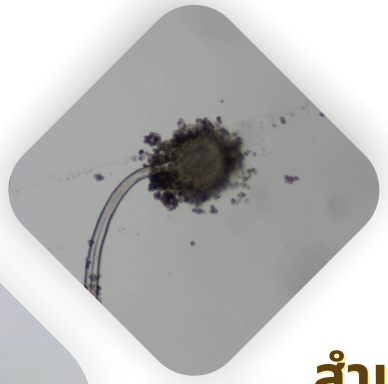
# เล่มที่ ๔

# ผลงานวิจัย ประจำปี ๒๕๖๗

## สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

PLANT PROTECTION RESEARCH AND DEVELOPMENT OFFICE



เอกสารวิชาการเลขที่ ๑/๒๕๖๘

# รายงาน
# ผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๖๗
# เล่ม ๔

เอกสารวิชาการลำดับที่ ๑/๒๕๖๘

---

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

**วิสัยทัศน์**

กรมวิชาการเกษตรเป็นองค์กรที่เป็นเลิศด้านการวิจัยและพัฒนาด้านพืช เครื่องจักรกลการเกษตร และเป็นศูนย์กลางรับรองมาตรฐานสินค้าเกษตรด้านพืชในระดับสากล บนพื้นฐานการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ภายใต้สมดุลวัฒนธรรมองค์กร ภายในปี พ.ศ. ๒๕๗๐

**ค่านิยม**

ซื่อสัตย์ โปร่งใส งานวิจัยมีคุณภาพ

**วัฒนธรรมองค์กร**

รักองค์กร ทำงานอย่างมีเป้าหมาย และมุ่งผลสัมฤทธิ์

**พันธกิจ**

๑. สร้างและถ่ายทอดองค์ความรู้จากงานวิจัยด้านพืชและเครื่องจักรกลการเกษตรสู่กลุ่มเป้าหมาย
๒. กำหนดและกำกับดูแลมาตรฐานระบบการผลิตและผลิตพันธุ์พืชและปัจจัยการผลิตพัฒนาระบบตรวจรับรองสินค้าการเกษตรด้านพืชให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล
๓. อนุรักษ์และพัฒนาการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพด้านพืช แมลง และจุลินทรีย์
๔. สนับสนุนการขับเคลื่อนการลดก๊าซเรือนกระจกของประเทศไทย มุ่งสู่เศรษฐกิจสังคมคาร์บอนต่ำอย่างยั่งยืน
๕. กำกับ ดูแล และพัฒนากฎหมายที่กรมวิชาการเกษตรรับผิดชอบ

**คำนำ**

ปีงบประมาณ 2567 งานวิจัยของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ประกอบด้วยแผนงานวิจัย โครงการวิจัย และการทดลอง รวม 14 แผนงานวิจัย 36 โครงการ และ 154 การทดลอง ซึ่งรวมถึงแผนงานวิจัยภายใต้สังกัดสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จำนวน 5 แผนงานวิจัย 23 โครงการวิจัย แผนงานวิจัยงานบูรณาการส่งเสริมวิจัยและนวัตกรรมปี พ.ศ. 2565-2567 อยู่ภายใต้แผนปฏิบัติการวิจัยและนวัตกรรม กรมวิชาการเกษตร ปี 2564-2569 และภายใต้ทิศทางการดำเนินงานวิจัยกรมวิชาการเกษตรปี 2565-2567 ซึ่งแผนงานวิจัยของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เป็นแผนงานวิจัยที่รองรับและสนับสนุนการขับเคลื่อนประเทศด้วยโมเดลเศรษฐกิจ BCG (BCG Model)

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

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

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

รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2567 เป็นผลงานวิจัยที่นักวิจัยสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช มีความมุ่งมั่นดำเนินการ สนับสนุนการนำไปใช้ประโยชน์ในกลุ่มเป้าหมาย เพื่อก่อให้เกิดผลกระทบในวงกว้าง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ขอขอบคุณในความตั้งใจ ความมุ่งมั่นของนักวิจัย และขอบคุณที่ได้รับความร่วมมืออย่างดีเสมอมา

(นางช่อทิพย์ ศัลยพงษ์)
ผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
กันยายน 2568

# สารบัญ

**รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2567 เล่มที่ 1**..... 1-735
**รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2567 เล่มที่ 2**..... 736-1442
**รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2567 เล่มที่ 3**..... 1443-2178
**รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2567 เล่มที่ 4**..... 2178-2894

**แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชสกุลกัญชาและพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์**

**โครงการวิจัย การวิจัยและพัฒนาพืชสกุลกัญชาและพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์**

**กิจกรรมที่ 6 การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขากัญชาในสภาพการปลูกแบบภายในอาคาร**

**กิจกรรมย่อยที่ -**

➢ 6.3 การใช้มวนตัวห้ำเอ็กซีกูอัส *Cardiastethus*..... 1
*exiguus* Poppius ในการควบคุม แมลงศัตรูกัญชา
FF65-01-01-65-06-03-66
❖ อทิติยา แก้วประดิษฐ์ และคณะ

➢ 6.4 คัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลง..... 18
ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไรศัตรูพืชในกัญชา✪
FF65-01-01-65-06-04-66
❖ ภัททิรา ศาตร์วงษ์ และคณะ

➢ 6.5 สำรวจชนิดแมงมุมในพืชกัญชาในระบบโรงเรือน..... 33
และปลูกแบบโล่งแจ้ง
FF65-01-01-65-06-05-67
❖ วิมลวรรณ โชติวงศ์ และคณะ

**แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาการสร้างมูลค่าเพิ่มจากความหลากหลายทางชีวภาพของพืช เห็ด จุลินทรีย์ และศัตรูธรรมชาติ เพื่อการอนุรักษ์ใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน**

**โครงการวิจัย นวัตกรรมแหล่งโปรตีนใหม่จากความหลากหลายทางชีวภาพของตั๊กแตน (Orthoptera) เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม ขับเคลื่อนธุรกิจชีวภาพ**

**กิจกรรมที่ -**

**กิจกรรมย่อยที่ –**

➢ 2. การศึกษาเทคนิคการเลี้ยงขยายตั๊กแตนจากวัตถุดิบ..... 47
เหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก
FF65-02-05-65-00-02-65
❖ จารุวัตถ์ แต้กุล และคณะ
➢ 5. การสร้างแอพพลิเคชั่นฐานข้อมูลความหลากหลาย..... 60
ทางชีวภาพของตั๊กแตนเพื่อเพิ่มมูลค่า ใช้ประโยชน์และ
อนุรักษ์อย่างยั่งยืน
FF65-02-05-65-00-04-65
❖ จารุวัตถ์ แต้กุล และคณะ

**แผนงานวิจัย วิจัยนวัตกรรมการผลิตและเทคโนโลยีการใช้ชีวภัณฑ์และสารสกัดจากพืชเพื่อการอารักขาพืชอย่างยั่งยืน**

**โครงการวิจัย วิจัยพัฒนาการผลิตและการใช้ตัวห้ำตัวเบียนเพื่อควบคุมศัตรูพืชในการผลิตพืชปลอดภัย**

**กิจกรรมที่ 1.วิจัยการผลิตขยายแมลงห้ำแมลงเบียนเพื่อพัฒนาศักยภาพเป็นชีวภัณฑ์ใหม่ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช**

**กิจกรรมย่อยที่ 1.1 พัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายด้วงเต่าและมวนตัวห้ำชนิดใหม่ที่มีศักยภาพควบคุมแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ**

การทดลอง ➢ 1.1.1 พัฒนาสูตรอาหารเทียมเพื่อเพาะเลี้ยงเพิ่ม..... 73
ปริมาณด้วงเต่าสีส้ม *Micraspis discolor* (Fabricius)
FF65-10-01-65-01-01-65
❖ ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ และคณะ
➢ 1.1.2 พัฒนาสูตรอาหารเทียมเพื่อเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณ.. 93
ด้วงเต่าลายหยัก *Coccinella transversalis* Fabricius
FF65-10-01-65-01-02-65
❖ ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ และคณะ
➢ 1.1.3 พัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำ..... 113
*Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) ด้วยเหยื่ออาหารเพื่อใช้ควบคุมเพลี้ยแป้ง
FF65-10-01-65-01-03-65
❖ ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ และคณะ

➢ 1.1.5 การศึกษาประสิทธิภาพของ..... 136
มวนตัวห้ำ *Cardiastethus exiguus* Poppius (Hemiptera: Anthocoridae) ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae)
FF65-10-01-65-01-05-65
❖ อทิติยา แก้วประดิษฐ์ และคณะ

**กิจกรรมย่อยที่ 1.2 พัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงแตนเบียนที่มีศักยภาพควบคุมแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ ( มะพร้าว มะเขือ)**

การทดลอง ➢ 1.2.1 การพัฒนาวิธีการผลิตขยายแตนเบียนดักแด้..... 153
*Brachymeria nephantidis* Gahan และศักยภาพการทำลายดักแด้หนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker
FF65-10-01-65-01-06-65
❖ ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ และคณะ

➢ 1.2.2 การศึกษาศักยภาพ การผลิตขยาย ..... 181
และผลกระทบของสารเคมีต่อแตนเบียน *Encarsia sophia* (Girault & Dodd) (Hymenoptera: Aphelinidae) ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) ✪
FF65-10-01-65-01-07-65
❖ สุพรรณี ภูคะฮาด และคณะ

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

**กิจกรรมย่อยที่ –**

การทดลอง ➢ 2.3 การใช้แมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea*..... 207
ควบคุมเพลี้ยอ่อนในการปลูกคะน้าในโรงเรือน
FF65-10-01-65-02-03-66
❖ ประภัสสร เชยคำแหง และคณะ

**กิจกรรมที่ 3. การใช้มวนเพชฌฆาต *Sycanus versicolor* Dohrn ควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วลายจุดในถั่วฝักยาว**

**กิจกรรมย่อยที่ –**

การทดลอง ➢ 3.2 ศึกษาช่วงการระบาดที่เหมาะสมและอัตรา..... 214
การปล่อยมวนเพชฌฆาตควบคุมหนอนเจาะฝักถั่วลายจุด
ในถั่วฝักยาว
FF65-10-01-65-03-02-66
❖ สาทิพย์ มาลี และคณะ
➢3.3 ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช..... 222
ที่ใช้ในถั่วฝักยาวที่มีต่อมวนเพชฌฆาต
FF65-10-01-65-03-03-67
❖ สาทิพย์ มาลี และคณะ

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

**กิจกรรมย่อยที่ -**

การทดลอง ➢ 4.3 ศึกษาอัตราการใช้และวิธีการปล่อยแมลงหางหนีบ..... 231
ขาวงแหวน *Euborellia annulipes* (Lucus) เพื่อควบคุม
เพลี้ยอ่อนในผักกาดขาวปลีในสภาพแปลงเกษตรกร
FF65-10-01-65-04-03-66
❖ นันทนัช พินศรี และคณะ

**โครงการวิจัย วิจัยพัฒนาการผลิตและการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช**

**กิจกรรมที่ 1. เทคโนโลยีการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและไวรัส NPV ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช**

**กิจกรรมย่อยที่ –**

การทดลอง ➢ 1.1 การศึกษาวิธีการผลิตขยายไส้เดือนฝอย..... 246
ศัตรูแมลง *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารเทียม
FF65-10-02-65-01-01-65
❖ อัจฉรียา นิจจรัลกุล และคณะ

➢ 1.2 การพัฒนาสูตรสำเร็จไวรัส NPV ..... 268
หนอนกระทู้หอมในรูปผงละลายน้ำ
FF65-10-02-65-01-02-65
❖ อนุสรณ์ พงษ์มี และคณะ

**กิจกรรมที่ 2. เทคโนโลยีการใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงและไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการควบคุมแมลงศัตรูผัก**

**กิจกรรมย่อยที่ -**

การทดลอง ➢ 2.1 การใช้เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม; *Metarhizium*..... 287
*anisopliae* (Metsch) Sorokin เพื่อควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย; *Phyllotreta sinuata* Stephens ในผักกาดหัว✪
FF65-10-02-65-02-01-65
❖ ทิภาพร นวลเนตร และคณะ

➢ 2.2 การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae*..... 314
*Beauveria bassiana* และ *Isaria javanica* ควบคุมแมลงหวี่ขาว *(Bemisia tabasi* (Gennadius)) ในมะเขือเปราะ
FF65-10-02-65-02-02-65
❖ทิภาพร นวลเนตร และคณะ

➢ 2.3 การใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ..... 345
และ *Beauveria bassiana* ควบคุมเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora* (Koch)) ในถั่วฝักยาว
FF65-10-02-65-02-03-65
❖ ภัททิรา ศาตร์วงษ์ และคณะ

**โครงการวิจัย วิจัยพัฒนาการผลิตและใช้ประโยชน์ชีวภัณฑ์ควบคุมโรคพืชเพื่อการผลิตพืชอย่างยั่งยืน**

**กิจกรรมที่ 1. การพัฒนานวัตกรรมการผลิตและการใช้แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคพืชเพื่อเพิ่มผลผลิต**

**กิจกรรมย่อยที่ –**

การทดลอง ➢ 1.1 ศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย..... 369
*Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคผลเน่า (bacterial fruit blotch) ของพืชตระกูลแตง
FF65-10-03-65-01-01-65
❖ รุ่งนภา ทองเครั่ง และคณะ

➢ 1.2 ศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย ..... 385
*Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคใบติดทุเรียน
FF65-10-03-65-01-02-65
❖ นพพล สัทยาสัย และคณะ
➢ 1.4 การพัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์..... 404
*Bacillus subtilis* เพื่อควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม
FF65-10-03-65-01-04-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ
➢ 1.5 พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ ..... 418
*Bacillus subtilis* เพื่อควบคุมโรคเน่าดำของคะน้า
FF65-10-03-65-01-05-65
❖ ณัฐธิดา เติมสังข์ และคณะ
➢ 1.6 พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์..... 431
*Bacillus* spp. เพื่อควบคุมโรคราแป้งพืชตระกูลแตง
FF65-10-03-65-01-06-65
❖ ทัศนาพร ทัศคร และคณะ
➢ 1.7 พัฒนารูปแบบการผลิตและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์..... 459
*Bacillus subtilis* เพื่อควบคุมโรคแคงเคอร์ในมะนาว
FF65-10-03-65-01-07-65
❖ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และคณะ
➢ 1.8 พัฒนารูปแบบการผลิตและการใช้ชีวภัณฑ์..... 478
*Bacillus subtilis* เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสมะม่วง
FF65-10-03-65-01-08-65
❖ ธารทิพย ภาสบุตร และคณะ
➢ 1.9 ศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย..... 499
*Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora palmivora*
FF65-10-03-65-01-09-65
❖มะลิดา ชูรินทร์ และคณะ

**กิจกรรม 2. วิจัยพัฒนาชีวภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราใน พริก หอม และมะเขือเทศ เพื่อการผลิตพืชอย่างยั่งยืน**

**กิจกรรมย่อยที่ –**


การทดลอง

➢ 2.1 การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ..... ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*

FF65-10-03-65-02-01-65

❖ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ

➢ 2.2 การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ..... 525
ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

FF65-10-03-65-02-02-65

❖ อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว และคณะ

➢ 2.3 การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ..... 548
ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดสีม่วงของหอมสาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria porri*

FF65-10-03-65-02-03-65

❖ หทัยภัทร เจษฎารมย์ และคณะ

➢ 2.4 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC..... 564
2550 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

FF65-10-03-65-02-04-66

❖ จุฬารัตน์ หน่อแก้ว และคณะ

➢ 2.5 ศึกษาอัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma* DOAC..... 577
2550 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum*

FF65-10-03-65-02-05-66

❖ จุฬารัตน์ หน่อแก้ว และคณะ

**โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนานวัตกรรมเพื่อเพิ่มมูลค่าสารสกัดพืช (Plant extract) ควบคุมศัตรูพืช เพื่อเกษตรปลอดภัย**

**กิจกรรมที่ 2. วิจัยและพัฒนาสารสกัดและสูตรผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน สำหรับควบคุมแมลงศัตรูพืชในพืชผักตระกูลกะหล่ำ**


การทดลอง

➢ 2.2 ทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดและสูตร..... 589
ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากกากเมล็ดชาน้ำมัน เพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก *Plutella xylostella* (Linnaeus) ในคะน้า
FF65-10-04-65-02-02-66

❖ สัญญาณี ศรีคชา และคณะ

➢ 2.3 ทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดและสูตร..... 605
ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปกากเมล็ดชาน้ำมัน เพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก *Plutella xylostella* (Linnaeus) ในกะหล่ำปลี
FF65-10-04-65-02-03-66

❖ วนาพร วงษ์นิคง และคณะ


**โครงการวิจัย เทคโนโลยีการผลิตและใช้ประโยชน์ชีวินทรีย์ควบคุมหอยทากและหนูศัตรูพืช**

**กิจกรรมที่ 1. เทคโนโลยีการผลิตชีวินทรีย์ควบคุมหอยทากศัตรูพืช**

**กิจกรรมย่อยที่ -**


การทดลอง

➢ 1.1 เทคนิคการผลิตขยายและประสิทธิภาพ..... 621
ของหอยนักล่าทูโทน *Gulella bicolor* ในการกำจัดหอยทากศัตรูพืช
FF65-10-05-65-01-02-65

❖ ดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ 638

➢ 1.2 เทคนิคการผลิตขยายและประสิทธิภาพของ.....
สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินวงศ์ Oscillatoriaceae ในการกำจัดหอยทากศัตรูพืช
FF65-10-05-65-01-04-66

❖ ศุภกร วงษ์เรืองพิบูล และคณะ

**กิจกรรมที่ 2. เทคโนโลยีการผลิตชีวินทรีย์ควบคุมหนูศัตรูพืช**

**กิจกรรมย่อยที่ -**


การทดลอง ➢ 2.2 การทดสอบประสิทธิภาพความรุนแรงก่อโรค..... 671
ของโอโอซีสต์โปรโตซัวสกุล *Eimeria*
FF65-10-05-65-02-02-66
❖ วิชาญ วรรธนะไกวัล และคณะ

➢ 2.3 การพัฒนาต้นแบบและทดสอบประสิทธิภาพ..... 681
เหยื่อพิษหางไหลในรูปแบบเม็ดแกรนูล
FF65-10-05-65-02-03-66
❖ ทัสดาว เกตุเนตร และคณะ

➢ 2.4 ศึกษาผลกระทบของโอโอซีสต์โปรโตซัวสกุล..... 691
*Eimeria* ต่อสัตว์ชนิดอื่น
FF65-10-05-65-02-04-67
❖ สมเกียรติ กล้าแข็ง และคณะ

➢2.5 การทดสอบระยะเวลาการเก็บรักษา..... 701
เหยื่อพิษหางไหล
FF65-10-05-65-02-05-67
❖ สมเกียรติ กล้าแข็ง และคณะ


**แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและแก้ปัญหาท้าทายด้านการผลิตพืชปลอดภัย**

**โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชไร่ (อ้อย มันสำปะหลัง และข้าวโพด)**

**กิจกรรมที่ 2. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชไร่ (อ้อย มันสำปะหลัง และข้าวโพด)**


การทดลอง ➢ 2.1 เทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสาน..... 709
ในอ้อย เพื่อเพิ่มศักยภาพการกำจัดวัชพืชและผลิตพืช
ปลอดภัย
FF65-11-01-65-02-01-67
❖ ปรัชญา เอกฐิน และคณะ

➢ 2.2 เทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสาน..... 736
ในมันสำปะหลัง เพื่อเพิ่มศักยภาพการกำจัดวัชพืชและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-01-65-02-02-67
❖ ยุรวรรณ อนันตนมณี และคณะ

**โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชผัก (ผักกาดขาวปลี ผักกาดหอม กะหล่ำปลี คะน้า และพริก)**

**กิจกรรมที่ 2.วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชผัก (ผักกาดขาวปลี ผักกาดหอม คะน้า และกะหล่ำปลี)**

การทดลอง ➢ 2.1 เทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสาน..... 754
ในผักกาดขาวปลี เพื่อเพิ่มศักยภาพการกำจัดวัชพืชและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-02-01-67
❖ เทอดพงษ์ มหาวงศ์ และคณะ
➢ 2.2 เทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสาน..... 769
ในผักกาดหอม เพื่อเพิ่มศักยภาพการกำจัดวัชพืชและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-02-02-67
❖ เทอดพงษ์ มหาวงศ์ และคณะ
➢ 2.3 เทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานใน..... 781
คะน้าเพื่อเพิ่มศักยภาพการกำจัดวัชพืชและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-02-03-67
❖ ยุรวรรณ อนันตนมณี และคณะ
➢ 2.4 เทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสาน..... 797
ในกะหล่ำปลีเพื่อเพิ่มศักยภาพในการกำจัดวัชพืชและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-02-65-02-04-67
❖ อมฤต ศิริอุดม และคณะ

**โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในไม้ผล (มะม่วง ส้มโอ ทุเรียน)**

**กิจกรรมที่ 2. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในไม้ผล (มะม่วง ส้มโอ ทุเรียน)**


การทดลอง

➢ 2.1 เทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสาน..... 809
ในมะม่วง เพื่อเพิ่มศักยภาพการกำจัดวัชพืชและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-03-65-02-01-67
❖ ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย และคณะ

➢ 2.2 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในส้มโอ..... 832
เพื่อทดแทนสารกำจัดวัชพืช paraquat✪
FF65-11-03-65-02-02-67
❖ อมฤต ศิริอุดม และคณะ

➢ 2.3 เทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสาน..... 854
ในทุเรียนเพื่อเพิ่มศักยภาพการกำจัดวัชพืชและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-03-65-02-03-67
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ


**โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพสารทางเลือกและเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชอุตสาหกรรม (ปาล์มน้ำมัน ยางพารา มะพร้าว และกาแฟ)**

**กิจกรรมที่ 2. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพืชอุตสาหกรรม (ปาล์มน้ำมัน ยางพารา มะพร้าว และกาแฟ)**


การทดลอง

➢ 2.1 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในปาล์มน้ำมัน..... 874
เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัยปลอดภัย✪
FF65-11-04-65-02-01-67
❖ อุษณีย์ จินดากุล และคณะ

➢ 2.2 เทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสาน..... 898
ในยางพารา เพื่อเพิ่มศักยภาพการกำจัดวัชพืชและผลิตพืชปลอดภัย
FF65-11-04-65-02-02-67
❖ สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ

➢ 2.3 เทคโนโลยีการจัดการวัชพืชแบบผสมผสาน..... 918
ในมะพร้าว เพื่อเพิ่มศักยภาพการกำจัดวัชพืชและผลิตพืช
ปลอดภัย
FF65-11-04-65-02-03-67
❖ เอกรัตน์ ธนูทอง และคณะ
➢ 2.4 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในกาแฟ..... 944
เพื่อเป็นสารทางเลือกและผลิตพืชปลอดภัย✪
FF65-11-04-65-02-04-67
❖ เทอดพงษ์ มหาวงศ์ และคณะ

**แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีด้านอารักขาพืชเพื่อการเพิ่มขีดความสามารถในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช**

**โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการชักนำภูมิต้านทานของพืชต่อศัตรูพืชเพื่อประยุกต์ใช้ร่วมกับระบบการผลิตพืชปลอดภัย**

**กิจกรรมที่ 1. การใช้สารประกอบอินทรีย์ในการชักนำภูมิต้านทานของพืช**

การทดลอง ➢ 1.1 ประสิทธิภาพของสารประกอบอินทรีย์บางชนิด..... 962
ในการชักนำภูมิต้านทานของพริกต่อไส้เดือนฝอยรากปม
FF65-12-01-65-01-01-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ
➢ 1.2 ประสิทธิภาพของสารประกอบอินทรีย์..... 990
บางชนิดในการชักนำภูมิต้านทานของคะน้า ต่อแบคทีเรีย
*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*
FF65-12-01-65-01-02-65
❖ รุ่งนภา ทองเครั่ง และคณะ
➢ 1.3 ประสิทธิภาพของสารประกอบอินทรีย์..... 1010
บางชนิดในการชักนำภูมิต้านทานของมะนาวต่อแบคทีเรีย
*Xanthomonas citri* subsp. *citri*
FF65-12-01-65-01-03-65
❖ รุ่งนภา ทองเครั่ง และคณะ

