ผลิตจาก secA gene ขนาด ~ 400 bp

ภาพที่ 10 แสดงผลการตรวจสอบการตรวจวินิจฉัยเชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุใบขาวอ้อย ด้วยตัวตรวจที่ผลิตจาก secA gene ขนาด ~ 800 bp

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

สามารถนำมาสังเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ด้วยไพร์เมอร์ 2 คู่ ในส่วน Sec A ไพร์เมอร์คู่ที่ 1 คือ SecA-F/ SecA-R ที่ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 400 เบส และ ไพร์เมอร์คู่ที่ 2 คือ SecAfor1/SecArev3 ที่ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 800 เบส และทำการโคลน Sec A ของเชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุโรคใบขาวอ้อย ด้วยพลาสมิดพาหะ pGEM-T Easy (Promega) เพื่อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ และเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับข้อมูลใน genbank พบว่าเหมือนกับ Sugarcane grassy shoot phytoplasma และ Sugarcane white leaf phytoplasma อยู่ในระดับ 97-98 เปอร์เซ็นต์ มีค่า score อยู่ในช่วง 637-800 bits และมีค่า expect value เท่ากับ 0.0 โดยที่ค่า expect value จะเป็นค่าที่บอกว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ตรงกับสิ่งที่เปรียบเทียบมากน้อยแค่ไหน โดยทั่วไปแล้วจะมีค่าเข้าใกล้ศูนย์ และหากมีค่าเป็นศูนย์หมายความว่าเป็นลำดับนิวคลีโอไทด์เดียวกัน ดังนั้น ไพร์เมอร์ทั้ง 2 คู่ นี้สามารถตรวจเชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุโรคใบขาวอ้อยได้เหมือนไพร์เมอร์ ในส่วน 16s ribosomal RNA คือ P1/P7 และ R16F2/R2 ที่ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 1,200 เบส และเมื่อทดสอบประสิทธิภาพที่ของดีเอ็นเอตัวตรวจ (DNA probe) *secA* gene พบว่า ให้สัญญาณไฮบริไดเซชั่นเกิดสีม่วงเกิดขึ้นกับตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดจากเชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุใบขาวอ้อย ซึ่งไม่พบปฏิกิริยาดังกล่าวในตัวอย่างดีเอ็นเอปกติ จากผลการทดลองพบความเข้มของสัญญาณไฮบริไดเซชั่นให้สีม่วงเข้มกับตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดจากก้านใบชัดที่สุด เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับดีเอ็นเอตัวตรวจ 16S rDNA พบว่าความเข้มของสัญญาณไฮบริไดเซชั่นที่ให้สีม่วงกับดีเอ็นเอตัวอย่างที่สกัดจากเชื้อไฟโตพลาสมา สาเหตุใบขาวอ้อยได้ความเข้มข้นใกล้เคียงจนไม่มีความแตกต่าง ทั้งนี้ ตามการสร้างกรดนิวคลีอิกตัวตรวจจาก *secA* gene ถือว่าเป็นอีกหนึ่งเครื่องมือที่สามารถนำมาใช้บูรณาการร่วมกันเพื่อยืนยันผลการตรวจสอบหาเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยทำให้ผลทดสอบที่ได้มีความถูกต้องและแม่นยำเพิ่มมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

พรทิพย์ วงศ์แก้ว, ยุพา หาญบุญทรง พิศาล ศิริธร สมคิด บุญครอง และชุตินันท์ ชูสาย. 2541. การพัฒนาเทคนิคการตรวจเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยในระดับไร่โดยวิธี DNA probe. รายงานการประชุมวิชาการอ้อยและน้ำตาลทรายแห่งชาติครั้งที่ 3, หน้า 50-61. กรุงเทพฯ. สมาคมวิชาการอ้อยและน้ำตาลทรายแห่งชาติร่วมกับสำนักคณะ กรรมการอ้อยและน้ำตาล.

Doyle, JJ. and JL. Doyle, 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaftissue. Phytochemical Bulletin for the Botany Society of America. 19: 11–15.

Kakizawa, S., Oshima, K., Nighigawa, H., Jung H. Y., Wei, W., Suzuki, S., Tanaka, M., Miyata, S., Ugaki, M., and Namba, S. 2004. Secretion of immunodominant membrane protein from onion yellow phytoplasma through the Sec protein-translocation system in Escherichaia coli. Microbiology. 150: 135-142.

Klinkong, S. and E. Seemuller, 1993. Detection and differentiation of the mycoplasmalike organism associated with sugarcane white leaf disease using cloned extrachromosomal DNA probe. Kasetsart J.27 : 98-103.

Lee, I M., R.W. Hammond, R.E.Davis and D.E. Gunderson. 1993. Universal amplification and analysis of pathogen 16 SrDNA for classification and identification of mycoplasmalike organisms. Phytopathology 83 : 834-842.

Sambrook, J., E.F. Fritsch and T. Manistis. 1989. Molecular Cloning : A Laboratory Manual. 2d ed., Cold Spring Habor Laboratory Press, New York. 545 p.

