

รายงานผลงานเรื่องเติมการทดลองที่สิ้นสุด

1. แผนงานวิจัย : วิจัยมาตรการสุขอนามัยพืช
2. โครงการวิจัย : การศึกษาสถานภาพศัตรูพืชกักกันในประเทศไทย
กิจกรรมที่ 1 : การศึกษาศัตรูพืชในประเทศเพื่อการค้าระหว่างประเทศ
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การศึกษาสถานภาพของรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* (Foe) ในประเทศไทย
ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Study on the status of *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* (Foe) in Thailand
4. คณะผู้ดำเนินงาน
หัวหน้าการทดลอง : นางสาวชนินทร ดวงสอาด สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ผู้ร่วมงาน : นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
นางสาวสุณีรัตน์ สิมะเตือ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
นางสาวมะโนรัตน์ สุดสงวน สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
นางสาวอมรรชฎ์ คัดใจเดียว สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5. บทคัดย่อ

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

The occurrence of *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* (Foe) the causal agent of wilt disease of oil palm had not been reported in Thailand. To confirm the absence of Foe in Thailand, the specific survey was conducted to determine the status of this fungi. The surveys were done on

the oil palm plantations located in Krabi, Chumphon, Nakhon Si Thammarat, Phang-nga, Prachuap Khiri Khan, Trang, Phthalung, Surat Thani, Chiangmai, Chiangrai, Petchaburi, Nakhon Phanom and Phitsanulok during December 2015 – September 2018. The symptoms of wilt disease caused by Foe were observed on 2,345 oil palm trees, which randomly selected from 105 sites. None of oil palm trees presented wilt symptom. The soil surrounding root system and roots of oil palm were sampled from observation sites. Soil dilution and tissue transplanting techniques were applied to isolate Fusarium-like from 142 samples of soil and root samples. 145 isolations of Fusarium-like were identified based on molecular data of the Internal Transcribed Spacer and the translation elongation factor 1-alpha. The phylogenetic reconstruction showed that none of Fusarium-like isolations had an identical to *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis*. **The results from this study indicated that *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* is considered to be absent from Thailand.**

6. คำนำ

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

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

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

Province	Oil palm plantation (unit: million rai)									
	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Surat Thani*	0.12	0.97	0.92	0.92	0.94	1.11	0.98	1.01	1.02	1.04

Krabi	0.21	1.01	1.01	0.98	0.92	0.74	0.96	0.98	0.97	0.97
Chum Phon	0.06	0.79	0.79	0.80	0.78	0.79	0.80	0.79	0.79	0.77
Nakhon Sri Thammarat	0.00	0.32	0.31	0.31	0.35	0.33	0.36	0.41	0.44	0.44
Phang Nga	0.05	0.16	0.15	0.16	0.16	0.19	0.17	0.17	0.17	0.18
Trang	0.03	0.14	0.14	0.14	0.18	0.17	0.16	0.16	0.17	0.21
Total area in Thailand	0.51	4.12	4.01	4.12	4.31	4.54	4.45	4.57	4.75	4.75

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

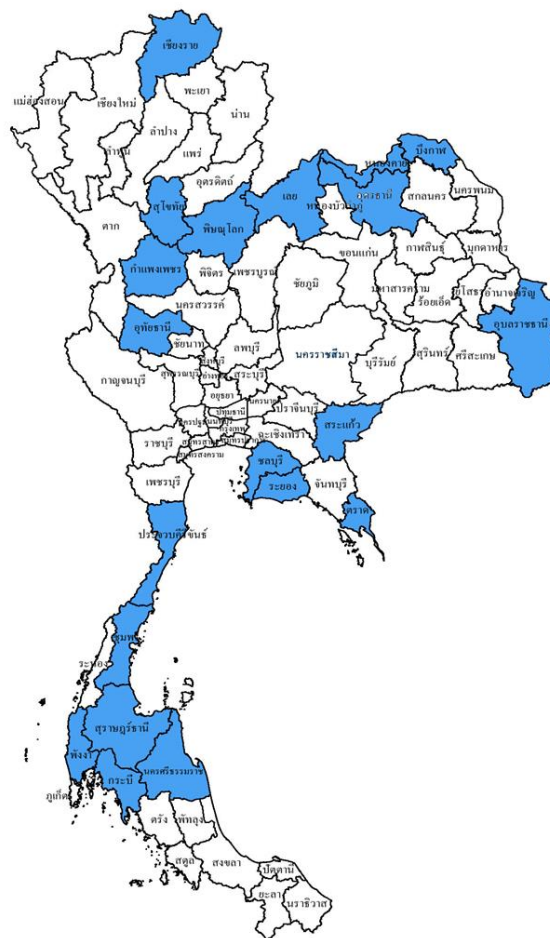


Figure 1: A map of oil palm plantations in Thailand (2017)
(Office of Agricultural Economics, 2019)

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

รา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* Toovey (Foe) จัดอยู่ใน Kingdom Fungi, Division Ascomycota, Class Sordariomycetes, Subclass Hypocreomycetidae, Order Hypocreales, Family Nectriaceae โคลนนี้ของรา (Figure 2) บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ pH 6.5-7 จะพบว่าราสามารถสร้างเม็ดสี (pigment) ได้หลากหลาย ได้แก่ สีขาว สีส้มอ่อน (peach) จนถึงค่อนข้างเข้ม (salmon) สีม่วงอ่อน ม่วงแดง จนถึงสีม่วงเข้ม เส้นใยมีลักษณะ striate และ felted to floccose มักจะพบว่าการสร้าง microconidia ที่มีทั้งแบบเซลล์เดี่ยวหรือสองเซลล์ รูปร่าง ellipsoidal cylindrical straight หรือ curved ขนาด 5-12 x 2.2-3.5 μm microconidia เกิดตรงด้านข้างหรือด้านบนของ phialides และ phialides สร้างออกมาจากด้านข้างของ conidiophores ที่มีขนาดสั้น macroconidia มีลักษณะ falcate หรือเป็นแบบ elegans type หรือมีลักษณะค่อนข้างไปทาง martiella type โดยทั่วไปจะพบ macroconidia ที่มี 3-5 spetate ขนาด 27-60 x 3-5 μm สร้างบน lateral phialides จากนั้นจะมีการฟอร์มตัวของ slimmy sporodochia chlamydospores พบว่าสร้างอยู่ระหว่างหรือส่วนปลายของ short lateral branches อาจพบอยู่เดี่ยวๆ หรือเรียงตัวเป็นสาย ลักษณะโปร่งใส ผนังเซลล์มีทั้งแบบเรียบและขรุขระ บางครั้งพบว่าการสร้าง stromatic pustules อยู่ร่วมกับ perithecia ของรา *Gibberella* แต่ไม่มีรายงานว่าพบการสร้าง asci หรือ ascospores

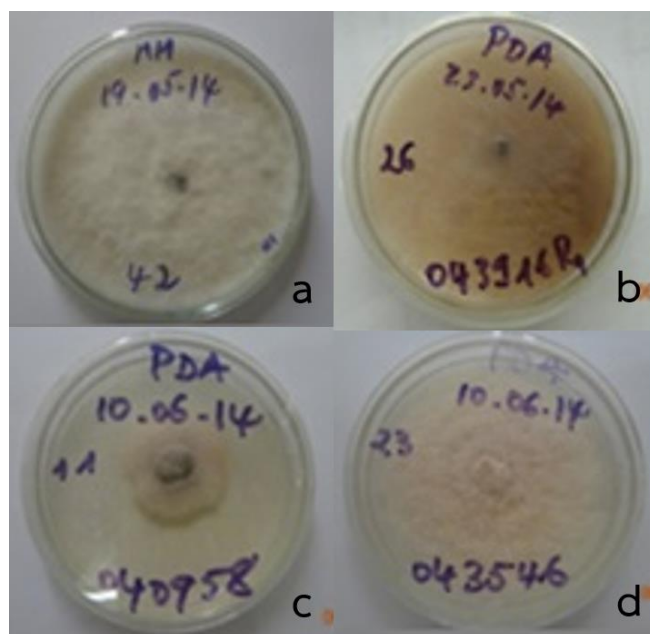


Figure 2: Colonies of *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* on PDA (Godswill et al., 2015)

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



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

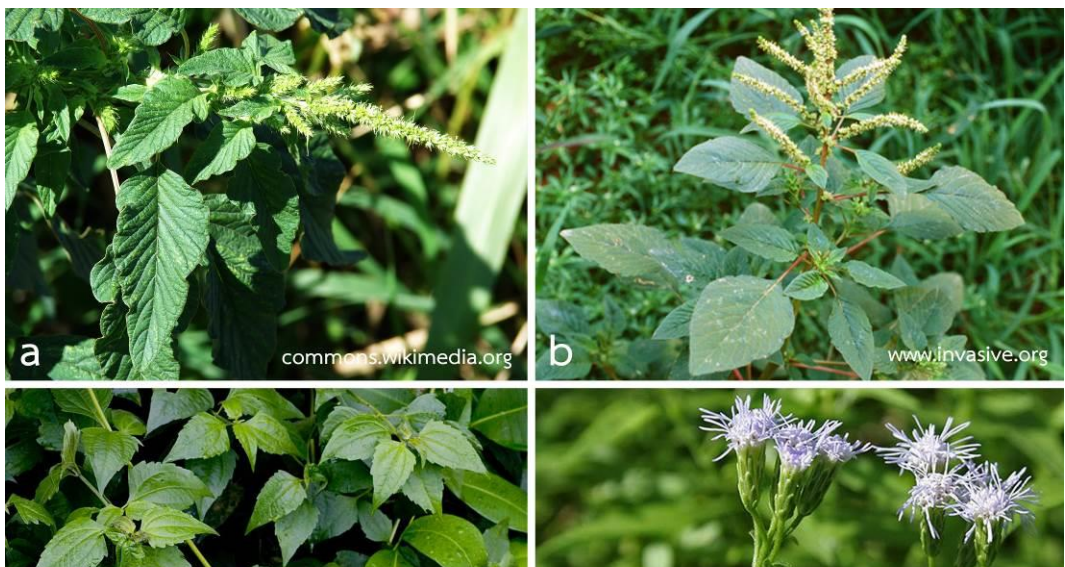


Figure 4: Weed hosts of *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis*
a-b. *Amaranthus spinosus*
c-d. *Chromolaena odorata*
e-f. *Imperata cylindrical*

รา *F. oxysporum* ที่แยกได้จากต้นปาล์มน้ำมันที่แสดงอาการของโรคเหี่ยวในแถบแอฟริกา ได้มีการจัดจำแนกเป็น *F. oxysporum* var. *redolens* (Wollenw.) Gordon โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และราชชนิดนี้เป็น taxonomic synonym ของ *F. oxysporum* (Brayford, 1992) รา Foe เป็น seed borne สามารถถ่ายทอดโรคทางเมล็ดพันธุ์และติดมากับละอองเกสรได้ อย่างไรก็ตามการถ่ายทอดโรคทางเมล็ดพบได้น้อยมาก เนื่องจากประชากรของรา *Fusarium* spp. มักจะลดลงหรือถูกทำลายระหว่างกระบวนการกระตุ้นการงอกของเมล็ด แต่ราไม่ได้ถูกทำลายอย่างสิ้นเชิง มีรายงานว่า การแช่เมล็ดปาล์มน้ำมันในสารป้องกันกำจัดโรคพืช เช่น captafol เป็นระยะเวลา 7 วัน ให้ผลและมีประสิทธิภาพในการกำจัด Foe (Flood et al., 1994) โรคนี้พบครั้งแรกในประเทศ Zaire (Wardlaw, 1946) หรือ สาธารณรัฐประชาธิปไตยคองโกในปัจจุบัน จากนั้นเริ่มมีการพบโรคในส่วนตอนกลางและทางตะวันตกของทวีปแอฟริกา ได้แก่ ประเทศโกตดิวัวร์ ไนจีเรีย กานา คาเมอรูน และคองโก

(Oritsejafor, 1989) ต่อมาเกิดการแพร่ระบาดเข้ามาในประเทศบราซิล (Van de Lande, 1984) และเอกวาดอร์ ซึ่งมีการระบาดที่รุนแรง (Renard and de Franqueville, 1989) (Figure 5)

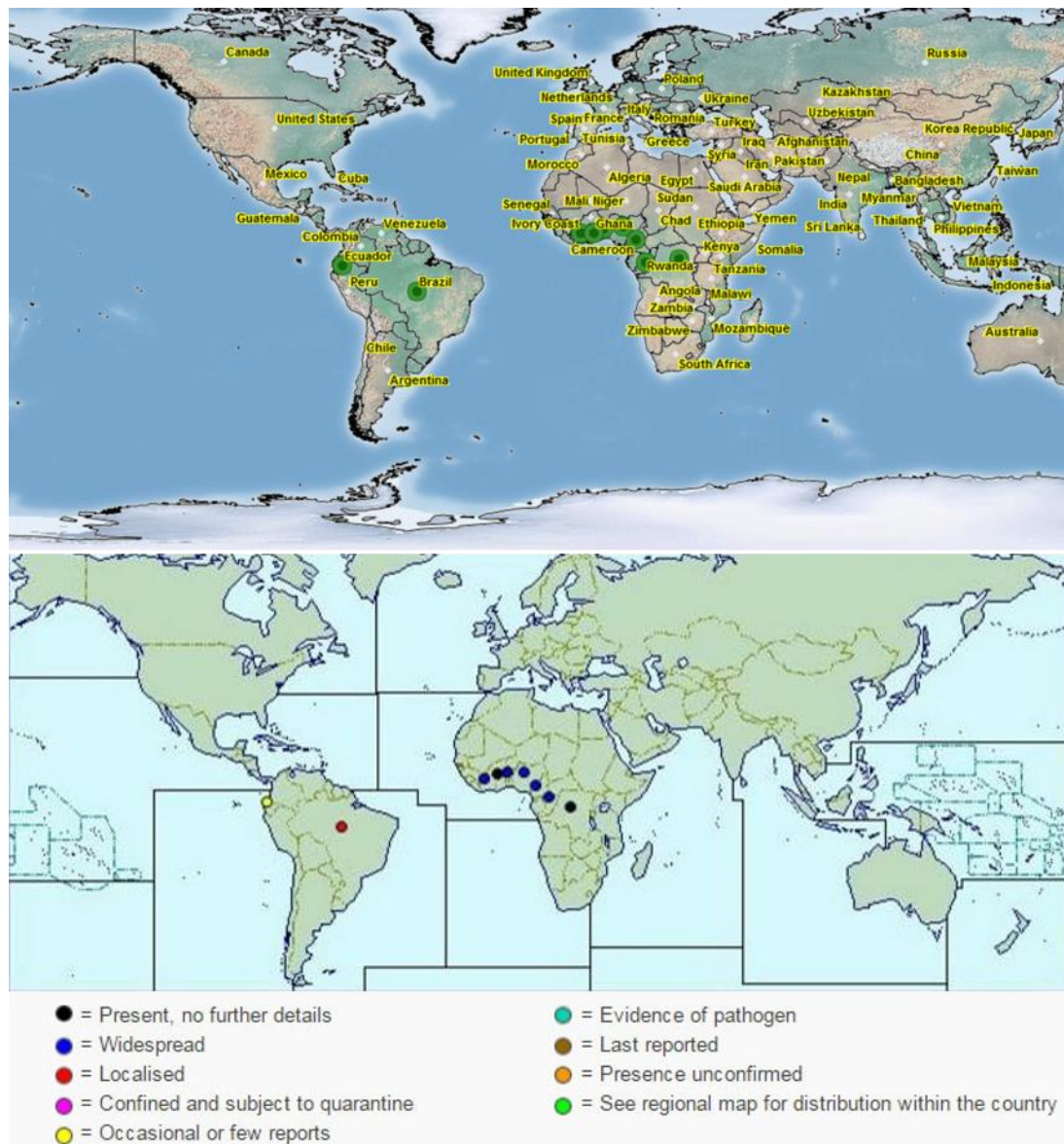


Figure 5: Distribution map of *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* (UK CAB International, 1996)