**กิจกรรมที่ 2. การใช้จุลินทรีย์ในการชักนำภูมิต้านทานของพืช**

การทดลอง ➢ 2.3 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ..... 1030
ในการชักนำภูมิต้านทานของพริกต่อไส้เดือนฝอยรากปม
FF65-12-01-65-02-03-65

❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ

**โครงการวิจัย การเพิ่มขีดความสามารถการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยลดการใช้สารเคมีเพื่อเกษตรดีที่เหมาะสมอย่างยั่งยืน**

**กิจกรรมที่ 1. พัฒนาเทคโนโลยีการใช้สารป้องกันกำจัดแมลง และสัตว์ฟันแทะเพื่อใช้เป็นคำแนะนำการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อเกษตรปลอดภัย**

**กิจกรรมย่อยที่ 1.1 พัฒนารูปแบบการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ร่วมกับสารชีวภัณฑ์และสารธรรมชาติ เพื่อการผลิตสินค้าพืชปลอดภัย**

การทดลอง ➢ 1.1.5 การใช้สารฆ่าแมลงร่วมกับการใช้..... 1051
ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ในการป้องกันกำจัดด้วงหมัดผัก *Phyllotreta* spp. ในผักกาดหัว✪
FF65-12-02-65-01-05-66

❖ วิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ

**กิจกรรมย่อยที่ 1.2 วิจัยประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดแมลงเพื่อเป็นคำแนะนำรองรับปัญหาศัตรูพืชสร้างความต้านทาน**

การทดลอง ➢ 1.2.7 ประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงและสารสกัด..... 1065
จากธรรมชาติ ในการป้องกันกำจัดแมลงวันหนอนชอนใบหอม ในหอมแดง
FF65-12-02-65-01-11-66

❖ ยุทธนา แสงโชติ และคณะ

➢ 1.2.8 ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงกลุ่ม..... 1085
กลไกการออกฤทธิ์ต่างๆ ในการป้องกันกำจัดบั่วกล้วยไม้ *Contarinia maculipennis* Felt ในมะลิ
FF65-12-02-65-01-12-66

❖ ไกรวิชญ์ เรืองสุข และคณะ

**กิจกรรมที่ 2. พัฒนาเทคโนโลยีการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช เพื่อเป็นคำแนะนำการป้องกันกำจัดโรคพืชสำหรับเกษตรปลอดภัย**

**กิจกรรมย่อยที่ 2.2 วิจัยสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่เพื่อเป็นคำแนะนำสำหรับเกษตรดีที่เหมาะสม**

การทดลอง ➢ 2.2.5 ประสิทธิภาพการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช..... 1099
ในการป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอย *Radopholus similis*
ในพืช Monstera
FF65-12-02-65-02-07-66
❖ ทมิตา โชคปิยธนากุล และคณะ

**กิจกรรมที่ 3. วิจัยและพัฒนาการใช้สารกำจัดวัชพืช เพื่อการผลิตพืชปลอดภัยสู่เกษตรกร**

**กิจกรรมย่อยที่** -

การทดลอง ➢ 3.2 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 1113
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในโกโก้
FF65-12-02-65-03-02-65
❖ อมฤต ศิริอุดม และคณะ
➢ 3.3 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 1133
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในมะละกอ
FF65-12-02-65-03-03-65
❖ อุษณีย์ จินดากุล และคณะ
➢ 3.5 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 1170
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในฟักทอง
FF65-12-02-65-03-05-65
❖สิริชัย สาธุวิจารณ์ และคณะ
➢ 3.6 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อใช้เป็น..... 1198
คำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในแตงโม
FF65-12-02-65-03-06-65
❖ ปรัชญา เอกฐิน และคณะ

➢ 3.7 ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อ..... 1247
ใช้เป็นคำแนะนำในการกำจัดวัชพืชในแกลดิโอลัส
FF65-12-02-65-03-07-65
❖ ภัทร์พิชา รุจิระพงศ์ชัย และคณะ

**กิจกรรมที่ 4. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชสู่เกษตรปลอดภัย**

**กิจกรรมย่อยที่** -

การทดลอง ➢4.2 เทคนิคการใช้สารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด..... 1281
เพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi* Karny) ในเมล่อนด้วยระบบการให้น้ำแบบน้ำหยด
FF65-12-02-65-04-06-66
❖ สุภางคนา ถิรวุธ และคณะ

**โครงการวิจัย เทคโนโลยีการอารักขาพืชเพื่อแก้ปัญหาศัตรูพืชต้านทานและการใช้สารกำจัดศัตรูพืชเกินความจำเป็นในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่**

**กิจกรรมที่ 2. เทคโนโลยีการอารักขาพืชเพื่อแก้ปัญหาแมลงศัตรูพืชต้านทานและการใช้สารกำจัดศัตรูพืชเกินความจำเป็นในพืชไร่ พืชผัก และไม้ผลในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่**

**กิจกรรมย่อยที่ -**

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

➢ 2.4 การใช้สารแบบหมุนเวียนในการป้องกันกำจัด..... 1306
เพลี้ยจักจั่นฝ้าย *Amrasca biguttula biguttula* (Ishida) ในกระเจี๊ยบเขียวเพื่อลดปัญหาความต้านทานสารฆ่าแมลง
FF65-12-03-65-02-04-65
❖ สมรวย รวมชัยอภิกุล และคณะ

➢ 2.5 การจัดการความต้านทานต่อสารกำจัด..... 1327
ศัตรูพืชในเพลี้ยไฟ (*Thrips palmi* Karny) ที่ทำลายแตงโม
โดยการใช้สารกำจัดแมลงแบบหมุนเวียน
FF65-12-03-65-02-05-65
❖ ธีราทัย บุญญะประภา และคณะ

**กิจกรรมที่ 3. ประเมินความต้านทานของวัชพืชต่อสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในนาข้าวในระบบการทำเกษตรแปลงใหญ่และเทคโนโลยีในการจัดการปัญหาความต้านทาน**

**กิจกรรมย่อยที่ –**

การทดลอง ➢ 3.1 ศึกษาความต้านทานสารกำจัดวัชพืช..... 1349
กลุ่มยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน (pyrazosulfuron-ethyl และ bensulfuron-methyl) ต่อ ผักปอด (*Sphenoclea zeylanica*) เพื่อการจัดการวัชพืช
FF65-12-03-65-03-01-65
❖ จรัญญา ปิ่นสุภา และคณะ
➢ 3.2 ศึกษาความต้านทานสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม..... 1374
ยับยั้งการสร้างไขมัน (cyhalofop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl) ในหญ้าดอกขาว (*Leptochloa chinensis*) เพื่อการจัดการวัชพืช
FF65-12-03-65-03-02-65
❖ ปรัชญา เอกฐิน และคณะ
➢ 3.3 ศึกษาความต้านทานสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม..... 1413
ยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน (metsulfuron-methyl และ pyrazosulfuron-ethy) ในหนวดปลาดุก (*Fimbristylis quinquangularis* (Vahl) Kunth) เพื่อการจัดการวัชพืช✪
FF65-12-03-65-03-03-65
❖ เทอดพงษ์ มหาวงศ์ และคณะ

➢ 3.4 ศึกษาความต้านทานสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม..... 1443
ยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน (pyrazosulfuron-ethyl และ bensulfuron-methyl) ในกกขนาก (*Cyperus difformis*) เพื่อการจัดการวัชพืช
FF65-12-03-65-03-04-65
❖ เอกรัตน์ ธนูทอง และคณะ

**แผนงานวิจัย วิจัยอนุกรมวิธานเชิงลึกมุ่งแก้ปัญหาท้าทายด้านศัตรูพืชเพื่อสนับสนุนและเพิ่มศักยภาพการผลิตสินค้าเกษตร**

**โครงการวิจัย อนุกรมวิธาน ชีววิทยาแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ**

**กิจกรรมที่ 1. อนุกรมวิธานแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชเศรษฐกิจโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา**

การทดลอง ➢ 1.3 อนุกรมวิธานเพลี้ยไฟที่พบในไม้ดอก..... 1475
FF65-20-01-65-01-03-65
❖ อิทธิพล บรรณาการ และคณะ
➢ 1.4 อนุกรมวิธานของผีเสื้อหนอนกระทู้ สกุล..... 1522
*Spodoptera* Guenée, 1852 (Lepidoptera: Noctuidae)
FF65-20-01-65-01-04-65
❖ อาทิตย์ รักกสิกร และคณะ

**กิจกรรมที่ 2. ชีววิทยาของแมลง ไรศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจและศัตรูธรรมชาติที่มีศักยภาพในการควบคุมศัตรูพืช**

การทดลอง ➢ 2.3 การจำแนกชนิดและชีววิทยามวนตัวห้ำ..... 1552
สกุล *Nesidiocoris* (Hemiptera: Miridae)
FF65-20-01-65-02-03-65
❖ จอมสุรางค์ ดวงธิสาร และคณะ

**โครงการวิจัย การจำแนกชนิดแมลง สัตว์ศัตรูพืชที่สำคัญด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล**

**กิจกรรมที่ -**

การทดลอง ➢ 4. การจำแนกชนิดและความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ..... 1566
ของเพลี้ยแป้ง cryptic species สกุล *Planococcus* Ferris 1950 ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล
FF65-20-02-65-00-04-65
❖ ชมัยพร บัวมาศ และคณะ

➢ 5. การจำแนกไบโอไทป์ของแมลงหวี่ขาวยาสูบ..... 1578
*Bemisia tabaci* ในแหล่งปลูกพริกอินทรีย์และแหล่งปลูกพริกใช้สารเคมีในภาคตะวันออกเฉียงเหนือในประเทศไทยโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล✪
FF65-20-02-65-00-05-65
❖ สุนัดดา เชาวลิต และคณะ
➢ 6. การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ด ความสัมพันธ์ทาง..... 1596
วิวัฒนาการ และมอร์โฟเมทริกส์ของแมลงวันหนอนชอนใบ (Diptera: Agromyzidae) ในพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย✪
FF65-20-02-65-00-06-65
❖ ยุวรินทร์ บุญทบ และคณะ

**โครงการวิจัย การจำแนกชนิดและคุณลักษณะชีวโมเลกุลของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชที่สำคัญ**

**กิจกรรมที่ -**

การทดลอง
➢ 1.การจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล..... 1630
*Hirschmanniella* (Nematoda : Pratylenchidae) ในพรรณไม้น้ำ
FF65-20-03-65-00-01-65
❖ ทมิตา โชคปิยธนากุล และคณะ
➢ 2 การจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล..... 1642
*Xiphinema* (Nematoda: Longidoridae)
FF65-20-03-65-00-02-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ
➢ 3 การจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล..... 1655
*Scutellonema* (Nematoda: Hoplolaimidae)
FF65-20-03-65-00-03-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ
➢ 4. อนุกรมวิธานของราน้ำค้างในพืชตระกูลแตง..... 1664
และพืชตระกูลกะหล่ำ
FF65-20-03-65-00-04-65
❖ มะโนรัตน์ สุดสงวน และคณะ

➢ 5. การจำแนกชนิดและคุณลักษณะชีวโมเลกุล..... 1685
ของเชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคในมันเทศ
FF65-20-03-65-00-05-65
❖ ณฐมน แก้วนุ้ย และคณะ

**โครงการวิจัย การจำแนกชนิดของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชที่มีความซับซ้อน (complex species)**

**กิจกรรมที่ -**

การทดลอง ➢ 2. การจำแนกชนิดของเชื้อรา..... 1715
*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 1 complex สาเหตุโรคตายพรายกล้วย
FF65-20-04-65-00-02-65
❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ
➢ 3. การจำแนกชนิดของแบคทีเรีย..... 1728
*Xanthomonas* spp. สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ
FF65-20-04-65-00-03-65
❖ ทิพวรรณ กันหาญาติ และคณะ

**โครงการวิจัย การศึกษาชนิดวัชพืชที่สำคัญเพื่อแก้ปัญหาท้าทายด้านวัชพืชและเพิ่มศักยภาพการผลิตสินค้าเกษตร**

**กิจกรรมที่ –**

การทดลอง ➢ 2. ชนิดและสัณฐานวิทยาของวัชพืชสกุล..... 1745
*Fimbristylis* Vahl
FF65-20-05-65-00-02-65
❖ ธัญชนก ศรีเมือง และคณะ
➢ 3. ชนิดและสัณฐานวิทยาของวัชพืชสกุล ..... 1772
*Spilanthes* Jacq.
FF65-20-05-65-00-03-66
❖ วัชระ สังข์ทอง และคณะ
➢ 4. ชนิดและสัณฐานวิทยาของวัชพืชสกุล..... 1790
*Merremia Dennst*. ex Endl.
FF65-20-05-65-00-04-67
❖ เอกรัตน์ ธนูทอง และคณะ

**โครงการวิจัย การศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของวัชพืชที่สำคัญเพื่อแก้ปัญหาท้าทายด้านวัชพืชและเพิ่มศักยภาพการผลิตสินค้าเกษตร**

**กิจกรรมที่ –**

การทดลอง

- 1. ศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของผักกระฉูด..... 1812
  (*Neptunia plena* (L.) Benth) วัชพืชแพร่ระบาดในพื้นที่ชุ่มน้ำทางการเกษตร
  FF65-20-06-65-00-01-65
  - ❖ ธัญชนก ศรีเมือง และคณะ
- 2. ศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของโทงเทงประดับ..... 1846
  (*Nicandra physalodes* (L.) Gaertn) วัชพืชแพร่ระบาดในพื้นที่เกษตรภาคเหนือ
  FF65-20-06-65-00-02-65
  - ❖ ธัญชนก ศรีเมือง และคณะ
- 3. ศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของ *Oxalis*..... 1866
  *debilis*. Kunth วัชพืชแพร่ระบาดในพื้นที่เกษตรภาคเหนือ
  FF65-20-06-65-00-03-65
  - ❖ วัชระ สังข์ทอง และคณะ

**แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์มันสำปะหลังเพื่อผลผลิตและคุณภาพสูงสำหรับอุตสาหกรรม**

**โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์มันสำปะหลังเพื่อการควบคุมโรคใบด่างมันสำปะหลัง**

**กิจกรรมที่ 1. การปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลังเพื่อต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลัง (ระยะที่ 1)**

การทดลอง

- 1.6 ทดสอบความต้านทานต่อโรคใบด่างมันสำปะหลัง..... 1882
  ในมันสำปะหลังโดยการเสียบยอด
  FF65-23-02-65-01-04-65
  - ❖ วานิช คำพานิช และคณะ

**แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตพืชไร่ตระกูลถั่วและข้าวโพดฝักสดเพื่อความมั่นคงทางอาหาร**

**โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตข้าวโพดฝักสดเพื่อความมั่นคงทางอาหาร**

**กิจกรรมที่ 1.วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตข้าวโพดฝักสด**

**กิจกรรมย่อยที่ 1.2 วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขาข้าวโพดฝักสด**

การทดลอง

- 1.2.6 ผลกระทบของสารกำจัดวัชพืชประเภท..... 1893
  ใช้ทางใบต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดหวาน
  FF65-45-04-65-01-10-65
  - ❖ ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย และคณะ
- 1.2.7 ผลของน้ำบาดาลและน้ำผิวดิน ต่อประสิทธิภาพ..... 1907
  การกำจัดวัชพืชในพื้นที่ปลูกข้าวโพดหวาน
  FF65-45-04-65-01-11-65
  - ❖ อมฤต ศิริอุดม และคณะ

**แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาการกักกันพืชเพื่อการค้าสินค้าเกษตรด้านพืชระหว่างประเทศ**

**โครงการวิจัย การศึกษาชนิดของศัตรูพืชในประเทศเพื่อการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช**

**กิจกรรมที่ –**

การทดลอง

- 1. การศึกษาชนิดของแมลงศัตรู อินทผลัม มันเทศ ..... 1929
  ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวาย และสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช
  FF65-55-01-65-00-01-65
  - ❖ เกศสุดา สนศิริ และคณะ
- 2. การศึกษาชนิดของไรศัตรู อินทผลัม มันเทศ..... 1952
  ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวาย และสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช
  FF65-55-01-65-00-02-65
  - ❖ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง และคณะ

➢ 3. การศึกษาชนิดของโรค อินทผลัม มันเทศ ลิลลี่..... 1981
กล้วยไม้สกุลหวาย และสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช
FF65-55-01-65-00-03-65
❖ วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ และคณะ

➢ 4. การศึกษาชนิดของวัชพืชใน อินทผลัม มันเทศ..... 2001
ลิลลี่ กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช
FF65-55-01-65-00-04-65
❖ ธัญชนก ศรีเมือง และคณะ

**โครงการวิจัย ศึกษาความเสี่ยงศัตรูพืชที่สัมพันธ์กับการนำเข้าสินค้าเกษตรจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก**

**กิจกรรมที่ -**

การทดลอง

➢ 1. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2025
บลูเบอรี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-01-65
❖วรัญญา มาลี และคณะ

➢ 2. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2047
แก้วมังกรจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-02-65
❖ คมศร แสงจินดา และคณะ

➢ 3. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2061
เชอรี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-03-65
❖ ชวลิต จิตนันท์ และคณะ

➢ 4. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2103
สับปะรดจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-04-65
❖ ณัฐสุดา บรรเลงสวรรค์ และคณะ

➢ 5. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2139
อินทผลัมจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-05-65
❖ อมรพร คุณะพันธ์ และคณะ

➢ 6. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2163
ส่วนขยายพันธุ์องุ่นจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-06-65
❖ สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ และคณะ

➢ 7. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2178
ลิลลี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-07-65
❖ วาสนา ฤทธิ์ไธสง และคณะ

➢ 8. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้า..... 2197
กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิสจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-08-65
❖ วาสนา ฤทธิ์ไธสง และคณะ

➢ 9. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการ..... 2233
นำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก
FF65-55-02-65-00-09-65
❖ อลงกต โพธิ์ดี และคณะ

**โครงการวิจัย การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักและหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า**

**กิจกรรมที่ -**

การทดลอง ➢ 5. การตรวจวินิจฉัยและจำแนกชนิดของเชื้อไวรอยด์..... 2247
ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ และเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้า✪
FF65-55-03-65-00-05-66
❖ วาสนา รุ่งสว่าง และคณะ

➢ 6. การตรวจวินิจฉัย *Potato spindle tuber viroid*..... 2262
(PSTVd) ที่ติดมาหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า
FF65-55-03-65-00-06-66
❖ สุรศักดิ์ แสนโคตร และคณะ
➢ 7. การตรวจและศึกษาชนิดเมล็ดวัชพืชที่ติดมากับ..... 2282
เมล็ดพันธุ์แครอทนำเข้า
FF65-55-03-65-00-07-66
❖ จันทร์พิศ เดชหามาตย์ และคณะ

**โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชและชีวภัณฑ์เพื่อการค้าสินค้าเกษตรด้านพืช**

**กิจกรรมที่ 1. พัฒนาเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืช**

การทดลอง ➢ 1.1 การพัฒนา การตรวจสอบ..... 2293
แมลงวันทองฝรั่ง *Bactrocera correcta* และ แมลงวันแตง *Zeugodacus cucurbitae* (Diptera: Tephritidae) เพื่อการนำเข้าและส่งออกด้วย multiplex PCR จากไพร์เมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจง
FF65-55-04-65-01-01-65
❖ ยุวรินทร์ บุญทบ และคณะ
➢ 1.2 การตรวจ Cucumber mosaic virus .....
ในพริกด้วยเทคนิค Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification
FF65-55-04-65-01-02-65
❖ เยาวภา ตันติวานิช และคณะ
➢ 1.3 พัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย..... 2326
*Xanthomonas perforans* สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ
FF65-55-04-65-01-03-65
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

➢ 1.4 พัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย ..... 2337
*Xanthomonas vesicatoria* สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ
FF65-55-04-65-01-04-65
❖ ทิพวรรณ กันหาญาติ และคณะ
➢ 1.5 การเปรียบเทียบและประเมินประสิทธิภาพ..... 2352
การตรวจไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* ด้วยเทคนิค LAMP PCR และ Real-time PCR
FF65-55-04-65-01-05-65
❖ ไตรเดช ข่ายทอง และคณะ

**กิจกรรมที่ 2. พัฒนาเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยชีวภัณฑ์นำเข้าภายใต้พระราชบัญญัติวัตถุอันตราย**

การทดลอง
➢ 2.1 พัฒนาเทคนิค Polymerase Chain Reaction..... 2366
เพื่อการตรวจวินิจฉัยเชื้อรา *Trichoderma asperellum*
FF65-55-04-65-02-01-65
❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ
➢ 2.2 การพัฒนาเทคนิคสำหรับตรวจสอบเชื้อรา..... 2380
*Metarhizium anisopliae* ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ
FF65-55-04-65-02-02-65
❖ ทิภาพร นวลเนตร และคณะ

**โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะละกอและมะม่วงเพื่อเพิ่มศักยภาพในการส่งออก**

**กิจกรรมที่ -**

การทดลอง
➢ 1. วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้น..... 2406
สัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในผลมะละกอพันธุ์แขกดำเพื่อการส่งออก
FF65-55-05-65-00-01-65
❖ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ และคณะ

➢ 2. วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้น..... 2430
สัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในผลมะละกอพันธุ์แขกนวลเพื่อการส่งออก
FF65-55-05-65-00-02-65
❖ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ และคณะ

➢ 3. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน..... 2453
เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในมะม่วงมันเดือนเก้าเพื่อการส่งออก✪
FF65-55-05-65-00-03-65
❖ ชัยณรัตน์ สนศิริ และคณะ

➢ 4. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน..... 2509
เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในมะม่วงน้ำดอกไม้มันเพื่อการส่งออก✪
FF65-55-05-65-00-04-65
❖ พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์ และคณะ

➢ 5. วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพ..... 2549
ความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงแดงจักรพรรดิเพื่อการส่งออก
FF65-55-05-65-00-05-65
❖ ปวีณา บูชาเทียน และคณะ

➢ 6. วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้น..... 2563
สัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* ในผลมะม่วงอกร่องเพื่อการส่งออก
FF65-55-05-65-00-06-65
❖ ศิริพร คงทวี และคณะ

**โครงการวิจัย การสำรวจ และเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกันของพืชและผลผลิตพืชในประเทศไทย**

**กิจกรรมที่ -**

การทดลอง

➢ 1. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย ..... 2574
*Pseudomonas corrugata* ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-01-65
❖ วานิช คำพานิช และคณะ

➢ 2. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย..... 2584
*Xanthomonas vesicatoria* ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-02-65
❖ ทิพวรรณ กันหาญาติ และคณะ
➢ 4. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย.....
*Xanthomonas perforans* ในประเทศไทย 2604
FF65-55-06-65-00-04-65
❖ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ
➢ 5. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา..... 2621
*Pseudocercospora angolensis* ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-05-65
❖ วานิช คำพานิช และคณะ
➢ 6. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา..... 2631
*Verticillium albo-atrum* ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-06-65
❖ ธิดาวรรณ ชมเดช และคณะ
➢ 7. การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย..... 2640
*Ditylenchus destructor* ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-07-65
❖ นภลภัส บุษบงก์ และคณะ
➢ 8. การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย..... 2652
*Ditylenchus dipsaci* ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-08-65
❖ ทมิตา โชคปิยธนากุล และคณะ
➢ 9. การสำรวจและเฝ้าระวังแมลงวันผลไม้..... 2671
*Bactrocera minax* (Enderlein)(Chinese citrus fly) ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-09-65
❖ ดนัย ชัยเรือนแก้ว และคณะ

➢ 10. การสำรวจและเฝ้าระวังตั๊กแตนไผ่..... 2683
*Ceracris kiangsu* Tsai ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-10-65
❖ จารุวัตถ์ แต้กุล และคณะ
➢ 11. การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช..... 2706
*Raphanus raphanistrum* ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-11-65
❖ ชุติมา อ้อมกิ่ง และคณะ
➢ 12. การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช..... 2717
*Galium aparine* L. ในประเทศไทย
FF65-55-06-65-00-12-65
❖ พรรณิภา เปชัยศรี และคณะ

**โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืชอุบัติใหม่ในข้าวโพดและกล้วยเพื่อการส่งออก**

**กิจกรรมที่ 1. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพด**

การทดลอง ➢1.3 การใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ..... 2732
ร่วมกับสารป้องกันกำจัดแมลงในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน
FF65-55-07-65-01-03-66
❖ อิศเรส เทียนทัด และคณะ
➢ 1.4 ศึกษารูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติ..... 2746
ร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน
FF65-55-07-65-01-04-66
❖ พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์ และคณะ
➢ 1.5 ศึกษารูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติ..... 2768
ร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดฝักอ่อน
FF65-55-07-65-01-05-66
❖ สุพรรณี ภูคะฮาด และคณะ

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

การทดลอง

➢ 2.1 การศึกษาชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย..... 2789
TR4 ในกล้วยคาเวนดิช ของประเทศไทย
FF65-55-07-65-02-01-65
❖ ชนินทร ดวงสอาด และคณะ

➢ 2.2 การตรวจสอบเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย..... 2803
TR4 กล้วยในประเทศไทยด้วยเทคนิค SIX genes
FF65-55-07-65-02-02-65
❖ วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ และคณะ

➢ 2.3 การศึกษาปฏิกิริยาของสายพันธุ์/พันธุ์กล้วย..... 2815
ต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* tropical race 4
FF65-55-07-65-02-03-65
❖ วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ และคณะ

➢ 2.4 การทดสอบการใช้ยูเรียและปูนขาวอบดินร่วม.....
กับการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ในการควบคุมโรคตายพราย
TR4 ของกล้วย
FF65-55-07-65-02-04-65
❖ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ

**แผนงานวิจัย การบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสานในพืชผักสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) เพื่อการผลิตที่ยั่งยืน**

**โครงการวิจัย การบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสานในพืชผักเศรษฐกิจ เพื่อส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU)**

**กิจกรรมที่ –**

การทดลอง

➢ 4. เทคโนโลยีการจัดการศัตรูคะน้าแบบผสมผสาน..... 2827
ในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป
FF65-57-02-65-00-04-66
❖ หทัยภัทร เจษฎารมย์ และคณะ

➢ 5. เทคโนโลยีการจัดการศัตรูผักชีฝรั่งในระบบโรงเรือน..... 2844
เพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป
FF65-57-02-65-00-05-66
❖ วนาพร วงษ์นิคง และคณะ
➢ 6. เทคโนโลยีการจัดการศัตรูกะเพรา/โหระพา..... 2862
ในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป
FF65-57-02-65-00-06-66
❖ กรกต ดำรักษ์ และคณะ
➢ 7. เทคโนโลยีการจัดการศัตรูมะระจีนสำหรับ..... 2881
การส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป
FF65-57-02-65-00-07-66
❖ สัญญาณี ศรีคชา และคณะ

หมายเหตุ ✪ ชื่อการทดลองที่นักวิจัยแจ้งไม่ตรงกับชื่อการทดลองจากกองแผนงาน

# การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าลิลลี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

# Pest Risk Assessment for Importation of *Lilium* spp. from the Countries in the Asia-Pacific Region

**วาสนา ฤทธิ์ไธสง[1/] อลงกต โพธิ์ดี[1/] ณฐมน แก้วนุ้ย[2/] วาสนา รุ่งสว่าง[1/]**
**สุรศักดิ์ แสนโคตร[1/] ชมัยพร บัวมาศ[3/]**
**[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
**[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
**[3/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

## Abstract

Lilies (*Lilium* spp.) are temperate plants. There are importation of flowers, plants and bulbs into Thailand from China and Vietnam in large valued at more than 191 million baht. Lilies are restricted articles according to the Notification of the Ministry of Agriculture and Cooperatives Re: Specification of plants from certain sources as restricted articles, of exceptions and conditions under the Plant Quarantine Act B.E. 2507 B.E. 2550. Therefore, the phytosanitary certificate is only attached to the consignment, without the management measures and the import permit isn't required. In this case, the plant pests have not been found in Thailand that could be infested/infected with the pathways (flowers, plants and bulbs). The results from data collections of lily pests including 113 species. These species were assessed and found that there are 38 species of pests do not occur in Thailand and associated with the pathway. A total of 11 species have been identified as the quarantine pests associated with lily flowers, plants, and bulbs, which requires the phytosanitary measures for managing the risk of quarantine pests both in the production site and the packaging or packing area before export from the country of origin.

**Keyword :** *Lilium* spp., pest risk analysis, Asia-Pacific Region

รหัสการทดลอง FF65-55-02-65-00-07-65

## บทคัดย่อ

ลิลลี่ (*Lilium* spp.) เป็นไม้ดอกเมืองหนาว มีการนำเข้ามาในประเทศไทยทั้งในรูปแบบของไม้ตัดดอก และต้นพร้อมกระถางจากประเทศจีน และเวียดนามเป็นจำนวนมาก คิดเป็นมูลค่ากว่า 191 ล้านบาท เนื่องจากลิลลี่เป็นสิ่งกำกัดการตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 การนำเข้าจึงมีเพียงใบรับรองสุขอนามัยพืชแนบมาพร้อมกับสินค้าเท่านั้นโดยไม่มีมาตรการจัดการก่อนนำเข้าและไม่ต้องขอใบอนุญาตนำเข้า ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้ศัตรูพืชของลิลลี่ที่ไม่มีรายงานพบในประเทศติดเข้ามากับดอก ต้น และหัวพันธุ์ลิลลี่ที่นำเข้า ทั้งนี้ จากการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของลิลลี่พบศัตรูพืชรวม 113 ชนิด เมื่อนำมาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในส่วนของดอก ต้น และหัวพันธุ์ลิลลี่พบว่ามีศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทยและมีโอกาสติดเข้ามากับดอก ต้น และหัวพันธุ์ลิลลี่นำเข้าได้รวม 38 ชนิด ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันของดอก ต้น และหัวพันธุ์ลิลลี่รวม 11 ชนิด ที่ต้องมีการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันทั้งในแหล่งผลิตและพื้นที่บรรจุหรือการหีบห่อก่อนการส่งออกจากประเทศต้นทาง


**คำหลัก :** ลิลลี่ การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

## คำนำ

จากภาพรวมสถานการณ์และทิศทางไม้ดอกไม้ประดับของประเทศไทยมีแนวโน้มไปในทางที่ดีขึ้น รวมทั้งมีการเพิ่มปริมาณการนำเข้าไม้ดอกไม้ประดับชนิดอื่น ๆ จากประเทศคู่ค้า และมีการส่งเสริมให้เกษตรกรหันมาปลูกเลี้ยงไม้ดอกเมืองหนาวมากเพิ่มขึ้น เนื่องจากการผลิตไม้ดอกไม้ประดับเขตหนาวของประเทศไทยมีปริมาณไม่เพียงพอต่อความต้องการ ด้วยสภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศที่ไม่เอื้ออำนวยต่อการปลูกไม้ดอกเขตหนาว และบางกรณีมีคุณภาพไม่เป็นที่ต้องการของตลาด จึงมีการนำเข้าไม้ดอกไม้ประดับหลายชนิดจากต่างประเทศ เช่น เบญจมาศ คาร์เนชั่น กุหลาบ และลิลลี่มาจากต่างประเทศ ในปี 2562 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกไม้ดอกไม้ประดับทั่วประเทศทั้งหมดประมาณ 67,203 ไร่ เนื้อที่เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ประมาณ 658,126 ไร่ โดยมีผลผลิตที่เก็บเกี่ยวได้อยู่ที่ 116.33 ล้านกิโลกรัม (เสาวลักษณ์, 2563) ซึ่งลิลลี่จัดเป็นสิ่งกำกัดตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 การนำเข้ามามีเพียงการรับรองด้านสุขอนามัยพืช โดยไม่มีมาตรการในการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่อาจติดเข้ามากับส่วนของลิลลี่ที่นำเข้า ทั้งนี้ประเทศไทยมีการนำเข้าทั้งดอก ต้น และหัวพันธุ์ลิลลี่จากสาธารณรัฐประชาชนจีน และสาธารณรัฐสังคมนิยมเวียดนามมากถึง 1,100 ตัน คิดเป็นมูลค่ากว่า 169 ล้านบาท และจากผลการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในเบื้องต้นพบว่ามีศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงสูงมีโอกาสติดมากับหัวพันธุ์ลิลลี่นำเข้าจากต่างประเทศหลายชนิด เช่น แมลง (*Aphis fabae*) ไร (*Petrobia latens*) ไส้เดือนฝอย (*Aphelenchoides fragariae*, *Ditylenchus destructor*) แบคทีเรีย (*Pseudomonas*

*marginalis* pv. *marginalis*) รา (*Chalara elegans*, *Phytophthora cryptogea*) และไวรัส (*Apple stem grooving virus*, *Lily symptomless virus*, *Tulip breaking virus*) (CABI, 2020) ในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของดอก ต้น และหัวพันธุ์ลิลลี่ที่นำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกซึ่งเป็นแหล่งสำคัญที่มีการส่งออกลิลลี่มายังประเทศไทย เพื่อให้ทราบชนิดศัตรูพืชกักกันและหาแนวทางในการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสม ซึ่งมีความสำคัญที่จะนำไปสู่การแก้ไขปรับปรุงกฎระเบียบต่าง ๆ ให้รัดกุมยิ่งขึ้นต่อไป

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for Pest Risk Analysis (2007))
2. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (Pest Risk Analysis for Quarantine Pests (2013))
3. แนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (Caribbean Community and Common Market, CARICOM)
4. หนังสือ ตำรา วารสาร เอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้องทั้งในและต่างประเทศ และฐานข้อมูลออนไลน์ เช่น Crop Protection Compendium, Description of Fungi and Bacteria, Description Maps of Plant Pests, Description Maps of Plant Diseases เป็นต้น
5. วัสดุคอมพิวเตอร์ เช่น หมึกพิมพ์ และแผ่นบันทึกข้อมูล เป็นต้น
6. วัสดุเกษตร เช่น ดิน กระถาง ต้นและดอกลิลลี่ เป็นต้น
7. วัสดุวิทยาศาสตร์ เช่น อาหารแยกเชื้อ จานเพาะเชื้อ สารเคมี เป็นต้น

### วิธีการ

มีขั้นตอนและวิธีการ ดังต่อไปนี้

**1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล**

1.1 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไปของลิลลี่ที่นำเข้า เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ พันธุ์หรือสายพันธุ์ แหล่งผลิตในประเทศผู้ส่งออก ผลผลิต การรับรองสุขอนามัยของประเทศผู้ส่งออก เป็นต้น

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

**2. การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับลิลลี่นำเข้าในห้องปฏิบัติการ**

เก็บตัวอย่างลิลลี่นำเข้าจากด่านตรวจพืชนำมาตรวจสอบ ดังนี้

2.1 ตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับลิลลี่นำเข้า เช่น แมลง ไร หอย วัชพืช เชื้อรา และแบคทีเรีย โดยตรวจสอบภายนอกหรือภายในหากพบอาการผิดปกติ และสังเกตลักษณะผิดปกติที่อาจเกิดจากโรคพืชหรือแมลงศัตรูพืช

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

2.3 หากพบอาการผิดปกติที่อาจเกิดจากเชื้อสาเหตุโรคพืชให้ตรวจสอบด้วยวิธีการ ดังนี้

(1) ตรวจสอบเชื้อราด้วย Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003) และตรวจจำแนกชนิดของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกำลังขยายสูง และ/หรือตรวจสอบจำแนกเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) เพื่อตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกำลังขยายสูง

(2) ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียด้วย Dilution plate method เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar (NA) เพื่อตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

(3) ตรวจสอบไส้เดือนฝอยด้วยวิธีการของ Cobb's sieving & Baermann และจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope) ในห้องปฏิบัติการ

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

**3. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช**

ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเชิงคุณภาพ ในการนำเข้าดอก และต้นลิลลี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกโดยการประยุกต์แนวทางการวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for Pest Risk Analysis adopted 2007) (FAO, 2007) และฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (Pest risk analysis for quarantine pests, adopted 2013) (FAO, 2017) และแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (Caribbean Community and Common Market) (CAHFSA, 2016) ซึ่งประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังนี้

**ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation)**

1.1 ระบุจุดเริ่มต้นของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช/ระบุพื้นที่ซึ่งมีการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช/ตรวจสอบว่าเคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงโดยศัตรูพืช หรือเส้นทางศัตรูพืช หรือนโยบายของรัฐจากแหล่งข้อมูลภายในประเทศไทยและต่างประเทศพิจารณานำมาใช้ประกอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

1.2 นำข้อมูลศัตรูพืชที่ได้จากการสืบค้นและรวบรวมจากหนังสือ ตำรา เอกสารวิชาการ ฐานข้อมูลศัตรูพืช และจากการตรวจสอบศัตรูพืชที่พบติดมากับลิลลี่ที่นำเข้าจากต่างประเทศ มาจัดทำตารางศัตรูพืชเพื่อใช้สำหรับการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่อไป

**ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment)**

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชมี 4 ขั้นตอนที่สัมพันธ์กัน ดังนี้

**2.1 การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest categorization)**

2.1.1 นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาพิจารณาจัดประเภทศัตรูพืชว่ามีคุณสมบัติเป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ โดย (1) ระบุชนิดของศัตรูพืช (pest identity) (2) ตรวจสอบว่าเป็นศัตรูพืชที่มีพบในประเทศไทยหรือไม่ (3) ตรวจสอบสถานภาพการควบคุมศัตรูพืช (Regulatory status) กรณีที่ศัตรูพืชชนิดนั้นมีปรากฏในประเทศไทย (4) ประเมินศักยภาพของศัตรูพืชในการเข้ามาตั้งรกรากและการแพร่กระจายในประเทศไทยหรือไม่ โดยพิจารณาข้อมูลทางชีววิทยาของศัตรูพืช สภาพแวดล้อมและสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่พันธุ์ พืชอาศัย/พืชอาหาร และพาหะของศัตรูพืชชนิดนั้นที่มีรายงานการพบในประเทศไทย (5) ประเมินศักยภาพของศัตรูพืช ในการก่อให้เกิดผลตามมาทางเศรษฐกิจในประเทศไทย

2.1.2 จัดทำตารางผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนการจัดประเภทศัตรูพืช และนำรายชื่อศัตรูพืชที่มีศักยภาพติดมากับเส้นทางศัตรูพืช (ส่วนของพืชที่นำเข้า) มีในประเทศผู้ส่งออกและไม่มีในประเทศไทย หรือมีแต่อยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ มีศักยภาพในการตั้งรกราก และการแพร่กระจายในประเทศไทย ตลอดจนมีศักยภาพที่จะทำให้เกิดความเสียหายหรือผลกระทบทางเศรษฐกิจไปวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

**2.2 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามาและแพร่กระจายของศัตรูพืช (Assessment of the probability of introduction and spread)**

นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากการประเมินในข้อ 2.1 มาประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามาและแพร่กระจายของศัตรูพืชภายหลังการตั้งรกรากของศัตรูพืช โดยแยกประเมินศัตรูพืชแต่ละชนิด ดังนี้

2.2.1 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามา (introduction) ของศัตรูพืช ประกอบด้วย

(1) การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการเข้ามา (probability of entry) ของศัตรูพืช โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชจะปะปนมากับดอก ต้น และหัวพันธุ์ลิลลี่ที่นำเข้ามาในประเทศไทย

(2) การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการตั้งรกราก (probability of establish) ของศัตรูพืช โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชสามารถมีชีวิตอยู่รอดและเจริญแพร่ขยายพันธุ์ได้ในประเทศไทย

2.2.2 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการแพร่กระจายหลังการตั้งรกราก (Probability of spread after establishment) โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชสามารถแพร่กระจายในประเทศไทย

ปัจจัยที่นำมาใช้พิจารณาประเมินความน่าจะเป็นไปได้ใช้ตามแนวทาง การวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (FAO, 2013) สำหรับรายละเอียดหลักเกณฑ์การประเมินความน่าจะเป็นไปได้แต่ละเหตุการณ์ ตลอดจนการรวมผลการประเมินใน 2 เหตุการณ์ โดยใช้กฎเมตริกซ์สำหรับการรวมโอกาสที่จะเกิดขึ้นเชิงคุณภาพ (Matrix of rules for combining qualitative likelihoods) ดำเนินการตามแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (CAHFSA, 2016)

**2.3 การประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้น (Assessment of Potential Economic Consequence) ภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืช**

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

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

นำผลการประเมินความน่าจะเป็นไปได้ในข้อ 2.2.1 การนำเข้ามาและการแพร่กระจายของศัตรูพืช และข้อ 2.2.2 การประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้นภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืช มารวมกันโดยใช้ เมตริกซ์การประเมินความเสี่ยง (risk estimation matrix) (CAHFSA, 2016) บันทึกปัจจัยที่ไม่แน่นอน (uncertainty)

**ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest Risk Management)**

นำรายชื่อศัตรูพืชกักกัน ที่ได้จากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนที่ 2 มาพิจารณาหาแนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชเพื่อจัดการความเสี่ยงของศัตรูพืชแต่ละชนิด โดยจำแนกวิธีการที่จะดำเนินการกับความเสี่ยงศัตรูพืชในการเข้ามาเจริญและแพร่กระจายในประเทศไทย ตลอดจนผลกระทบทางด้านเศรษฐกิจเพื่อลดความเสี่ยงลงให้ถึงระดับต่ำสุดที่ยอมรับได้ โดยมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติและไม่เป็นอุปสรรคต่อการค้าระหว่างประเทศ สำหรับนำไปใช้เป็นแนวทางในการกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม ทั้งนี้ การพิจารณาระดับความเสี่ยง (Level of risk) ใช้หลักการจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่มีระดับที่เหมาะสมซึ่งสามารถยอมรับได้ (Appropriate Level of acceptable; ALOP) หรือระดับความเสี่ยงที่

สามารถยอมรับได้ (acceptable) โดยในการทดลองนี้กำหนดให้มีระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ คือ “ความเสี่ยงในระดับที่ละเลยได้ (negligible)”

**4. สรุปผลศึกษาการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช**

สรุปผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่าง ๆ รวมถึงรายชื่อศัตรูพืชกักกันของการนำเข้าดอก และต้นลิลลี่จากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกที่มีระดับความเสี่ยงแตกต่างกัน และแนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกัน

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. รายละเอียดศัตรูพืชแต่ละชนิดของลิลลี่ เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ เขตแพร่กระจาย ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย/อาศัย และมีพาหะ หรือเป็นพาหะของศัตรูพืชชนิดอื่นหรือไม่ การติดมากับส่วนของพืชที่นำเข้า พืชอาศัย ชีววิทยา นิเวศวิทยา เอกสารอ้างอิง

2. ชนิดของศัตรูพืชกักกัน ศัตรูพืช หรืออื่น ๆ ที่ปนเปื้อนหรือติดมากับลิลลี่นำเข้า วัน เวลา สถานที่ และวิธีการที่ใช้ในการจำแนกชนิดศัตรูพืช ลักษณะอาการบนพืช

3.สถานภาพของศัตรูพืชแต่ละชนิดว่ามีรายงานพบในประเทศไทยหรือไม่ และเอกสารอ้างอิง

4.ชนิดของศัตรูพืชกักกัน เขตแพร่กระจาย (ชื่อประเทศ) ในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก และมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันของลิลลี่นำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2564 ถึง กันยายน 2567

สถานที่ 1.ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง กลุ่มวิจัยการกักกันพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
2.ด่านตรวจพืชเชียงของ จังหวัดเชียงราย/ ด่านตรวจพืชหนองคาย จังหวัดหนองคาย

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล**

**1.1 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไปของลิลลี่**

ลิลลี่ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lilium* spp. เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ลิเลียซีอี้ (Liliaceae) ซึ่งเป็นไม้ดอกเมืองหนาว มีถิ่นกำเนิดในจีน และตอนเหนือของญี่ปุ่น เป็นไม้ดอกประเภทหัว มีดอกขนาดใหญ่และสวยงาม บางชนิดมีกลิ่นหอมมาก ปัจจุบันมีมากกว่า 300 ชนิด บางชนิดมีเหง้าและกระเปาะ ลิลลี่เป็นไม้ดอกที่มีหัวสะสมอาหารอยู่ใต้ดิน หัว (bulb) ของลิลลี่ คือ ส่วนลำต้นที่อัดตัวกันแน่นประกอบด้วยฐานของหัว ลักษณะเป็นแผ่นแบน ๆ ด้านบนเป็นกลีบเรียงซ้อนกันเป็นชั้นคล้ายกลีบหอมหัวใหญ่ ทำหน้าที่เก็บสะสมอาหาร ด้านล่างของฐานจะมีรากงอกออกมา หัวของลิลี่จะเจริญเติบโตและเพิ่มขนาดขึ้นเรื่อย ๆ ในแต่ละปีจะสร้างจุดเจริญใหม่ภายในหัว เมื่อหัวพัฒนาเต็มที่และผ่านช่วงฤดูหนาวจะเกิดการทำลายการพักตัวของหัว ยอดใหญ่กลางหัวจะเจริญเติบโตเป็นลำต้นเหนือดิน โดยจะ

สร้างช่อดอกที่ส่วนยอด ดอกขมีองลิลลี่กลิ่นหอมเฉพาะตัว ช่อดอกตั้งตรง ลักษณะดอกมี 6 กลีบ แยกจากกัน ดอกมีหลายสี ตั้งแต่สีขาว แดง ชมพู และม่วง นับว่าเป็นดอกไม้ที่มีราคาแพงที่สุดในปัจจุบัน ใช้ได้ทั้งเป็นไม้ตัดดอกและไม้กระถาง ซึ่งชนิดที่นิยมปลูกในปัจจุบัน คือ ลิลลี่ปากแตร เนื่องจากดอกมีรูปทรงเหมือนแตร ดอกสีขาวมีกลิ่นหอม ในต่างประเทศเรียก Easter lily อีกชนิดหนึ่งเป็นลูกผสมเอเชีย (Asiatic hybrids) มีช่อดอกตั้ง ดอกมีหลายสี ดอกกลิ่นไม่หอม ชนิดที่มีดอกหอมมากมีราคาแพงที่สุด คือ ลูกผสม Oriental hybrids สำหรับพันธุ์ลิลลี่ที่นิยมปลูกในประเทศไทย เช่น พันธุ์คาซาบลังก้า (ดอกสีขาว) พันธุ์อาคาปุลโก้ (ดอกสีชมพู) และพันธุ์โซลีมีโอ้ (ดอกสีม่วงอมน้ำตาล) แหล่งปลูกที่เหมาะสมกับลิลลี่ควรมีอุณหภูมิกลางวัน 20-25 องศาเซลเซียส ส่วนกลางคืน 13-18 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-75 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น การปลูกลิลลี่ที่ให้ผลผลิตที่ดีจึงควรปลูกบนที่สูงเหนือจากระดับน้ำทะเลปานกลางอย่างน้อย 400 เมตร การขยายพันธุ์ของลิลลี่สามารถขยายพันธุ์ได้หลายวิธี เช่น ใช้หัวพันธุ์ ชำกลีบ ชำหัวย่อย ชำใบ และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปัจจุบันโครงการหลวงได้ทำการวิจัยขยายพันธุ์ลิลลี่ โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้เกษตรกรชาวเขาปลูก นอกจากนี้ยังได้ทำการปรับปรุงพันธุ์ลิลลี่ลูกผสมต่างชนิด โดยใช้พ่อแม่พันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศมาผสมกับลิลลี่ดอย ในปี 2561 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกลิลลี่มากที่สุดในจังหวัดเชียงใหม่ (ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมส่งเสริมการเกษตร, 2562) โดยการนำเข้าลิลลี่มีหลายลักษณะ เช่น หัวพันธุ์ ไม้ตัดดอก และไม้กระถาง เป็นต้น (Figure 1-4)

จากการรวบรวมข้อมูลการนำเข้าลิลลี่เฉพาะประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ระหว่างเดือนมกราคม ถึง ธันวาคม 2565 พบว่ามีการนำเข้าดอกและต้นลิลลี่จากสาธารณรัฐประชาชนจีน และสาธารณรัฐสังคมนิยมเวียดนามรวม 732 ชิปเมนท์ (shipments) คิดเป็นมูลค่ากว่า 191 ล้านบาท โดยมีการนำเข้าทางด่านตรวจพืชเชียงของ ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ และด่านตรวจพืชหนองคาย (Figure 5)