การจำแนกสายพันธุ์ *Bacillus thuringiensis* ที่พบในประเทศไทย โดยเทคนิค PCR

The Isolation of *Bacillus thuringiensis* strains in Thailand by PCR Identification

ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ อิศเรส เทียนทัด สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ของกรมวิชาการเกษตรที่สามารถควบคุมหนอนกระทู้หอมและหนอนกระทู้ผักได้มากกว่า 80% จำนวน 11 และ 153 isolate ตามลำดับ นำมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าโคโลนีมีสีขาวขุ่น ผิวด้าน ขอบไม่เรียบ ขนาดประมาณ 0.5-0.8 เซนติเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร NB 72 ชั่วโมง พบว่าเชื้อทั้งหมดสร้างผลึกโปรตีนเป็นรูป พีระมิดคู่ (Bipyramid) ขนาดเล็ก และขนาดใหญ่ ปะปนกัน และเชื้อบางไอโซเลท มีผลึกโปรตีนทั้งรูป bipyramid และ rhomboid ปะปนกัน เมื่อนำไปทดสอบกับหนอนกระทู้หอมและหนอนกระทู้ผักวัย 2 พบว่า ไม่มี isolate ใดสามารถทำให้หนอนกระทู้หอมตายมากกว่า 80% มี 63 isolate ที่ทำให้หนอนกระทู้ผักตายตั้งแต่ 80% ทดลองนำเชื้อ 5 isolate ไปตรวจสอบด้วยวิธี PCR จากนั้นนำไปตรวจสอบด้วยวิธี electrophoresis พบว่าเชื้อทั้ง 5 isolate มี *cry* โปรตีนเป็นชนิด *Cry 1AC* ซึ่งเป็นชนิดที่สามารถควบคุมหนอนผีเสื้อได้ดี

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-03-01-54

คำนำ

แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* (Bt) เป็นแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติพิเศษที่สามารถสร้างสาร toxin ภายในเซลล์พร้อมๆ กับการสร้าง spore สาร toxin นี้มีคุณสมบัติทำลายแมลงศัตรูพืชหลายชนิดได้ดี โสธร (2512) ได้รายงานว่าเชื้อ *Bacillus thuringiensis* ได้ถูกนำเข้ามาในประเทศไทย ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2512 โดยมีจุดประสงค์เพื่อนำมาใช้ควบคุมหนอนใยผัก *Plutella xylostella* และหนอนคืบกะหล่ำปลี *Trichoplusia ni* ซึ่งดื้อต่อสารฆ่าแมลง ต่อมาได้มีการนำ Bt สายพันธุ์ใหม่ๆ เช่น *aizawai* สามารถควบคุมแมลงศัตรูพืชได้กว้างขวางขึ้น (อัจฉรา, 2539) จากปัญหาของหนอนใยผักดื้อต่อสารเคมีกำจัดแมลงได้อย่างรวดเร็ว เป็นผลทำให้กสิกรต้องใช้สารเคมีกำจัดแมลงที่มีฤทธิ์รุนแรงมากขึ้น พิษตกค้างของสารฆ่าแมลงบนพืชผักจึงมีสูงขึ้น ผู้บริโภคประสบอันตรายจากสารพิษบนพืชผักเพิ่มมากขึ้น อัจฉราและคณะ (2527) ได้นำBt ที่ผลิตได้มาควบคุมหนอนใยผักบนกะหล่ำปลีอย่างได้ผล วินัย (2533) ได้นำ Bt ไปใช้ในการบริหารแมลงศัตรูพืชผักตระกูลกะหล่ำ โดยนำไปใช้ลดและทดแทนสารฆ่าแมลง และได้มีการแนะนำให้ใช้ Bt ควบคุมแมลงศัตรูผักมากขึ้น อัจฉราและคณะ (2536) นำ Bt มาใช้ควบคุมหนอนผีเสื้อศัตรูส้มเขียวหวานได้ 3 ชนิด คือ หนอนแปะใบส้ม หนอนผีเสื้อกินใบส้ม และหนอนเจาะสมอฝ้าย การนำ Bt ไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชช่วยลดปัญหาผลกระทบของสารฆ่าแมลงและพิษตกค้างของสารฆ่าแมลงได้เป็นอย่างดี

การคัดเลือกสายพันธุ์ Bt จากแหล่งต่างๆ ของประเทศไทย นอกจากจะได้สายพันธุ์ใหม่ที่เป็นข้อมูลของความหลากหลายทางชีวภาพแล้ว อาจได้สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงขึ้น และสามารถทำลายแมลงได้มากชนิดขึ้นอีกด้วย เนื่องจากเชื้อ Bt แต่ละสายพันธุ์สร้างโปรตีนที่มีความเป็นพิษต่อแมลงศัตรูพืชต่างชนิดกัน ซึ่งการสร้างนี้ถูกควบคุมโดยยีนที่ต่างกัน Höfte และ Whiteley (1989) จึงได้จัดระบบอนุกรมวิธานของโปรตีนและยีนที่ควบคุมแต่ละชนิดว่า “*cry*” และเรียกโปรตีนที่สร้างขึ้นว่า “Cry” การ ในการจำแนกสายพันธุ์ของ Bt โดยการศึกษารูปร่างลักษณะของผลึกโปรตีนของสารพิษ (toxin) จากกล้องจุลทรรศน์ electron microscope การจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อ Bt ในปัจจุบันได้นำเทคนิคทางด้านอิมมูโน (H-antigen) เทคนิคทางชีวเคมี (Barjac และ Frachon, 1990) และเทคนิคทางด้านพันธุวิศวกรรมมาใช้ โดย Chak และคณะ (1994) รายงานการศึกษาการจำแนกเชื้อ Bt จากดินด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ specific oligonucleotide primer สามารถค้นพบเชื้อ Bt จำนวน 225 ชนิด (isolates) ด้วยต้นทุนและแรงงานที่ต่ำ สามารถจำแนกเชื้อ Bt ที่มียีน *cry* แตกต่างกัน 6 ชนิด ประกอบด้วย *cry* 1 A(a), *cry* 1 A(b), *cry* 1 A(c), *cry* 1 C, *cry* 1 D และ *cry* 4