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

ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดปาล์มน้ำมันมาจาก เบนิน คอสตาริกา ปาปัวนิวกินี คองโก ไโอวีวีโคสต์ บราซิล และอินเดีย ทำให้มีความเสี่ยงที่รา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* จะติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาสถานภาพของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ในพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันของประเทศไทยอย่างเป็นระบบ เพื่อให้ได้ข้อมูลในการการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช ตลอดจนที่ดำเนินการโดย NPPO เป็นกระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น การสำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชเป็นงานพื้นฐานที่มีความจำเป็นสำหรับใช้ในการดำเนินการด้านอื่นๆ อีก เช่น การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การกำหนดพื้นที่ปลอดศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชและการรายงานศัตรูพืช เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance)

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

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

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงพลาสติก ถุงกระดาษ กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ไม้ทับตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์ ซองกระดาษสำหรับเก็บและรักษาตัวอย่าง

2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่

- Microcentrifuge
- Thermal cyclers
- Vortex
- Tissue Lyser
- Gel electrophoresis
- เครื่องถ่ายภาพเจล
- microwave
- micropipette ขนาด 10 100 200 และ 1000 ไมโครลิตร
- กล้องจุลทรรศน์แบบ compound
- กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo
- Dry heat block

3. วัสดุในห้องปฏิบัติการ สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์ tips ขนาด 10 100 200 และ 1000 ไมโครลิตร PCR tube ใบน็ดผ้าตัด เช็มเขี่ยปลายแหลม ปากคีบ

4. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ บีกเกอร์ ขวดดูแรน กระบอกตวง ตะเกียงแอลกอฮอล์ plate

5. สารเคมี ได้แก่

- Green Hot Start PCR Master Mix (biotechrabbit™)
- High fidelity Phusion® DNA Polymerase (New England Biolabs)
- Lysing Enzymes from *Trichoderma harzianum* (Glucanex®)
- Lithium Borate buffer (LB)
- PureDireX Genomic DNA Isolation Kit
- QIAquick Gel Extraction Kit
- SERVA HiSens Stain G
- Nuclease-Free Water

- ไพรเมอร์ ได้แก่ LROR/LR5 (Vilgalys and Hester, 1990) ITS1/ITS4 (White *et al.*, 1990) และ EF1-728F/EF1-986R (Carbone and Kohn, 1999)

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

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

- วิธีการ

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่าง

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

2. การแยกราสาเหตุโรคพืช

ศึกษาลักษณะอาการของโรค และแยกราโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช

นำตัวอย่างที่แสดงอาการต้องสงสัย มาศึกษาลักษณะอาการของโรค และแยกราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืช และตัดขวางรากพืชเพื่อดูการเข้าทำลายของเชื้อที่ราก ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 5-10 วัน เมื่อพบราสร้างเส้นใยหรือ conidium ตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อรามาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ และตรวจสอบดูลักษณะต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound ถ่ายภาพและบันทึกลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อ

แยกราโดยวิธี Tissue transplanting

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

3. ศึกษา และจำแนกชนิดของราโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจสอบดูลักษณะเส้นใย conidiophore conidia ขนาด สี และโครงสร้างอื่น ๆ ของรา โดยอ้างอิง

ข้อมูลของ Booth (1971) และ Brayford (1992) โดยการ mount slide ด้วยน้ำหรือ shear's solution ถ่ายภาพ และบันทึกข้อมูลของเชื้อ

4. จำแนกชนิดของราโดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม

สกัดดีเอ็นเอ

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

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมาย

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

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

การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR

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

การวิเคราะห์ และตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์

วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequence) โดยนำ forward sequence และ reverse sequence ที่ได้มาเปรียบเทียบเทียบกัน (sequence assembly) โดยใช้โปรแกรม Geneious version 8.1.9 (<http://www.geneious.com>, Kears *et al.*, 2012) บันทึกข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ในรูปแบบไฟล์ชนิด fasta ทำการตรวจสอบความถูกต้องของชนิดของจุลินทรีย์ที่ทำการศึกษากับฐานข้อมูลทางพันธุกรรม เช่น GenBank, Mycobank, *Fusarium* MLST DATABASE และ *Fusarium*-ID

การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์

นำ contig ของลำดับนิวคลีโอไทด์ (consensus sequence ที่บันทึกไว้ในรูปแบบ fasta ไฟล์) แต่ละตำแหน่งมาจัดเรียง (align) เป็นชุดข้อมูล (dataset) ด้วยโปรแกรม MAFFT 6.611 (Kato and Toh, 2008)

ตรวจสอบการจัดเรียงของชุดข้อมูล (alignment) ด้วยวิธี MUSCLE ในโปรแกรม MEGA7 (Kumar *et al.*, 2016) ใช้โปรแกรม Gblocks (Talavera and Castresana, 2007) เพื่อกรองส่วนที่เป็น ambiguous sequence

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

วิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการเพื่อการจัดจำแนก

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

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

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

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

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกข้อมูลสถานภาพของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaedis* ในพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันของประเทศไทย

2. บันทึกข้อมูล เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา และเก็บรักษาดีเอ็นเอต้นแบบที่ได้จากการศึกษา

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

- เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2558 – กันยายน 2561

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

แปลงปาล์มน้ำมันในประเทศ

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สํารวจและเก็บตัวอย่าง

สํารวจแบบเฉพาะเจาะจง ในแปลงปลูกปาล์มน้ำมัน ในพื้นที่จังหวัด กระบี่ ชุมพร นครศรีธรรมราช พังงา ประจวบคีรีขันธ์ ตรัง พัทลุง สุราษฎร์ธานี เชียงใหม่ เชียงราย กาญจนบุรี เพชรบุรี นครพนม สุโขทัย และ พิษณุโลก ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 – เดือนกันยายน 2561 (Figure 6) สุ่มตรวจต้นปาล์มน้ำมันจำนวน 2,345 ต้น จาก 105 แปลง (Table 2) ไม่พบต้นที่แสดงอาการเหี่ยวที่มีลักษณะพ้องกับการเข้าทำลายของรา Foe สุ่ม ตัวอย่างราก และดินบริเวณรอบราก จำนวน 142 ตัวอย่าง เพื่อแยกหาเชื้อรา



Figure 6: The oil palm plantations had been surveyed during December 2015 – September 2018.

2. การแยกราสาเหตุโรคพืช

แยกจากตัวอย่างรากปาล์มน้ำมัน และรากหญ้าสาบเสือ ด้วยวิธี tissue transplanting และแยกจากดินรอบรากปาล์มน้ำมัน ด้วยวิธี dilution plate ได้รากจากและดินรอบรากปาล์มน้ำมันจำนวน 865 ไอโซเลท และจากรากหญ้าสาบเสือ 59 ไอโซเลท รวม 924 ไอโซเลท จัดกลุ่มลักษณะของรากที่มีลักษณะคล้ายกันเพื่อเตรียมจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

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

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

Table 2: Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Nakhon Si Thammarat	Mueang	Bang Jak		8.386384, 100.059986; 8.386233, 100.060168; 8.386222, 100.060152; 8.386027, 100.06032; 8.386102, 100.060327; 8.386121, 100.060298; 8.386032, 100.060326; 8.386343, 100.060128; 8.386477, 100.059991; 8.3866, 100.059824; 8.386591, 100.059734; 8.386507, 100.059651; 8.38636, 100.059427
		Ban Khao Fai		9.0361111, 99.8555556; 9.0322222, 99.8686111; 9.0322222, 99.8686111; 9.0241667, 99.8758333; 9.0202778, 99.8736111; 8.3213889, 99.9636111; 8.1761111, 100.0416667
	Sichon	Sichon	Kao Fai	9.0361111, 99.8555556; 9.0322222, 99.8686111; 9.0322222, 99.8686111
		Sichon	Klong Tha	9.0241667, 99.8758333; 9.0202778, 99.8736111; 8.3213889, 99.9636111
	Chaloem Phra Kiat	Suan Luang	Ruea	8.1761111, 100.0416667
		Thang Phun		8.1808333, 100.0361111; 8.1811111, 100.0363889; 8.1808333, 100.0361111; 8.1811111, 100.0363889; 8.325, 99.935
	Phra Phrom	Na Phur		8.325, 99.935
	Thungsong	Khlong Noi	Ban Bang Poh	8.1219444, 99.6661111
		Thi Wang		8.1219444, 99.6661111
	Pak Phanang	Khlong Noi	Ban Bang Nian	8.3638889, 100.0883333; 8.3638889, 100.0883333
Krabi	Mueang	Krabi Noi	8.105153, 98.945568; 8.105104, 98.945557; 8.105015, 98.94569; 8.105042, 98.945822; 8.104974, 98.945813; 8.104914, 98.945829; 8.10478, 98.945793; 8.104708, 98.945848; 8.10465, 98.945796; 8.104626, 98.945926; 8.104621, 98.946024; 8.104621, 98.946125; 8.104582, 98.946183; 8.104632, 98.946334; 8.104799, 98.945964; 8.104848, 98.945552; 8.104655, 98.945485; 8.104485, 98.945481; 8.104346, 98.945497; 8.104174, 98.945479; 8.104048, 98.945504; 8.103982, 98.945595; 8.104555, 98.945581; 8.104755, 98.94563; 8.104768, 98.945692; 8.104827, 98.945765; 8.104982, 98.946044; 8.10482, 98.946049; 8.104692, 98.946046; 8.104708, 98.946183; 8.104876, 98.946183; 8.105036, 98.946169; 8.124533, 98.962912; 8.124257, 98.963062; 8.12439, 98.96306; 8.124651, 98.96303; 8.124891, 98.963025; 8.124865, 98.963428; 8.124684, 98.963465; 8.12442, 98.963482; 8.124221, 98.963498; 8.124131, 98.963761; 8.124271, 98.963792; 8.124532, 98.963799; 8.1246, 98.962883; 8.124875, 98.9629; 8.124463, 98.96292; 8.124257, 98.963196; 8.12444, 98.963185; 8.124634, 98.963177; 8.12491, 98.963173; 8.12495, 98.963296; 8.124712, 98.963377; 8.124493, 98.963359; 8.124278, 98.963388; 8.124178, 98.963644; 8.124332, 98.963647; 8.124589, 98.963634; 8.124848, 98.963585; 8.124916, 98.963751; 8.124768, 98.963774; 8.124813, 98.963864; 8.116767, 98.968491; 8.116646, 98.968582; 8.116483, 98.968784; 8.116355, 98.968962; 8.116337, 98.968892; 8.116451, 98.968691; 8.116554, 98.968499; 8.116448, 98.968524; 8.116306, 98.968653; 8.116164, 98.968779; 8.116028, 98.968836; 8.11601, 98.968615; 8.115942, 98.968393; 8.115799, 98.968474; 8.115788, 98.968573; 8.115714, 98.968658; 8.116841, 98.968536; 8.116708, 98.968748; 8.11658, 98.968916; 8.116434, 98.969112; 8.116317, 98.969555; 8.116479, 98.969294; 8.116614, 98.969097; 8.116751, 98.968919; 8.116966, 98.968728; 8.117137, 98.968544; 8.117045, 98.968761; 8.116926, 98.968917; 8.116791, 98.96914; 8.116634, 98.969362; 8.116442, 98.969572; 8.116566, 98.969709; 8.116689, 98.969503; 8.116849, 98.96933; 8.116942, 98.969144; 8.117088, 98.968948; 8.117163, 98.968617	

Sai Thai	8.068829, 98.858576; 8.068788, 98.858424; 8.068776, 98.858329; 8.068771, 98.858149; 8.068699, 98.857988; 8.068666, 98.857818; 8.068629, 98.857537; 8.068582, 98.857432; 8.068564, 98.85728; 8.068436, 98.857112; 8.068411, 98.856946; 8.068342, 98.856637; 8.068322, 98.856539; 8.068479, 98.856489; 8.06849, 98.856587; 8.068551, 98.856821; 8.068584, 98.856984; 8.068593, 98.857118; 8.068651, 98.857268; 8.068683, 98.857459; 8.068817, 98.857707; 8.068765, 98.857777; 8.068795, 98.857901; 8.068835, 98.858062; 8.068911, 98.858279; 8.06886, 98.858389; 8.068708, 98.858503; 8.068666, 98.85834; 8.068634, 98.8581; 8.068562, 98.857853; 8.068532, 98.857641; 8.068431, 98.857381; 8.068289, 98.857225; 8.068269, 98.857432; 8.068352, 98.857695; 8.068404, 98.857927; 8.068499, 98.858246; 8.06854, 98.858524; 8.068454, 98.858677; 8.068261, 98.858667; 8.068132, 98.858451; 8.068071, 98.858196; 8.068003, 98.857954; 8.067961, 98.857712; 8.067877, 98.857443; 8.067859, 98.857145; 8.067784, 98.856905; 8.067747, 98.856686; 8.067613, 98.856536; 8.067628, 98.856821; 8.067709, 98.85716; 8.067716, 98.857433; 8.067821, 98.857716; 8.06783, 98.857855; 8.067889, 98.858125; 8.067908, 98.858309; 8.068017, 98.858625
Thap Prik	8.102535, 98.888517; 8.126899, 98.862958; 8.127143, 98.862903; 8.127362, 98.862896; 8.127723, 98.86261; 8.127901, 98.86241; 8.127936, 98.862284; 8.128028, 98.862206; 8.12846, 98.862378; 8.12869, 98.86245; 8.128912, 98.862544; 8.129075, 98.862564; 8.129008, 98.862721; 8.128865, 98.862659; 8.128685, 98.862624; 8.128613, 98.862622; 8.128536, 98.862541; 8.128385, 98.862522; 8.128241, 98.862485; 8.127924, 98.862429; 8.128019, 98.862546; 8.128207, 98.862617; 8.128483, 98.862668; 8.128537, 98.862758; 8.128336, 98.862765; 8.128171, 98.862721; 8.127891, 98.862631; 8.127706, 98.862568; 8.126889, 98.863041; 8.126848, 98.862802; 8.127041, 98.862779; 8.127254, 98.862743; 8.127526, 98.862781; 8.127659, 98.862668; 8.127442, 98.862612; 8.127165, 98.862605; 8.126876, 98.862636; 8.126794, 98.86257; 8.127033, 98.86249; 8.127283, 98.862468; 8.127544, 98.86252; 8.127558, 98.862399; 8.127319, 98.862356; 8.127063, 98.862337; 8.126825, 98.862344; 8.126809, 98.862285; 8.127, 98.862247; 8.127302, 98.862279; 8.127636, 98.862382; 8.127738, 98.862734; 8.128, 98.862855; 8.128225, 98.862851;

Table 2: Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Krabi	Mueang	Thap Prik		8.128374, 98.863003; 8.131568, 98.864345; 8.131452, 98.864388; 8.13128, 98.86449; 8.131091, 98.864093; 8.131157, 98.863991; 8.131242, 98.863925; 8.131343, 98.863764; 8.13118, 98.863736; 8.131045, 98.863789; 8.13095, 98.86339; 8.131029, 98.863239; 8.131168, 98.863173; 8.131346, 98.863073; 8.131367, 98.86301; 8.131307, 98.862937; 8.131189, 98.86297; 8.13107, 98.863041; 8.131014, 98.863008; 8.131629, 98.864169; 8.131356, 98.86432; 8.131113, 98.864195; 8.131363, 98.864079; 8.131539, 98.86399; 8.131477, 98.863385; 8.131289, 98.863494; 8.130973, 98.863639; 8.130839, 98.863562; 8.131019, 98.863431; 8.131176, 98.863327; 8.131587, 98.862613; 8.131132, 98.862792