**1.2 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลศัตรูลิลลี่**

ผลจากการสืบค้นและรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชพบศัตรูพืชที่มีรายงานเข้าทำลายส่วนต่าง ๆ ของลิลลี่รวม 113 ชนิด (Table 1) เป็นแมลง 35 ชนิด ไร 3 ชนิด หอยทาก 1 ชนิด ทาก 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 15 ชนิด แบคทีเรีย 4 ชนิด ไฟโตพลาสมา 2 ชนิด รา 24 ชนิด ไวรัส 24 ชนิด และวัชพืช 4 ชนิด

**2. การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับลิลลี่นำเข้าในห้องปฏิบัติการ**

จากการเก็บตัวอย่างดอกลิลลี่ที่นำเข้า ณ ด่านตรวจพืชหนองคาย จังหวัดหนองคาย และด่านตรวจพืชเชียงของ จังหวัดเชียงราย มาตรวจสอบศัตรูพืชที่ห้องปฏิบัติการของด่านตรวจพืช ซึ่งพบเพียงซากของแมลง ได้แก่ แมลงหวี่ขาว และเพลี้ยไฟที่ไม่มีชีวิตจากตัวอย่างดอกและต้นลิลลี่ และไม่พบอาการผิดปกติที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช (Figure 6-7)

**3. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช**

**ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation)**

เนื่องจากลิลลี่เป็นสิ่งกำกัดตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 การนำเข้าจึงมีเพียงใบรับรองสุขอนามัยพืช โดยไม่มีมาตรการในการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่อาจติดเข้ามากับส่วนของลิลลี่ที่นำเข้า ซึ่งในปี 2565 ประเทศไทยมีการนำเข้าทั้งดอก ต้น และหัวพันธุ์ลิลลี่ปริมาณมากจากประเทศจีน และเวียดนามประมาณ 1,100 ตัน คิดเป็นมูลค่ากว่า 169 ล้านบาท การนำเข้าปริมาณมากดังกล่าวจึงมีความเสี่ยงที่ศัตรูพืชกักกันจะติดเข้ามากับส่วนของลิลลี่ที่นำเข้า จึงจำเป็นต้องวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเพื่อให้ทราบชนิดศัตรูพืชกักกัน และเป็นแนวทางในการปรับปรุงแก้ไขกฎหมายเพื่อยกระดับความเสี่ยงศัตรูพืชของลิลลี่ ซึ่งต้องใช้มาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชก่อนการนำเข้ามา รวมถึงทบทวนหรือการแก้ไขการกำหนดจากพืชสิ่งกำกัดเป็นสิ่งต้องห้าม ทั้งนี้ เพื่อให้สามารถควบคุมกำกับดูแลการนำเข้าลิลลี่ และเป็นการป้องกันศัตรูพืชกักกันไม่ให้เข้ามาทำความเสียหายกับภาคการเกษตรของประเทศไทยได้ในอนาคต

การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชนี้ พื้นที่ที่อยู่ในอันตราย คือ “ประเทศไทย” ซึ่งจะดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชที่ไม่เคยปรากฏพบในประเทศ หรือมีอยู่อย่างจำกัด หรืออยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ

**ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment)**

นำศัตรูพืชทั้ง 113 ชนิดที่ได้จากการสืบค้นและรวบรวมข้อมูลมาดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของดอก ต้น และหัวพันธุ์ลิลลี่ที่นำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ในขั้นตอนการจัดประเภทศัตรูพืชพบว่าเป็นศัตรูพืชที่ไม่มีในประเทศไทยและมีโอกาสติดเข้ามากับดอก ต้น และหัวพันธุ์ลิลลี่นำเข้ารวม 38 ชนิด ดังนี้

1) แมลง 6 ชนิด ได้แก่ *Adelphocoris lineolatus, Agrotis segetum, Lilioceris lilii, Macrosiphum euphorbiae, Peridroma saucia* และ *Theretra oldenlandiae*

2) ไร 2 ชนิด ได้แก่ *Petrobia latens* และ *Tyrophagus putrescentiae*

3) ไส้เดือนฝอย 6 ชนิด ได้แก่ *Aphelenchoides fragariae, Ditylenchus destructor, Ditylenchus dipsaci, Pratylenchus zeae, Trichodorus* และ *Tylenchorhynchus claytoni*

4) แบคทีเรีย 2 ชนิด ได้แก่ *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* และ *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*

5) ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด ได้แก่ *Clover phyllody phytoplasma*

6) รา 7 ชนิด ได้แก่ *Botryotinia fuckeliana, Chalara elegans, Colletotrichum boninense, Globisporangium irregulare, Penicillium expansum, Phytophthora cactorum* และ *Phytophthora cryptogea*

7) ไวรัส 12 ชนิด ได้แก่ *Apple stem grooving virus, Bean yellow mosaic virus, Broad bean wilt virus, Carnation mottle virus, Dasheen mosaic virus, Lily mottle*

*virus, Prunus necrotic ringspot virus, Tobacco rattle virus, Tobacco ringspot virus, Tobacco streak virus, Tomato ringspot virus* และ *Turnip mosaic virus*

8) วัชพืช 2 ชนิด ได้แก่ *Polygonum aviculare* และ *Senecio vulgaris*

โดยจะนำศัตรูพืชทั้ง 38 ชนิด ที่ได้จากการจัดกลุ่มศัตรูพืชมาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของดอก ต้น และหัวพันธุ์ลิลลี่ พบว่าเป็นศัตรูพืชกักกันของลิลลี่ ดังนี้

1. ได้รายชื่อศัตรูพืชกักกันของ**ดอกลิลลี่**นำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกซึ่งสามารถจัดลำดับความเสี่ยงศัตรูพืช ได้ดังนี้

   **ความเสี่ยงปานกลาง:** ได้แก่ แมลง เช่น *Macrosiphum euphorbiae* และไส้เดือนฝอย เช่น *Aphelenchoides fragariae*

   **ความเสี่ยงสูง:** ได้แก่ ไร เช่น *Petrobia latens*

2. ได้รายชื่อศัตรูพืชกักกันของ**ต้นลิลลี่**นำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ซึ่งสามารถจัดลำดับความเสี่ยงศัตรูพืช ได้ดังนี้

   **ความเสี่ยงปานกลาง:** ได้แก่ แมลง เช่น *Macrosiphum euphorbiae* ไส้เดือนฝอย เช่น *Ditylenchus destructor, Ditylenchus dipsaci* และแบคทีเรีย เช่น *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli*, *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*

   **ความเสี่ยงสูง:** ได้แก่ ไร เช่น *Petrobia latens* ไส้เดือนฝอย เช่น *Aphelenchoides fragariae* และไวรัส เช่น *Lily mottle virus, Prunus necrotic ringspot virus*

3. ได้รายชื่อศัตรูพืชกักกันของ**หัวพันธุ์ลิลลี่**นำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ซึ่งสามารถจัดลำดับความเสี่ยงศัตรูพืช ได้ดังนี้

   **ความเสี่ยงปานกลาง:** ได้แก่ แบคทีเรีย เช่น *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* และ *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* ไวรัส เช่น *Lily mottle virus*

   **ความเสี่ยงสูง:** ได้แก่ ไส้เดือนฝอย เช่น *Aphelenchoides fragariae* และไวรัส เช่น *Tobacco rattle virus, Tobacco ringspot virus*

**ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest Risk Management)**

แนวทางในการกำหนดมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันของดอก ต้น และหัวพันธุ์ลิลลี่นำเข้า ดังนี้

1) มาตรการจัดการในแหล่งผลิต

- ต้องมีการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดี การรักษาความสะอาดในแหล่งผลิต และมีการบริหารจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน
- พื้นที่ผลิตต้องเป็นพื้นที่ปลอดจากไส้เดือนฝอยศัตรูพืชกักกัน
- ต้องดำเนินการตรวจไส้เดือนฝอยศัตรูพืชกักกันในพื้นที่ผลิต
- ต้นลิลลี่ต้องปลูกในพื้นที่ผลิตหัวพันธุ์ซึ่งมีการตรวจอาการของโรคที่เกิดจากไวรัสบนต้นลิลลี่ด้วยสายตาในระหว่างช่วงฤดูปลูก

- ใช้หัวพันธุ์ลิลลี่ที่ปลอดศัตรูพืช

2) มาตรการจัดการในพื้นที่บรรจุ/หีบห่อ

- ต้องรักษาความสะอาดในพื้นที่บรรจุ/หีบห่อ
- ต้องบรรจุในบรรจุภัณฑ์/หีบห่อที่ใหม่ สะอาด
- ต้องไม่มีการปะปนของดิน ทราย แมลงที่มีชีวิต วัชพืช เมล็ดพืชอื่นหรือสิ่งอื่นใดที่มีศักยภาพนำพาศัตรูพืชกักกันได้
- ต้องกำจัดศัตรูพืชด้วยวิธีการรมด้วยสารรมเมทธิลโบรไมด์ก่อนส่งออก

**4. สรุปผลศึกษาการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช**

ผลจากการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชลิลลี่พบศัตรูพืชรวม 113 ชนิด โดยเป็นศัตรูพืชที่ไม่มีในประเทศไทยและมีโอกาสติดเข้ามากับดอกและต้นลิลลี่นำเข้ารวม 38 ชนิด เมื่อนำมาประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชพบว่าเป็นศัตรูพืชกักกันสำหรับการนำเข้าดอก ต้น และหัวพันธุ์ลิลลี่รวม 11 ชนิด ที่ต้องมีมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชก่อนนำเข้ามาในประเทศไทย

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ลิลลี่เป็นไม้ดอกประเภทหัวและมีกลิ่นหอม ซึ่งมีมากกว่า 300 ชนิด การปลูกลิลลี่ที่ให้ผลดีต้องปลูกบนที่สูงและมีอากาศเย็น ซึ่งในประเทศไทยสามารถปลูกได้บนพื้นที่สูงทางภาคเหนือของประเทศ โดยมีการนำพันธุ์เข้ามาเพื่อปรับปรุงพันธุ์ลิลลี่ในประเทศ และมีการนำเข้าดอก ต้น และหัวพันธุ์ลิลลี่จากต่างประเทศเข้ามาเพื่อการค้าโดยเฉพาะจากประเทศจีนและเวียดนามเป็นจำนวนมาก ซึ่งจากการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของลิลลี่พบศัตรูพืชรวม 113 ชนิด เป็นแมลง 35 ชนิด ไร 3 ชนิด หอยทาก 1 ชนิด ทาก 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 15 ชนิด แบคทีเรีย 4 ชนิด ไฟโตพลาสมา 2 ชนิด รา 24 ชนิด ไวรัส 24 ชนิด และวัชพืช 4 ชนิด พบว่าเป็นศัตรูพืชที่ไม่มีในประเทศไทยและมีโอกาสติดเข้ามากับดอก ต้น และหัวพันธุ์ลิลลี่นำเข้ารวม 38 ชนิด เมื่อนำมาประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชพบว่าเป็นศัตรูพืชกักกันสำหรับการนำเข้าดอก ต้น และหัวพันธุ์ลิลลี่รวม 11 ชนิด ได้แก่ *Macrosiphum euphorbiae, Petrobia latens, Aphelenchoides fragariae, Ditylenchus destructor, Ditylenchus dipsaci, Burkholderia gladioli* pv. *gladioli, Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis, Lily mottle virus, Prunus necrotic ringspot virus, Tobacco rattle virus* และ *Tobacco ringspot virus* ซึ่งต้องมีมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชก่อนนำเข้ามาในประเทศไทย

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ กลุ่มงานวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำหรับความช่วยเหลือ ขอขอบคุณกลุ่มวิชาการ ด่านตรวจพืชหนองคาย ด่านตวรจพืชเชียงของ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร สำหรับข้อมูลและตัวอย่างพืชที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย และขอขอบคุณบิดา-มารดาผู้เป็นกำลังใจที่สำคัญเสมอมา

## เอกสารอ้างอิง

ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมส่งเสริมการเกษตร. 2562. *ลิลลี่*. สำนักส่งเสริมการค้าสินค้าเกษตรและอุตสาหกรรม. กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ. ระบบออนไลน์. แหล่งข้อมูล: http://www.agriinfo.doae.go.th/year62/plant/rortor/flower/lily.pdf (12 มีนาคม 2563)

เสาวลักษณ์ กิตติธนวัตร. 2563. *สถานการณ์และทิศทางไม้ดอกไม้ประดับของประเทศไทยในปี 2563*. สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www.doa.go.th/hort/wp-content/uploads/2020/02/สถานการณ์และทิศทางไม้ดอกไม้ประดับของประ.pdf (6 มีนาคม 2563).

CABI (Centre for Agriculture and Bioscience International). 2020. *Crop Protection Compendium*. Wallingford, UK: CAB International. (Online). Available. http://www.cabi.org/. (March 06, 2020).

CABI (Centre for Agriculture and Bioscience International). 2022. *Crop Protection Compendium.* Wallingford, UK: CAB International. (Online). Available. http://www.cabi.org/. (July 08, 2022).

CAHFSA (Caribbean Agricultural Health and Food Safety Agency). 2016. *Guidelines for pest risk analysis of imported plant and plant products*. Version 1.1 published October 2016. 33p.

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

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2013. *International Standards for Phytosanitary Measures No. 11 (ISPM 11): Pest risk analysis for quarantine pests.* (Online). Available. https://www.ippc.int/en/core-activities/ standards-setting/ispms/. (February 6, 2021)

Mathur, S.B. and O. Kongdal. 2003. *Common laboratory seed health testing methods for detecting fungi.* First Edition. International Seed Testing Association (ISTA), Rome. 425 p.

**Table 1** Pest associated with lilies (*Lilium* spp.) present in the Countries of the Asia-Pacific Region (including Thailand (TH), China (CN) and Vietnam (VN)) (CABI Online, 2022)

| Scientific name | Common name | Present in the countries | | |
|---|---|---|---|---|
| | | TH | CN | VN |
| INSECTS | | | | |
| *Adelphocoris lineolatus* | lucerne bug | | Yes | |
| *Agrotis ipsilon* | black cutworm | Yes | Yes | Yes |
| *Agrotis segetum* | turnip moth | | Yes | Yes |
| *Aleurothrixus floccosus* | woolly whitefly | | | |
| *Aphis gossypii* | cotton aphid | Yes | Yes | Yes |
| *Bactrocera tryoni* | Queensland fruit fly | | | |
| *Chrysodeixis eriosoma* | green looper caterpillar | Yes | Yes | Yes |
| *Coccus hesperidum* | brown soft scale | Yes | Yes | Yes |
| *Diaprepes abbreviatus* | citrus weevil | | | |
| *Diaspidiotus perniciosus* | San José scale | Yes | Yes | Yes |
| *Dysmicoccus brevipes* | pineapple mealybug | Yes | | Yes |
| *Frankliniella occidentalis* | western flower thrips | | Yes | |
| *Gryllotalpa gryllotalpa* | European mole cricket | | | |
| *Hedychium coronarium* | white butterfly ginger lily | Yes | Yes | Yes |
| *Hippotion celerio* | taro hawkmoth | Yes | Yes | Yes |
| *Lilioceris lilii* | lily leaf beetle | | Yes | |
| *Liriomyza trifolii* | American serpentine leafminer | Yes | Yes | Yes |
| *Lygus lineolaris* | tarnished plant bug | | | |
| *Macrosiphum euphorbiae* | potato aphid | | Yes | |
| *Megalurothrips distalis* | | Yes | Yes | |
| *Myzus persicae* | green peach aphid | Yes | Yes | Yes |
| *Nezara viridula* | green stink bug | Yes | Yes | Yes |
| *Peridroma saucia* | pearly underwing moth | | Yes | |
| *Scirtothrips aurantii* | South African citrus thrips | | | |
| *Sesamia nonagrioides* | Mediterranean corn stalk borer | | | |
| *Sitobion fragariae* | blackberry cereal aphid | | | |
| *Spodoptera eridania* | southern armyworm | | | |
| *Spodoptera frugiperda* | fall armyworm | | | |
| *Spodoptera littoralis* | cotton leafworm | | Yes | |
| *Spodoptera litura* | taro caterpillar | Yes | Yes | Yes |

**Table 1** Pest associated with lilies (Lilium spp.) present in the Countries of the Asia-Pacific Region (including Thailand (TH), China (CN) and Vietnam (VN)) (CABI Online, 2022) (continue)

| Scientific name | Common name | Present in the countries | | |
|---|---|---|---|---|
| | | TH | CN | VN |
| *Theretra oldenlandiae* | impatiens hawkmoth | | Yes | Yes |
| *Thrips hawaiiensis* | Hawaiian flower thrips | Yes | Yes | Yes |
| *Thrips simplex* | gladiolus thrips | | Yes | |
| *Thrips tabaci* | onion thrips | Yes | Yes | Yes |
| *Trichoplusia ni* | cabbage looper | Yes | Yes | Yes |
| MITES | | | | |
| *Petrobia latens* | brown wheat mite | | Yes | |
| *Tetranychus urticae* | two-spotted spider mite | Yes | Yes | Yes |
| *Tyrophagus putrescentiae* | cereal mite | | Yes | |
| SNAIL & SLUG | | | | |
| *Cornu aspersum* | common garden snail | Yes | Yes | |
| *Deroceras laeve* | meadow slug | | | |
| NEMATODES | | | | |
| *Aphelenchoides fragariae* | strawberry crimp nematode | | Yes | |
| *Ditylenchus destructor* | potato tuber nematode | | Yes | |
| *Ditylenchus dipsaci* | stem and bulb nematode | | Yes | |
| *Helicotylenchus pseudorobustus* | spiral nematode | Yes | Yes | Yes |
| *Meloidogyne arenaria* | peanut root-knot nematode | Yes | Yes | Yes |
| *Meloidogyne javanica* | sugarcane eelworm | Yes | Yes | Yes |
| *Pratylenchus brachyurus* | root-lesion nematode | Yes | | Yes |
| *Pratylenchus penetrans* | nematode, northern root lesion | Yes | Yes | Yes |
| *Pratylenchus vulnus* | walnut root lesion nematode | Yes | Yes | |
| *Pratylenchus zeae* | root lesion nematode | | Yes | Yes |
| *Rotylenchulus reniformis* | reniform nematode | Yes | Yes | Yes |
| *Scutellonema brachyurus* | | Yes | Yes | |
| *Trichodorus* | stubby root nematodes | | Yes | |
| *Tylenchorhynchus claytoni* | stunt nematode | | Yes | |
| *Zygotylenchus guevarai* | | | | |
| BACTERIA | | | | |
| *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* | corm scab | | Yes | Yes |

**Table 1** Pest associated with lilies (Lilium spp.) present in the Countries of the Asia-Pacific Region (including Thailand (TH), China (CN) and Vietnam (VN)) (CABI Online, 2022) (continue)

| Scientific name | Common name | Present in the countries | | |
|---|---|---|---|---|
| | | TH | CN | VN |
| *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* | bacterial root rot of sweet potato | Yes | Yes | |
| *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* | lettuce marginal leaf blight | | Yes | |
| *Rhodococcus fascians* | fasciation: leafy gall | | | |
| PHYTOPLASMA | | | | |
| *Candidatus* Phytoplasma asteris | yellow disease phytoplasmas | Yes | Yes | |
| *Clover phyllody phytoplasma* | phyllody of clover | | Yes | |
| FUNGI | | | | |
| *Athelia rolfsii* | sclerotium rot | Yes | Yes | Yes |
| *Botryotinia fuckeliana* | grey mould-rot | | Yes | |
| *Chalara elegans* | black root rot | | Yes | |
| *Cochliobolus lunatus* | head mould of grasses, rice and sorghum | Yes | Yes | Yes |
| *Colletotrichum boninense* | | | Yes | |
| *Fusarium oxysporum* | basal rot | Yes | Yes | |
| *Globisporangium irregulare* | dieback: carrot | | Yes | Yes |
| *Haematonectria haematococca* | dry rot of potato | Yes | Yes | |
| *Leveillula taurica* | powdery mildew of cotton | | Yes | |
| *Magnaporthe oryzae* | rice blast disease | Yes | Yes | Yes |
| *Penicillium expansum* | blue mould of stored apple | | Yes | |
| *Phytophthora cactorum* | apple collar rot | Yes | Yes | Yes |
| *Phytophthora capsici* | stem and fruit rot of Capsicum | Yes | Yes | Yes |
| *Phytophthora cryptogea* | tomato foot rot | | Yes | |
| *Phytophthora kernoviae* | | | | |
| *Phytophthora nicotianae* | black shank | Yes | Yes | Yes |
| *Phytophthora porri* | white tip of leek | | | |
| *Phytophthora ramorum* | sudden oak death (SOD) | | | |
| *Phytoplasma mali* | apple proliferation | | | |
| *Puccinia gladioli* | | | | |
| *Rosellinia necatrix* | dematophora root rot | | Yes | |

**Table 1** Pest associated with lilies (Lilium spp.) present in the Countries of the Asia-Pacific Region (including Thailand (TH), China (CN) and Vietnam (VN)) (CABI Online, 2022) (continue)

| Scientific name | Common name | Present in the countries | | |
|---|---|---|---|---|
| | | TH | CN | VN |
| *Sclerotinia sclerotiorum* | cottony soft rot | Yes | Yes | Yes |
| *Uromyces gladioli* | gladiolus rust | | | |
| *Uromyces transversalis* | gladiolus rust | | | |
| **VIRUS** | | | | |
| *Apple stem grooving virus* | | | Yes | |
| *Arabis mosaic virus* | hop bare-bine | | | |
| *Artichoke Italian latent virus* | | | | |
| *Bean yellow mosaic virus* | bean yellow mosaic | | Yes | |
| *Broad bean wilt virus* | lamium mild mosaic | | Yes | |
| *Carnation mottle virus* | mottle of carnation | | Yes | |
| *Clover yellow vein virus* | CYVV | | | |
| *Cucumber green mottle mosaic virus* | white break mosaic | | Yes | |
| *Cucumber mosaic virus* | cucumber mosaic | Yes | Yes | Yes |
| *Dasheen mosaic virus* | dasheen mosaic | | Yes | Yes |
| *Iris yellow spot virus* | iris yellow spot | | | |
| *Lily mottle virus* | | | Yes | |
| *Lily symptomless virus* | | | | |
| *Narcissus latent virus* | | | | |
| *Prunus necrotic ringspot virus* | almond bud failure | | Yes | |
| *Strawberry latent ringspot virus* | latent ring spot of strawberry | | | |
| *Tobacco rattle virus* | spraing of potato | | Yes | |
| *Tobacco ringspot virus* | | | Yes | |
| *Tobacco streak virus* | tobacco streak | | Yes | |
| *Tomato black ring virus* | ring spot of beet | | | |
| *Tomato ringspot virus* | ringspot of tomato | | Yes | |
| *Tomato spotted wilt virus* | tomato spotted wilt | Yes | Yes | |
| *Tulip breaking virus* | | | | |
| *Turnip mosaic virus* | cabbage A virus mosaic | Yes | Yes | Yes |
| **WEEDS** | | | | |
| *Galinsoga parviflora* | gallant soldier | Yes | | |

**Table 1** Pest associated with lilies (Lilium spp.) present in the Countries of the Asia-Pacific Region (including Thailand (TH), China (CN) and Vietnam (VN)) (CABI Online, 2022) (continue)

| Scientific name | Common name | Present in the countries | | |
|---|---|---|---|---|
| | | TH | CN | VN |
| *Polygonum aviculare* | prostrate knotweed | | Yes | |
| *Senecio vulgaris* | | | Yes | |
| *Tribulus terrestris* | puncture vine | Yes | Yes | Yes |

**Figure 1** Lily production under greenhouse condition

**Figure 2** Lily production and harvest under greenhouse condition

**Figure 3** Lily bouquets before shipping

**Figure 4** Lily growing in the containers with planting material

**Figure 5** The plant quarantine officers inspected lily cut flowers at the point of entry

**Figure 6** Samples of lily cut flower for inspection at the laboratory of plant quarantine station

**Figure 7** Inspection of lily cut flowers at the laboratory of plant quarantine station

# การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้ากล้วยไม้สกุลหวาย และสกุลฟาแลนนอปซิสจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

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

วาสนา ฤทธิ์ไธสง[1/] ณฐมน แก้วนุ้ย[2/] ชมัยพร บัวมาศ[3/] วาสนา รุ่งสว่าง[1/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

## Abstract

Orchidaceae are classified as restricted items under Notification of Ministry of Agriculture and Cooperatives. Currently, imports require only a phytosanitary certificate without additional phytosanitary measures. This lack of stringent regulations may allow the entry of pests not previously reported in the country. The *Dendrobium* and *Phalaenopsis* species of imported orchids are the most popular nationwide. This study aimed to assess the risks associated with importing tissue cultures, cuttings, and inflorescences of *Dendrobium* and *Phalaenopsis* orchids from the Asia-Pacific region. The research involved collecting pest data on these orchids from domestic and international sources. Risk assessment was conducted following the Caribbean Common Market Community Pest Risk Analysis Guidelines and the International Standards for Phytosanitary Measures (ISPM 2 and 11). The result of pest risk analysis identified high-risk pests including *Dendrobium chlorotic mosaic virus, Capsicum chlorosis virus-phalaenopsis isolate, Orchid fleck virus, Impatiens necrotic spot virus, Tomato ringspot virus* and *Tomato spotted wilt virus* are indicating the need for enhanced phytosanitary measures for imports. These measures aim to prevent the introduction of exotic pests that are either quarantine pests or have the potential to become serious threats to agricultural products in Thailand.