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณเชื้อจุลินทรีย์
2. ตู้เขี่ยเชื้อ
3. กล้องจุลทรรศน์
4. เครื่องแยกเชื้อบริสุทธิ์ (centrifuge)

5. เครื่องผสมอาหารเทียม
6. เครื่อง PCR
7. เครื่อง electrophoresis
8. สารเคมีผลิตอาหารเทียม
9. สารเคมีเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย บีที
10. สารเคมีทำ PCR

วิธีการ

การเพาะเลี้ยงแมลงอาศัยของเชื้อ Bt

1. เก็บหนอนกระทู้ผัก และหนอนกระทู้หอม จากแปลงปลูกพืชมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการด้วยอาหารเทียมสูตรของกรมวิชาการเกษตร จนครบวงจรชีวิต

2. เพาะเลี้ยงหนอนศัตรูพืช ให้อยู่ในวัย 2 (อายุประมาณ 3 วัน) ก่อนนำไปทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดแมลงของเชื้อ Bt

การทดสอบประสิทธิภาพในการทำให้หนอนตาย

1. คัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ของกรมวิชาการเกษตร ที่ทำให้หนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอมตายตั้งแต่ 80% ขึ้นไป

2. นำเชื้อ Bt ที่ได้มาเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ NA บ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 30°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยวๆ จากนั้นนำโคโลนีเดี่ยวๆ ไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA เพื่อเพิ่มปริมาณ บ่มเชื้อในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 30°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้อสร้างผลึกโปรตีน นำไปตรวจสอบผลึก หรือการปนเปื้อนภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3. นำเชื้อที่ได้ไปตรวจสอบความเข้มข้นและปรับความเข้มข้น

4. นำเชื้อ Bt แต่ละ isolate มาทดสอบโดยหยดเชื้อบนอาหารเทียม นำไปใส่ในหลอดทดลองขนาดเล็ก ใส่หนอนที่ต้องการทดสอบหลอดละ 1 ตัว ปิดฝา โดยทดสอบหนอนจำนวน 30 ตัวต่อเชื้อ 1 ไอโซเลท เปรียบเทียบกับชุดควบคุม และเชื้อบีทีที่ผลิตเป็นการค้า

5. บันทึกข้อมูลจำนวนหนอนตายทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์และสรุปผล

การจำแนกสายพันธุ์โดยเทคนิคพีซีอาร์

1. ใช้ไพรเมอร์จำนวน 6 คู่ ที่สามารถจำแนก cry ต่างๆ ได้แก่ cry1Aa, cry1Ab, cry1Ac, cry1I, cry2 และ cry3

2. นำเชื้อ Bt ที่ทำให้หนอนกระทู้ผักตาย 80% ขึ้นไป มาสกัดดีเอ็นเอ

3. ทำ PCR โดยปฏิกิริยาประกอบด้วย 1 µl DNA, 12.5 µl PCR mixture, primers จำนวน 2 สาย สายละ 1.25 µl และ Dye 2.5 µl

4. นำดีเอ็นเอ ที่ได้ไปทำปฏิกิริยา PCR โดยมีขั้นตอนดังนี้

Initial denaturation	ที่ 94°C	5 นาที	
Denaturation	ที่ 94°C	1 นาที	30 รอบ
Annealing	ที่ 54°C	5 นาที	
Extension	ที่ 72°C	1 นาที	
Final extension	ที่ 72°C	10 นาที	

จากนั้นนำ PCR product ที่ได้ไปตรวจสอบด้วย gel วิเคราะห์ผล

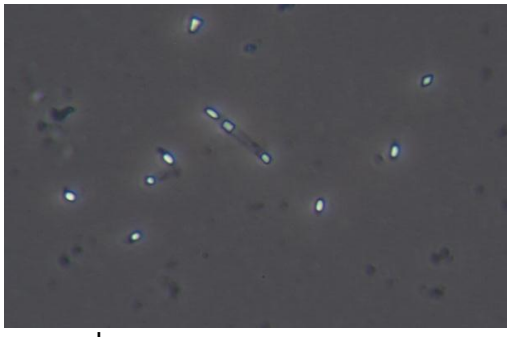
5. นำดีเอ็นเอที่ได้มาตรวจสอบโดยวิธี electrophoresis โดยใช้ agarose gel วิเคราะห์ข้อมูลและสรุปผลการทดลอง

เวลาและสถานที่ ตุลาคม 2553-กันยายน 2556 ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

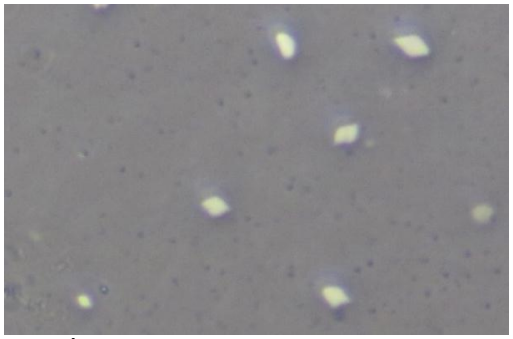
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