Ao Luek	Khlong Hin	8.273971, 98.795915; 8.274081, 98.795989; 8.274763, 98.79594; 8.274581, 98.79581; 8.274434, 98.795718; 8.274533, 98.795483; 8.274784, 98.795635; 8.274934, 98.795733; 8.274866, 98.795381; 8.274961, 98.795404; 8.27514, 98.795592; 8.275348, 98.795757; 8.275527, 98.79567; 8.275352, 98.795517; 8.275687, 98.795249; 8.275853, 98.795408; 8.27599, 98.795584; 8.273968, 98.795911; 8.274128, 98.795827; 8.274303, 98.79596; 8.274518, 98.795971; 8.274401, 98.795883; 8.27449, 98.795605; 8.274708, 98.795727; 8.274806, 98.795441; 8.274944, 98.79555; 8.275357, 98.795252; 8.275541, 98.795506; 8.275686, 98.795677; 8.27596, 98.79576; 8.275884, 98.795612; 8.275649, 98.795327; 8.266739, 98.783005; 8.266717, 98.783085; 8.266542, 98.783224; 8.266356, 98.78339; 8.266175, 98.78357; 8.265964, 98.783702; 8.265999, 98.783853; 8.266189, 98.783753; 8.266418, 98.783551; 8.266549, 98.783461; 8.266763, 98.783306; 8.266916, 98.783348; 8.266714, 98.783461; 8.266519, 98.783614; 8.266316, 98.783743; 8.266114, 98.783899; 8.266118, 98.784048; 8.266168, 98.784293; 8.266218, 98.784532; 8.266272, 98.784752; 8.266306, 98.784921; 8.266441, 98.784931; 8.266391, 98.78468; 8.266382, 98.784512; 8.266321, 98.784229; 8.266317, 98.784094; 8.266287, 98.784039; 8.2666, 98.783835; 8.266878, 98.783705; 8.266927, 98.783492; 8.266369, 98.783591; 8.266773, 98.782945; 8.266586, 98.783082; 8.266337, 98.78324; 8.266153, 98.783393; 8.265965, 98.783531; 8.26581, 98.783559; 8.265924, 98.783393; 8.266117, 98.78323; 8.266303, 98.783088; 8.266492, 98.782911; 8.266561, 98.782736; 8.26637, 98.782903; 8.26618, 98.783034; 8.26597, 98.783168; 8.265798, 98.783284; 8.265014, 98.78368; 8.265075, 98.783604; 8.265339, 98.783458; 8.265566, 98.783345; 8.265769, 98.783178; 8.265923, 98.783041; 8.266157, 98.782883; 8.266338, 98.782757; 8.266396, 98.782526; 8.266198, 98.782639; 8.285635, 98.786854; 8.285543, 98.786935; 8.285373, 98.787001; 8.285227, 98.787119; 8.285226, 98.787242; 8.285337, 98.787209; 8.28547, 98.787137; 8.285609, 98.78705; 8.285782, 98.787079; 8.285633, 98.787185; 8.285491, 98.787286; 8.285358, 98.787325; 8.285227, 98.787421; 8.285306, 98.787544; 8.285345, 98.787516; 8.285513, 98.787415; 8.285666, 98.787337; 8.28582, 98.78726; 8.285748, 98.787372; 8.285813, 98.787186; 8.285822, 98.787118; 8.285732, 98.786936; 8.285633, 98.786889; 8.285499, 98.786919; 8.285593, 98.786944; 8.285647, 98.786758; 8.285549, 98.78682; 8.285369, 98.786906; 8.285148, 98.786993; 8.285108, 98.787094; 8.284946, 98.78694; 8.284814, 98.787102; 8.284556, 98.787174; 8.284287, 98.787325; 8.284202, 98.787477; 8.284376, 98.787484; 8.284531, 98.787494; 8.285072, 98.786889; 8.285216, 98.786792; 8.28551, 98.7867; 8.285431, 98.7867
Khao Phanom	Khao Phanom	8.228696, 99.051105; 8.229075, 99.05114; 8.229143, 99.051274; 8.229187, 99.051432; 8.229278, 99.051559; 8.229294, 99.051728; 8.22936, 99.051874; 8.22943, 99.052004; 8.22951, 99.052183; 8.229539, 99.052222; 8.229658, 99.052468; 8.229702, 99.052555; 8.229756, 99.052725; 8.229774, 99.052937; 8.229927, 99.053084; 8.229974, 99.053204; 8.230043, 99.05339; 8.230098, 99.053528; 8.230168, 99.053683; 8.230395, 99.053809; 8.230574, 99.053912; 8.230729, 99.053932; 8.230927, 99.053913; 8.230941, 99.054058; 8.230784, 99.053995; 8.230563, 99.054033; 8.23039, 99.054042; 8.23033, 99.053988; 8.230295, 99.053896; 8.230266, 99.053675; 8.229995, 99.053321; 8.229189, 99.051077; 8.229217, 99.051228; 8.229313, 99.051387; 8.229389, 99.051583; 8.229416, 99.051732; 8.22951, 99.051866; 8.229564, 99.052032; 8.229878, 99.052431; 8.229632, 99.052204; 8.229728, 99.052512; 8.229803, 99.052644; 8.229889, 99.052798; 8.229965, 99.052958; 8.230011, 99.053106; 8.230145, 99.053316; 8.230202, 99.053462; 8.230263, 99.053621; 8.230413, 99.053648; 8.230384, 99.053474; 8.230274, 99.053342; 8.230252, 99.053235; 8.230166, 99.053066; 8.230099, 99.052907; 8.230035, 99.05278; 8.229981, 99.052608; 8.241991, 99.038411; 8.242011, 99.038528; 8.242164, 99.038644; 8.242157, 99.038656; 8.242301, 99.038795; 8.242421, 99.038896; 8.242575, 99.039037; 8.24269, 99.039137; 8.242603, 99.03919; 8.242507, 99.039143; 8.24237, 99.038934; 8.242117, 99.038948; 8.242037, 99.038917; 8.24189, 99.038793; 8.241806, 99.038701; 8.241692, 99.038865; 8.241571, 99.038936; 8.241495, 99.039096; 8.241442, 99.039253; 8.24152, 99.039385; 8.241797, 99.038744; 8.241997, 99.038292; 8.242087, 99.038406; 8.242273, 99.038556; 8.242267, 99.038394; 8.24219, 99.038269; 8.242011, 99.0381; 8.241971, 99.037916; 8.242082, 99.038047; 8.242232, 99.038171; 8.242421, 99.038254; 8.242584, 99.038363; 8.24266, 99.038459; 8.24284, 99.038559; 8.242969, 99.038689; 8.243037, 99.038765; 8.241679, 99.038823; 8.241405, 99.03891; 8.241211, 99.039088; 8.241063, 99.039113; 8.241096, 99.039194; 8.240995, 99.039392; 8.241162, 99.039149; 8.241337, 99.039102
Nuea Khlong	Huai Yung	8.134773, 99.020735; 8.134546, 99.020661; 8.134364, 99.020637; 8.134196, 99.020616; 8.134075, 99.020577; 8.13408, 99.02047; 8.134241, 99.02043; 8.134306, 99.020423; 8.134394, 99.0205; 8.134443, 99.020643; 8.134521, 99.020581; 8.134444, 99.020442; 8.134397, 99.02029; 8.134417, 99.020376; 8.134529, 99.02044; 8.134424, 99.02034; 8.134927, 99.020813; 8.135267, 99.020876; 8.135013, 99.020975; 8.134873, 99.020821; 8.134832, 99.020954; 8.134863, 99.021161; 8.134875, 99.021248; 8.134949, 99.021393;

Table 2: Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates					
Krabi	Nuea Khlong	Huai Yung		8.13503, 99.021506; 8.134774, 99.021271; 8.134826, 99.020956; 8.134798, 99.020812; 8.13471, 99.020908; 8.134598, 99.021023; 8.134498, 99.020917; 8.134601, 99.020813; 8.132503, 99.026557; 8.132325, 99.026282; 8.13233, 99.026115; 8.132231, 99.025936; 8.132309, 99.025833; 8.132146, 99.025608; 8.132068, 99.025446; 8.131886, 99.025418; 8.131848, 99.025463; 8.131763, 99.025615; 8.131681, 99.025759; 8.131595, 99.025905; 8.131551, 99.025931; 8.13144, 99.025731; 8.131352, 99.025624; 8.131213, 99.025638; 8.131217, 99.025716; 8.131233, 99.025803; 8.131302, 99.025896; 8.131289, 99.02584; 8.131402, 99.025486; 8.13143, 99.025394; 8.131437, 99.025252; 8.131867, 99.025366; 8.132093, 99.025374; 8.132156, 99.025628; 8.132164, 99.025613; 8.132451, 99.026675; 8.132474, 99.026614; 8.132659, 99.02638; 8.132609, 99.026198; 8.132494, 99.025948; 8.132444, 99.025704; 8.132406, 99.025505; 8.132334, 99.025233; 8.132219, 99.025033; 8.132353, 99.025001; 8.132414, 99.025218; 8.13263, 99.025021; 8.132745, 99.025208; 8.132797, 99.025477; 8.132909, 99.025702; 8.132994, 99.025885; 8.133143, 99.025829; 8.133081, 99.02567; 8.132954, 99.025377; 8.132841, 99.025228; 8.132779, 99.024938; 8.132912, 99.024908; 8.132948, 99.025175; 8.133129, 99.025315; 8.133217, 99.02554; 8.13326, 99.025748; 8.132973, 99.0261; 8.133098, 99.026044					
			Plai Phraya	Plai Phraya		8.5861111, 98.9188889; 8.6158333, 98.8847222; 8.6141667, 98.8855556; 8.6141667, 98.8855556; 8.6005556, 98.9027778; 8.639432, 98.891571			
					Plai Phraya	Klongpuan	8.6158333, 98.8847222; 8.6141667, 98.8855556; 8.6141667, 98.8855556		
					Plai Phraya	Ban Nha Suan	8.6005556, 98.9027778		
				Phang-nga	Khura Buri	Mae Ya Nang Kao		9.1537083, 98.4247222; 9.1537083, 98.4247222; 9.16227, 98.408962; 9.163976, 98.405425; 9.164677, 98.397739; 9.173078, 98.405859	
				Phatthalung	Srinagarindra	Ban Na		7.561577, 99.918313	
							Lam Sin		7.570163, 99.94011
							Chumphon		7.56994, 99.944961; 7.567818, 99.948429; 7.564332, 99.964804; 7.583628, 99.958958
							Ang Thong		7.564332, 99.964804
	Prachuap Khiri Khan Mueang			Bo Nok		11.9702778, 99.8077778; 11.9702778, 99.8077778			
	Surat Thani	Mueang	Makham Tia		9.085768, 99.345557; 9.085688, 99.345617; 9.08558, 99.345645; 9.085483, 99.345724; 9.085354, 99.345808; 9.085268, 99.345942; 9.085148, 99.346044; 9.085003, 99.346086; 9.085105, 99.346165; 9.085204, 99.346081; 9.085307, 99.346001; 9.085423, 99.345872; 9.085551, 99.345787; 9.085686, 99.345786; 9.085762, 99.345789; 9.085663, 99.345415; 9.08556, 99.345533; 9.085453, 99.34563; 9.085344, 99.34573; 9.085206, 99.345784; 9.085064, 99.345932; 9.084934, 99.346045; 9.084806, 99.34619; 9.085006, 99.346138; 9.085046, 99.346099; 9.085227, 99.345967; 9.085348, 99.345861; 9.085458, 99.345767; 9.085559, 99.345692; 9.085684, 99.34561				
				Khlung Noi		9.145244, 99.268441; 9.145455, 99.268739; 9.145674, 99.26902; 9.145882, 99.269232; 9.145976, 99.269614; 9.145699, 99.269285; 9.14548, 99.269021; 9.145244, 99.268716; 9.145027, 99.268537; 9.145167, 99.268679; 9.145374, 99.268984; 9.145634, 99.269267; 9.145816, 99.269506; 9.145968, 99.269422; 9.14574, 99.269152; 9.145361, 99.268171; 9.145525, 99.268371; 9.145753, 99.268672; 9.146, 99.268927; 9.146245, 99.269179; 9.146229, 99.269179; 9.145951, 99.268853; 9.145745, 99.268551; 9.145529, 99.268327; 9.145276, 99.268235; 9.145451, 99.268488; 9.145697, 99.268777; 9.145814, 99.268915; 9.14589, 99.26901; 9.146102, 99.269258; 9.146143, 99.269361; 9.145588, 99.268615; 9.139123, 99.269668; 9.139441, 99.269699; 9.139654, 99.269737; 9.139537, 99.269696; 9.13935, 99.269644; 9.13913, 99.269593; 9.139042, 99.269563; 9.138951, 99.2697; 9.139215, 99.269773; 9.139363, 99.269798; 9.139945, 99.269855; 9.139996, 99.269689; 9.139996, 99.269539; 9.142847, 99.253318; 9.142862, 99.253387; 9.142889, 99.253529; 9.142926, 99.25368; 9.142955, 99.253846; 9.143079, 99.253867; 9.143032, 99.253665; 9.143014, 99.253537; 9.142962, 99.253344; 9.14295, 99.253215; 9.143056, 99.253142; 9.143114, 99.253313; 9.143181, 99.253421; 9.143185, 99.253553; 9.143203, 99.253707; 9.143307, 99.253716; 9.143273, 99.253499; 9.142911, 99.253198; 9.142946, 99.253428; 9.142948, 99.253541; 9.143009, 99.25371; 9.143033, 99.253855; 9.143159, 99.253774; 9.143101, 99.253596; 9.143071, 99.253432; 9.143055, 99.253244; 9.143165, 99.253203; 9.143205, 99.253375; 9.143229, 99.253493; 9.143278, 99.253656; 9.145556, 99.2658333; 9.145556, 99.2658333; 9.1458333, 99.2658333; 9.1458333, 99.265556; 9.1461111, 99.2658333; 9.1472222, 99.2658333; 9.1472222, 99.2658333; 9.1472222, 99.2658333; 9.1472222, 99.2658333; 9.1466667, 99.265556; 9.1452778, 99.2683333; 9.145556, 99.2658333; 9.1458333, 99.2658333; 9.1458333, 99.265556; 9.1461111, 99.2658333; 9.1472222, 99.2658333; 9.1472222, 99.2658333; 9.1472222, 99.2658333; 9.1466667, 99.265556; 9.1452778, 99.2683333; 9.135556, 99.2788889; 9.1322222, 99.2836111; 9.145556, 99.2658333			

Khlong Noi	Ban Kho Klang	9.132482, 99.249187; 9.132276, 99.24983; 9.132556, 99.249558; 9.132653, 99.249495; 9.132777, 99.249345; 9.132847, 99.24936; 9.132706, 99.249503; 9.132585, 99.249587; 9.132478, 99.249703; 9.132381, 99.249785; 9.132447, 99.249834; 9.132565, 99.249731; 9.132675, 99.249622; 9.132811, 99.249477; 9.132914, 99.249374; 9.132706, 99.249967; 9.132806, 99.249867; 9.132967, 99.249725; 9.13261, 99.249939; 9.132698, 99.249837; 9.13277, 99.249726; 9.132878, 99.249613; 9.132999, 99.249485; 9.133039, 99.249536; 9.132905, 99.249666; 9.132821, 99.249741; 9.132651, 99.249927; 9.132763, 99.249918; 9.132847, 99.249802; 9.132938, 99.249727; 9.133046, 99.249601
------------	---------------	--