**Keywords :** phytosanitary measure, Dendrobium, Phalaenopsis

รหัสการทดลอง FF65-55-02-65-00-08-65

**บทคัดย่อ**

กล้วยไม้จัดเป็นสิ่งกำกัด ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ การนำเข้ามีเพียงใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาพร้อมกับสินค้าเท่านั้น ยังไม่มีการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชที่เฉพาะเจาะจง ฉะนั้นอาจเป็นสาเหตุให้ศัตรูพืชมีโอกาสติดมากับการนำเข้า การวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษาการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อ กล้วยไม้สกุลหวายและฟาแลนนอปซิสนำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช (ISPM 2 และ 11) และแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน เพื่อทราบรายชื่อศัตรูพืชกักกันและแนวทางการการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสม ผลการวิเคราะห์ความเสี่ยงพบว่ามีศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงสูง ได้แก่ *Dendrobium chlorotic mosaic virus, Capsicum chlorosis virus-phalaenopsis isolate, Orchid fleck virus, Impatiens necrotic spot virus, Tomato ringspot virus* และ *Tomato spotted wilt virus* จึงจำเป็นต้องหาแนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้า เพื่อป้องกันมิให้ศัตรูพืชกักกันหรือศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชร้ายแรงเข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายให้กับการเกษตรในประเทศ



**คำหลัก :** กล้วยไม้สกุลหวาย, กล้วยไม้ฟาแลนนอปซิส, การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช, ภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก


**คำนำ**

กล้วยไม้จัดอยู่ในวงศ์ออคิดาซีอี้ (Orchidaceae) เป็นพืชเศรฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยที่เป็นประเทศที่มีศักยภาพในการส่งออกกล้วยไม้ไปทั่วโลก แต่สถานการณ์ปัจจุบันพบว่าตลาดการค้ากล้วยไม้มีการแข่งขันที่สูงขึ้น ฉะนั้นประเทศไทยต้องเร่งพัฒนาและปรับปรุงคุณภาพของกล้วยไม้เพื่อรักษาตำแหน่งผู้ส่งออกสำคัญอันดับหนึ่งของโลกต่อไป จึงมีความจำเป็นต้องนำเข้ากล้วยไม้จากต่างประเทศเพื่อนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์หรือนำเข้ามาเลี้ยงขยายพันธุ์เพื่อการส่งออกต่อไป ซึ่งกล้วยไม้จัดเป็นสิ่งกำกัดตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550) การนำเข้ามามีเพียงการรับรองด้านสุขอนามัยพืช โดยไม่มีมาตรการในการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช เป็นสาเหตุสำคัญประการหนึ่งของการแพร่ระบาดโรค ทั้งนี้ประเทศไทยมีการนำเข้าต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อ ดอกและเมล็ดจากประเทศจีน เวียดนาม ไต้หวัน ญี่ปุ่น เกาหลี และมาเลเซีย เป็นต้น เนื่องจากแหล่งที่มามีภูมิอากาศใกล้เคียงกับประเทศไทย ปัญหาจากการนำเข้าอาจศัตรูพืชติดมา เช่น *Orchid fleck virus* (OFV), *Tomato ringspot virus* (TRSV) และ Potyvirus ซึ่งมีการระบาดอยู่ในหลายประเทศ ได้แก่ ญี่ปุ่น ไต้หวัน เกาหลี ฉะนั้นอาจมีความเสี่ยงที่จะนำศัตรูพืชกักกัน (quarantine pest) ซึ่งหมายถึงศัตรูพืชที่มี

ความสำคัญทางเศรษฐกิจที่มีศักยภาพต่อพื้นที่ที่อยู่ในอันตรายนั้น และยังไม่มีอยู่ในที่นั้น หรือมีอยู่แต่ไม่แพร่กระจายอย่างกว้างขวาง และอาจกำลังมีการควบคุมอย่างเป็นทางการ (FAO, 2007) สามารถติดมากับส่วนพืชที่นำเข้าได้ หากนำเข้ามาแล้วสามารถแพร่ระบาด และเจริญพันธุ์อย่างถาวรในประเทศได้ ดังนั้นการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิที่นำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกซึ่งเป็นแหล่งสำคัญในการส่งออกกล้วยไม้มายังประเทศไทย เพื่อให้ทราบชนิดศัตรูพืชกักกันและหาแนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสม ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญยิ่งในการป้องกันความเสียหายที่อาจเกิดขึ้นกับระบบเกษตรกรรมการผลิตกล้วยไม้ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงแก้ไขกฎระเบียบต่าง ๆ ให้รัดคุมมากยิ่งขึ้น ซึ่งจะสร้างเสถียรภาพความมั่นคงทางเศรษฐกิจของประเทศต่อไป

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for Pest Risk Analysis (2007))

2. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (Pest Risk Analysis for Quarantine Pests (2013))

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

4. หนังสือ ตำรา วารสาร เอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้องทั้งในและต่างประเทศ และฐานข้อมูลออนไลน์ เช่น Crop Protection Compendium, Description of Fungi and Bacteria, Description Maps of Plant Pests, Description Maps of Plant Diseases เป็นต้น

5. วัสดุคอมพิวเตอร์ เช่น หมึกพิมพ์ และแผ่นบันทึกข้อมูล เป็นต้น

6. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างศัตรูพืช เช่น พู่กัน กล่องพลาสติก เป็นต้น

7. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ขวดแก้ว อุปกรณ์ในการทำสไลด์ กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope เป็นต้น

8. สารเคมี เช่น สารเคมีสำหรับเก็บรักษาตัวอย่างศัตรูพืช สารเคมีกันเชื้อรา สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและแยกเชื้อ เป็นต้น

### วิธีการ

**1.การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล (2565-2566)**

1.1 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไปของกล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนนอปซิสที่นำเข้า เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ พันธุ์หรือสายพันธุ์ แหล่งผลิตในประเทศผู้ส่งออก ผลผลิต การรับรองสุขอนามัยของประเทศผู้ส่งออก เป็นต้น

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

**2. การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับกล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนนอปซิสนำเข้าในห้องปฏิบัติการ/โรงเรือน (2565-2567)**

เก็บตัวอย่างกล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนนอปซิสนำเข้าจากด่านตรวจพืช/โรงเรือน/แปลงปลูก นำมาตรวจสอบ ดังนี้

2.1 ตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับกล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนนอปซิสนำเข้า เช่น แมลง ไร หอย วัชพืช เชื้อรา และแบคทีเรีย โดยตรวจสอบภายนอกหรือภายในหากพบอาการผิดปกติ และสังเกตลักษณะผิดปกติที่อาจเกิดจากโรคพืชหรือแมลงศัตรูพืช

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

2.3 หากพบอาการผิดปกติที่อาจเกิดจากเชื้อสาเหตุโรคพืชให้ตรวจสอบด้วยวิธีการ ดังนี้

(1) ตรวจสอบเชื้อราด้วย Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003) และตรวจจำแนกชนิดของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกำลังขยายสูง และ/หรือตรวจสอบจำแนกเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) เพื่อตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกำลังขยายสูง

(2) ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียด้วย Dilution plate method เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar (NA) เพื่อตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

(3) ตรวจสอบไส้เดือนฝอยด้วยวิธีการของ Cobb’s sieving & Baermann และจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope) ในห้องปฏิบัติการ

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

**3. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (2565-2567)**

ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเชิงคุณภาพ ในการนำเข้าดอก ต้น และหัวพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนนอปซิสจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกโดยการประยุกต์แนวทางการวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for Pest Risk Analysis adopted 2007) (FAO, 2007) และฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (Pest risk analysis for quarantine pests, adopted 2013) (FAO, 2017) และแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืช

ของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (Caribbean Community and Common Market) (CAHFSA, 2016) ซึ่งประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังนี้

**ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation) (2565)**

1.1 ระบุจุดเริ่มต้นของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช/ระบุพื้นที่ซึ่งมีการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช/ตรวจสอบว่าเคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงโดยศัตรูพืช หรือเส้นทางศัตรูพืช หรือนโยบายของรัฐจากแหล่งข้อมูลภายในประเทศไทยและต่างประเทศพิจารณานำมาใช้ประกอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

1.2 นำข้อมูลศัตรูพืชที่ได้จากการสืบค้นและรวบรวมจากหนังสือ ตำรา เอกสารวิชาการ ฐานข้อมูลศัตรูพืช และจากการตรวจสอบศัตรูพืชที่พบติดมากับกล้วยไม้สกุลหวายสกุลฟาแลนนอปซิสที่นำเข้าจากต่างประเทศ มาจัดทำตารางศัตรูพืชเพื่อใช้สำหรับการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่อไป

**ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment) (2565-2567)**

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชมี 4 ขั้นตอนที่สัมพันธ์กัน ดังนี้

**2.1 การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) (2565-2567)**

2.1.1 นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาพิจารณาจัดประเภทศัตรูพืชว่ามีคุณสมบัติเป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ โดย (1) ระบุชนิดของศัตรูพืช (pest identity) (2) ตรวจสอบว่าเป็นศัตรูพืชที่มีพบในประเทศไทยหรือไม่ (3) ตรวจสอบสถานภาพการควบคุมศัตรูพืช (Regulatory status) กรณีที่ศัตรูพืชชนิดนั้นมีปรากฏในประเทศไทย (4) ประเมินศักยภาพของศัตรูพืชในการเข้ามาตั้งรกรากและการแพร่กระจายในประเทศไทยหรือไม่ โดยพิจารณาข้อมูลทางชีววิทยาของศัตรูพืช สภาพแวดล้อมและสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่พันธุ์ พืชอาศัย/พืชอาหาร และพาหะของศัตรูพืชชนิดนั้นที่มีรายงานการพบในประเทศไทย (5) ประเมินศักยภาพของศัตรูพืช ในการก่อให้เกิดผลตามมาทางเศรษฐกิจในประเทศไทย

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

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

นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากการประเมินในข้อ 2.1 มาประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามาและแพร่กระจายของศัตรูพืชภายหลังการตั้งรกรากของศัตรูพืช โดยแยกประเมินศัตรูพืชแต่ละชนิด ดังนี้

2.2.1 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามา (introduction) ของศัตรูพืชประกอบด้วย

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

(2) การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการตั้งรกราก (probability of establish) ของศัตรูพืช โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชสามารถมีชีวิตอยู่รอดและเจริญแพร่ขยายพันธุ์ได้ในประเทศไทย

2.2.2 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการแพร่กระจายหลังการตั้งรกราก (Probability of spread after establishment) Spread) โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชสามารถแพร่กระจายในประเทศไทย

ปัจจัยที่นำมาใช้พิจารณาประเมินความน่าจะเป็นไปได้ใช้ตามแนวทางการวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (FAO, 2013) สำหรับรายละเอียดหลักเกณฑ์การประเมินความน่าจะเป็นไปได้แต่ละเหตุการณ์ ตลอดจนการรวมผลการประเมินใน 2 เหตุการณ์ โดยใช้กฎเมตริกซ์สำหรับการรวมโอกาสที่จะเกิดขึ้นเชิงคุณภาพ (Matrix of rules for combining qualitative likelihoods) ดำเนินการตามแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (CAHFSA, 2016)

**2.3 การประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้น (Assessment of Potential Economic Consequence) ภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืช (2566-2567)**

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

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

นำผลการประเมินความน่าจะเป็นไปได้ในข้อ 2.2.1 การนำเข้ามาและการแพร่กระจายของศัตรูพืช และข้อ 2.2.2 การประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้นภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืช มารวมกันโดยใช้ เมตริกซ์การประเมินความเสี่ยง (risk estimation matrix) (CAHFSA, 2016) บันทึกปัจจัยที่ไม่แน่นอน (uncertainty)

**ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest Risk Management) (2566-2567)**

นำรายชื่อศัตรูพืชกักกัน ที่ได้จากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนที่ 2 มาพิจารณาหาแนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชเพื่อจัดการความเสี่ยงของศัตรูพืชแต่ละชนิด โดยจำแนกวิธีการที่จะดำเนินการกับความเสี่ยงศัตรูพืชในการเข้ามาเจริญและแพร่กระจายในประเทศไทยตลอดจนผลกระทบทางด้านเศรษฐกิจเพื่อลดความเสี่ยงลงให้ถึงระดับต่ำสุดที่ยอมรับได้ โดยมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติและไม่เป็นอุปสรรคต่อการค้าระหว่างประเทศ สำหรับนำไปใช้เป็นแนวทางในการกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม ทั้งนี้ การพิจารณาระดับความเสี่ยง (Level of risk) ใช้หลักการจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่มีระดับที่เหมาะสมซึ่งสามารถยอมรับได้ (Appropriate Level of acceptable; ALOP) หรือระดับความเสี่ยงที่สามารถยอมรับได้ (acceptable) โดยในการทดลองนี้กำหนดให้มีระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ คือ “ความเสี่ยงในระดับที่ละเลยได้ (negligible)”

**4. สรุปผลศึกษาการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (2566, 2567)**

สรุปผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่าง ๆ รวมถึงรายชื่อศัตรูพืชกักกันของการนำเข้าดอก ต้น และหัวพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวาย สกุลฟาแลนนอปซิสจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ที่มีระดับความเสี่ยงแตกต่างกัน แนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันแต่ละชนิด และมาตรการสนับสนุนอื่น ๆ สำหรับใช้เป็นข้อมูลกำหนดมาตรการทางกฎหมายต่อไป

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. รายละเอียดของศัตรูพืชแต่ละชนิด เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ เขตแพร่กระจาย ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย/อาศัย และมีพาหะ หรือเป็นพาหะของศัตรูพืชชนิดอื่นหรือไม่ การติดมากับส่วนของพืชที่นำเข้า พืชอาศัย ชีววิทยา นิเวศวิทยา เอกสารอ้างอิง

2. ชนิดของศัตรูพืชกักกัน ศัตรูพืช หรืออื่น ๆ ที่ปนเปื้อนหรือติดมากับกล้วยไม้สกุลหวายและฟาแลนนอปซิส นำเข้า วัน เวลา สถานที่ และวิธีการที่ใช้ในการจำแนกชนิดศัตรูพืช ลักษณะอาการบนพืช

3. สถานภาพของศัตรูพืชแต่ละชนิดว่ามีรายงานพบในประเทศไทยหรือไม่ และเอกสารอ้างอิง

4. ชนิดของศัตรูพืชกักกัน เขตแพร่กระจาย (ชื่อประเทศ) ในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก และมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันของกล้วยไม้สกุลหวายและฟาแลนนอปซิสนำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2565 - กันยายน 2567

**สถานที่** 1. ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

3. ด่านตรวจพืชท่าอากาศสุวรรณภูมิ จ.สมุทรปราการ และด่านตรวจพืชท่าอากาศยานเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร
4. แปลงเกษตรกร/บริษัท จ.นครปฐม และ จ.ปทุมธานี

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**สืบค้นและรวบรวมข้อมูลกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส**

กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium* spp.) มีใบเรียงสลับกันหรือเรียงซ้อนทับกัน ใบเดี่ยว แบน แข็งหนา สีเขียว เส้นใบขนานกันไปตามความยาวของใบ ดอก ดอกช่อ ออกตามซอกใบ ดอกเรียงสลับ 6-8 คู่ ปลายคี่ กลีบเลี้ยง 3 กลีบ สีเดียวกับกลีบดอก แต่สีเข้มกว่าเล็กน้อย กลีบดอก 5 กลีบ มักมี 3 สีภายใน 1 ดอก มีกลีบดอก 1 กลีบเปลี่ยนรูปร่างไปเนื่องจากมีเกสรเพศผู้ และยอดเกสรเพศเมียลดรูปมารวมอยู่ด้วยกัน มีลักษณะเป็นปาก (labellum) มีสีเข้มเด่นชัดกว่ากลีบอื่นๆ ผลเป็นฝักสีเขียว (กรมวิชาการเกษตร, 2548)

กล้วยไม้สกุลฟาแลนนอปซิส (*Phalaenopsis* spp.) เป็นไม้ดอกกระถางที่มีความสำคัญในตลาดไม้ดอกของโลก มีประมาณ 60 ชนิด ลำต้นเป็นพวก monopodial ที่มีส่วนของลำต้นสั้น ราก ลักษณะของรากจะขึ้นอยู่กับชนิด ซึ่งอาจมีรากเป็นแบบรากอากาศ ใบมีสีเขียวเข้ม ช่อดอก มีทั้งที่เป็นช่อเดี่ยว (raceme) และช่อที่มีการแตกแขนง (panicle) ดอก มีหลากหลายขนาดตั้งแต่ดอกขนาดจิ๋วไปจนถึงขนาดใหญ่ กลีบดอกมักมีขนาดเท่า ๆ กันและมีสีเหมือนกัน ในขณะที่ปากสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วนด้วยกัน 2 ส่วนด้านข้างมักจะตั้งขึ้นหรือโค้งขึ้นมา ส่วนตรงกลาง อาจมีปลายแหลม หรือมน หรือหยักก็ได้ และบริเวณโคนปาก มีสันนูนขึ้นมา อาจมี 1 - 3 แถบ

**ข้อมูลการผลิตกล้วยไม้สกุลหวายและฟาแลนนอปซิสจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกมีดังนี้**

**จีน** พื้นที่ที่ถือว่าเป็นแหล่งผลิตดอกกล้วยไม้ที่สำคัญในจีนได้แก่ มณฑลกวางตุ้งและมณฑลฝูเจี้ยน นอกจากนี้ พื้นที่การเพาะปลูกของดอกกล้วยไม้ในจีนยังกระจายตัวอยู่ใน มณฑลยูนาน เจ้อเจียง เสฉวน หูหนาน หูเป่ย เจียงซู เป็นต้น ประเทศคู่ค้าที่สำคัญ ได้แก่ นิวซีแลนด์ เนเธอร์แลนด์ ไต้หวัน อเมริกาใต้ ไทยนิยมนำเข้าดอกกล้วยไม้สกุลหวาย ต้นกล้วยไม้สกุลฟาแลนนอปซิสลูกผสมจากจีน (กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ, 2562)

**ญี่ปุ่น** สามารถผลิตกล้วยไม้เมืองร้อนที่ปลูกในโอกินาวาประเทศญี่ปุ่น ทำการขยายพันธุ์กล้วยไม้ฟาแลนนอปซิสโดยการผสมพันธุ์ต้นพ่อ-แม่พันธุ์ เมื่อได้ฝักแล้วส่งมาขายพันธุ์ที่ประเทศไทย นอกจากฝักแล้วไทยยังนำเข้ากล้วยไม้สกุลหวายลูกผสม (Dendrobium hybrid) จากญี่ปุ่น ประเทศคู่ค้าที่สำคัญ ได้แก่ ไทย ไต้หวัน

**เวียดนาม** บริเวณปลูกกล้วยไม้ขนาดใหญ่ในภาคใต้ของเวียดนามอยู่ที่เมืองดาลัด จังหวัดลำด่อง โดยมีการปลูกกล้วยไม้ พันธุ์ Cymbidium Hybrid และเขตนอกเมืองนครโฮจิมินห์ปลูกพันธุ์

Dendrobium, Mokara, Vanda, Oncidium ดอกกล้วยไม้สกุลฟาแลนนอปซิสลูกผสม และต้นกล้วยไม้สกุลฟาแลนนอปซิส เป็นสินค้าที่ส่งออกของเวียดนาม (กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ, 2559)

**ไต้หวัน** เป็นผู้ส่งออกกล้วยไม้ที่สำคัญของโลกอีกแห่งหนึ่ง แหล่งเพาะปลูกกล้วยไม้ที่สำคัญของไต้หวันอยู่ในเขตจังหวัดไถหนาน เจียอี้ หนานโถ ผิงตง ไถจง ซึ่งเป็นที่ตั้งของ Taiwan Orchid Plantation โดยอุตสาหกรรมกล้วยไม้ของไต้หวันได้รับการยอมรับว่ามีศักยภาพในระดับนานาชาติทั้งในส่วนของการ ผสมพันธุ์ การวิจัยและพัฒนาพันธุ์ ประเทศคู่ค้าที่สำคัญ ได้แก่ สิงคโปร์ เนเธอร์แลนด์ ไทย (กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ, 2562)

**ฟิลิปปินส์** มีการผลิตกล้วยไม้มากที่สุดที่เมืองดาเวา เกาะมินดาเนา จนได้รับขนานนามว่าเป็นเมืองหลวงกล้วยไม้ฟิลิปปินส์ ประเทศคู่ค้าที่สำคัญของฟิลิปปินส์ได้แก่ ไทย จีน เอกวาดอร์ เนเธอร์แลนด์ ไต้หวัน อิตาลี ญี่ปุ่นและเวียดนาม

การนำเข้ากล้วยไม้ของไทยจากต่างประเทศมักเป็นการนำเข้ามาเพื่อการขยายพันธุ์ เช่น วิธีการปั่นตา การเพาะเมล็ด การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และส่งออกในลักษณะดอกกล้วยไม้และต้นกล้วยไม้ต่อไป

**สืบค้นและรวบรวมข้อมูลศัตรูกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส**

จากการสืบค้นชนิดศัตรูพืชของกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิสต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อ ดอกและเมล็ด มีศัตรูพืชรวมทั้งสิ้นจำนวน 114 ชนิด ประกอบด้วย ไร 5 ชนิด แมลง 45 ชนิด รา 21 ชนิด แบคทีเรีย 6 ชนิด ไวรัส 28 ชนิด ไวรอยด์ 1 ชนิด และหอยทาก 8 ชนิด นำข้อมูลศัตรูพืชมาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชตามมาตรฐานสุขอนามัยพืช (ISPM) ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน

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

แมลง 45 ชนิด ได้แก่ *Adoretus compressus, Aspidiotus nerii, Bemisia tabaci, Bactrocera papaye, Brevipalpus californicus, Cerataphis lataniae, Cerataphis orchidearum, Contarinia maculipennis, Coccus hesperidum, Chaetanaphothrips signipennis, Chliaria othona, Chaetanaphothrips orchidii, Diaspis boisduvalii, Diorymerellus laevimargo, Dichromothrips corbetti, Dysmicoccus brevipes, Dichromothrips smithi, Elimaea chloris, Frankliniella occidentalis, Frankliniella intonsa, Frankliniella schultzei, Hypolycaena kina, Hypolycaena othona, Helionothrips errans, Lema pectoralis, Mertila malayensis, Microcephalothrips abdominalis, Nipaecoccus nipae, Oxya chinensis, Orchidophilus aterrimus, Orgyia postica, Parlatoria proteus, Parlatoria ziziphin, Planococcus citri, Planococcus minor, Psuedococcus longispinus, Pseudococcus jackbeardsleyi, Rhaphildopalpa semilis, Scirtothrips dorsalis, Spodoptera exigua, Spodoptera litura, Thrips palmi, Thrips hawaiiensis*, *Toxoptera aurantia, Trichoplusia ni* และ *Xylosandrus compactus*

รา 21 ชนิด ได้แก่ *Alternaria alternata, Botrytis cinerea, Colletotrichum crassipes, Colletotrichum gloeosporiodes, Cylindrosporium phalaenopsidis, Fusarium moniliforme, Fusarium oxysporum, Fusarium solani, Glomerella cingulate, Lasiodiplodia theobromae, Phyllosticta capitalensis, Phyllostictina pyriformis, Phytophthora cactorum, Phyllosticta capitalensis, Phytophthora nicotianae, Phytophthora palmivora, Pseudocercospora dendrobii, Pseudocochliobolus eragrostidis, Pseudocercospora dendrobii, Sclerotium rolfsii* และ *Thanatephorus cucumeris* (Anamorph*: Rhizoctonia solani), Sphaerulina phalaenopsidis*