คัดเลือกเชื้อ Bt ของกรมวิชาการเกษตร ได้เชื้อที่ทำให้หนอนตายตั้งแต่ 80% โดยทำให้หนอนกระทู้ผักตาย 153 isolate และหนอนกระทู้หอมตาย 11 isolate เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณหนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอมในห้องปฏิบัติการโดยใช้อาหารเทียม นำเชื้อ *Bacillus thuringiensis* จำนวน 164 isolate มาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA จะได้โคโลนีสีขาวขุ่น ผิวด้าน ขอบไม่เรียบ ขนาดประมาณ 0.5-0.8 เซนติเมตร เมื่อนำเชื้อที่เพาะเลี้ยงในอาหาร NB 72 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้อสร้างผลึกโปรตีน ตรวจสอบผลึกของแต่ละ isolate ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเชื้อทั้งหมดสร้างผลึกโปรตีนเป็นรูป พีระมิดคู่ (Bipyramid) ขนาดเล็ก และขนาดใหญ่ ปะปนกัน และเชื้อบางไอโซเลทมีผลึกโปรตีนทั้งรูป bipyramid และ rhomboid ปะปนกัน เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ผักหรือหนอนกระทู้หอม วัย 2 เปรียบเทียบกับชุดควบคุมและเชื้อ Bt ทางการค้า พบว่าเชื้อที่ทำให้หนอนกระทู้ผักตาย 0-25% 25.01-50% 50.01-75% และ 75.01-100% มีจำนวน 20 11 19 และ 104 isolate ตามลำดับ โดยมีเชื้อ 63 ไอโซเลทที่ทำให้หนอนตายมากกว่า 80%

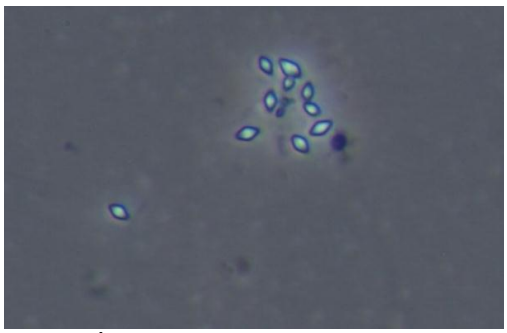
ภาพที่ 1 ผลึก Bt อยู่ภายในเซลล์



ภาพที่ 2 ผลึก Bt และสปอร์อยู่ภายในเซลล์



ภาพที่ 3 ผลึก Bt



ภาพที่ 4 ผลึก Bt

นำเชื้อ Bt จำนวน 5 isolate ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก มาตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ จำนวน 6 คู่ ทำให้ดีเอ็นเอเสียสภาพที่อุณหภูมิ 94°C 5 นาที จำนวน 1 รอบ จากนั้นทำดีเอ็นเอเสียสภาพที่อุณหภูมิ 94°C 1 นาที ทำให้ไพรเมอร์จับกับสายดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ 54° C 5 นาที สังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ที่อุณหภูมิ 72°C 1 นาที จำนวน 30 รอบ สังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ อุณหภูมิ 72°C 10 นาที จำนวน 1 รอบ จากนั้นนำไปตรวจสอบด้วยวิธี electrophoresis โดยใช้ DNA Marker ขนาด 100 bp จะได้ชิ้นดีเอ็นเอขนาดประมาณ 230-250 bp พบว่า *cry* โปรตีนเป็นชนิด *Cry 1AC* ซึ่งสามารถควบคุมแมลงในอันดับ Lepidoptera ได้ดี

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาโคโลนีของเชื้อ Bt พบว่ามีสีขาวขุ่น ผิวด้าน ขอบไม่เรียบ ขนาดประมาณ 0.5-0.8 เซนติเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร NB 72 ชั่วโมง และตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเชื้อทั้งหมดสร้างผลึกโปรตีนเป็นรูป พีระมิดคู่ (Bipyramid) ขนาดเล็กและขนาดใหญ่ ปะปนกัน และเชื้อบางไอโซเลท มีผลึกโปรตีนทั้งรูป bipyramid และ rhomboid ปะปนกัน

เชื้อ *Bt* ของกรมวิชาการเกษตรที่สามารถควบคุมหนอนกระทู้หอมได้มากกว่า 80% จำนวน 11 isolate เมื่อนำมาทดสอบกับหนอนกระทู้หอมวัย 2 พบว่า ไม่มี isolate ใดสามารถทำให้หนอนตายมากกว่า 80% ส่วนหนอนกระทู้ผักนำเชื้อ Bt จำนวน 153 isolate มาทดสอบกับหนอนกระทู้ผักวัย 2 พบว่ามี 104 isolate ที่ทำให้หนอนตายตั้งแต่ 75.01% และมี 63 ไอโซเลท ที่ทำให้ทำให้หนอนตายมากกว่า 80% เมื่อนำไปตรวจสอบด้วยวิธี PCR จำนวน 5 isolate พบว่าเชื้อทั้ง 7 isolate มี *cry* โปรตีนเป็นชนิด *Cry 1AC* ซึ่งเป็นชนิดที่สามารถควบคุมหนอนผีเสื้อได้ดี

เอกสารอ้างอิง

โสธร ประเสริฐผล. 2512. การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชด้วยเชื้อจุลินทรีย์. กสิกร 42(3) : 289-305.