Table 2: Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Surat Thani		Khlong Noi	Ban Kho Lang	9.145615, 99.265702; 9.145918, 99.265758; 9.146241, 99.265794; 9.146562, 99.265876; 9.146856, 99.26587; 9.14715, 99.265915; 9.147498, 99.265974; 9.147492, 99.265796; 9.147114, 99.265726; 9.146801, 99.265668; 9.146514, 99.26564; 9.146178, 99.265598; 9.145877, 99.265573; 9.145552, 99.265536; 9.145394, 99.265172; 9.145915, 99.265228; 9.145681, 99.265855; 9.145903, 99.265899; 9.146285, 99.265931; 9.146556, 99.265974; 9.146792, 99.265996; 9.147073, 99.266063; 9.147398, 99.266084; 9.147636, 99.265957; 9.147442, 99.265601; 9.147284, 99.265592; 9.146976, 99.265543; 9.146727, 99.265512; 9.146446, 99.265477; 9.146138, 99.265438; 9.145815, 99.2654; 9.145554, 99.265329
	Kanchanadit	Takhian Thong		9.16004, 99.43942; 9.15999, 99.439313; 9.159932, 99.43916; 9.159886, 99.439042; 9.159864, 99.438914; 9.159811, 99.43897; 9.159858, 99.439109; 9.159898, 99.439246; 9.159954, 99.439374; 9.160005, 99.439492; 9.15989, 99.439428; 9.159877, 99.439273; 9.159801, 99.43916; 9.159751, 99.438984; 9.159924, 99.438965; 9.15996, 99.439088; 9.160004, 99.439243; 9.160047, 99.439366; 9.159882, 99.439539; 9.159802, 99.43939; 9.159775, 99.439249; 9.159714, 99.439088; 9.159674, 99.439014; 9.159608, 99.439004; 9.159648, 99.439101; 9.159704, 99.439228; 9.15976, 99.439355; 9.159764, 99.439413; 9.159766, 99.43943; 9.160033, 99.439505; 9.159271, 99.437522; 9.159179, 99.437543; 9.159026, 99.437551; 9.158848, 99.437653; 9.158696, 99.437639; 9.158522, 99.437669; 9.158526, 99.437532; 9.15864, 99.437569; 9.158849, 99.437492; 9.158945, 99.437455; 9.159096, 99.437422; 9.159099, 99.437341; 9.158948, 99.437241; 9.158789, 99.437353; 9.15867, 99.437372; 9.159485, 99.437632; 9.159237, 99.4377; 9.159149, 99.437716; 9.158961, 99.437775; ; 9.158749, 99.43782; 9.158588, 99.437852; 9.15844, 99.437866; 9.158476, 99.437868; 9.158639, 99.437843; 9.158771, 99.43782; 9.159518, 99.437408; 9.159104, 99.43777; 9.15924, 99.437702; 9.159377, 99.437677; 9.159457, 99.43774; 9.159381, 99.437786; 9.159309, 99.437779; 9.159219, 99.43782; 9.159136, 99.437846; 9.159737, 99.437552; 9.159716, 99.437547; 9.159699, 99.437541; 9.159629, 99.437707; 9.159693, 99.437838; 9.176054, 99.442286; 9.175897, 99.442303; 9.175697, 99.442297; 9.175521, 99.442227; 9.176036, 99.442203; 9.175904, 99.442167; 9.175767, 99.442158; 9.175607, 99.442153; 9.175998, 99.441767; 9.175839, 99.441688; 9.175628, 99.441707; 9.176024, 99.44158; 9.175844, 99.441557; 9.175725, 99.441543; 9.175577, 99.44154; 9.176074, 99.442071; 9.175947, 99.442016; 9.175772, 99.442011; 9.175619, 99.441993; 9.175559, 99.441967; 9.175705, 99.441973; 9.175848, 99.441996; 9.176009, 99.442007; 9.176083, 99.441912; 9.17593, 99.441871; 9.175778, 99.441871; 9.1756, 99.441844; 9.175575, 99.441814; 9.175757, 99.441832; 9.175934, 99.44186; 9.176047, 99.441862; 9.17607, 99.441978
		Kadee		9.174527, 99.459029; 9.174531, 99.459028; 9.174627, 99.459103; 9.174631, 99.459082; 9.174652, 99.459088; 9.174676, 99.459079; 9.174929, 99.459019; 9.174907, 99.459031; 9.174893, 99.45901; 9.174834, 99.459037; 9.174795, 99.459011; 9.174703, 99.459015; 9.174623, 99.459029; 9.174604, 99.459075; 9.174501, 99.459071; 9.174484, 99.45903; 9.174618, 99.459033; 9.174656, 99.459062; 9.174531, 99.458927; 9.174629, 99.458973; 9.174694, 99.458945; 9.174751, 99.45895; 9.174759, 99.458952; 9.174779, 99.458958; 9.174861, 99.458965; 9.174853, 99.45897; 9.174923, 99.45896; 9.174985, 99.458948; 9.175088, 99.458955; 9.175065, 99.458975; 9.175022, 99.45902; 9.174819, 99.458976; 9.174748, 99.458965
		Kadee	Na Trok	9.171831, 99.461671; 9.171874, 99.461894; 9.171942, 99.46222; 9.171944, 99.462489; 9.17197, 99.462715; 9.172065, 99.462885; 9.171933, 99.462795; 9.171916, 99.462818; 9.171791, 99.462754; 9.171593, 99.462566; 9.171344, 99.462307; 9.171309, 99.462033; 9.17132, 99.46172; 9.171411, 99.461686; 9.171444, 99.461995; 9.171571, 99.46226; 9.171587, 99.461968; 9.171568, 99.461677; 9.171601, 99.461534; 9.171695, 99.46181; 9.171979, 99.461534; 9.172023, 99.461704; 9.172041, 99.461903; 9.172051, 99.462146; 9.172069, 99.462398; 9.172101, 99.462652; 9.172136, 99.462884; 9.172224, 99.462981; 9.17225, 99.462806; 9.172222, 99.462576; 9.172205, 99.462345; 9.172187, 99.462143; 9.172194, 99.461924; 9.172166, 99.461735; 9.172144, 99.461577; 9.172259, 99.461612; 9.172317, 99.461737; 9.17232, 99.461965; 9.172368, 99.462209; 9.172372, 99.462423; 9.172392, 99.462622; 9.172407, 99.462905; 9.172465, 99.463041; 9.172476, 99.462794; 9.172467, 99.462481; 9.172471, 99.462231; 9.172424, 99.462052; 9.172399, 99.461848; 9.17224, 99.461603; 9.172479, 99.461605

Kadee	Ban Son	9.168774, 99.459217; 9.168761, 99.459378; 9.168663, 99.459562; 9.168717, 99.459615; 9.168805, 99.459554; 9.168593, 99.459592; 9.168608, 99.45947; 9.168668, 99.459333; 9.168718, 99.459178; 9.168721, 99.459093; 9.168657, 99.459229; 9.168609, 99.459422; 9.168511, 99.459607; 9.168498, 99.459537; 9.168543, 99.459418; 9.1686, 99.459197; 9.168372, 99.459287; 9.168291, 99.459369; 9.168345, 99.459422; 9.168363, 99.459455; 9.168415, 99.45949; 9.168436, 99.459453; 9.168488, 99.459462; 9.168485, 99.459432; 9.168445, 99.459401; 9.168437, 99.459311; 9.16847, 99.459243; 9.16848, 99.45924; 9.168515, 99.459329; 9.168579, 99.459299; 9.168581, 99.459168
Phlai Wat	Ban Nong Plae	9.167882, 99.496478; 9.167818, 99.49651; 9.167628, 99.496557; 9.167445, 99.496592; 9.167372, 99.496671; 9.167187, 99.496639; 9.166971, 99.496676; 9.167092, 99.496582; 9.16721, 99.496536; 9.167347, 99.496511; 9.167512, 99.496482; 9.167672, 99.496456; 9.167836, 99.496422; 9.167922, 99.496385; 9.167802, 99.496378; 9.167572, 99.49643; 9.167421, 99.496477; 9.167255, 99.496476; 9.16703, 99.496525; 9.167955, 99.496529; 9.167802, 99.496562; 9.16764, 99.496573; 9.167497, 99.496612; 9.167348, 99.496651; 9.167193, 99.496663; 9.167039, 99.496683; 9.167021, 99.496689; 9.167196, 99.496607; 9.167116, 99.496453; 9.167156, 99.496462; 9.167295, 99.496415; 9.167457, 99.496393; 9.167643, 99.496379; 9.167862, 99.49634; 9.167789, 99.496535

Table 2: Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Surat Thani	Ban Na San	Thung Tao Mai		8.953702, 99.393217; 8.95373, 99.393403; 8.953746, 99.393523; 8.953736, 99.393698; 8.953762, 99.393714; 8.95379, 99.39401; 8.953796, 99.394213; 8.953843, 99.394322; 8.953844, 99.394532; 8.953844, 99.394662; 8.953855, 99.394855; 8.953901, 99.395023; 8.953925, 99.395228; 8.953945, 99.395401; 8.954066, 99.395662; 8.95366, 99.393183; 8.953681, 99.393327; 8.953721, 99.393511; 8.953734, 99.393697; 8.953737, 99.393871; 8.953787, 99.39401; 8.953749, 99.394216; 8.953779, 99.394386; 8.953808, 99.394532; 8.95383, 99.394736; 8.953829, 99.394861; 8.953876, 99.395051; 8.953954, 99.395211; 8.95396, 99.395313; 8.953894, 99.395566
		Khuan Suban		8.884385, 99.413621; 8.884141, 99.413589; 8.883952, 99.413545; 8.883723, 99.41355; 8.883452, 99.413492; 8.88317, 99.41346; 8.883104, 99.413436; 8.883417, 99.41346; 8.883696, 99.413509; 8.883875, 99.413521; 8.884103, 99.413558; 8.884402, 99.413602; 8.884172, 99.41346; 8.8839, 99.413409; 8.883609, 99.413391; 8.883351, 99.413341; 8.883111, 99.413321; 8.882916, 99.413293; 8.882828, 99.413267; 8.88308, 99.413263; 8.883282, 99.413283; 8.883459, 99.4133; 8.883698, 99.413356; 8.883968, 99.413405; 8.884076, 99.413413; 8.884333, 99.413438; 8.884328, 99.413096; 8.884108, 99.413108; 8.883905, 99.413014; 8.883605, 99.412971; 8.883315, 99.412954; 8.883094, 99.412824; 8.883167, 99.412814; 8.883636, 99.412788; 8.883881, 99.412923; 8.884344, 99.413216; 8.883817, 99.413163; 8.883366, 99.413109; 8.883472, 99.41323; 8.875638, 99.381619; 8.875601, 99.381657; 8.87565, 99.381556; 8.875621, 99.381409; 8.875594, 99.381282; 8.875572, 99.381166; 8.875556, 99.381019; 8.875546, 99.380867; 8.875635, 99.380702; 8.875525, 99.38062; 8.875533, 99.380471; 8.875554, 99.38034; 8.875497, 99.380171; 8.875461, 99.38012; 8.875465, 99.379976; 8.875427, 99.379942; 8.875713, 99.381651; 8.875727, 99.381508; 8.875741, 99.381399; 8.875728, 99.381248; 8.875705, 99.381116; 8.875703, 99.380976; 8.875675, 99.380831; 8.875676, 99.380698; 8.875631, 99.380565; 8.875625, 99.380451; 8.875603, 99.380307; 8.875636, 99.380182; 8.875625, 99.380054; 8.875603, 99.379752; 8.875564, 99.379598
		Thung Tao Mai	Ban Nong Silpachai	8.94436, 99.39769; 8.944409, 99.397817; 8.944478, 99.397965; 8.94459, 99.398133; 8.944647, 99.398259; 8.944692, 99.398335; 8.944795, 99.398546; 8.944852, 99.398666; 8.944931, 99.398807; 8.945021, 99.398975; 8.945195, 99.399303; 8.945357, 99.399607; 8.945525, 99.399937; 8.945684, 99.400236; 8.945787, 99.400498; 8.945681, 99.400257; 8.945554, 99.400017; 8.945416, 99.399741; 8.945268, 99.399477; 8.945121, 99.399174; 8.944952, 99.398855; 8.944752, 99.398539; 8.944605, 99.398253; 8.944457, 99.397968; 8.944316, 99.397708; 8.944194, 99.397833; 8.944371, 99.398131; 8.944522, 99.398409; 8.944671, 99.398691; 8.944832, 99.399; 8.944961, 99.399287; 8.94512, 99.399572; 8.945267, 99.399844; 8.945413, 99.400139; 8.944409, 99.397931; 8.944179, 99.39813; 8.944291, 99.398357; 8.944415, 99.398578; 8.944547, 99.398792; 8.944671, 99.39889; 8.944783, 99.399196; 8.945029, 99.399629; 8.94525, 99.400037; 8.94547, 99.400461; 8.945541, 99.400831; 8.945205, 99.400458; 8.944994, 99.399974; 8.944763, 99.399593; 8.94454, 99.399148; 8.944258, 99.398696; 8.944082, 99.398251; 8.943916, 99.398088; 8.944084, 99.398472; 8.944316, 99.398911; 8.94458, 99.399417; 8.944799, 99.399816; 8.945057, 99.400253; 8.945342, 99.400676

	Thung Tao Mai	Ban Hua Thanon	8.91058, 99.402501; 8.910315, 99.402404; 8.910051, 99.402333; 8.909837, 99.402299; 8.909887, 99.402351; 8.910102, 99.402482; 8.910353, 99.402559; 8.910507, 99.402624; 8.910445, 99.402653; 8.910242, 99.402591; 8.909968, 99.402508; 8.909818, 99.402496; 8.909999, 99.402607; 8.910235, 99.402637; 8.910489, 99.402782; 8.910326, 99.402807; 8.910073, 99.40272; 8.909844, 99.402643; 8.909793, 99.40266; 8.909981, 99.402774; 8.910077, 99.402899; 8.909804, 99.402793; 8.909765, 99.402872; 8.90981, 99.402981; 8.909972, 99.402938; 8.910705, 99.402557; 8.911077, 99.402314; 8.91082, 99.402204; 8.910599, 99.402105; 8.910392, 99.402022; 8.91011, 99.401978; 8.909936, 99.401882; 8.909934, 99.40206; 8.91019, 99.402163; 8.910399, 99.402225; 8.910632, 99.402306; 8.910862, 99.402355; 8.910561, 99.402391; 8.910338, 99.402351; 8.910117, 99.402312; 8.909865, 99.402197
Khian Sa	Khian Sa		8.839485, 99.181261; 8.839609, 99.181283; 8.839766, 99.181357; 8.839944, 99.181418; 8.840107, 99.181484; 8.840246, 99.18153; 8.840405, 99.181606; 8.840576, 99.18156; 8.840436, 99.181506; 8.840281, 99.181462; 8.840124, 99.181401; 8.839934, 99.181357; 8.839806, 99.181282; 8.839668, 99.181186; 8.839566, 99.181111; 8.839735, 99.18118; 8.839931, 99.181247; 8.840047, 99.18131; 8.840206, 99.181353; 8.84035, 99.181415; 8.839771, 99.181667; 8.839745, 99.181673; 8.839774, 99.181549; 8.83995, 99.181626; 8.839918, 99.181573; 8.839764, 99.181508; 8.839588, 99.181478; 8.839523, 99.18135; 8.839709, 99.181405; 8.839867, 99.181465; 8.839979, 99.181511; 8.843876, 99.193845; 8.843907, 99.194282; 8.843946, 99.194799; 8.84401, 99.195437; 8.844043, 99.195989; 8.843909, 99.196117; 8.843928, 99.195895; 8.843903, 99.195618; 8.843866, 99.195313; 8.843853, 99.195033; 8.843847, 99.19473; 8.84381, 99.194449; 8.843789, 99.194171; 8.84378, 99.19391; 8.843516, 99.193881; 8.843512, 99.194059; 8.843529, 99.194386; 8.84357, 99.1947; 8.84358, 99.194951; 8.843607, 99.195195; 8.843636, 99.195494; 8.843664, 99.195832; 8.843661, 99.196069; 8.843782, 99.196106; 8.843714, 99.196031; 8.843659, 99.195805; 8.843643, 99.195417; 8.843643, 99.195145; 8.84361, 99.194868; 8.843607, 99.194572; 8.843569, 99.194302; 8.843547, 99.193926; 8.843956, 99.1939; 8.84396, 99.194152; 8.844019, 99.194523; 8.844027, 99.194726; 8.844054, 99.19499; 8.844078, 99.195332; 8.844069, 99.195579; 8.844113, 99.195919; 8.843799, 99.196043; ; 8.84377, 99.195548; 8.843701, 99.195461; 8.843727, 99.195424; 8.84373, 99.195321; 8.843751, 99.19506; 8.843685, 99.194774; 8.843695, 99.194471; 8.843679, 99.194209; 8.843639, 99.193916; 8.843918, 99.196034; 8.785381, 99.18753;