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

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

ไวรอยด์ 1 ชนิด ได้แก่ *Dendrobium viroid*

หอยทาก 8 ชนิด ได้แก่ *Achatina fulica*, *Cryptozona siamensis*, *Lamellaxis gracilis*, *Ovachlamys fulgens*, *Pamarion siamensis*, *Prosopeas walker, Succinea chrysys*, และ *Bradybaena tourannensis*

**การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิสนำเข้าในห้องปฏิบัติการ**

ปี 2565-2567 ไทยนำเข้าต้นกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อ ต้นกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อ เมล็ด จากกลุ่มประเทศญี่ปุ่น ไต้หวัน มาเลเซีย เกาหลี และจีน การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิสนำเข้าในห้องปฏิบัติการจำนวน 29 ตัวอย่าง ได้แก่ ต้นกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสกุลหวาย จำนวน 8 ตัวอย่าง ต้นกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อฟาแลนนอปซิสจำนวน 12 ตัวอย่าง (Figure 1 -2 ) และก้านช่อกล้วยไม้ฟาแลนนอปซิสจำนวน 5 ตัวอย่าง (Figure 3) และเมล็ด 4 ตัวอย่าง (Figure 4) ผลการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นโดยการตรวจสอบ

ในระดับสายตา ไม่พบเชื้อรา แบคทีเรีย ไส้เดือนฝอย ตัวอ่อน ไข่ หนอนแมลงวัน และหอยทาก การตรวจสอบเชื้อไวรัสในห้องปฏิบัติการโดยใช้เทคนิคเซรุ่มวิทยาด้วยวิธี ImmunoStrip® Tests (Agdia, USA) สำหรับตรวจสอบเชื้อไวรัส *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Impatiens necrotic spot virus* (INSV) and *Tobacco mosaic virus* (TMV) และ Potyvirus Group ใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลด้วยวิธี Polymerase chain reaction (PCR) และ Reverse Transcriptase PCR (RT-PCR) สำหรับการตรวจสอบเชื้อไวรัส *Cymbidium mosaic virus* (CyMV) and *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) (Figure 5) ผลการตรวจไม่พบ แมลง ไร หอยทาก เชื้อรา และแบคทีเรีย พบเชื้อไวรัส TMV, ORSV และ CyMV ในกล้วยไม้ฟาแลนนอปซิส และไวรัส CyMV ในกล้วยไม้สกุลหวายเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Table 1) สำหรับตัวอย่างก้านช่อกล้วยไม้ฟาแลนนอปซิสตรวจไม่พบเชื้อไวรัส ทั้งสามชนิดซึ่งเป็นศัตรูพืชของกล้วยไม้ที่มีรายงานในประเทศไทยและจากการเฝ้าระวังโรคไวรัสในกล้วยไม้ในประเทศไทยผลการศึกษายังพบเชื้อไวรัสในกลุ่ม Potyvirus และเชื้อไวรัส OFV, TRSV ระบาดในประเทศไทย (สิทธิศักดิ์, 2551) อย่างไรก็ตาม การตรวจสอบศัตรูพืชที่มีโอกาสติดมากับการนำเข้าต้นกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อ ต้นกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อ ควรดำเนินการตรวจสอบอย่างเคร่งครัด และดำเนินการตรวจสอบด้วยวิธีการที่เป็นมาตรฐานสากล เพื่อจะได้นำข้อมูลผลการตรวจสอบศัตรูพืชไปใช้ในการจัดทำฐานข้อมูล รวมทั้งการเตรียมการตรวจสอบชนิดศัตรูพืชกักกันให้ทันต่อสถานการณ์การระบาดของโรคในยุคปัจจุบัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นผลเกิดความหลากหลายของไวรัสในธรรมชาติได้ตลอดเวลา ซึ่งผลที่เกิดขึ้นนี้ส่งผลกระทบโดยตรงต่อการป้องกันและควบคุมโรค เนื่องจากพันธุกรรมของไวรัสที่เปลี่ยนไปอาจทำให้วิธีการตรวจวินิจฉัยโรคแบบเดิมมีประสิทธิภาพในการตรวจหาเชื้อลดน้อยลง (ณัฏฐิมา, 2556)

**การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช**

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation)

เนื่องจากกล้วยไม้เป็นจัดเป็นสิ่งกำกัด ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 การนำเข้าจึงมีเพียงใบรับรองสุขอนามัยพืช โดยไม่มีมาตรการในการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช ซึ่งในปี 2565 การนำเข้ากล้วยไม้มีปริมาณสูงที่สุด คือ ต้นกล้า รองลงมาคือ ต้นกล้า กล้วยไม้ลูกผสม และกิ่งชำ ส่วนใหญ่นำเข้าจาก โดยนำเข้าจากประเทศจีน ญี่ปุ่น และไต้หวันประมาณ 1,000 ตัน การนำเข้าในปริมาณมากนั้น มีความเสี่ยงที่ศัตรูพืชกักกันติดมากับส่วนของกล้วยไม้ที่นำเข้า จึงจำเป็นต้องวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเพื่อให้ทราบชนิดศัตรูพืชกักกัน และเป็นแนวทางในการปรับปรุงแก้ไขกฎหมายเพื่อยกระดับความเสี่ยงศัตรูพืชของกล้วยไม้ ซึ่งต้องใช้มาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชก่อนการนำเข้ามา รวมถึงทบทวนหรือการแก้ไขการกำหนดจากพืชสิ่งกำกัดเป็นสิ่งต้องห้าม ทั้งนี้เพื่อให้สามารถควบคุมกำกับดูแลการนำเข้าต้นกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ

ก้านช่อของกล้วยไม้สกุลหวายและฟาแลนนอปซิส เป็นการป้องกันศัตรูพืชกักกันไม่ให้เข้ามาทำความเสียหายกับภาคการเกษตรของประเทศไทยได้ในอนาคต

การวิเคราะห์ความเสี่ยงนี้ พื้นที่ที่อยู่ในอันตราย คือ “ประเทศไทย” ซึ่งดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่ไม่เคยปรากฏพบในประเทศไทย หรือมีอยู่อย่างจำกัด หรืออยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment)

นำข้อมูลศัตรูพืชทั้ง 114 ชนิด ที่ได้จากการสืบค้นและรวบรวมข้อมูลมาดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของกล้วยไม้สกุลหวายและฟาแลนนอปซิสที่นำเข้าจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ในขั้นตอนการจัดประเภทศัตรูพืชพบว่าเป็นศัตรูพืชที่ไม่มีในประเทศไทยและมีโอกาสติดเข้ามากับต้นกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อ เมล็ดและดอกของกล้วยไม้สกุลหวายและฟาแลนนอปซิส และนำรายชื่อศัตรูพืชดังกล่าวมาประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการเข้ามาและแพร่กระจายรวมทั้งผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้นภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืชได้รายชื่อที่ศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันรวม 11 ชนิด (Table 2)

ได้รายชื่อศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของ ต้นกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อ เมล็ดและดอกของกล้วยไม้สกุลหวายและฟาแลนนอปซิสสามารถจัดลำดับความเสี่ยงได้ ดังนี้

ศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงต่ำ ได้แก่ *Cylindrosporium phalaenopsidis, Sphaerulina phalaenopsidis* และ *Dendrobium viroid*

ศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงปานกลาง ได้แก่ *Tobacco rattle virus* และ *Vanilla mosaic virus*

ศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงสูง ได้แก่ *Dendrobium chlorotic mosaic virus, Capsicum chlorosis virus-Phalaenopsis, Orchid fleck virus, Impatiens necrotic spot virus, Tomato ringspot virus, Tomato spotted wilt virus*

ความน่าจะเป็นไปได้ในการเข้ามาของศัตรูพืชในประเทศไทย - สูง

ไวรัสกล้วยไม้มีโอกาสติดมากับต้นกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ และก้านช่อ การสังเกตลักษณะอาการภายนอก ไม่สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า ต้องใช้เทคนิคในการตรวจสอบที่มีความจำเพาะเจาะจง

ความน่าจะเป็นไปได้ในการตั้งรกรากของศัตรูพืชในประเทศไทย – สูง

กล้วยไม้ที่มีเชื้อไวรัสอยู่อาจจะแสดงอาการหรือไม่แสดงอาการออกมาให้ปรากฏ มีโอกาสที่จะเจริญและแพร่กระจายในประเทศไทยได้ เนื่องจากมีพืชอาศัยกว้าง รวมทั้งวัชพืช การถ่ายทอดเชื้อไวรัสมีลักษณะการถ่ายทอดภายในต้นพืช ไวรัสติดไปกับท่อนพันธุ์ การถ่ายทอดผ่านทางเมล็ด การถ่ายทอดระหว่างต้นพืชโดยการสัมผัส อาศัยพืชปรสิตขั้นสูง ละอองเกสร หรือแมลงพาหะ สภาพอากาศที่เหมาะสม มีการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้

ความน่าจะเป็นไปได้ในการแพร่กระจายของศัตรูพืชในประเทศไทย - สูง

การแพร่ระบาดของไวรัสพืช จากต้นที่เป็นโรคไปยังต้นปกติ ขึ้นอยู่กับลักษณะและความสามารถในการถ่ายทอด (transmission) เชื้อไวรัสแต่ละชนิดและนำไปสู่การแพร่ระบาดของโรคไวรัส แนวทางการควบคุมโรคไวรัสขึ้นอยู่กับความสามารถในการถ่ายทอดเชื้อไวรัสว่ามีประสิทธิภาพมากน้อยเพียงใด ซึ่งรูปแบบการถ่ายทอดเชื้อไวรัสพืช สามารถจำแนกได้ 2 รูปแบบ คือ การถ่ายทอดภายในต้น และการถ่ายทอดระหว่างต้นพืช ซึ่งการถ่ายทอดภายในต้นพืช เป็นการถ่ายทอดไวรัสจากพืชรุ่นหนึ่งไปสู่รุ่นหนึ่ง เกิดจากการที่ไวรัสเข้าทำลายพืชแล้วสามารถกระจายไปสู่ส่วนต่าง ๆ ของพืช ไวรัสในกล้วยไม้มีการแพร่กระจายกับท่อนพันธุ์ กล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ หรือก้านช่อ เมื่อท่อนพันธุ์นั้นถูกนำไปแพร่ขยายในแหล่งที่แมลงพาหะ พรือพืชอาศัยของไวรัสที่อ่อนแอต่อเชื้อไวรัสจะทำให้มีโอกาศเกิดการแพร่ระบาดของโรคในพื้นที่ใหม่

ผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้น - สูง

ผลกระทบทางตรง : ทำความเสียหายโดยตรงต่อพืชเศรษฐกิจของไทย โดยเฉพาะกล้วยไม้ กล้วยไม้สกุลหวาย และฟาแลนนอปซิส พืชเศรษฐกิจของไทยอีกหลากหลายชนิด เช่น วงศ์มะเขือ ไม้ดอก ไม้ประดับ พืชตระกูลแตง เป็นต้น ซึ่งมีแหล่งปลูกกระจายทั่วประเทศไทย การเข้าทำลายของไวรัสกระทบผลผลิตทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพ หากพืชได้รับความเสียหายมากอาจไม่ให้ผลผลิต

ผลกระทบทางอ้อม : การควบคุมและป้องกันโรคไวรัส เนื่องจากไวรัสพืชไม่มีสารป้องกันกำจัดโรคพืช ซึ่งหลักในการป้องกันกำจัดโรคไวรัสพืช ได้แก่ การใช้พันธุ์หรือท่อนพันธุ์พืชที่ปราศจากเชื้อไวรัส การป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัส การใช้พันธุ์พืชที่ต้านทานต่อเชื้อไวรัส ซึ่งอาจถูกนำมาเป็นประเด็นในการกำหนดมาตรการด้านสุขอนามัยพืชที่เข้มงวด และเป็นข้อกีดกันทางการค้า

เมื่อรวมผลการประเมินความน่าจะเป็นไปได้ในการเข้ามา ตั้งรกราก การแพร่กระจายกับผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้นภายหลังการเข้ามาของไวรัส *Dendrobium chlorotic mosaic virus, Capsicum chlorosis virus-Phalaenopsis, Orchid fleck virus, Impatiens necrotic spot virus, Tomato ringspot virus, Tomato spotted wilt orthotospovirus* โดยใช้ตารางกฎประเมินความน่าจะเป็นไปได้รวม (Matrix of rule for combining descriptive likelihoods) (CAHFSA, 2016) พบว่าศัตรูพืชดังกล่าวมีความเสี่ยงสูง เมื่อรวมความน่าจะเป็นไปได้ในการเข้ามา ตั้งรกราก และแพร่กระจาย กับผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นภายหลังจากการเข้ามาของเชื้อไวรัสในกล้วยไม้ พบว่าเป็นศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงสูง

ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest Risk Management) ต้นกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อ เมล็ดและดอกกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส ดังนี้

**การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช ณ ประเทศต้นทางก่อนการส่งออก ดังนี้**

1) มาตรการเพื่อป้องกันหรือลดการเข้าทำลายของศัตรูพืชในแหล่งผลิต

- มาตรการที่สร้างความเชื่อมั่นว่าพื้นที่ผลิตหรือสถานที่ผลิตปราศจากการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดี การรักษาความสะอาดในแหล่งผลิต และการบริหารจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน

- การปลูกภายใต้สภาพควบคุมเฉพาะ เก็บเกี่ยวพืชในช่วงอายุที่เหมาะสม หรือผลิตพืชภายใต้กระบวนการที่ได้รับการรับรอง

- กล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ต้องได้รับการพัฒนาจากต้นแม่พันธุ์ที่ได้รับการตรวจสอบแล้วว่าปราศจากศัตรูพืชกักกัน

- การตรวจสอบสภาพต้นแม่พันธุ์ และการตรวจสอบไวรัสต้องได้รับการตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ โดยใช้เทคนิค ELISA

- Culture medium สำหรับกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้องปลอดจากศัตรูพืช

- การเจริญเติบโตกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ปราศจากโรคในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากดิน

- การบำบัดด้วยวิธีการต่าง ๆ เช่น กล้วยไม้ตัดดอกต้องผ่านการรมสารเมทิลโบรไมด์ตามอัตราที่กำหนด

2) มาตรการจัดการในพื้นที่บรรจุ/หีบห่อ

- ต้องรักษาความสะอาดในพื้นที่บรรจุ/หีบห่อ

- ต้องบรรจุในบรรจุภัณฑ์/หีบห่อ ที่ใหม่ สะอาด

- ต้องไม่มีการปะปนของดิน ทราย แมลงที่มีชีวิต วัชพืช เมล็ดพืชอื่นหรือสิ่งอื่นใดที่มีศักยภาพนำพาศัตรูพืชกักกันได้

3) พนักงานเจ้าหน้าที่ประเทศผู้ส่งออกต้องดำเนินการชักตัวอย่างกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิสเพื่อตรวจสอบศัตรูพืชเพื่อให้มั่นใจว่าไม่มีศัตรูพืชกักกันติดไปกับตัวอย่างสินค้า

4) ต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทาง ซึ่งออกให้โดยองค์กรอารักขาพืชแห่งชาติของประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิกกำกับมาด้วย โดยต้นฉบับใบรับรองสุขอนามัยพืชต้องแนบมาพร้อมกับสินค้าทุกครั้งที่ส่งไปยังประเทศไทย และต้องมีการรับรองว่าสินค้าปลอดจากศัตรูพืชกักกันของกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส (DAFF,2010)

**การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช ณ จุดนำเข้า ดังนี้**

1) การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช ณ จุดนำเข้า ที่ด่านตรวจพืช

- เจ้าหน้าที่ต้องตรวจสอบความถูกต้องขอเอกสารตามข้อกำหนดการนำเข้า

- กล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิสเมื่อมาถึงประเทศไทย ต้องตรวจสอบเพื่อยืนยันว่าไม่มีแมลงที่มีชีวิต อาการของโรคพืช ดิน ทราย เมล็ดพืชปลอมปน ขยะ หรือเศษซากอื่น ๆ โดยพนักงานเจ้าหน้าที่จะเก็บตัวอย่างกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนนอปซิส เพื่อตรวจสอบในห้องปฏิบัติการที่กำหนด และต้องกักไว้จนกว่าจะทราบผลจากห้องปฏิบัติการ

2) ในกรณีตรวจพบศัตรูพืชกักกันให้ดำเนินการกำจัดศัตรูพืชเหล่านั้นด้วยวิธีที่ เหมาะสม (ถ้ามีวิธีการกำจัด) หรือส่งกลับ หรือทำลาย

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

กล้วยไม้สกุลหวาย และฟาแลนนอปซิสเป็นกล้วยไม้ที่เป็นที่นิยมและนำเข้ามามากที่สุดของประเทศ ซึ่งมีการนำเข้ามาในประเทศในรูปแบบของต้นกล้วยไม้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิ่งชำ ก้านช่อ ดอก และเมล็ดพันธุ์ เป็นการนำเข้ามาเพื่อการค้าและการเพาะปลูก จากสาธารณรัฐประชาชนจีน และสาธารณรัฐสังคมนิยมเวียดนาม ไต้หวัน ญี่ปุ่น จากการรวบรวมศัตรูพืชของกล้วยไม้พบศัตรูพืชรวม 114 ชนิด ซึ่งพบว่าเป็นศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน รวม 11 ชนิด ศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงสูง 6 ชนิด ได้แก่ *Dendrobium chlorotic mosaic virus, Capsicum chlorosis virus-Phalaenopsis, Orchid fleck virus, Impatiens necrotic spot virus, Tomato ringspot virus* และ *Tomato spotted wilt orthotospovirus* สุ่มเก็บตัวอย่างนำเข้าจำนวน 29 ตัวอย่าง ไม่พบศัตรูพืชกักกันแต่พบเชื้อไวรัส *Cymbidium mosaic virus*, *Tobacco mosaic virus* และ *Odontoglossum ringspot virus* โดยไวรัสทั้ง 3 ชนิด เป็นศัตรูพืชของกล้วยไม้ที่มีรายงานในประเทศไทยแต่จำเป็นต้องมีการตรวจสอบเนื่องจากเชื้อไวรัสมีความผันแปรทางพันธุกรรมอาจจะเป็นชนิดที่ต่างสายพันธุ์ได้ อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องหาแนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้า ดังนี้ ต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืช และในใบรับรองต้องระบุข้อความปราศจากศัตรูพืชกักกัน การสุ่มตรวจนำเข้าการควบคุมเพื่อลดความเสี่ยงศัตรูพืชที่ติดมากับส่วนของกล้วยไม้นำเข้าใช้มาตรการทางกฎหมายพระราชบัญญัติกักกันพืช เพื่อป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก เข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร และแพร่ระบาดในประเทศ ตลอดจนมีศักยภาพที่จะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจในอนาคต

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นักวิชาการและเจ้าหน้าที่กลุ่มงานวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืชและกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช ทุกท่าน ที่ช่วยให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในการทำงานวิจัย รวมทั้งขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ในการให้ข้อมูลทางวิชาการที่เกี่ยวข้องกับการดำเนินงานวิจัย และสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรมที่สนับสนุนทุนสำหรับการดำเนินงานวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2548. *กล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์การค้าในประเทศไทย*. กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ.

กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ. 2556. ภาวะตลาดสินค้ากล้วยไม้ในไต้หวัน สำนักงานส่งเสริมการค้าในต่างประเทศฯ ณ กรุงมะนิลา (ส่วนที่2) กุมภาพันธ์ 2556. Available Source: https://www.ditp.go.th/ contents_attach /74025/74025.pdf, May 10, 2022.

กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ. 2559. ข่าวเด่นประจำสัปดาห์จากสคต. ณ นครโฮจิมินห์ ระหว่างวันที่ 8 - 14 มิถุนายน 2016 สำนักงานส่งเสริมการค้าในต่างประเทศ ณ นครโฮจิมินห์. Available Source: https://www.ditp.go.th/contents_attach/148900/148900.pdf, May 10, 2022.

กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ. 2562. รายงานเศรษฐกิจเดือนมกราคม 2562 สำนักงานส่งเสริมการค้าในต่างประเทศ ณ นครเซี่ยงไฮ้. Available Source: https://www.ditp.go.th/contents_attach /537454/537454. pdf, May 10, 2022.

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2550 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 124 ง. ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2556. *การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัส Cymbidium Mosaic Virus และ Odontoglossum Ringspot Virus สาเหตุโรคกล้วยไม้ในประเทศไทย The study of genetic diversity of Cymbidium Mosaic Virus and Odontoglossum Ringspot Virus infecting orchids in Thailand.* (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล https://tarr.arda. or.th/preview/item/G-0wuxzCTdevFecWFzNHC? (10 มิถุนายน 2567).

สุรภี กีรติยะอังกูร, กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร, ไมตรี พรหมมินทร์. 2540. การใช้ cocktail primers ที่เหมาะสมในการตรวจไวรัสบนกล้วยไม้ด้วยวิธี multiplex RT-PCR, 204-214. *ใน : การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35.* สาขาพืช ส่งเสริมและนิเทศศาสตร์เกษตร อุตสาหกรรมเกษตร 3-5 กุมภาพันธ์ 2540, กรุงเทพฯ.

สิทธิศักดิ์ แสไพศาล, วันเพ็ญ ศรีทองชัย และสุรภี กีรติยะอังกูร. 2551. การเฝ้าระวังโรคไวรัสของกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อ OFV, TRSV และ Potyvirus. แหล่งที่มา: https://www.doa.go.th /research/attachment.php?aid=899, 20, 20 มกราคม 2566

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

CAHFSA (Caribbean Agricultural Health and Food Safety Agency). 2016. Guidelines for pest risk analysis of imported plant and plant products. Version 1.1 published October 2016. 33p.

DAFF (Department of Agriculture, Fisheries and Forestry). 201 0 . Review of policy: Alternative risk management measures to import Phalaenopsis nursery stock from Taiwan. 89p.

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

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2013. International Standards for Phytosanitary Measures No. 11 (ISPM 11): Pest risk analysis for quarantine pests. (Online). Available. https://www.ippc.int/en/core-activities/standards-setting/ispms/. (February 6, 2021).

Lesemann, D.E.. 1977. Long filamentous virus-like particles associated with vein necrosis of Dendrobium Phalaenopsis. Phytopath. Z. 71, 257-269.

Mahasan, 2535. กล้วยไม้. ระบบออนไลน์. แหล่งข้อมูล: https://mahasan2535.wordpress.com/ (12 มีนาคม 2563)

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

USDA. 2003. Importation of Moth Orchids (*Phalaenopsis* spp.) in Approved Growing Media from Taiwan, Final Environmental Assessment. United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service.