อัจฉรา ตันติโชดก. 2539. แบคทีเรียควบคุมแมลงศัตรูพืช. เอกสารทางวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีเพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 163-182.

อัจฉรา ตันติโชดก. 2527. การศึกษาความคงทนของเชื้อ *Bacillus thuringiensis* บนกะหล่ำปลีในสภาพไร่. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย ปี 2527. กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 110-114.

อัจฉรา ตันติโชดก. อุทัย เกตุนุติ. 2537. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียสูตรผงละลายน้ำในการควบคุมหนอนกระทู้หอมบนองุ่น. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยปี 2537. กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 22-29.

Bourque, S.N, J.R. Valero, J. Mercier, M.C. Lavoie and R.C. Levesque. 1993. Multiplex polymerase chain reaction for detection and differentiation of the microbial insecticide *Bacillus thuringiensis*. Appl. Environ. Microbiol. 59:523-527.

Chak, K.F., D.C. Chao, M.Y. Tseng, S.S. Kao, S.J. Tuan and T.Y. Feng. 1994. Determination and distribution of *cry* – type genes of *Bacillus thuringiensis* isolates from Taiwan. Appl. Environ. Microbiol. 60:2415-2420.

Hofte, H., H.R. whiteley. 1989. Insecticidal crystal protein of *Bacillus thuringiensis*. Microbial. Rev. 53:242-25.

การจำแนกสายพันธุ์ Nucleopolyhedrovirus ที่พบในประเทศไทย โดยเทคนิค PCR

The Isolation of Nucleopolyhedrovirus Strains in Thailand by PCR Identification

ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี อิศเรส เทียนทัด
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจและเก็บตัวอย่างหนอนที่มีอาการผิดปกติ เป็นโรคจากแปลงปลูกผัก แปลงไม้ดอกของเกษตรกรในภาคเหนือ และภาคตะวันตก พบหนอนตายจำนวน 12 ตัวอย่าง เมื่อนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ไม่พบหนอนที่เป็นโรคจากเชื้อไวรัส และทดสอบการเกิดโรคกับหนอนกระทู้หอม และหนอนกระทู้ผักในห้องปฏิบัติการ พบว่าทำให้หนอนตายน้อยกว่า 50% จึงไม่สามารถนำมาผลิตเป็นสารชีวภัณฑ์ได้

การเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณหนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย และหนอนกระทู้หอมในห้องปฏิบัติการโดยใช้อาหารเทียม และทดสอบเชื้อไวรัสกับหนอนกับหนอนทั้ง 3 ชนิด พบว่าไวรัสเอ็นพีวีหนอนกระทู้ผัก ความเข้มข้น $1x10^{9}$ ผลึก ทำให้หนอนกระทู้ผักตาย 93.33% ไวรัสเอ็นพีวีหนอนกระทู้หอม ความเข้มข้น $1x10^{7}$ ผลึก ทำให้หนอนกระทู้หอมตาย 93.33% และไวรัสเอ็นพีวีหนอนเจาะสมอฝ้าย ความเข้มข้น $1x10^{6}$ ผลึก ทำให้หนอนเจาะสมอฝ้ายตาย 96.67% เมื่อเปรียบเทียบกับหนอนที่ไม่ได้รับเชื้อไวรัส และหนอนกระทู้ผักใช้เวลามากกว่าไวรัสชนิดอื่นๆ ในการทำให้หนอนตายมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-03-02-56

คำนำ

ในปัจจุบันทุกฝ่ายมีความตระหนักถึงอันตรายจากสารฆ่าแมลงที่มีผลต่อสุขภาพของประชากร สภาพแวดล้อม และผลเสียต่อการส่งออกผลผลิตทางการเกษตรของประเทศ มีการค้นคว้าวิจัยเพื่อนำจุลินทรีย์จากธรรมชาติมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช โดยนำไปใช้ลดหรือทดแทนสารเคมีกำจัดแมลง ไวรัสชนิด Nucleopolyhedrovirus (NPV) ที่พบในประเทศไทย เป็นจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ มีความเฉพาะเจาะจงสูงต่อแมลงเป้าหมาย ปลอดภัยต่อแมลงศัตรูธรรมชาติ แมลงที่มีประโยชน์ มนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อม โดยได้ผ่านการทดสอบจาก US Environmental Protection Agency ประเทศสหรัฐอเมริกา เป็นที่ยอมรับในประเทศที่พัฒนาแล้วว่าไวรัส NPV เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถนำมาใช้ร่วมกับวิธีการป้องกันกำจัดอื่นๆ ที่เหมาะสมในระบบการจัดการศัตรูพืช (Integrated pest management) กรมวิชาการเกษตรมีนโยบายที่จะลดความเสี่ยงของประชาชน และลดผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมจากสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยหาสิ่งทดแทนเพื่อลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยที่คุณภาพและผลผลิตไม่ลดลงและต้นทุนการผลิตไม่สูงขึ้น จากการที่ไวรัส SeNPV HaNPV และ SlNPV สามารถนำไปใช้ทดแทนสารฆ่าแมลงได้ดีในหลายพืช ทำให้ความต้องการใช้เชื้อไวรัส NPV ของหน่วยงานของกรมวิชาการเกษตรและหน่วยงานราชการที่เกี่ยวข้องตลอดจนเกษตรกรเพิ่มมากขึ้น ขณะเดียวกันภาคธุรกิจเอกชนก็สนใจที่จะนำเทคโนโลยีดังกล่าวไปผลิตและขยายผลต่อไป