Table 2: Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Surat Thani	Khian Sa	Khian Sa		8.785556, 99.187704; 8.785654, 99.187804; 8.785855, 99.18793; 8.786039, 99.187819; 8.785874, 99.187661; 8.785772, 99.187527; 8.785494, 99.187347; 8.785714, 99.187338; 8.785936, 99.187507; 8.786092, 99.187657; 8.786226, 99.187682; 8.786073, 99.187437; 8.785872, 99.187279; 8.786006, 99.187242; 8.786196, 99.18739; 8.786367, 99.187463; 8.786378, 99.187409; 8.786158, 99.187231; 8.786167, 99.187173; 8.786384, 99.187287; 8.786448, 99.1873; 8.786387, 99.187055; 8.785424, 99.187396; 8.785668, 99.187573; 8.785845, 99.187783; 8.785957, 99.187701; 8.785827, 99.187495; 8.785587, 99.18734; 8.785958, 99.187176; 8.785935, 99.187441; 8.78592, 99.187676; 8.786269, 99.187728; 8.84, 99.1819444; 8.7944444, 99.1627778; 8.796517, 99.175103
		Arankhamwari		8.7602778, 99.1627778; 8.7602778, 99.1633333
		Phuang Phromkhon		8.6755556, 99.1247222
		Ban Khian Sa	Plai Lik	8.84, 99.1819444
		Ban Khian Sa	Phuang Phromkhon	8.6755556, 99.1247222
		Khian Sa	Ban Sadet	8.7944444, 99.1627778
		Khian Sa	Ban Huay Nam Tao	8.7602778, 99.1627778; 8.7602778, 99.1633333

Phrasaeng	Bang Sawan		8.638375, 98.986461; 8.638568, 98.986467; 8.638354, 98.986552; 8.638112, 98.986674; 8.637894, 98.986749; 8.637617, 98.986799; 8.63737, 98.986871; 8.637141, 98.986934; 8.637073, 98.986982; 8.63701, 98.987017; 8.636848, 98.987045; 8.636845, 98.987187; 8.636943, 98.986854; 8.637175, 98.986795; 8.6374, 98.986728; 8.637665, 98.986638; 8.637883, 98.986603; 8.638107, 98.986519; 8.638359, 98.986458; 8.638309, 98.986294; 8.638117, 98.986345; 8.637843, 98.986443; 8.637708, 98.986501; 8.637395, 98.98655; 8.637148, 98.986575; 8.637136, 98.986512; 8.637464, 98.986426; 8.63775, 98.986509; 8.637923, 98.986548; 8.637996, 98.986616; 8.638397, 98.986553; 8.638337, 98.986732; 8.638093, 98.986785; 8.637917, 98.986831; 8.637579, 98.986913; 8.637349, 98.986984; 8.637145, 98.98706; 8.637008, 98.987245; 8.637248, 98.987212; 8.637481, 98.987189; 8.637722, 98.987086; 8.637955, 98.98701; 8.638157, 98.986911; 8.638269, 98.987032; 8.63801, 98.987182; 8.637756, 98.987173; 8.637853, 98.98749; 8.637661, 98.98754; 8.637289, 98.98764; 8.63712, 98.987689; 8.637139, 98.987851; 8.637414, 98.987752; 8.637597, 98.987722; 8.637816, 98.987636; 8.638098, 98.98754; 8.6413889, 98.9716667; 8.6425, 98.9677778; 8.6413889, 98.9716667; 8.6425, 98.9677778; 8.5961111, 98.9483333; 8.6066667, 98.9575; 8.6413889, 99.0311111; 8.6411111, 99.0686111; 8.9291667, 99.2586111; 8.9866667, 99.2063889			
		Bang Sawan	Ban Bang Sawan	8.5861111, 98.9188889; 8.5961111, 98.9483333; 8.6066667, 98.9575; 8.6413889, 99.0311111; 8.6411111, 99.0686111; 8.9291667, 99.2586111; 8.9866667, 99.2063889		
		Ipan	Ban Plaiseang	8.602144, 99.234508; 8.601965, 99.234514; 8.601766, 99.234588; 8.601594, 99.234599; 8.601429, 99.234628; 8.601398, 99.234654; 8.601593, 99.234648; 8.601808, 99.234605; 8.602007, 99.234604; 8.602114, 99.234579; 8.602003, 99.234419; 8.602032, 99.234434; 8.601765, 99.234442; 8.601535, 99.234507; 8.601433, 99.234745; 8.601731, 99.234671		
		Tha Chana	Prasong		9.494228, 99.13392; 9.494172, 99.133884; 9.493953, 99.13384; 9.493819, 99.133798; 9.493222, 99.133757; 9.493353, 99.133821; 9.493524, 99.13388; 9.493681, 99.133914; 9.493814, 99.133953; 9.493957, 99.134052; 9.494135, 99.134106; 9.49427, 99.134151; 9.494401, 99.134183; 9.494288, 99.134303; 9.494133, 99.134243; 9.494228, 99.134411; 9.49415, 99.1344; 9.493983, 99.134376; 9.493848, 99.134286; 9.493702, 99.13424; 9.493506, 99.134197; 9.493398, 99.134177; 9.493221, 99.134123; 9.493129, 99.134057; 9.493122, 99.133962; 9.493264, 99.13401; 9.493342, 99.134063; 9.493525, 99.134105; 9.493688, 99.134163; 9.49381, 99.13421; 9.493994, 99.13426; 9.494171, 99.134328; 9.494218, 99.134378	
				Phunphin	Khao Hua Khwai	9.092592, 99.222569; 9.092648, 99.222508; 9.092669, 99.222369; 9.092711, 99.222382; 9.092843, 99.222351; 9.092918, 99.222296; 9.092977, 99.222232; 9.093031, 99.222177; 9.093061, 99.222159; 9.093028, 99.22209; 9.092958, 99.222032; 9.092882, 99.222038; 9.092856, 99.222105; 9.092802, 99.222158; 9.0927, 99.222219; 9.092633, 99.222277; 9.09257, 99.222232; 9.092502, 99.222389; 9.092434, 99.222433; 9.092491, 99.222505; 9.092507, 99.222471; 9.092639, 99.222413; 9.09264, 99.222389; 9.092721, 99.222333; 9.092795, 99.222273; 9.092851, 99.222217; 9.092919, 99.222161; 9.092954, 99.222114; 9.092215, 99.222553; 9.092052, 99.222643; 9.091894, 99.222786; 9.091717, 99.222942; 9.091166, 99.223047; 9.091478, 99.223141; 9.091403, 99.223199; 9.0913, 99.22328; 9.091146, 99.223403; 9.09102, 99.223485; 9.090845, 99.223649; 9.090808, 99.223669; 9.090665, 99.223787; 9.090647, 99.223796; 9.087641, 99.215456; 9.087547, 99.215469; 9.087547, 99.215469; 9.087499, 99.215496; 9.087424, 99.215561; 9.08736, 99.215597; 9.087265, 99.215642; 9.087219, 99.215682; 9.087159, 99.215746; 9.087094, 99.215796; 9.087056, 99.215828; 9.087, 99.215874; 9.087048, 99.215927; 9.08691, 99.215937; 9.086835, 99.215983; 9.086819, 99.216006; 9.086819, 99.216006; 9.086658, 99.216136; 9.086586, 99.21619; 9.086519, 99.216254; 9.086387, 99.216326; 9.086368, 99.216349; 9.086252, 99.216434; 9.086249, 99.216453; 9.087696, 99.215566; 9.087628, 99.215559; 9.087559, 99.215628; 9.087541, 99.215632; 9.087461, 99.215694; 9.087433, 99.215722; 9.087491, 99.21582; 9.087317, 99.215955; 9.087243, 99.215992; 9.08718, 99.216061; 9.086841, 99.216324; 9.086781, 99.216336; 9.086794, 99.216269; 9.086888, 99.216193; 9.086965, 99.216142; 9.087022, 99.2162; 9.063043, 99.261794; 9.063249, 99.262003;

Table 2: Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Surat Thani	Phunphin	Khao Hua Khwai		9.063363, 99.262183; 9.06353, 99.26237; 9.06374, 99.262429; 9.063585, 99.262246; 9.063462, 99.262023; 9.063297, 99.261863; 9.063132, 99.261643; 9.063284, 99.261543; 9.063389, 99.261737; 9.063551, 99.261958; 9.063706, 99.262147; 9.063847, 99.262322; 9.063967, 99.262266; 9.063825, 99.262085; 9.063669, 99.261848; 9.063532, 99.261707; 9.063354, 99.261471; 9.063462, 99.261414; 9.063616, 99.261539; 9.063756, 99.261762; 9.063918, 99.261952; 9.064066, 99.262145; 9.064187, 99.262083; 9.064004, 99.261869; 9.063877, 99.261662; 9.063707, 99.261485; 9.063578, 99.261316; 9.063634, 99.261172; 9.063135, 99.261723; 9.063312, 99.2619; 9.063387, 99.262048; 9.063532, 99.262248; 9.06368, 99.262397; 9.063819, 99.262416; 9.06371, 99.262212; 9.063588, 99.262004; 9.063447, 99.261856; 9.063308, 99.261663; 9.063376, 99.261525; 9.063498, 99.261667; 9.063672,

99.261911; 9.063814, 99.262082; 9.063987, 99.262229; 9.064057, 99.262242; 9.063964, 99.262038; 9.063837, 99.261847; 9.063652, 99.261634; 9.063485, 99.261453

Phunphin

9.131066, 99.199174; 9.131248, 99.199238; 9.131456, 99.199309; 9.131651, 99.19937; 9.13186, 99.19944; 9.132094, 99.199517; 9.132287, 99.199573; 9.132501, 99.199638; 9.132729, 99.199704; 9.132912, 99.199773; 9.133143, 99.19981; 9.133325, 99.199868; 9.133453, 99.199889; 9.133271, 99.199835; 9.133074, 99.199784; 9.132851, 99.199706; 9.13266, 99.199651; 9.132466, 99.199581; 9.13225, 99.199494; 9.132035, 99.199456; 9.131809, 99.199397; 9.131631, 99.19934; 9.131387, 99.199268; 9.131178, 99.199148; 9.131063, 99.198943; 9.131187, 99.19897; 9.131354, 99.199032; 9.131488, 99.199064; 9.131604, 99.199127; 9.131768, 99.199148; 9.131919, 99.199203; 9.131988, 99.19924; 9.13216, 99.199255; 9.132316, 99.199337; 9.132569, 99.199393; 9.132721, 99.199403; 9.13292, 99.199484; 9.133072, 99.199496; 9.133194, 99.199567; 9.133332, 99.199613; 9.133483, 99.199645; 9.133618, 99.199701; 9.133592, 99.199703

Lilet

9.16735, 99.234054; 9.167189, 99.233979; 9.167046, 99.233896; 9.167005, 99.233951; 9.167125, 99.23405; 9.167249, 99.234178; 9.167308, 99.234147; 9.167184, 99.234184; 9.167066, 99.234123; 9.166911, 99.234067; 9.166962, 99.23412; 9.167109, 99.234221; 9.167231, 99.234315; 9.167195, 99.234407; 9.167106, 99.234329; 9.166946, 99.234289; 9.167096, 99.234415; 9.167191, 99.23448; 9.167176, 99.234605; 9.167053, 99.234463; 9.166831, 99.234399; 9.167135, 99.234647; 9.167048, 99.23466; 9.167024, 99.234734; 9.167614, 99.234208; 9.167628, 99.234269; 9.167574, 99.234558; 9.167609, 99.234478; 9.167713, 99.234352; 9.167788, 99.234198; 9.167805, 99.234278; 9.1677, 99.23441; 9.167598, 99.234503; 9.167466, 99.234685; 9.167394, 99.234792; 9.167383, 99.234913; 9.167515, 99.234777; 9.167658, 99.234617; 9.167739, 99.234494; 9.167839, 99.234393; 9.167946, 99.234258; 9.167957, 99.234294; 9.16787, 99.234438; 9.167757, 99.234516; 9.167659, 99.234688; 9.167325, 99.234336; 9.167416, 99.234233; 9.167394, 99.234219; 9.16749, 99.234101; 9.167189, 99.233563; 9.167127, 99.233523; 9.167174, 99.233476; 9.167257, 99.23345; 9.167284, 99.233362; 9.167273, 99.233498; 9.167377, 99.233445; 9.167463, 99.233404; 9.167543, 99.233411; 9.167628, 99.233433; 9.167683, 99.23349; 9.167161, 99.233637; 9.167117, 99.233591; 9.167056, 99.233526; 9.166977, 99.233613; 9.166942, 99.233596; 9.166956, 99.233639; 9.167058, 99.233638; 9.167115, 99.233656; 9.167131, 99.233617; 9.167039, 99.233675; 9.167119, 99.233747; 9.167154, 99.233735; 9.167168, 99.233755; 9.167243, 99.233564; 9.167244, 99.233498; 9.167296, 99.233438; 9.167394, 99.233462; 9.167407, 99.233472; 9.167446, 99.233482; 9.167496, 99.233491; 9.16761, 99.233517; 9.16765, 99.233528

Si Wichai

9.166138, 99.233264; 9.16619, 99.233466; 9.166211, 99.233599; 9.166177, 99.233698; 9.166103, 99.233529; 9.166019, 99.233383; 9.165981, 99.233246; 9.165937, 99.233145; 9.165863, 99.233012; 9.165813, 99.232861; 9.165744, 99.232698; 9.165758, 99.232633; 9.16559, 99.232597; 9.165653, 99.232774; 9.165705, 99.232915; 9.165748, 99.23304; 9.16581, 99.233206; 9.165874, 99.233389; 9.165932, 99.233563; 9.165966, 99.233699; 9.165845, 99.233724; 9.165866, 99.233807; 9.16578, 99.233585; 9.165668, 99.233265; 9.165592, 99.23311; 9.165529, 99.232878; 9.165484, 99.232711; 9.165369, 99.232774; 9.165426, 99.232905; 9.165466, 99.233064; 9.165548, 99.233313; 9.165976, 99.232988; 9.166021, 99.233146; 9.166056, 99.23322; 9.166093, 99.233308; 9.166139, 99.233472; 9.166249, 99.233741; 9.166044, 99.233591; 9.165994, 99.233523; 9.165967, 99.233335; 9.165881, 99.233144; 9.165891, 99.233056; 9.165796, 99.232891; 9.165642, 99.232894; 9.165683, 99.233016; 9.165619, 99.233021; 9.1658, 99.233302; 9.165849, 99.23347; 9.165924, 99.233633; 9.16598, 99.233634; 9.165798, 99.233783; 9.165754, 99.233629; 9.165703, 99.233484; 9.165652, 99.233328; 9.165525, 99.233084; 9.165508, 99.232918; 9.165409, 99.232777; 9.165402, 99.23275; 9.165457, 99.232745; 9.1661111, 99.2336111; 9.1661111, 99.2330556