**Table 1** Detection of *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Impatiens necrotic spot virus* (INSV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) and *Cymbidium mosaic virus* (CyMV) in tissue cultures and inflorescences of *Dendrobium* spp. and *Phalaenopsis* spp. orchids from the Asia-Pacific region

| Code | Genus | Type | ImmunoStrips | | | | | RT-PCR | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | CMV | INSV | TMV | TSWV | Potyvirus | CyMV | ORSV |
| DX1 2566926 | *Dendrobium* | tissue culture | - | - | - | - | - | - | - |
| DX1 2566913 | *Dendrobium* | tissue culture | - | - | - | - | - | + | - |
| DX1 2566923 | *Dendrobium* | tissue culture | - | - | - | - | - | - | - |
| DX2 2637937 | *Dendrobium* | tissue culture | - | - | - | - | - | - | - |
| DX2 256135 | *Dendrobium* | tissue culture | - | - | - | - | - | - | - |
| DX2 2561210 | *Dendrobium* | tissue culture | - | - | - | - | - | - | - |
| PX-1 2685045 | *Phalaenopsis* | tissue culture | - | - | + | - | - | + | + |
| PX-1 268504 | *Phalaenopsis* | tissue culture | - | - | - | - | - | - | - |
| PX-1 2685037 | *Phalaenopsis* | tissue culture | - | - | - | - | - | - | - |
| PX-2 2685037 | *Phalaenopsis* | tissue culture | - | - | - | - | - | + | + |
| PX-2 2664048 | *Phalaenopsis* | tissue culture | - | - | - | - | - | - | - |
| PX-2 2664051 | *Phalaenopsis* | tissue culture | - | - | - | - | - | - | - |
| PX-3 2664055 | *Phalaenopsis* | tissue culture | - | - | - | - | - | - | - |
| PX-3 2662240 | *Phalaenopsis* | tissue culture | - | - | - | - | - | - | - |
| PX-3 2664061 | *Phalaenopsis* | tissue culture | - | - | - | - | - | - | - |
| PX-4 2685051 | *Phalaenopsis* | tissue culture | - | - | - | - | - | + | + |

**Table 1** Detection of *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Impatiens necrotic spot virus* (INSV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) and *Cymbidium mosaic virus* (CyMV) in tissue cultures and inflorescences of *Dendrobium* spp. and *Phalaenopsis* spp. orchids from the Asia-Pacific region (continue)

| Code | Genus | Type | ImmunoStrips | | | | | RT-PCR | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | CMV | INSV | TMV | TSWV | Potyvirus | CyMV | ORSV |
| PX-4 2685061 | *Phalaenopsis* | tissue culture | - | - | - | - | - | - | - |
| PX-3 2662240 | *Phalaenopsis* | tissue culture | - | - | - | - | - | - | - |
| PX-3 2664061 | *Phalaenopsis* | tissue culture | - | - | - | - | - | - | - |
| PX-4 2685051 | *Phalaenopsis* | tissue culture | - | - | - | - | - | + | + |
| PX-4 2685061 | *Phalaenopsis* | tissue culture | - | - | - | - | - | - | - |
| PX-4 2685067 | *Phalaenopsis* | tissue culture | - | - | - | - | - | - | - |
| | *Phalaenopsis* | stem | - | - | - | - | - | - | - |
| | *Phalaenopsis* | stem | - | - | - | - | - | - | - |
| | *Phalaenopsis* | stem | - | - | - | - | - | - | - |
| | *Phalaenopsis* | stem | - | - | - | - | - | - | - |
| | *Phalaenopsis* | stem | - | - | - | - | - | - | - |
| | *Phalaenopsis* | stem | - | - | - | - | - | - | - |
| | *Phalaenopsis* | stem | - | - | - | - | - | - | - |
| | *Phalaenopsis* | seed | - | - | - | - | - | - | - |
| | *Phalaenopsis* | seed | - | - | - | - | - | - | - |
| | *Phalaenopsis* | seed | - | - | - | - | - | - | - |
| | *Phalaenopsis* | seed | - | - | - | - | - | - | - |
| | Total plants | | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 4 | 3 |
| | **Infected (%)** | | **0** | **0** | **3.44** | **0** | **0** | **13.7** | **10.34** |

ImmunoStrips : ImmunoComb® for CMV, INSV, TMV, TSWV (Agdia, USA)

RT-PCR : Reverse transcription polymerase chain reaction

**Table 2** Pest risk assessment of quarantine pests that associated with *Dendrobium* spp. and *Phalaenopsis* spp. from countries in the Asia-Pacific region

| Scientific name/ common name | Assessment of the probability of introduction and spread | | Assessment of potential economic consequence | Overall assessment of pest risk |
|---|---|---|---|---|
| Fungi | | | | |
| *Cylindrosporium phalaenopsidis* | **Probability of introduction**<br>**1. Probability of Introduction (Entry)**<br>*C. phalaenopsidis* is associated with the leaves of *Phalaenopsis* spp. This pest likely to be associated with pathway (leaf, stem, flower) that could be a potential of entry into Thailand.: **Low Risk**<br>**2. Probability of Introduction (Establishment)**<br>This pest likely to be associated with pathway (leaf, stem, flower) that could be a potential of entry into Thailand.: **Low Risk** | **Probability of spread**<br>**1. Dispersal Potential of the pest**<br>Phalaenopsis nursery stock is expected to be shipped at moderate temperatures and humidity which is unlikely to adversely affect the survival of any *C. phalaenopsidis* present during shipment. **Low Risk**<br>**2. Intended use of the commodity**<br>The commodity (stem, flower) is intended for consumption and will be distributed to markets in Thailand: **Low Risk**<br>**Conclusion of probability of spread:** | Leaf spots, caused by *C. phalaenopsidis* is important diseases of orchids hey reduce the visual quality and value of ornamental crops.<br>**Conclusion on the likelihood of economic consequence:**<br>Low Risk + Low Risk+ Low Risk = **Low Risk** | **Low Risk** |

**Table 2** Pest risk assessment of quarantine pests that associated with *Dendrobium* spp. and *Phalaenopsis* spp. from countries in the Asia-Pacific region (continue)

| Scientific name/ common name | Assessment of the probability of introduction and spread | | Assessment of potential economic consequence | Overall assessment of pest risk |
|---|---|---|---|---|
| | **Conclusion of probability of introduction:** Low Risk x Low Risk **= Low Risk** | Low Risk x Low Risk **= Low Risk** | | |
| *Sphaerulina phalaenopsidis* | **Probability of introduction** **1. Probability of Introduction (Entry)** *S. phalaenopsidis* is an important disease of orchids and associated with the leaves of Phalaenopsis spp. These pathogens cause leaf spots that would be easily detected during inspection of mother stock; however, latent infections are unlikely to be detected (USDA 2003).This pest likely to be associated with pathway ( leaf, stem, flower) that could be a potential of entry into Thailand.: **Low Risk** | **Probability of spread** **1. Dispersal Potential of the pest** *S. phalaenopsidis* is spread naturally by airborne ascospores that are not likely to be widely dispersed over long distances.: **Low Risk** **2. Intended use of the commodity** The commodity (stem, flower) is intended for consumption and will be distributed to markets in Thailand: **Low Risk** | Leaf spots, caused by *S. phalaenopsidis* is important diseases of orchids hey reduce the visual quality and value of ornamental crops. **Conclusion on the likelihood of economic consequence:** Low Risk + Low Risk+ Low Risk = **Low Risk** | **Low Risk** |

**Table 2** Pest risk assessment of quarantine pests that associated with *Dendrobium* spp. and *Phalaenopsis* spp. from countries in the Asia-Pacific region (continue)

| Scientific name/ common name | Assessment of the probability of introduction and spread | | Assessment of potential economic consequence | Overall assessment of pest risk |
|---|---|---|---|---|
| | **2. Probability of Introduction (Establishment)**<br>*S. phalaenopsidis* is assumed to be only Phalaenopsis. This pest could be a potential of establishment into Thailand because suitable host is distributed throughout the plantation area in Thailand.: **Low Risk**<br>**Conclusion of probability of introduction:**<br>Low Risk x Low Risk **= Low Risk** | **Conclusion of probability of spread:**<br>Low Risk x Low Risk<br>**= Low Risk** | | |
| **Viroid** | | | | |
| ***Dendrobium viroid*** **(DVd)** | **Probability of introduction**<br>**1. Probability of Introduction (Entry)**<br>It is important disease in Dendrobium species in China. A field survey revealed a low DVd incidence (0.96%) in Dendrobium species in China. DVd is the only viroid | **Probability of spread**<br>**1. Dispersal Potential of the pest**<br>The viroid primarily spreads through remote plant transport, mechanical damage, and grafting of infected material. This pest has quite a high | DVd was first reported in China in 2020, and it is the only viroid known to infect *Orchidaceae* family plants. There is no report of the potential for economic environmental | **Low Risk** |

**Table 2** Pest risk assessment of quarantine pests that associated with *Dendrobium* spp. and *Phalaenopsis* spp. from countries in the Asia-Pacific region (continue)

| Scientific name/ common name | Assessment of the probability of introduction and spread | | Assessment of potential economic consequence | Overall assessment of pest risk |
|---|---|---|---|---|
| | known to infect orchids and the third one from monocotyledonous plants. DVd produces no apparent symptoms in Dendrobium species. This pest likely to be associated with pathway ( tissue culture, stem) that could be a potential of entry into Thailand.: **Low Risk**<br>**2. Probability of Introduction (Establishment)**<br>Host of DVd are orchids and monocotyledonous plants. Nevertheless, whether DVd interferes with the metabolic pathways of Dendrobium plants, affects the medicinal value of the host or causes damaging infection in other plants is not currently known. Therefore, the quarantine and control of this viroid may be necessary.: **Medium Risk** | reproductive potential natural dispersal capacity: **Medium Risk**<br>**2. Intended use of the commodity**<br>The commodity is tissue culture, intended for plant for planting will be distributed to production area in Thailand: **Low Risk**<br>**Conclusion of probability of spread:**<br>Low Risk x Low Risk<br>**= Low Risk** | impact and social impact of DVd.<br>**Conclusion on the likelihood of economic consequence:**<br>Low Risk + Low Risk+ Low Risk = **Low Risk** | |

**Table 2** Pest risk assessment of quarantine pests that associated with *Dendrobium* spp. and *Phalaenopsis* spp. from countries in the Asia-Pacific region (continue)

| Scientific name/ common name | Assessment of the probability of introduction and spread | | Assessment of potential economic consequence | Overall assessment of pest risk |
|---|---|---|---|---|
| | into Thailand because suitable hosts are distributed throughout the plantation area in Thailand.: **Medium Risk**<br>**Conclusion of probability of introduction:** Medium Risk x Medium Risk**= Medium Risk** | **Conclusion of probability of spread:**<br>Medium Risk x Medium Risk<br>**= Medium Risk** | **Conclusion on the likelihood of economic consequence:**<br>Medium Risk + Medium Risk + Medium Risk = **Medium Risk** | |
| *Vanilla mosaic virus* (VaMV) | **Probability of introduction**<br>**1. Probability of Introduction (Entry)**<br>Since VaMV has only been found in a few of the Pacific islands, cuttings should not be moved from countries. This pest likely to be associated with pathway (tissue culture, stem, flower) that could be a potential of entry into Thailand: **Medium Risk**<br>**2. Probability of Introduction (Establishment)**<br>This pest could be a potential of | **Probability of spread**<br>**1. Dispersal Potential of the pest**<br>VMV is transmitted through infected plant material (e.g., cutting, leaves) or by pests feeding on infected plants. **Medium Risk**<br>**2. Intended use of the commodity**<br>The commodity is tissue culture, intended for plant for planting will be distributed to production area in Thailand.: **Medium Risk** | Disease incidence in those countries surveyed is low and the economic impact of the disease appears slight.<br>**Conclusion on the likelihood of economic consequence:**<br>Medium Risk + Medium Risk + Medium Risk = **Medium Risk** | **Medium Risk** |

**Table 2** Pest risk assessment of quarantine pests that associated with *Dendrobium* spp. and *Phalaenopsis* spp. from countries in the Asia-Pacific region (continue)

| Scientific name/ common name | Assessment of the probability of introduction and spread | | Assessment of potential economic consequence | Overall assessment of pest risk |
|---|---|---|---|---|
| | establishment into Thailand because suitable hosts are distributed throughout the plantation area in Thailand.: **Medium Risk**<br>**Conclusion of probability of introduction:**<br>Medium Risk x Medium Risk<br>**= Medium Risk** | **Conclusion of probability of spread:**<br>Medium Risk x Medium Risk<br>**= Medium Risk** | | |
| *Calanthe mosaic virus* (CalMMV) | **Probability of introduction**<br>**1. Probability of Introduction (Entry)**<br>The virus-infected plants show a mild mosaic and flower break symptoms. This pest likely to be associated with pathway (tissue culture, stem) that could be a potential of entry into Thailand.: **High Risk**<br>**2. Probability of Introduction (Establishment)**<br>This pest could be a potential of | **Probability of spread**<br>**1. Dispersal Potential of the pest**<br>The virus is transmitted by an aphid vector, *Myzus persicae* in a non-persistent manner. The virus is also mechanically sap-transmitted to *Calanthe* spp. and *Phalaenopsis* spp.: **High Risk**<br>**2. Intended use of the commodity**<br>The commodity are tissue culture, stem intended for plant for planting | CalMMV infecting orchids is an important potyvirus which is known to cause mild leaf mosaic and flower colour-breaking symptoms.<br>**Conclusion on the likelihood of economic consequence:**<br>High Risk + High Risk + High Risk<br>= **High Risk** | **High Risk** |

**Table 2** Pest risk assessment of quarantine pests that associated with *Dendrobium* spp. and *Phalaenopsis* spp. from countries in the Asia-Pacific region (continue)

| Scientific name/ common name | Assessment of the probability of introduction and spread | | Assessment of potential economic consequence | Overall assessment of pest risk |
|---|---|---|---|---|
| | suitable hosts are distributed throughout the plantation area in Thailand.: **High Risk**<br>**Conclusion of probability of introduction:**<br>High Risk x High Risk **= High Risk** | will be distributed to production area in Thailand.: **High Risk**<br>**Conclusion of probability of spread:**<br>High Risk x high Risk<br>**= High Risk** | | |
| *Dendrobium chlorotic mosaic virus* **(DeCMV)** | **Probability of introduction**<br>**1. Probability of Introduction (Entry)**<br>DeCMV causing chlorotic and mosaic sysptoms. This pest likely to be associated with pathway (tissue culture, stem) that could be a potential of entry into Thailand.: **High Risk**<br>**2. Probability of Introduction (Establishment)**<br>This pest could be a potential of establishment into Thailand because | **Probability of spread**<br>**1. Dispersal Potential of the pest**<br>The virus is naturally transmitted by aphids (*Myzus persicae*) in a non-persistent manner and is also transmissible mechanically during orchid propagation.: **High Risk**<br>**2. Intended use of the commodity**<br>The commodity are tissue culture, stem intended for plant for planting will be distributed to production area | DeCMV reduces plant growth and quality.<br>**Conclusion on the likelihood of economic consequence:**<br>High Risk + High Risk + High Risk<br>= **High Risk** | **High Risk** |

**Table 2** Pest risk assessment of quarantine pests that associated with *Dendrobium* spp. and *Phalaenopsis* spp. from countries in the Asia-Pacific region (continue)

| Scientific name/ common name | Assessment of the probability of introduction and spread | | Assessment of potential economic consequence | Overall assessment of pest risk |
|---|---|---|---|---|
| | suitable hosts are distributed throughout the plantation area in Thailand.: **Medium Risk**<br>**Conclusion of probability of introduction:**<br>High Risk x High Risk **= High Risk** | in Thailand: **High Risk**<br>**Conclusion of probability of spread:**<br>Medium Risk x Medium Risk<br>**= Medium Risk** | | |
| *Orchid fleck virus* (OFV) | **Probability of introduction**<br>**1. Probability of Introduction (Entry)**<br>OFV causes necrotic and chlorotic lesions on the leaves of many genera in the family Orchidaceae. This pest likely to be associated with pathway (tissue culture, stem, flower) that could be a potential of entry into Thailand.: **High risk**<br>**2. Probability of Introduction (Establishment)**<br>OFV is able to naturally infect around 50 different species in 31 genera, all | **Probability of spread**<br>**1. Dispersal Potential of the pest**<br>The Orchid Fleck Virus (OFV) has a broad host range, infecting about 75 plant species across various families, with a particular concentration of naturally infected species within the Orchidaceae family. The virus is persistently transmitted by the false spider mite *Brevipalpus californicus*, which is globally distributed and can infect a wide range of plants. | OFV has the potential to harm commercial orchids and critrus.<br>**Conclusion on the likelihood of economic consequence:**<br>High Risk + High Risk + High Risk = **High Risk** | **High Risk** |

**Table 2** Pest risk assessment of quarantine pests that associated with *Dendrobium* spp. and *Phalaenopsis* spp. from countries in the Asia-Pacific region (continue)

| Scientific name/ common name | Assessment of the probability of introduction and spread | | Assessment of potential economic consequence | Overall assessment of pest risk |
|---|---|---|---|---|
| | belonging to the family Orchidaceae. This pest could be a potential of establishment into Thailand because suitable hosts are distributed throughout the plantation area in Thailand: **High risk**<br>**Conclusion of probability of introduction:**<br>High Risk x High Risk = **High Risk** | **2. Intended use of the commodity**<br>The commodity are tissue culture, stem intended for plant for planting will be distributed to production area in Thailand: **High Risk**<br>**Conclusion of probability of spread:**<br>High Risk x high Risk = **High Risk** | | |
| *Impatiens necrotic spot virus* **(INSV)** | **Probability of introduction**<br>**1. Probability of Introduction (Entry)**<br>INSV has the most important virus affecting flowering and potted plants. This pest likely to be associated with pathway (tissue culture, stem, flower) that could be a potential of entry into Thailand.: **High risk** | **Probability of spread**<br>**1. Dispersal Potential of the pest**<br>The spread of INSV can be achieved easily through the importation of infected plants. By providing favorable year-round conditions, greenhouses allow INSV carrying Western Flower Thrips to be permanent residence unless eradicated.: **High Risk** | INSV is a serious problem in many ornamental crops, although economic losses have not been evaluated. Ornamental plants carrying even slight necrosis on leaves, stem or flowers become unmarketable. | **High Risk** |

**Table 2** Pest risk assessment of quarantine pests that associated with *Dendrobium* spp. and *Phalaenopsis* spp. from countries in the Asia-Pacific region (continue)

| Scientific name/ common name | Assessment of the probability of introduction and spread | | Assessment of potential economic consequence | Overall assessment of pest risk |
|---|---|---|---|---|
| | **2. Probability of Introduction (Establishment)**<br>INSV has a wide host range and can be found in over 300 plant species including weeds, fruits, vegetables and ornamental crops. This pest could be a potential of establishment into Thailand because suitable hosts are distributed throughout the plantation area in Thailand: **High risk**<br>**Conclusion of probability of introduction:**<br>High Risk x High Risk = **High Risk** | **2. Intended use of the commodity**<br>The commodity are tissue culture, stem intended for plant for planting will be distributed to production area in Thailand: **High Risk**<br>**Conclusion of probability of spread:**<br>High Risk x high Risk = **High Risk** | **Conclusion on the likelihood of economic consequence:**<br>High Risk + High Risk + High Risk = **High Risk** | |
| ***Capsicum chlorosis virus-phalaenopsis isolate* (CaCV-Ph)** | **Probability of introduction**<br>**1. Probability of Introduction (Entry)**<br>CaCV-Ph had been identified as the cause of chlorotic ringspots on leaves of *Phalaenopsis* orchids in Taiwan. | **Probability of spread**<br>**1. Dispersal Potential of the pest**<br>Warm and humid conditions are ideal for the spread of both the whitefly vector and the virus itself. | The Phalaenopsis isolate of CaCV refers to strains of the virus that affect orchids, leading to a decline in orchid quality and economic returns, | **High Risk** |

**Table 2** Pest risk assessment of quarantine pests that associated with *Dendrobium* spp. and *Phalaenopsis* spp. from countries in the Asia-Pacific region (continue)

| Scientific name/ common name | Assessment of the probability of introduction and spread | | Assessment of potential economic consequence | Overall assessment of pest risk |
|---|---|---|---|---|
| | This pest likely to be associated with pathway (tissue culture, stem, flower) that could be a potential of entry into Thailand.: **High risk**<br>**2. Probability of Introduction (Establishment)**<br>This pest could be a potential of establishment into Thailand because suitable hosts are distributed throughout the plantation area in Thailand.: **High Risk**<br>**Conclusion of probability of introduction:**<br>High Risk x High Risk = **High Risk** | In tropical and subtropical climates, such as those in Thailand, the virus can spread more easily due to the favorable environment for whitefly activity.: **High Risk**<br>**2. Intended use of the commodity**<br>The commodity are tissue culture, stem intended for plant for planting will be distributed to plantation area in Thailand.: **High Risk**<br>**Conclusion of probability of spread:**<br>High Risk x high Risk = **High Risk** | especially in the floriculture industry.<br>**Conclusion on the likelihood of economic consequence:**<br>High Risk + High Risk + High Risk = **High Risk** | |

**Table 2** Pest risk assessment of quarantine pests that associated with *Dendrobium* spp. and *Phalaenopsis* spp. from countries in the Asia-Pacific region (continue)

| Scientific name/ common name | Assessment of the probability of introduction and spread | | Assessment of potential economic consequence | Overall assessment of pest risk |
|---|---|---|---|---|
| *Tomato ringspot virus* (TomRSV) | **Probability of introduction**<br>**1. Probability of Introduction (Entry)**<br>TomRSV affects a wide range of plants, especially those in the Solanaceae family (e.g., tomatoes, peppers), and certain ornamental species. This pest could be a potential of establishment into Thailand because suitable hosts are distributed throughout the plantation area in Thailand.: **High Risk**<br>**Conclusion of probability of introduction:**<br>Medium Risk x High Risk **= Medium Risk**<br>**2. Probability of Introduction (Establishment)**<br>TomRSV affects a wide range of plants, | **1. Dispersal Potential of the pest**<br>The virus is more likely to be established in areas with abundant susceptible crops or ornamental plants. If the host plant population is dense and widespread, the virus has a greater chance of establishing and spreading.<br>**2. Intended use of the commodity**<br>The commodity are tissue culture, stem intended for plant for planting will be distributed to plantation area in Thailand: **High Risk**<br>**Conclusion of probability of spread:**<br>High Risk x high Risk **= High Risk** | TomRSV primarily affects crops in the Solanaceae family, including tomatoes, peppers, and other vegetables.<br>**Conclusion on the likelihood of economic consequence.:**<br>Medium Risk + High Risk + High Risk<br>= **High Risk** | **High Risk** |

**Table 2** Pest risk assessment of quarantine pests that associated with *Dendrobium* spp. and *Phalaenopsis* spp. from countries in the Asia-Pacific region (continue)

| Scientific name/ common name | Assessment of the probability of introduction and spread | | Assessment of potential economic consequence | Overall assessment of pest risk |
|---|---|---|---|---|
| | especially those in the Solanaceae family (e.g., tomatoes, peppers), and certain ornamental species. This pest could be a potential of establishment into Thailand because suitable hosts are distributed throughout the plantation area in Thailand.: **High Risk**<br>**Conclusion of probability of introduction:** Medium Risk x High Risk **= Medium Risk** | | | |
| *Tomato spotted Wilt virus/* T*omato potted wilt orthotospovirus* **(TSWV)** | **Probability of introduction**<br>**1. Probability of Introduction (Entry)**<br>This pest likely to be associated with pathway (tissue culture, stem) that could be a potential of entry into Thailand.: **High Risk**<br>**2. Probability of Introduction (Establishment)** | **Probability of spread**<br>**1. Dispersal Potential of the pest**<br>TSWV is transmitted from plant to plant by several species of thrips. The most common species that vectors these viruses is the western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*). Thrips transmit the virus in a persistent propagative | TSWV infects a variety of hosts, contributing to its global economic impact on crops.<br>**Conclusion on the likelihood of economic consequence:** High Risk + High Risk + High Risk = **High Risk** | **High Risk** |

**Table 2** Pest risk assessment of quarantine pests that associated with *Dendrobium* spp. and *Phalaenopsis* spp. from countries in the Asia-Pacific region (continue)

| Scientific name/ common name | Assessment of the probability of introduction and spread | | Assessment of potential economic consequence | Overall assessment of pest risk |
|---|---|---|---|---|
| | Hosts are a wide range including tomatoes and tobacco. Warm and humid climates are ideal for the establishment of TSWV. This pest could be a potential of establishment into Thailand because suitable hosts are widely distributed throughout the plantation area in Thailand.: **High Risk**<br>**Conclusion of probability of introduction:** High Risk x High Risk **= High Risk** | manner, which means that once the insect has picked up the virus, the virus replicates within the insect and the insect is able to transmit the virus for the remainder of its life<br>**2. Intended use of the commodity**<br>The commodity are tissue culture, stem intended for plant for planting will be distributed to production area in Thailand: **High Risk** | | |

Negligible: 0 points

Low: 1-2 points

Medium: 3-4 points

High: 5-9 points

**Figure 1** Shows importation of Dendrobium species from the Asia-Pacific region

**Figure 2** Shows importation of Phalaenopsis species from the Asia-Pacific region

**Figure 3** Stem of *Phalaenopsis* spp. from the countries in the Asia-Pacific region.
A : *Phalaenopsis* spp. imported from Taiwan subgroup 1,
B : *Phalaenopsis* spp. imported from Taiwan subgroup 2