ไวรัส เอ็นพีวี อยู่ในวงศ์ Baculoviridae ซึ่งจัดเป็นกลุ่มที่มีประสิทธิภาพในการก่อให้เกิดโรคเฉพาะกับสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังใน Phylum Arthropoda เท่านั้น (Murphy et al., 1995; Frances et al., 1998) ลักษณะโดยทั่วไปของไวรัสเอ็นพีวี คือ มียีโนม (genome) เป็น ดีเอ็นเอ เส้นคู่ double stranded DNA ในลักษณะวงกลมปิดซึ่งถูกห่อหุ้มด้วยโปรตีนที่เรียกว่า แคพสิดโปรตีน (capsid protein) ทั้ง ดีเอ็นเอ และแคพสิดโปรตีนประกอบกันเป็น นิวคลีโอแคพสิด (nucleocapsid) ซึ่งมีรูปร่างเป็นท่อนตรง (rod–shaped) มีผนังห่อหุ้ม (envelope) ซึ่งเป็นโปรตีนชนิด triple layered lipoprotein หุ้มอยู่รวมเป็นอนุภาคไวรัสที่สมบูรณ์ เรียกว่าวิริออน (virion) โดยทั่วไปวิริออนมีขนาดกว้างประมาณ 30–50 นาโนเมตร และยาวประมาณ 250–400 นาโนเมตร มีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 50-100x10^6 กิโลดาลตัน (Burgess, 1977; Attathom, 1988) วิริออนฝังตัวอยู่ในผลึกโปรตีนมีรูปหลายเหลี่ยม ซึ่งเรียกผลึกเหล่านี้ว่า polyhedra หรือ polyhedrin inclusion bodies (PIBs) หรือ Occlusion bodies (OBs)

Caballero et al. (1992) ได้รายงานถึงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของไวรัส *Spodoptera exigua* NPV จำนวน 4 isolations จากประเทศ เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา สเปน และประเทศไทย พบว่า *Spodoptera exigua* NPV จากประเทศไทยมีประสิทธิภาพสูงกว่าสายพันธุ์อื่น จากการศึกษาโครงสร้างของ DNA ของทั้ง 4 สายพันธุ์ พบว่าลักษณะโครงสร้างของ genotype ใกล้เคียงกันมาก การคัดเลือกสายพันธุ์ของไวรัส NPV จากแหล่งต่างๆ ของประเทศไทย นอกจากจะได้สายพันธุ์ใหม่ที่เป็นข้อมูลของความหลากหลายทางชีวภาพแล้ว อาจได้สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงขึ้นและสามารถทำลายแมลงได้มากชนิดขึ้นอีกด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างหนอนผีเสื้อศัตรูพืช
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ ขวดดอง ถุงพลาสติก ปากคีบ ตะกร้า กล่องเลี้ยงแมลงขนาด 19x28x11 เซนติเมตร
3. อุปกรณ์ทำสไลด์ ได้แก่ แผ่นสไลด์ แผ่นปิดสไลด์ เข็มเขี่ยเชื้อ ตะเกียงแอลกอฮอล์ น้ำกลั่น
4. อุปกรณ์จำแนกสัณฐานวิทยาของผลึกไวรัส ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์พร้อมชุดบันทึกภาพ กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน กล้องบันทึกภาพ
5. อุปกรณ์เพาะเลี้ยงหนอนศัตรูพืช ได้แก่ กล่องเลี้ยงแมลงขนาด 22x15x5 เซนติเมตร โถแก้ว ขันผ้าขาวบาง ยางรัด ปากคีบ น้ำผึ้ง น้ำกลั่น พู่กัน
6. อุปกรณ์ทำอาหารเทียม ได้แก่ เครื่องปั่นผสมอาหาร กล่องเลี้ยงแมลงขนาด 22x15x5 เซนติเมตร วุ้น ถั่วเขียว วิตามิน สารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างเชื้อไวรัสจากหนอนหนอนผีเสื้อศัตรูพืช หรือแมลงที่มีอาการติดเชื้อไวรัสจากแหล่งปลูกผัก แปลงไม้ดอกไม้ประดับ ในภาคเหนือได้แก่ จังหวัดตาก กำแพงเพชร ภาคอีสานได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น เลย ภาคกลางได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี สุพรรณบุรี นครปฐม เพชรบุรี ลพบุรี สระบุรี ภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดเพชรบุรี นครศรีธรรมราช สงขลา

2. เก็บตัวอย่างหนอนผีเสื้อศัตรูพืชใส่ในขวดดองแมลงที่มีน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร บันทึกข้อมูลสถานที่เก็บตัวอย่าง ชนิดพืชอาศัย อาการของหนอนที่เป็นโรค