Tha Chang

Khlong Sai

9.213264, 99.155783; 9.213117, 99.155795; 9.212936, 99.15574; 9.212774, 99.155727; 9.21262, 99.155712; 9.21256, 99.15556; 9.212701, 99.155572; 9.212846, 99.155586; 9.213033, 99.155626; 9.213167, 99.155645; 9.213281, 99.15566; 9.213337, 99.155546; 9.21316, 99.155522; 9.212963, 99.155488; 9.212836, 99.155465; 9.212651, 99.155429; 9.213189, 99.155923; 9.213016, 99.155879; 9.212852, 99.155862; 9.212659, 99.155844; 9.21255, 99.155935; 9.212544, 99.15595; 9.212888, 99.156008; 9.213006, 99.156021; 9.213008, 99.156176; 9.212898, 99.156188; 9.212741, 99.156175; 9.212593, 99.156124; 9.212608, 99.15629; 9.212649, 99.156349; 9.212785, 99.156312; 9.212822, 99.156342; 9.212865,

99.156323; 9.212888, 99.156326; 9.212924, 99.156323; 9.212935, 99.156341; 9.212986,
99.156315; 9.214519, 99.151702; 9.214588, 99.151684; 9.214837, 99.151708; 9.214935,
99.151699; 9.2151, 99.151685; 9.215283, 99.151694; 9.215441, 99.151708; 9.215582,
99.151715; 9.215791, 99.151726; 9.215947, 99.151716; 9.216117, 99.151732;

Table 2: Continued

Province	District	Subdistrict	Village	GPS coordinates
Surat Thani	Tha Chang	Khlong Sai		9.216328, 99.151744; 9.216452, 99.151723; 9.214448, 99.151825; 9.214636, 99.151886; 9.214796, 99.151875; 9.214904, 99.151838; 9.215145, 99.151874; 9.215301, 99.151831; 9.215478, 99.151845; 9.21451, 99.151643; 9.214609, 99.151585; 9.214831, 99.151519; 9.214946, 99.151565; 9.21516, 99.151585; 9.215328, 99.151585; 9.215487, 99.151586; 9.215687, 99.151567; 9.215813, 99.15158; 9.216182, 99.151583; 9.214529, 99.151448; 9.214718, 99.151455; 9.214969, 99.151443; 9.21517, 99.151453; 9.21539, 99.151452
		Tha Khoei		9.230586, 99.145281; 9.230735, 99.145363; 9.230856, 99.145454; 9.230983, 99.145468; 9.231119, 99.145537; 9.231251, 99.145625; 9.231457, 99.145677; 9.231395, 99.14579; 9.231269, 99.145756; 9.231116, 99.145705; 9.231, 99.145646; 9.230862, 99.145602; 9.230852, 99.145711; 9.23099, 99.145755; 9.231141, 99.145796; 9.231235, 99.145847; 9.231146, 99.145949; 9.230973, 99.14589; 9.230833, 99.145852; 9.23072, 99.145787; 9.230574, 99.145725; 9.230435, 99.145681; 9.230643, 99.145241; 9.230799, 99.145281; 9.23088, 99.145343; 9.231042, 99.145373; 9.231196, 99.145435; 9.231346, 99.145495; 9.231456, 99.145524; 9.231549, 99.145473; 9.231474, 99.145405; 9.231308, 99.145346; 9.23116, 99.145298; 9.231014, 99.145258; 9.230906, 99.145213; 9.230805, 99.145022; 9.230911, 99.145077; 9.229415, 99.148435; 9.229376, 99.148348; 9.229362, 99.148306; 9.229057, 99.148353; 9.228972, 99.14829; 9.229054, 99.148461; 9.229175, 99.148444; 9.229321, 99.148447; 9.229483, 99.148456; 9.229453, 99.148575; 9.229316, 99.148611; 9.229237, 99.148562; 9.22918, 99.148602; 9.229036, 99.14858; 9.229094, 99.148674; 9.229142, 99.148699; 9.229251, 99.148662; 9.229321, 99.148652; 9.229532, 99.148109; 9.229388, 99.148108; 9.229217, 99.148129; 9.22912, 99.148069; 9.229114, 99.148072; 9.228937, 99.147967; 9.229086, 99.147941; 9.229277, 99.147979; 9.229393, 99.14795; 9.229565, 99.147873; 9.229441, 99.147909; 9.22928, 99.147841; 9.229164, 99.147884; 9.228964, 99.147816; 9.228887, 99.147761; 9.228967, 99.147685; 9.22914, 99.147741; 9.229272, 99.147729; 9.229551, 99.147728
	Chaiya	Pa We		9.438974, 99.149604; 9.438961, 99.149879; 9.438952, 99.150066; 9.438933, 99.150261; 9.438876, 99.150465; 9.438862, 99.150597; 9.438845, 99.150714; 9.438803, 99.150894; 9.438799, 99.151; 9.438906, 99.151328; 9.438931, 99.15117; 9.438983, 99.150986; 9.439004, 99.150814; 9.439008, 99.150651; 9.43908, 99.15054; 9.439056, 99.150339; 9.439074, 99.150166; 9.439132, 99.149912; 9.438916, 99.149678; 9.438841, 99.149986; 9.438808, 99.150245; 9.438779, 99.150489; 9.438733, 99.150742; 9.438696, 99.151001; 9.438653, 99.15127; 9.438567, 99.151575; 9.438555, 99.151802; 9.438661, 99.151948; 9.438764, 99.151551; 9.438801, 99.151289; 9.438795, 99.151029; 9.438849, 99.150735; 9.438873, 99.15044; 9.46291, 99.153196; 9.462945, 99.153087; 9.462983, 99.152926; 9.463039, 99.152765; 9.463059, 99.152629; 9.463155, 99.152362; 9.462993, 99.152363; 9.462933, 99.152528; 9.462922, 99.152669; 9.462878, 99.152811; 9.462823, 99.153007; 9.462782, 99.153096; 9.462666, 99.153008; 9.462732, 99.15283; 9.462767, 99.152704; 9.463325, 99.152981; 9.463353, 99.152827; 9.463401, 99.1527; 9.463493, 99.152543; 9.46319, 99.153048; 9.463271, 99.152951; 9.463301, 99.152818; 9.463387, 99.15262; 9.463423, 99.152477; 9.463491, 99.152282; 9.463305, 99.152349; 9.463258, 99.152529; 9.463237, 99.152638; 9.463108, 99.152887; 9.463063, 99.15306; 9.463034, 99.153199
	Wiang Sa	Ban Song		8.684598, 99.377788; 8.684521, 99.377786; 8.684393, 99.377786; 8.684317, 99.377791; 8.684062, 99.377782; 8.68394, 99.37777; 8.683813, 99.37782; 8.683684, 99.377713; 8.683512, 99.377742; 8.683155, 99.377746; 8.683248, 99.377903; 8.683412, 99.377966; 8.683554, 99.378112; 8.683743, 99.378065; 8.683935, 99.377957; 8.684124, 99.377994; 8.684221, 99.378006; 8.684359, 99.377961; 8.684488, 99.377983; 8.684553, 99.377923; 8.684591, 99.377613; 8.684425, 99.37748; 8.684227, 99.377482; 8.684094, 99.377462; 8.683942, 99.377474; 8.683798, 99.377466; 8.683573, 99.377451; 8.68348, 99.377451; 8.683196, 99.377573; 8.683452, 99.377606; 8.683583, 99.377593; 8.683716, 99.37758; 8.683684, 99.377539; 8.684021, 99.377633; 8.684219, 99.377619; 8.684482, 99.37772; 8.684578, 99.377673; 8.69039, 99.383461; 8.69028, 99.383395; 8.690584, 99.383222; 8.690783, 99.382978; 8.69097, 99.382948; 8.690784, 99.383102; 8.69055, 99.383319; 8.690532, 99.383603; 8.69059, 99.383464; 8.690655, 99.383468; 8.690738, 99.383353; 8.690898, 99.383246; 8.691023, 99.383143; 8.691031, 99.383038; 8.69102, 99.383006; 8.690944, 99.382902; 8.691199, 99.384003; 8.691261, 99.38379; 8.691111, 99.383743; 8.691092, 99.383866; 8.690946, 99.383914; 8.690963, 99.383763; 8.690989, 99.383601; 8.691027,

99.383422; 8.691087, 99.383263; 8.691023, 99.383272; 8.690978, 99.383497; 8.690994, 99.383667; 8.69084, 99.383732; 8.690822, 99.383589; 8.690882, 99.383421; 8.676017, 99.376046; 8.675907, 99.376038; 8.675766, 99.376018; 8.675601, 99.375998; 8.675548, 99.375842; 8.67571, 99.375991; 8.675884, 99.376031; 8.675987, 99.376002; 8.675872, 99.375982; 8.675729, 99.375939; 8.67571, 99.375868; 8.675827, 99.375869; 8.675899, 99.375818; 8.676005, 99.375737; 8.675946, 99.375648; 8.675917, 99.375643; 8.676006, 99.376144; 8.675816, 99.37611; 8.675572, 99.376084; 8.675431, 99.37608; 8.675311, 99.376163; 8.675424, 99.376161; 8.675588, 99.37617; 8.675734, 99.376219; 8.67587, 99.376232; 8.675801, 99.376281; 8.675632, 99.376293; 8.675479, 99.376294; 8.675419, 99.376248; 8.675332, 99.376306; 8.675484, 99.37632; 8.675626, 99.376323; 8.675797, 99.376349

Trang	Wang Wiset	Wang Maprang Nuea	7.7416667, 99.3602778; 7.738401, 99.368399; 7.74187, 99.38361; 7.7416667, 99.3602778
	Huai Yot	Bang Kung	7.778944, 99.4483221; 7.7569444, 99.4587233; 7.7569444, 99.4483333
	Yan Ta Khao	Thung Khai	7.463304, 99.663566; 7.466643, 99.677413
		Ko Pia	7.465242, 99.699455

3. จำแนกชนิดของราโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

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

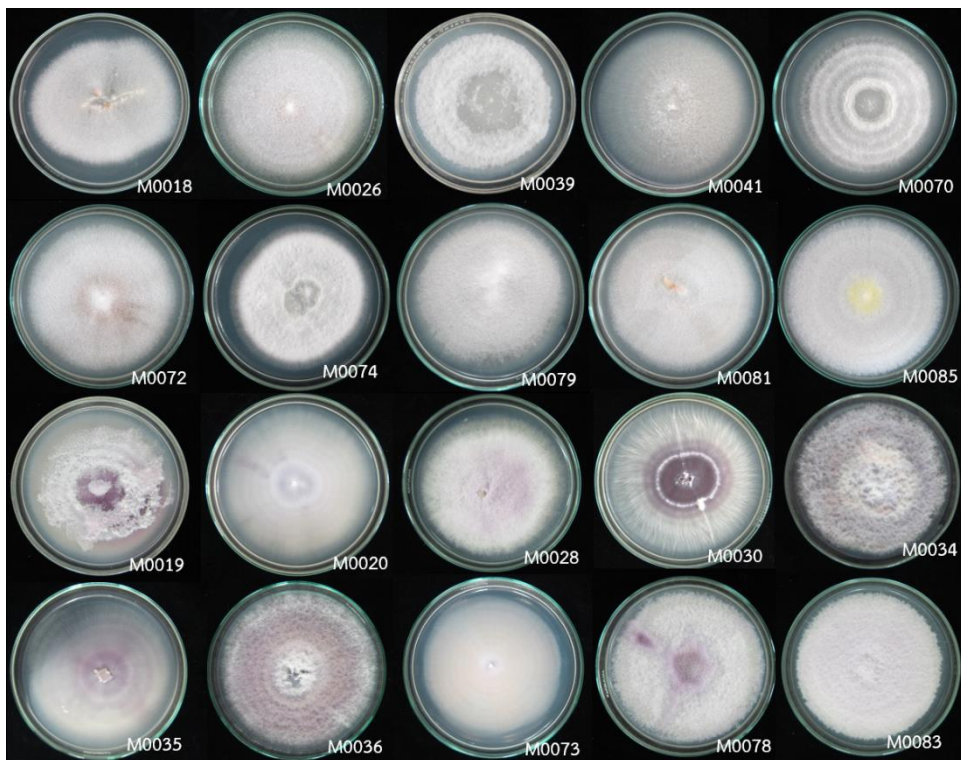


Figure 7: *Fusarium* isolates obtained from this study.

4. จำแนกชนิดของราโดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม

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

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

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

Clades/Complexes	Taxa	Accession	GenBank	References
-	<i>Microdochium musae</i>	CBS 143500	MH108017	Crous <i>et al.</i> (2018)
<i>heterosporum</i>	<i>Fusarium heterosporum</i>	ICMP 11866	MG857465	Unpublished
<i>tricinctum</i>	<i>F. torulosum</i>	NRRL 52772	JF740840	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
	<i>F. acuminatum</i>	NRRL 52789	JF740857	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
	<i>F. tricinctum</i>	NRRL 25481	HM068307	Unpublished
<i>concolor</i>	<i>F. polyphialidicum</i>	XB4-1	KM487210	Unpublished
	<i>F. concolor</i>	NRRL 52927	JF740869	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
<i>chlamydosporum</i>	<i>F. nelsonii</i>	NRRL 28505	GQ505404	O'Donnell <i>et al.</i> (2009b)
	<i>F. chlamydosporum</i>	DEB15	KF918546	Unpublished
<i>sambucinum</i>	<i>F. asiaticum</i>	NRRL 13818	AF212451	O'Donnell <i>et al.</i> (2000)
	<i>F. graminearum</i>	NRRL 52799	JF740867	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
	<i>F. venenatum</i>	ICMP 8997	MG857304	Unpublished
	<i>F. sambucinum</i>	ICMP 10535	MG857393	Unpublished
<i>incarnatum-equiseti</i>	<i>F. lacertarum</i>	NRRL 52753	JF740828	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
	<i>Fusarium</i> sp.	M0024	-	This study
	<i>F. incarnatum</i>	DEB26	KF993974	Unpublished
	<i>F. incarnatum</i>	SPL16038	KY508347	Unpublished
<i>lateritium</i>	<i>F. lateritium</i>	NRRL 25122	JF740747	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
<i>buharicum</i>	<i>F. sublunatum</i>	NRRL 20897	KX302919	Unpublished
	<i>F. buharicum</i>	NRRL 25488	KX302912	Unpublished
<i>merismoides</i>	<i>F. merismoides</i>	M05A-3F-4	KX681521	Unpublished
<i>dimerum</i>	<i>F. delphinoides</i>	ER025	KU738439	Haas <i>et al.</i> (2016)
	<i>F. dimerum</i>	NRRL 37039	EU926344	Schroers <i>et al.</i> (2009)
<i>decemcellulare</i>	<i>F. decemcellulare</i>	DI11	KF918553	Unpublished
<i>ventricosum</i>	<i>F. ventricosum</i>	CBS 748.79	KM231924	Lombard <i>et al.</i> (2015)
<i>solani</i>	<i>F. kurunegalense</i>	FRC S1833	DQ247511	Zhang <i>et al.</i> (2006)

<i>F. phaseoli</i>	NRRL 22276	AY220186	Aoki <i>et al.</i> (2003)
<i>F. brasiliense</i>	NRRL 31779	AY320150	Unpublished
<i>F. illudens</i>	CBS 126406	KM231934	Lombard <i>et al.</i> (2015)
<i>F. solani</i>	FRC S1980	DQ247501	Zhang <i>et al.</i> (2006)
<i>F. ambrosium</i>	NRRL 22346	FJ240350	Unpublished
<i>F. euwallaceae</i>	NRRL 54725	JQ038010	Freeman <i>et al.</i> (2013)
<i>F. solani</i>	NRRL 52746	JF740822	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
<i>F. solani</i>	NRRL 52773	JF740841	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
<i>F. striatum</i>	CBS 101573	KM231927	Lombard <i>et al.</i> (2015)
<i>F. paranaense</i>	CML 1988	KF597819	Costa <i>et al.</i> (2016)
<i>Fusarium</i> sp.	M0030	-	This study
<i>Fusarium</i> sp.	M0079	-	This study
<i>F. solani</i>	NRRL 52689	JF740774	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
<i>Fusarium</i> sp.	M0075	-	This study
<i>Fusarium</i> sp.	M0040	-	This study
<i>Fusarium</i> sp.	M0038	-	This study
<i>Fusarium</i> sp.	M0081	-	This study
<i>Fusarium</i> sp.	M0072	-	This study
<i>Fusarium</i> sp.	M0084	-	This study
<i>Fusarium</i> sp.	M0015	-	This study
<i>F. falciforme</i>	NRRL 32928	DQ247176	Zhang <i>et al.</i> (2006)
<i>Fusarium</i> sp.	M0025	-	This study
<i>F. keratoplasticum</i>	NRRL 54999	KC808217	Unpublished
<i>Fusarium</i> sp.	M0074	-	This study

Table 3: Continued

Clades/Complexes	Taxa	Accession	GenBank	References
<i>solani</i>	<i>Fusarium</i> sp.	M0071	-	This study
	<i>Fusarium</i> sp.	M0026	-	This study
<i>redolens</i>	<i>F. hostae</i>	NRRL 29889	HM057340	Unpublished
	<i>F. redolens</i>	NRRL 52619	GU250581	Balmas <i>et al.</i> (2010)
<i>burgessii</i>	<i>F. algeriense</i>	NRRL 66647	MF120510	Laraba <i>et al.</i> (2017)
	<i>F. burgessii</i>	NRRL 66654	MF120517	Laraba <i>et al.</i> (2017)
<i>nisikadoi</i>	<i>F. commune</i>	NRRL 52764	JF740838	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
	<i>F. miscanthi</i>	X071	HF674999	Unpublished
<i>fujikuroi</i>	<i>F. acutatum</i>	NRRL 25119	JF740745	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
	<i>F. acutatum</i>	NRRL 25119	HM057336	Unpublished
	<i>F. fujikuroi</i>	MAFF 235463	JN695737	Suga <i>et al.</i> (2014)
	<i>F. sacchari</i>	NRRL 52795	JF740863	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
	<i>F. mangiferae</i>	RBG5407	KX452381	Unpublished
<i>oxysporum</i>	<i>F. musae</i>	FVB14	KC599250	Unpublished
	<i>F. foetens</i>	NRRL 52749	JF740825	O'Donnell <i>et al.</i> (2012)
	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>aechmeae</i>	NRRL 22533	AY527622	O'Donnell <i>et al.</i> (2004)
	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> Race 3	-	KC889021	Unpublished
	<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0076	-	This study
	<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0021	-	This study

<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0034	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0080	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>passiflorae</i>	NRRL 38273	FJ985362	O'Donnell et al. (2009a)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>tracheiphilum</i>	NRRL 36284	FJ985343	O'Donnell et al. (2009a)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> Race 2	FOC12	MG773853	Garcia et al. (2018)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> Race 4	VCG 01213	MG211817	Unpublished
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>zingiberi</i>	NRRL26449	FJ985301	O'Donnell et al. (2009a)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> Race 1	FOC1	MG773851	Garcia et al. (2018)
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0073	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0036	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0023	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0022	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0020	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0083	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0028	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>melonis</i>	NRRL 26178	AF008503	O'Donnell et al. (1998)
<i>F. inflexum</i>	NRRL 20433	AF008479	O'Donnell et al. (1998)
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0027	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0031	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0078	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0017	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0037	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0035	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0016	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0077	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0032	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0030	-	This study
<i>F. oxysporum</i> f. sp.	M0019	-	This study

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

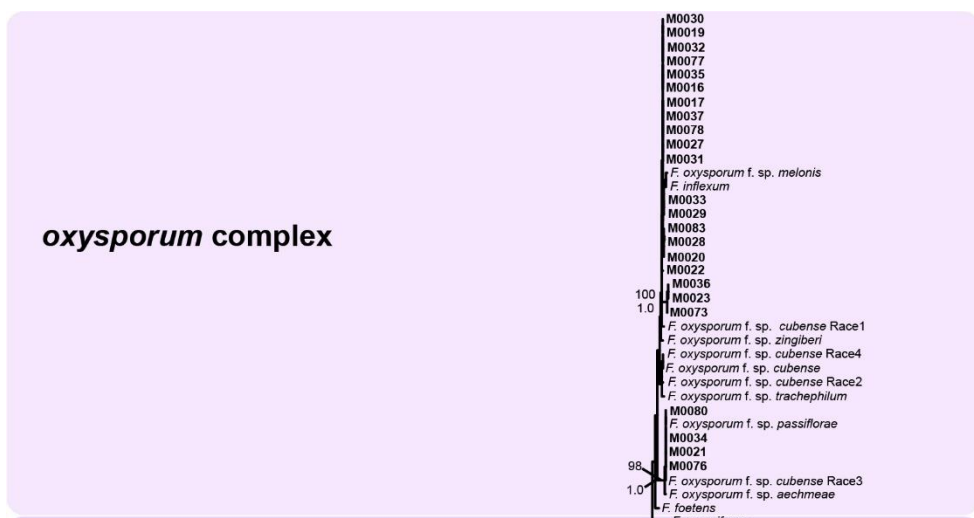


Figure 8: Phylogram obtained in a maximum likelihood search in RAxML of dataset of TEF1 gene region. Bootstrap support values ($\geq 70\%$) from 1,000 replicates above nodes. Posterior probabilities (≥ 0.95) summarized from 30,000 converged trees obtained in a Bayesian search are shown below nodes.

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

Taxa	Specimens accession	GenBank accession		References
		TEF1	ITS	
<i>Fusarium foetens</i>	NRRL 38302	GU170559	MH862858	Migheli <i>et al.</i> (2010)
<i>F. inflexum</i>	NRRL 20433	AF008479	NR152941	O'Donnell <i>et al.</i> (1998)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>aechmeae</i>	NRRL 22533	AY527622	N/A	O'Donnell <i>et al.</i> (2004)
<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> Race 3	-	KC889021	KC869371	Unpublished

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

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

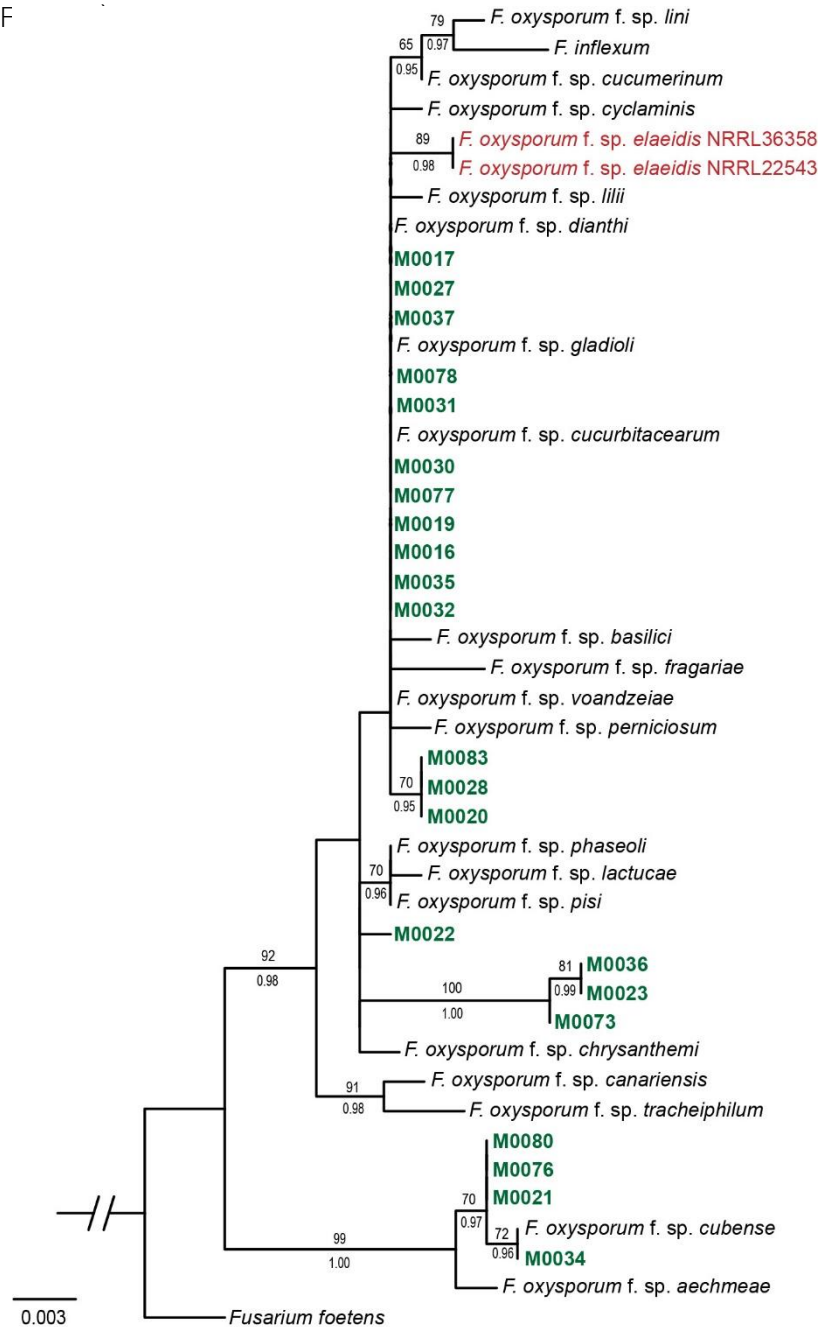


Figure 9: Phylogram obtained in a maximum likelihood search in RAxML of concatenated TEF1 and ITS gene regions. Bootstrap support values ($\geq 70\%$) from 1,000 replicates above nodes. Posterior probabilities (≥ 0.95) summarized from 30,000 converged trees obtained in a Bayesian search are shown below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

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

NRRL 36358

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

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

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

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

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

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

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ผลการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง ในแปลงปลูกปาล์มน้ำมัน ในพื้นที่จังหวัด กระบี่ ชุมพร นครศรีธรรมราช พังงา ประจวบคีรีขันธ์ ตรัง พัทลุง สุราษฎร์ธานี เชียงใหม่ เชียงราย กาญจนบุรี เพชรบุรี นครพนม สุโขทัย และพิษณุโลก ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 – เดือนกันยายน 2561 ไม่พบต้นที่แสดงอาการเหี่ยวที่มีลักษณะพ้องกับการเข้าทำลายของรา Foe สุ่มตัวอย่างราก และดินบริเวณรอบราก แยกได้จากตัวอย่างราก ดินบริเวณรอบราก

เกสรปาล์มน้ำมัน รากหญ้าสาบเสือ จำแนกชนิดเบื้องต้นด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเก็บเชื้อราที่มีลักษณะ
พ้องกับรา *Fusarium* เพื่อจำแนกชนิดด้วยข้อมูลพันธุกรรม

จากการจำแนกชนิดด้วยข้อมูลพันธุกรรมด้วยตำแหน่ง the Large Subunit (LSU) และเปรียบเทียบกับ
ฐานข้อมูลรา *Fusarium* พบว่าตำแหน่ง LSU ไม่สามารถจำแนกความแตกต่างได้ในระดับสปีชีส์ของรา *Fusarium*
จึงทำการเปรียบเทียบด้วยตำแหน่ง the translation elongation factor 1-alpha (TEF1) พบว่า รา *Fusarium*
spp. ที่ได้จากการศึกษาประกอบด้วยราในกลุ่ม *F. solani* complex กลุ่ม *F. incarnatum-equiseti* complex
และ กลุ่ม *F. oxysporum* complex จากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างของราในกลุ่ม *F. oxysporum*
complex ซึ่งรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* จัดอยู่ในกลุ่มนี้ ผล phylogenetic reconstruction ตำแหน่ง
ITS-TEF1 และ genetic distance ของตำแหน่ง TEF1 บ่งชี้ได้ว่า รา *Fusarium* ที่แยกได้จากการศึกษาครั้งนี้ไม่ใช่
F. oxysporum f.sp. *elaeidis* ดังนั้นผลจากการศึกษานี้สามารถสรุปได้ว่า รา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis*
ไม่ปรากฏในพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันในประเทศไทย

อย่างไรก็ตามความจำกัดของข้อมูลพันธุกรรมของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ที่สามารถนำมาใช้
เปรียบเทียบ ทำให้เกิดข้อจำกัดในการจัดจำแนก คล้ายกับกรณีทีลักษณะทางสัณฐานวิทยาไม่สามารถแยกความ
แตกต่างระหว่างสปีชีส์ได้ ปัจจุบันการจำแนกชนิดของรา *Fusarium* ต้องใช้ข้อมูลทางพันธุกรรมที่มากพอ จึงจะ
สามารถจำแนกหรือบ่งชี้ความแตกต่าง (O'Donnell *et al.*, 1998; Geiser *et al.*, 2013) แต่หากข้อมูล
พันธุกรรมไม่มากพอจะทำให้ผลการจำแนกเป็นแบบ polyphyletic clade ซึ่งไม่สามารถจำแนกชนิดของรา
Fusarium ในระดับ *forma specialis* หากเพิ่มตำแหน่งยีนหรือข้อมูลทางพันธุกรรมให้มีข้อมูลเพื่อเปรียบเทียบ
มากขึ้น จะเพิ่มโอกาสของความสำเร็จในการจัดจำแนกชนิดของรา *Fusarium* แต่ละ *forma specialis* และควร
แสดงผลความสัมพันธ์แบบ monophyletic clade (Kistler, 1997) เพื่อเพิ่มแม่นยำและความถูกต้องตามหลัก
อนุกรมวิธาน (Turland *et al.*, 2018) ข้อมูลของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ควรมีข้อมูลที่ได้มาจาก
ตัวอย่างต้นแบบ (type/pathotype) ของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ซึ่งปัจจุบันยังไม่ปรากฏข้อมูลดังกล่าว
ทำให้เป็นข้อจำกัดข้อหนึ่งในของระดับความแม่นยำในการจัดจำแนก (Cooper, 2012; Turland *et al.*, 2018)

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

10.1 เพื่อเป็นข้อมูลสถานภาพของรา *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* ในแหล่งปลูกปาล์มน้ำมันในพื้นที่
ภาคใต้ของประเทศไทย เพื่อใช้สนับสนุนการออกประกาศการปลอดศัตรูพืช โดยหน่วยงานองค์กรอารักขาพืช
แห่งชาติ (NPPO)

10.2 สามารถเผยแพร่ผลงานวิจัยในรายงานประจำปีของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการ
เกษตร รวมถึงงานประชุมวิชาการระดับชาติ หรือนานาชาติ

11. คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางสาวศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช อติตผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช และ นายสุรพล ยินอัสวพรรณ
อติตผู้เชี่ยวชาญด้านกักกันพืช กรมวิชาการเกษตร สำหรับคำปรึกษา คำแนะนำ และแนวทางที่เป็นประโยชน์ต่อ

การปฏิบัติงาน ขอขอบคุณนายวานิช คำพานิช ที่ให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลการตรวจเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันที่มี การนำเข้ามาจากต่างประเทศ ขอขอบคุณพี่ ๆ และน้อง ๆ กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช ที่ให้ความร่วมมือ และความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่าง การดำเนินการทดลอง และการเก็บข้อมูล รวมถึงกำลังใจที่มีให้กันเสมอ มา

12. เอกสารอ้างอิง

- กรมส่งเสริมการเกษตร. ระบบสารสนเทศการผลิตทางด้านเกษตร online. 2562. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <https://production.doae.go.th/service/report-product-statistic/> (19 กุมภาพันธ์ 2562).
- ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2562. ปาล์มน้ำมัน: เนื้อที่ให้ผล ผลผลิต และผลผลิต ต่อไร่ ปี 2551 - 2561. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <http://www.oae.go.th/download/prcai/farmcrop/palm.pdf> (19 กุมภาพันธ์ 2561).
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2562. สถิติการนำเข้า (Import) เมล็ดปาล์มและเนื้อในเมล็ดปาล์ม: ปริมาณและมูลค่าการนำเข้ารายเดือน. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://oldweb.oae.go.th/oae_report/export_import/import_result.php (19 กุมภาพันธ์ 2562).
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2562. แผนที่แสดงจังหวัดแหล่งผลิตปาล์มน้ำมันรายภาค ปี 2560. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://aginfo.oae.go.th/oae_3/report_product.php?product_name=parm.xls (27 กุมภาพันธ์ 2562).
- Aoki, T., K. O'Donnell, Y. Homma and A.R. Lattanzi. 2003. Sudden-death syndrome of soybean is caused by two morphologically and phylogenetically distinct species within the *Fusarium solani* species complex--*F. virguliforme* in North America and *F. tucumaniae* in South America. *Mycologia* 95: 660-684.
- Balmas, V., Q. Migheli, B. Scherm, P. Garau, K. O'Donnell, G. Ceccherelli, S. Kang and D.M. Geiser. 2010. Multilocus phylogenetics show high levels of endemic fusaria inhabiting Sardinian soils (*Tyrrhenian Islands*). *Mycologia* 2010 102: 803-812.
- Bani, M., N. Rispail, A. Evidente, D. Rubiales and A. Cimmino. 2014. Identification of the main toxins isolated from *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* race 2 and their relation with isolates' pathogenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62: 2574-2580. doi: 10.1021/jf405530g.
- Booth, C. 1971. *The Genus Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, UK. 237 p.
- Brayford, D. 1992. *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*. IMI Descriptions of Fungi and Bacteria. Set 112, No 1116. *Mycopathologia* 118: 49-50.