<u>การจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผลึกไวรัส</u>

1. นำขวดตัวอย่างเชื้อที่เก็บได้มาทำสไลด์ โดยเขย่าให้ตัวอย่างหนอนแตกออกด้วยเครื่องเขย่า
2. เตรียมสไลด์โดยใช้น้ำกลั่นเจือจางตัวอย่างเชื้อปริมาณ 1 loop ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์
3. นำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1000 เท่า ตรวจดูผลึกเชื้อไวรัสซึ่งจะมีลักษณะเป็นรูปหลายเหลี่ยม บันทึกข้อมูล
4. เตรียมตัวอย่างผลึกไวรัสเพื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ บันทึกภาพ

<u>การเพาะเลี้ยงแมลงอาศัยของเชื้อไวรัส</u>

1. เก็บหนอนศัตรูพืชจากแปลงปลูกพืชมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการด้วยอาหารเทียมสูตรของกรมวิชาการเกษตร จนครบวงจรชีวิต
2. เพาะเลี้ยงหนอนศัตรูพืช ให้อยู่ในวัย 3 (อายุประมาณ 5 วัน) ก่อนนำไปทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดแมลงของเชื้อไวรัส

<u>การศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดแมลง</u>

1. นำเชื้อไวรัสหนอนกระทู้ผักใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นปั่นเหวี่ยงด้วยน้ำตาลซูโครส ที่ 3000 รอบ/นาที เป็นเวลา 30 นาที กรองด้วยตะแกรงขนาด 0.5 ไมครอน เพื่อทำให้เชื้อบริสุทธิ์
2. เตรียมตัวอย่างเชื้อไวรัสที่ความเข้มข้น $1x10^9$ ด้วยน้ำกลั่น
3. หยดเชื้อไวรัส 30 ไมโครลิตร ลงบนอาหารเทียมขนาด 4 กรัม ในถ้วยขนาด 2 ออนซ์ จำนวน 30 ถ้วย
4. ใส่หนอนที่อดอาหาร 2 ชั่วโมง 1 ตัวต่อถ้วย
4. บันทึกการข้อมูลอาการหนอนทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 10 วัน

5. นำผลที่ได้มาวิเคราะห์หาประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนของเชื้อไวรัส และทดสอบเชื้อไวรัสเอ็นพีวีหนอนเจาะสมอฝ้าย เชื้อไวรัสเอ็นพีวีหนอนกระทู้หอม และเชื้อที่เก็บจากแหล่งต่างๆ ตามขั้นตอน1-5

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกข้อมูลสถานที่เก็บตัวอย่างท้องที่ ตำบล อำเภอ จังหวัด อาการของหนอนที่เป็นโรคชนิดพืชอาศัย

2. บันทึกข้อมูลสัณฐานวิทยาผลึกไวรัสจากหนอนแต่ละตัวอย่าง ที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์

3. บันทึกข้อมูลอาการหนอนที่ได้รับเชื้อไวรัส ทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 10 วัน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา : ตุลาคม 2555 – กันยายน 2556

สถานที่ : แปลงเกษตรกร และห้องปฏิบัติการอาคารวิจัยและพัฒนาศัตรูธรรมชาติ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สำรวจและเก็บตัวอย่างหนอนที่มีอาการผิดปกติ เป็นโรคจากแปลงปลูกผัก แปลงไม้ดอก เช่น ดาวเรือง กุหลาบ ผักตระกูลกะหล่ำ เผือก ของเกษตรกรในภาคเหนือได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ตาก และภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดราชบุรี นครปฐม กาญจนบุรี พบหนอนตายจำนวน 12 ตัวอย่าง เมื่อนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ไม่พบหนอนที่เป็นโรคจากเชื้อไวรัส และทดสอบการเกิดโรคกับหนอนกระทู้หอม และหนอนกระทู้ผักในห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อทุกตัวอย่างทำให้หนอนตายน้อยกว่า 50%

เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณหนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย และหนอนกระทู้หอมในห้องปฏิบัติการโดยใช้อาหารเทียม วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ 5 กรรมวิธี เตรียมเชื้อไวรัสของกรมวิชาการเกษตรของหนอนทั้งสามชนิดที่อัตรา 10^{-6} 10^{-7} 10^{-8} และ 10^{-9} ทดสอบกับหนอนทั้ง 3 ชนิด โดยใช้หนอนวัย 3 กินอาหารเทียมที่เคลือบด้วยเชื้อไวรัสที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้ผลดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อไวรัส SlNPV SeNPV และ HaNPV ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ชนิดหนอน	ความเข้มข้นของเชื้อไวรัส (ผลึก)				
	$1x10^6$	$1x10^7$	$1x10^8$	$1x10^9$	control
หนอนกระทู้ผัก	20	50	76.67	93.33	0
หนอนกระทู้หอม	76.67	93.33	90	100	0
หนอนเจาะสมอฝ้าย	96.67	100	96.67	96.67	0