- Cabone, I. and L.M. Kohn. 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia* 91: 553-556.
- Cooper, R.M. 2011a. *Fusarium* Wilt of oil palm: a continuing threat to South East Asian plantations. *The Planter Kuala Lumpur* 87 (1023): 409-418.
- Cooper, R.M. 2012. *Fusarium oxysporum* wilt of oil palm: seed contamination, intercontinental spread and the development of eradication and rapid detection for seed quarantine. 2011. In: *Management of Plant Diseases - Technological Innovations in Seed Health.*, Brazil: Brazilian Society of Plant Pathology. 29-46 pp.
- Corley, R.H.V. and P.B.H. Tinker. 2003. *The Oil Palm*. Blackwell Scientific Press, Oxford. 592 p.
- Crous, P.W., R.K. Schumacher, M.J. Wingfield, A. Akulov, S. Denman, J. Roux, U. Braun, T.I. Burgess, A.J. Carnegie, K.Z. Váczy, E. Guatimosim, P.B. Schwartsburd, R.W. Barreto, M. Hernández-Restrepo, L. Lombard and J.Z. Groenewald. 2018. New and Interesting Fungi. 1. *Fungal Systematics and Evolution* 1: 169-215. doi.org/10.3114/fuse.2018.01.08.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2019. *FAOSTAT Database*. Rome, Italy: FAO. Retrieved on February 2019 from <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
- Franqueville, H. and S. Diabaté. 1995. Oil palm vascular wilt in West Africa. *Plantations, Recherche. Développement* 2(4): 5-13.
- Freeman, S., M. Sharon, M. Maymon, Z. Mendel, A. Protasov, T. Aoki, A. Eskalen and K. O'Donnell. 2013. *Fusarium euwallaceae* sp. nov.--a symbiotic fungus of *Euwallacea* sp., an invasive ambrosia beetle in Israel and California. *Mycologia* 105: 1595-1606. doi: 10.3852/13-066.
- Garcia, R.O., L.I. Rivera-Vargas, P. Randy, J.C. Correll and B.M. Irish. 2018. Characterization of *Fusarium* spp. isolates recovered from bananas (*Musa* spp.) affected by *Fusarium* wilt in Puerto Rico. *European Journal of Plant Pathology* 152: 599–611.
- Geiser, D.M., T. Aoki, C.W. Bacon, S.E. Baker, M.K. Bhattacharyya, M.E. Brandt, D.W. Brown, L.W. Burgess, S. Chulze, J.J. Coleman, J.C. Correll, S.F. Covert, P.W. Crous, C.A. Cuomo, G.S. De Hoog, A. Di Pietro, W.H. Elmer, L. Epstein, R.J. Frandsen, S. Freeman, T. Gagkaeva, A.E. Glenn, T.R. Gordon, N.F. Gregory, K.E. Hammond-Kosack, L.E. Hanson, M.M. Jiménez-Gasco, S. Kang, H.C. Kistler, G.A. Kuldau, J.F. Leslie, A. Logrieco, G. Lu, E. Lysøe, L.J. Ma, S.P. McCormick, Q. Migheli, A.A. Moretti, F. Munaut, K. O'Donnell, L. Pfenning, R.C. Ploetz, R.H. Proctor, S.A. Rehner, V.A. Robert, A.P. Rooney, B. Bin Salleh, M.M. Scandiani, J. Scauflaire, D.P. Short, E. Steenkamp, H. Suga, B.A. Summerell, D.A. Sutton,

- U. Thrane, F. Trail, A. Van Diepeningen, H.D. Vanetten, A. Viljoen, C. Waalwijk, T.J. Ward, M.J. Wingfield, J.R. Xu, X.B. Yang, T. Yli-Mattila and N. Zhang. 2013. One fungus, one name: defining the genus *Fusarium* in a scientifically robust way that preserves longstanding use. *Phytopathology* 103: 400-408. DOI: 10.1094/PHYTO-07-12-0150-LE.
- Geiser, D.M., M. Jiminez-Gasco, S. Kang, I. Makalowski, N. Veeraraghavan, T.J. Ward, N. Zhang, G.A. Kuldau and K. O'Donnell. 2004. *Fusarium*-ID v.10; A DNA sequence data base for identifying *Fusarium*. *European Journal of Plant Pathology* 119: 473-479.
- Haas, D., S. Lesch, W. Buzina, H. Galler, A.M. Gutsch, J. Habib, B. Pfeifer, J. Luxner and F.F. Reinthaler. 2016. Culturable fungi in potting soils and compost. *Medical Mycology* 54: 825-834. doi: 10.1093/mmy/myw047.
- Kearse, M., R. Moir, A. Wilson, S. Stones-Havas, M. Cheung, S. Sturrock, S. Buxton, A. Cooper, S. Markowitz, C. Duran, T. Thierer, B. Ashton, P. Mentjies and A. Drummond. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28 (12): 1647-1649.
- Kistler, H.C. 1997. Genetic diversity in the plant-pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 87: 474-479.
- Kumar, S., G. Stecher and K. Tamura. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33: 1870-1874. doi: 10.1093/molbev/msw054.
- Laraba, I., A. Keddad, H. Bouregda, N. Abdallah, M.M. Vaughan, R.H. Proctor, M. Busman and K. O'Donnell. 2017. *Fusarium algeriense*, sp. nov., a novel toxigenic crown rot pathogen of durum wheat from Algeria is nested in the *Fusarium burgessii* species complex. *Mycologia* 109: 935-950. doi: 10.1080/00275514.2018.1425067.
- Lievens, B., L. Claes, D.J. Vakalounakis, A.C. Vanachter and B.P. Thomma. 2007. A robust identification and detection assay to discriminate the cucumber pathogens *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* and f. sp. *radicis-cucumerinum*. *Environmental Microbiology* 9: 2145-2161.
- Lombard, L., N.A. van der Merwe, J.Z. Groenewald and P.W. Crous. 2015. Generic concepts in Nectriaceae. *Study in Mycology* 80: 189-245. doi: 10.1016/j.simyco.2014.12.002.
- Mbofung, G.Y., S.G. Hong and B.M. Pryor. 2007. Phylogeny of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* Inferred from Mitochondrial Small Subunit, Elongation Factor 1-alpha, and Nuclear Ribosomal Intergenic Spacer Sequence Data. *Phytopathology* 97: 87-98. doi: 10.1094/PHYTO-97-0087.

- McMaugh, T. 2005. *Guidelines for Surveillance for Plant Pests in Asia and the Pacific*. ACIAR Monograph No. 119. 192 p.
- Mepsted, R., J. Flood and R.M. Cooper. 1995. *Fusarium* wilt of oil palm II. Stunting as a mechanism to reduce water stress. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 46 (5): 373-387.
- Migheli, Q., V. Balmas, H. Harak, S. Sanna, B. Scherm, T. Aoki and K. O'Donnell. 2010. Molecular phylogenetic diversity of dermatologic and other human pathogenic fusarial isolates from hospitals in northern and central Italy. *Journal of clinical microbiology* 48: 1076-1084.
- O'Donnell, K., C. Gueidan, S. Sink, P.R. Johnston, P.W. Crous, A. Glenn, R. Riley, N.C. Zitomer, P. Colyer, C. Waalwijk, Tv. Lee, A. Moretti, S. Kang, H.S. Kim, D.M. Geiser, J.H. Juba, R.P. Baayen, M.G. Cromey, S. Bithell, D.A. Sutton, K. Skovgaard, R. Ploetz, K.H. Corby, M. Elliott, M. Davis and B.A. Sarver. 2009a. A two-locus DNA sequence database for typing plant and human pathogens within the *Fusarium oxysporum* species complex. *Fungal Genetic Biology* 46: 936-948. doi: 10.1016/j.fgb.2009.08.006.
- O'Donnell, K., H.C. Kistler, E. Cigelnik and R.C. Ploetz. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondria1 gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95: 2044-2049.
- O'Donnell, K., H.C. Kistler, B.K. Tacke and H.H. 2000. Gene genealogies reveal global phylogeographic structure and reproductive isolation among lineages of *Fusarium graminearum*, the fungus causing wheat scab. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97: 7905-7910.
- O'Donnell, K., A.H. Richard, D.M. Geiser, S. Kang, B. Park, V.A.R.G. Robert, P.W. Crous, P.R. Johnston, T. Aoki, A.P. Rooney and S.A. Rehner. 2012 Phylogenetic diversity of insecticolous fusaria inferred from multilocus DNA sequence data and their molecular identification via FUSARIUM-ID and *Fusarium* MLST. *Mycologia* 104: 2427-2445, DOI: 10.3852/11-179.
- O'Donnell, K., D.A. Sutton, M.G. Rinaldi, C. Gueidan, P.W. Crous and D.M. Geiser. 2009b. Novel multilocus sequence typing scheme reveals high genetic diversity of human pathogenic members of the *Fusarium incarnatum-F. equiseti* and *F. chlamydosporum* species complexes within the United States. *Journal of Clinical Microbiology*. 47: 3851-3861. doi: 10.1128/JCM.01616-09.

- O'Donnell, K., D.A. Sutton, M.G. Rinaldi, K.C. Magnon, P.A. Cox, S.G. Revankar, S. Sanche, D.M. Geiser, J.H. Juba, J.K. van Burik, A. Padhye, E.J. Anaissie, A. Francesconi, T.J. Walsh and J.S. Robinson. 2014. Genetic diversity of human pathogenic members of the *Fusarium oxysporum* complex inferred from multilocus DNA sequence data and amplified fragment length polymorphism analyses: evidence for the recent dispersion of a geographically widespread clonal lineage and nosocomial origin. *Journal of clinical microbiology* 42: 5109-5120.
- Oritsejafor, J.J. 1989. Status of the oil palm vascular wilt disease in Nigeria. In NIFOR, eds. *International Conference on Oil Palm and Palm Products*. Benin City, Nigeria: NIFOR 401-413.
- Prendergast, A.G. 1957. Observations on the epidemiology of vascular wilt disease of the oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Journal of the West African Institute for Oil Palm Research* 2: 148-175.
- Ponukumati, S.V. 2017. *Diagnostics, genomics and population studies on Fusarium oxysporum formae speciales associated with ornamental palms*. Thesis PhD, University of Florida. 163 p.
- Rees, R.W., J. Flood, Y. Hasan and R.M. Cooper. 2007. Effect of inoculum potential, shading and soil temperature on root infection of oil palm seedlings by the basal stem rot pathogen *Ganoderma boninense*. *Plant Pathology* 56: 862-870.
- Renard, J.L. and H. Franqueville. 1989. Oil palm vascular wilt. *Oléagineux (Paris)* 44 (7): 341-349.
- Renard, J.L., J.M. Noiret and J. Meunier. 1980. Sources and ranges of resistance to *Fusarium* wilt in the oil palms *Elaeis guineensis* and *Elaeis melanococca*. *Oleagineux* 35: 387-393.
- Refai, M., A. Hassan and M. Hamed. 2015. *Monograph on the genus Fusarium*. Cairo University, Giza, Egypt. 275 pp.
- Rusli, M. 2012. Detection and resistance expression in oil palm caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*. Bath, UK: University of Bath. 281 p.
- Schroers, H.J., K. O'Donnell, S.C. Lamprecht, P.L. Kammeyer, S. Johnson, D.A. Sutton, M.G. Rinaldi, D.M. Geiser and R.C. Summerbell. 2009. Taxonomy and phylogeny of the *Fusarium dimerum* species group. *Mycologia* 101: 44-70.
- Suga, H., M. Kitajima, R. Nagumo, T. Tsukiboshi, R. Uegaki, T. Nakajima, M. Kushiro, H. Nakagawa, M. Shimizu, K. Kageyama and M. Hyakumachi. 2014. A single nucleotide polymorphism in the translation elongation factor 1 α gene correlates with the ability to produce

- fumonisin in Japanese *Fusarium fujikuroi*. *Fungal Biology* 118: 402-412. doi: 10.1016/j.funbio.2014.02.005.
- Tamura K., M. Nei and S. Kumar. 2004. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 101: 11030-11035.
- Turland, N.J., J.H. Wiersema, F.R. Barrie, W. Greuter, D.L. Hawksworth, P.S. Herendeen, S. Knapp, W.-H. Kusber, D.-Z. Li, K. Marhold, T.W. May, J. McNeill, A.M. Monro, J. Prado, M.J. Price and G.F. Smith (eds.) 2018. *International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Shenzhen Code) adopted by the Nineteenth International Botanical Congress Shenzhen, China, July 2017*. Regnum Vegetabile 159. Glashütten: Koeltz Botanical Books. DOI <https://doi.org/10.12705/Code.2018>.
- UK CAB International. 1996. *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*. *Distribution Maps of Plant Diseases*, December (Edition 3): Map 471.
- Vilgalys, R. and M. Hester. 1990. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *Journal of Bacteriology* 172: 4238–4246.
- Wardlaw, C.W. 1946. *Fusarium oxysporum* on the oil palm. *Nature* 158: 712.
- Wardlaw, C.W. 1950. Vascular wilt disease of the oil palm caused by *Fusarium oxysporum* Schl. *Tropical Agriculture* 27: 42-47.
- White, T.J., T. Bruns, S. Lee and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In "*PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*" (M. Innis, D. Gelfand, J. Shinsky and T. White, eds.), Academic Press. 315–322 pp.
- Zhang, N., K. O'Donnell, D.A. Sutton, F.A. Nalim, R.C. Summerbell, A.A. Padhye and D.M. Geiser. 2006. Members of the *Fusarium solani* species complex that cause infections in both humans and plants are common in the environment. *Journal of Clinical Microbiology* 44: 2186-2190.