หมายเหตุ หนอนกระทู้ผักทดสอบ 10 วัน หนอนกระทู้หอมและหนอนเจาะสมอฝ้ายทดสอบ 7 วัน

จากตารางพบว่าไวรัสเอ็นพีวีหนอนกระทู้ผัก ความเข้มข้น $1x10^{9}$ ผลึก ทำให้หนอนกระทู้ผักตาย 93.33% ไวรัสเอ็นพีวีหนอนกระทู้หอม ความเข้มข้น $1x10^{7}$ ผลึก ทำให้หนอนกระทู้หอมตาย 93.33% และไวรัสเอ็นพีวีหนอนเจาะสมอฝ้าย ความเข้มข้น $1x10^{6}$ ผลึก ทำให้หนอนเจาะสมอฝ้ายตาย 96.67% เมื่อเปรียบเทียบกับหนอนที่ไม่ได้รับเชื้อไวรัส และหนอนกระทู้ผักใช้เวลาในการทำให้หนอนตายมากกว่าไวรัสชนิดอื่นๆ ดังนั้นควรใช้ความเข้มข้นของเชื้อไวรัสในการทำให้หนอนตาย ที่ความเข้มข้น $1x10^{9}$ ผลึก หนอนกระทู้หอมใช้ความเข้มข้น $1x10^{7}$ ผลึก และหนอนเจาะสมอฝ้ายใช้ความเข้มข้น $1x10^{6}$ ผลึก ในการทำให้หนอนตายมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสำรวจและเก็บตัวอย่างหนอนที่มีอาการผิดปกติ เป็นโรคจากแปลงปลูกผัก แปลงไม้ดอก ของเกษตรกรในภาคเหนือ และภาคตะวันตก พบหนอนตายจำนวน 12 ตัวอย่าง เมื่อนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ไม่พบหนอนที่เป็นโรคจากเชื้อไวรัส และทดสอบการเกิดโรคกับหนอนกระทู้หอม และหนอนกระทู้ผักในห้องปฏิบัติการ พบว่าทำให้หนอนตายน้อยกว่า 50% จึงไม่สามารถนำมาผลิตเป็นสารชีวภัณฑ์ได้

เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณหนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย และหนอนกระทู้หอมในห้องปฏิบัติการโดยใช้อาหารเทียม และทดสอบเชื้อไวรัสกับหนอนกับหนอนทั้ง 3 ชนิด ที่อัตรา 10^{-6} 10^{-7} 10^{-8} และ 10^{-9} พบว่าไวรัสเอ็นพีวีหนอนกระทู้ผัก ความเข้มข้น $1x10^{9}$ ผลึก ทำให้หนอนกระทู้ผักตาย 93.33% ไวรัสเอ็นพีวีหนอนกระทู้หอม ความเข้มข้น $1x10^{7}$ ผลึก ทำให้หนอนกระทู้หอมตาย 93.33% และไวรัสเอ็นพีวีหนอนเจาะสมอฝ้าย ความเข้มข้น $1x10^{6}$ ผลึก ทำให้หนอนเจาะสมอฝ้ายตาย 96.67% เมื่อเปรียบเทียบกับหนอนที่ไม่ได้รับเชื้อไวรัส และหนอนกระทู้ผักใช้เวลามากกว่าไวรัสชนิดอื่นๆ ในการทำให้หนอนตายมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ในการนำไปใช้ในแปลงปลูกพืชจะมีปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการตายของหนอน เช่น วัยของหนอน ปริมาณเชื้อที่หนอนกิน ซึ่งอาจมีผลต่อความสามารถในการควบคุมหนอนผีเสื้อศัตรูพืชได้

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2542. นโยบายการอารักขาพืชของกรมวิชาการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 20 หน้า.

กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์, ปิยรัตน์ เขียนมีสุข, สมศักดิ์ ศิริผลตั้งมั่น, อุทัย เกตุนุติ, อัจฉรา ตันติโชดก และลักษณา วรรณภีร์. 2540. การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหอมแดงโดยวิธีผสมผสาน. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 85-91.

นิภา จันท์ศรีสมหมาย, ไพศาล รัตนเสถียร, จาตุรงค์ ฤกษ์สังเกต, สุปราณี อิ่มพิทักษ์, อัจฉรา ตันติโชดก, อุทัย เกตุนุติ, กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์, ปิยรัตน์ เขียนมีสุข และ มานิตา คงชื่นสิน. 2543. การป้องกันแมลงศัตรูถั่วฝักยาวโดยวิธีผสมผสาน. หน้า 175–197. *ใน* : รายงานผลการดำเนินงานการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน ครั้งที่ 3. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

วิทย์ นามเรืองศรี และบุษบง มนัสมั่นคง. 2540. การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูอุ่นโดยวิธีผสมผสาน. เอกสารทางวิชาการ การป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 122-134.

Burgs, H.D. 1998. Formulation of Microbial Biopesticides. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherland.

Caballero, P., Zuidema, D., Santiago-Alvares, C. and Vlak, J.M. 1992. Biochemical and biological characterization of four isolates of *Spodoptera exigua* nuclear polyhedrosis virus. Biocontrol Science and Technology 2, 145-157.

ผู้รวบรวม

นางสาวภัทรพร	สรรพนุเคราะห์
นางสาวดาราพร	รินทะรักษ์
นางณัฏฐิมา	โฆษิตเจริญกุล
นางสาวกาญจนา	วาระวิชะนี
นางสาวธัญชนก	จงรักไทย
นางสาวภัทร์พิชชา	รุจิระพงศ์ชัย
นางสาวชลธิชา	รักใคร่
นางวรัญญา	มาลี
นางศรีจำนรรจ์	ศรีจันทรา
นางสาววิภาดา	ปลอดครบุรี

ผู้สอบทาน

นางสาวขวัญดาว	แก้วสมบัติ
นางสาวณัฐกุล	แขไขแสง

RESEARCH

Annual Report 2013

กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์