**Figure 4** Seed of *Phalaenopsis* spp. from the countries in the Asia-Pacific region

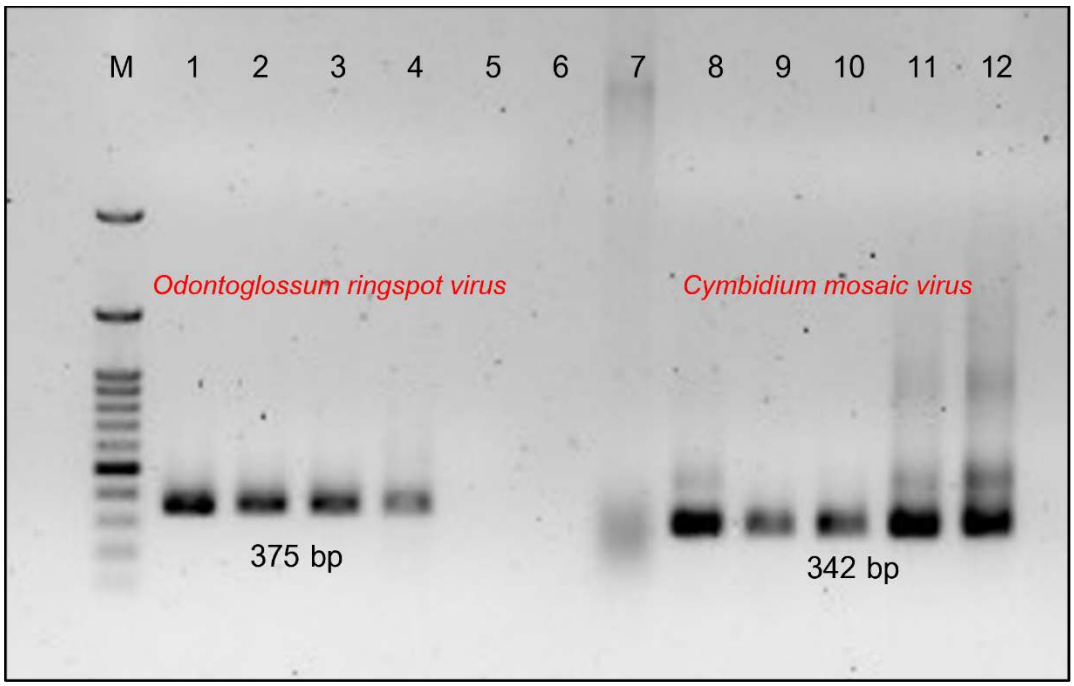



**Figure 5** Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) detection of *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) and *Cymbidium mosaic virus* (CyMV) in tissue cultures of Phalaenopsis orchids from the Asia-Pacific region. Labels of lanes: 1-3 = Phalaenopsis infected ORSV, 4 = Positive control of ORSV, 5-6 = negative control (Healthy), 7-9 = Phalaenopsis infected CyMV, 10 = Positive control of CyMV, M = 100 bp ladder marker

# การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

# Pest Risk Assessment for Importation of Growing Media in Association with Plants for Planting from the Countries in the Asia-Pacific Region

**อลงกต โพธิ์ดี วาสนา ฤทธิ์ไธสง วานิช คำพานิช สุรศักดิ์ แสนโคตร**
**กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

## Abstract

A pest risk assessment for the importation of growing media in association with plants for planting from the countries in the Asia-Pacific region was conducted from October 2021 to September 2024. The assessment covered various types of live plants from international movement, such as artificial dwarf trees, bare-root plants, bulbs formed from leaf sheaths or dormant-stage plants, storage roots, roots of perennial and annual plants, epiphytes, potted plants, seedlings, ornamental and indoor flowering plants, tissue-cultured plants, trees, shrubs, and grasses which associated planting materials included vermiculite, perlite, volcanic rock, tissue culture substrates, coconut fiber, compost, and soil. The joint inspections at the Chiang Khong plant quarantine station with plant quarantine officers revealed that the imported planting materials included ornamental plants (potted plants). The plant species were classified as regulated articles and unprohibited articles under the Plant Quarantine Act, though they currently lack specific phytosanitary import requirements. However, it was found that some growing media used in the imports contained prohibited items or components of prohibited articles, such as coconut fiber (coconut husk, coir dust). Additionally, soil was found to be attached to the imported plants, and various organisms such as insects (Coleoptera larvae, Family Scarabaeidae), slugs, snails, and earthworms were detected. Although the consignments were accompanied by phytosanitary certificates, the pest risk assessment identified quarantine pests. These included fungi e.g. *Chalara elegans*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lilii*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *narcissi*, *Phytophthora boehmeriae*, *Phytophthora citricola*,

รหัสการทดลอง FF65-55-02-65-00-09-65

*Phytophthora cryptogea*, *Phytophthora hibernalis*, *Phytophthora katsurae*, *Phytophthora megakarya*, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora porri*, *Sclerotium cepivorum*, *Synchytrium endobioticum*, *Verticillium alboatrum,* nematodes e.g. *Globodera pallida*, *Globodera rostochiensis*, *Meloidogyne brevicauda*, *Meloidogyne camelliae*, *Paratrichodorus porosus*, *Pratylenchus goodeyi*, *Pratylenchus loosi*, *Xiphinema americanum*, *Xiphinema diversicaudatum,* and bacteria e.g. *Burkholderia caryophylli*, *Clavibacter sepedonicus*, *Erwinia amylovora*, *Pantoea agglomerans*, *Xanthomonas campestris* pv. *armoraciae.* To mitigate the risk of introducing quarantine pests, risk management measures must be implemented prior to importation. These include ensuring pest-free planting media, appropriate treatment, inspection, sampling and testing, quarantine, or import prohibition. Future, pest risk assessments should identify both the type of planting materials and plant species involved to enable accurate pest risk analysis and the application of appropriate phytosanitary measures.

**Keywords :** pest risk assessment, growing media in association with plants for planting, Asia-Pacific

**บทคัดย่อ**

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2567 ซึ่งประเภทของพืชสำหรับปลูกที่มีการเคลื่อนย้ายระหว่างประเทศ เช่น ต้นไม้แคระเทียม ต้นไม้ล้างราก หัวที่เกิดจากกาบใบ และหัวที่เกิดจากต้นที่อยู่ในระยะพักตัว รากสะสมอาหาร และรากพวกพืชยืนต้น สลับล้มลุก พืชที่ขึ้นเกาะอยู่กับต้นไม้อื่น ไม้กระถาง กล้าไม้ ไม้ประดับและไม้ดอกในอาคาร พืชเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ต้นไม้และไม้พุ่ม หญ้า โดยประเภทหรือส่วนประกอบของวัสดุปลูกที่ใช้ เช่น เวอร์มิคูไลท์ เพอร์ไลท์ หินภูเขาไฟ วัสดุปลูกเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เส้นใยมะพร้าว ปุ๋ยหมัก ซึ่งรวมถึงดิน ทั้งนี้ จากการร่วมตรวจสอบขาเข้าสินค้าที่ส่งมอบกับพนักงานเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชเชียงของ พบว่าพืชสำหรับปลูกที่นำเข้า เช่น ไม้ประดับ (ไม้กระถาง) โดยชนิด (species) ของพืชสำหรับปลูกดังกล่าวจัดเป็นสิ่งกำกัดและสิ่งไม่ต้องห้ามตามกฎหมายว่าด้วยการกักพืชซึ่งยังไม่มีข้อกำหนดการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืชเฉพาะ และพบว่าวัสดุปลูกที่ใช้เป็นหรือมีส่วนประกอบเป็นสิ่งต้องห้ามหรือส่วนหนึ่งส่วนใดของสิ่งต้องห้าม เช่น เส้นใยมะพร้าว (กาบมะพร้าว ขุยมะพร้าว) รวมทั้งการนำเข้าพืชสำหรับปลูกจะมีดินติดเข้ามาด้วย ตลอดจนพบสิ่งมีชีวิต เช่น แมลง (ตัวอ่อนแมลงในอันดับ Coleoptera วงศ์ Scarabaeidae) ทาก หอย และไส้เดือน อย่างไรก็ตามสินค้าที่ส่งมอบดังกล่าว มีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย และจากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช พบศัตรูพืชที่เป็นศัตรูพืชกักกัน ได้แก่ รา เช่น *Chalara elegans*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*, *Fusarium oxysporum*

f.sp. *lilii*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *narcissi*, *Phytophthora boehmeriae*, *Phytophthora citricola*, *Phytophthora cryptogea*, *Phytophthora hibernalis*, *Phytophthora katsurae*, *Phytophthora megakarya*, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora porri*, *Sclerotium cepivorum*, *Synchytrium endobioticum*, *Verticillium alboatrum* ไส้เดือนฝอย เช่น *Globodera pallida*, *Globodera rostochiensis*, *Meloidogyne brevicauda*, *Meloidogyne camelliae*, *Paratrichodorus porosus*, *Pratylenchus goodeyi*, *Pratylenchus loosi*, *Xiphinema americanum*, *Xiphinema diversicaudatum* แบคทีเรีย เช่น *Burkholderia caryophylli*, *Clavibacter sepedonicus*, *Erwinia amylovora*, *Pantoea agglomerans*, *Xanthomonas campestris* pv. *armoraciae* ซึ่งต้องมีมาตรการบริหารจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชก่อนการนำเข้า โดยมาตรการต่อไปนี้ วัสดุปลูกปลอดจากศัตรูพืชกักกัน การบำบัด การตรวจสอบ การสุ่มตัวอย่าง และการทดสอบ การกักกัน หรือการห้ามนำเข้า ทั้งนี้ การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกควรคำนึงถึงความเสี่ยงศัตรูพืชที่เกิดจากวัสดุปลูกและพืชสำหรับปลูก ดังนั้น การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกในอนาคต ควรระบุชนิดของวัสดุปลูกและชนิดของพืชปลูก เพื่อที่จะประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชได้อย่างถูกต้อง และมีมาตรการบริหารจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่เหมาะสม

**คำหลัก :** การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช, วัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูก, ภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก

## คำนำ

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

แหล่งกำเนิดและวิธีการผลิตส่วนประกอบของวัสดุปลูกสามารถส่งผลต่อความเสี่ยงศัตรูพืชของวัสดุปลูกในการรวมกันกับพืชสำหรับปลูกได้ วัสดุปลูกควรจะได้รับการผลิต เก็บรักษา และมีการดูแลรักษาสภาพเพื่อป้องกันการปนเปื้อนหรือการเข้าทำความเสียหายซึ่งขึ้นอยู่กับวัสดุปลูกที่นำมาใช้ รวมทั้งอาจต้องได้รับการบำบัด (treatment) อย่างเหมาะสมก่อนนำมาใช้ นอกจากนี้ วิธีการผลิตพืชสำหรับปลูกอาจส่งผลต่อความเสี่ยงศัตรูพืชของวัสดุปลูกในการรวมกันกับพืชสำหรับปลูก

ซึ่งทางเลือกการบริหารจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่เกี่ยวข้องกับวัสดุปลูกในการรวมกันกับพืชสำหรับปลูกรวมไปถึงมาตรการสุขอนามัยพืชต่าง ๆ เช่น การบำบัด การตรวจสอบ การเก็บตัวอย่างการทดสอบ การกักกัน และการห้าม ควรนำมาใช้อย่างเหมาะสม ทั้งนี้ ข้อกำหนดการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืช (phytosanitary import requirements) สำหรับวัสดุปลูกในการรวมกันกับพืชสำหรับปลูกควรชี้แจงได้ตามหลักวิชาการ (technically justified) จึงจำเป็นต้องดำเนินการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (pest risk analysis) ของวัสดุปลูกในการรวมกันกับพืชสำหรับปลูก

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง กรอบสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Framework for pest risk analysis (2007))
2. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (Pest risk analysis for quarantine pests (2013))
3. มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 40 เรื่อง การเคลื่อนย้ายวัสดุปลูกร่วมกับพืชพืชสำหรับปลูกระหว่างประเทศ (International movement of growing media in association with plants for planting (2017))
4. แนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (Caribbean Community and Common Market, CARICOM)
5. หนังสือ ตำรา วารสาร เอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้องทั้งในและต่างประเทศ และฐานข้อมูลออนไลน์ เช่น Crop Protection Compendium, Description of Fungi and Bacteria, Description Maps of Plant Pests, Description Maps of Plant Diseases เป็นต้น
6. วัสดุคอมพิวเตอร์ เช่น หมึกพิมพ์ และแผ่นบันทึกข้อมูล เป็นต้น
7. วัสดุเกษตร เช่น ดิน กระถาง เป็นต้น
8. วัสดุวิทยาศาสตร์ เช่น อาหารแยกเชื้อ จานเพาะเชื้อ สารเคมี เป็นต้น

### วิธีการ

มีขั้นตอนและวิธีการ ดังต่อไปนี้

**1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล**

1.1 สืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไปของวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกที่นำเข้า เช่น ชนิด ต้นกำเนิด ส่วนประกอบของวัสดุปลูก รวมทั้งข้อมูลของพืชสำหรับปลูก แหล่งผลิตในประเทศผู้ส่งออก การรับรองสุขอนามัยพืชของประเทศผู้ส่งออก เป็นต้น

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

**2. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช**

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

**ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation)**

1.1 ระบุจุดเริ่มต้นของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช/ระบุพื้นที่ซึ่งมีการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช/ตรวจสอบว่าเคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงโดยศัตรูพืช หรือเส้นทางศัตรูพืช หรือนโยบายของรัฐจากแหล่งข้อมูลภายในประเทศไทยและต่างประเทศพิจารณานำมาใช้ประกอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

1.2 นำข้อมูลศัตรูพืชที่ได้จากการสืบค้นและรวบรวมจากหนังสือ ตำรา เอกสารวิชาการ ฐานข้อมูลศัตรูพืช และจากการตรวจสอบศัตรูพืชที่พบติดมากับวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกที่นำเข้าจากต่างประเทศ มาจัดทำข้อมูลศัตรูพืชเพื่อใช้สำหรับการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่อไป

**ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment)**

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชมี 4 ขั้นตอนที่สัมพันธ์กัน ดังนี้

**2.1 การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest categorization)**

2.1.1 นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาพิจารณาจัดประเภทศัตรูพืชว่ามีคุณสมบัติเป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ โดย (1) ระบุชนิดของศัตรูพืช (pest identity) (2) ตรวจสอบว่าเป็นศัตรูพืชที่มีพบในประเทศไทยหรือไม่ (3) ตรวจสอบสถานภาพการควบคุมศัตรูพืช (regulatory status) กรณีที่ศัตรูพืชชนิดนั้นมีปรากฏในประเทศไทย (4) ประเมินศักยภาพของศัตรูพืชในการเข้ามาตั้งรกรากและการแพร่กระจายในประเทศไทยหรือไม่ โดยพิจารณาข้อมูลทางชีววิทยาของ

ศัตรูพืช สภาพแวดล้อมและสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่พันธุ์ พืชอาศัย/พืชอาหาร และพาหะของศัตรูพืชชนิดนั้นที่มีรายงานการพบในประเทศไทย (5) ประเมินศักยภาพของศัตรูพืช ในการก่อให้เกิดผลตามมาทางเศรษฐกิจในประเทศไทย

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

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

นำรายชื่อศัตรูพืช/กลุ่มศัตรูพืชที่ได้จากการประเมินในข้อ 2.1 มาประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามาและแพร่กระจายของศัตรูพืชภายหลังการตั้งรกรากของศัตรูพืช โดยแยกประเมินศัตรูพืชแต่ละชนิด ดังนี้

2.2.1 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการนำเข้ามา (introduction) ของศัตรูพืชประกอบด้วย

(1) การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการเข้ามา (probability of entry) ของศัตรูพืช โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชจะปะปนมากับวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกที่นำเข้ามาในประเทศไทย

(2) การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการตั้งรกราก (probability of establish) ของศัตรูพืช โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชสามารถมีชีวิตอยู่รอดและเจริญแพร่ขยายพันธุ์ได้ในประเทศไทย

2.2.2 การประเมินความน่าจะเป็นไปได้ของการแพร่กระจายหลังการตั้งรกราก (Probability of spread after establishment) โดยประเมินความน่าจะเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชสามารถแพร่กระจายในประเทศไทย

ปัจจัยที่นำมาใช้พิจารณาประเมินความน่าจะเป็นไปได้ใช้ตามแนวทางการวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (FAO, 2013) สำหรับรายละเอียดหลักเกณฑ์การประเมินความน่าจะเป็นไปได้แต่ละเหตุการณ์ ตลอดจนการรวมผลการประเมินใน 2 เหตุการณ์ โดยใช้กฎเมตริกซ์สำหรับการรวมโอกาสที่จะเกิดขึ้นเชิงคุณภาพ (Matrix of rules for combining qualitative likelihoods) ดำเนินการตามแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประชาคมตลาดร่วมแคริบเบียน (CAHFSA, 2016)

**2.3 การประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้น (Assessment of Potential Economic Consequence) ภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืช**

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

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

นำผลการประเมินความน่าจะเป็นไปได้ในข้อ 2.2.1 การนำเข้ามาและการแพร่กระจายของศัตรูพืช และข้อ 2.2.2 การประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้นภายหลังการเข้ามาของศัตรูพืช มารวมกันโดยใช้ เมตริกซ์การประเมินความเสี่ยง (risk estimation matrix) (CAHFSA, 2016) บันทึกปัจจัยที่ไม่แน่นอน (uncertainty)

**ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest Risk Management)**

นำรายชื่อศัตรูพืชกักกัน/กลุ่มศัตรูพืช ที่ได้จากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนที่ 2 มาพิจารณาหาแนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชเพื่อจัดการความเสี่ยงของศัตรูพืชแต่ละชนิด โดยจำแนกวิธีการที่จะดำเนินการกับความเสี่ยงศัตรูพืชในการเข้ามาเจริญและแพร่กระจายในประเทศไทยตลอดจนผลกระทบทางด้านเศรษฐกิจเพื่อลดความเสี่ยงลงให้ถึงระดับต่ำสุดที่ยอมรับได้ โดยมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติและไม่เป็นอุปสรรคต่อการค้าระหว่างประเทศ สำหรับนำไปใช้เป็นแนวทางในการกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม ทั้งนี้ การพิจารณาระดับความเสี่ยง (level of risk) ใช้หลักการจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่มีระดับที่เหมาะสมซึ่งสามารถยอมรับได้ (Appropriate Level of Acceptable; ALOP) หรือระดับความเสี่ยงที่สามารถยอมรับได้ (acceptable) โดยในการทดลองนี้กำหนดให้มีระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ คือ “ความเสี่ยงในระดับที่ละเลยได้ (negligible)”

**3. สรุปผลศึกษาการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช**

สรุปผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่าง ๆ รวมถึงรายชื่อศัตรูพืชกักกัน/กลุ่มศัตรูพืชของการนำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก ที่มีระดับความเสี่ยงแตกต่างกัน แนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันแต่ละชนิด และมาตรการสนับสนุนอื่น ๆ สำหรับใช้เป็นข้อมูลกำหนดมาตรการทางกฎหมายต่อไป

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2564 ถึง กันยายน 2567 รวม 3 ปี

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. ด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบังและด่านตรวจพืชเชียงของ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. การสืบค้นและรวบรวมข้อมูล**

1) ระเบียบข้อบังคับ (regulations)

ตามมาตรา 4 แห่งพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 กำหนดนิยามคำว่า “ดิน” หมายความว่า ดินชนิดที่มีอินทรีย์วัตถุหรือเป็นที่อาศัยของศัตรูพืชได้ และคำว่า “พาหะ” หมายความว่า เครื่องปลูก ดิน ทราย ภาชนะ หรือสิ่งอื่นที่ใช้ห่อหุ้มมาพร้อมกับพืช ปุ๋ยอินทรีย์หรือสิ่งอื่นใดที่อาจเป็นสื่อนำศัตรูพืช ซึ่งกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้ออกประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 กำหนดให้พืชและพาหะตามรายชื่อแนบท้ายประกาศจากทุกแหล่งเป็นสิ่งต้องห้าม ซึ่งในบัญชีรายชื่อดังกล่าวนี้ มี “ดิน” และ “ปุ๋ยอินทรีย์” โดยประกาศฉบับนี้ได้ให้นิยามคำว่า “ปุ๋ยอินทรีย์” หมายความว่า ปุ๋ยที่ได้หรือทำมาจากวัสดุอินทรีย์ ซึ่งผลิตด้วยกรรมวิธีทำให้ชื้น สับ หมัก บด ร่อน สกัด หรือด้วยวิธีการอื่น แต่ไม่ใช่ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยชีวภาพ นอกจากนี้ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้ออกประกาศกำหนดให้พืช ศัตรูพืช และพาหะ เป็นสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกำกัดอีกหลายฉบับ ซึ่งการนำเข้าหรือนำผ่านซึ่งสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกำกัดต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกรมวิชาการเกษตรกำหนด นอกจากนี้ การนำเข้าหรือนำผ่านซึ่งสิ่งต้องห้ามต้องได้รับอนุญาตจากอธิบดีกรมวิชาการเกษตรก่อนการนำเข้าหรือนำผ่าน อย่างไรก็ดี ยังไม่มีข้อกำหนดการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืชเฉพาะที่จัดทำขึ้นเกี่ยวกับวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกซึ่งเคลื่อนย้ายเข้าสู่ประเทศ

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

3) ประเภทของพืชสำหรับปลูกที่มีการเคลื่อนย้ายระหว่างประเทศ เช่น ต้นไม้แคระเทียม ต้นไม้ ล้างราก หัวที่เกิดจากกาบใบ (bulb) และหัวที่เกิดจากต้น (tuber) ที่อยู่ในระยะพักตัว ราก สะสมอาหาร (tuberous root) และรากพวกพืชยืนต้นสลับล้มลุก พืชที่ขึ้นเกาะอยู่กับต้นไม้อื่น ไม้กระถาง กล้าไม้ ไม้ประดับและไม้ดอกในอาคาร พืชเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ต้นไม้และไม้พุ่ม หญ้า

4) วัสดุปลูกก่อให้เกิดความเสี่ยงเนื่องจากมีศักยภาพเป็นที่อยู่ หลบซ่อนหรือเป็นสื่อนำกลุ่มศัตรูพืชที่มีความเสี่ยง เช่น เมล็ดวัชพืช รา แบคทีเรีย ไส้เดือนฝอย แมลง ไร หอยทาก

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

5) ทั้งนี้ การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกนำเข้า พบว่าจากการจัดทำแผนและประสานงานกับด่านตรวจพืชในเบื้องต้น และร่วมตรวจสอบขาเข้าสินค้าที่ส่งมอบกับพนักงานเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบังและด่านตรวจพืชเชียงของ พบว่า พืชสำหรับปลูกที่นำเข้า เช่น ไม้ประดับ (ไม้กระถาง) โดยชนิด (species) ของพืชสำหรับปลูกดังกล่าวจัดเป็นสิ่งกำกัดและสิ่งไม่ต้องห้ามตามกฎหมายว่าด้วยการกักพืช ซึ่งยังไม่มีข้อกำหนดการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืชเฉพาะ และพบว่าวัสดุปลูกที่ใช้เป็นหรือมีส่วนประกอบเป็นสิ่งต้องห้ามหรือส่วนหนึ่งส่วนใดของสิ่งต้องห้าม เช่น เส้นใยมะพร้าว (กาบมะพร้าว ขุยมะพร้าว) รวมทั้งการนำเข้าพืชสำหรับปลูกจะมีดินติดเข้ามาด้วย ตลอดจนพบสิ่งมีชีวิต เช่น แมลง (ตัวอ่อนแมลงในอันดับ Coleoptera วงศ์ Scarabaeidae) ทาก หอย และไส้เดือน นอกจากนี้ สินค้าที่ส่งมอบดังกล่าว มีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย

**2. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช**

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation)

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

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment)

นำรายชื่อกลุ่มศัตรูพืชที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาดำเนินการจัดประเภทของศัตรูพืชว่าศัตรูพืชมีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน พบว่า ศัตรูพืชที่เป็นศัตรูพืชกักกัน เช่น รา เช่น *Chalara elegans*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lilii*, *Fusarium oxysporum*

f.sp. *narcissi*, *Phytophthora boehmeriae*, *Phytophthora citricola*, *Phytophthora cryptogea*, *Phytophthora hibernalis*, *Phytophthora katsurae*, *Phytophthora megakarya*, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora porri*, *Sclerotium cepivorum*, *Synchytrium endobioticum*, *Verticillium alboatrum* ไส้เดือนฝอย เช่น *Globodera pallida*, *Globodera rostochiensis*, *Meloidogyne brevicauda*, *Meloidogyne camelliae*, *Paratrichodorus porosus*, *Pratylenchus goodeyi*, *Pratylenchus loosi*, *Xiphinema americanum*, *Xiphinema diversicaudatum* แบคทีเรีย เช่น *Burkholderia caryophylli*, *Clavibacter sepedonicus*, *Erwinia amylovora*, *Pantoea agglomerans*, *Xanthomonas campestris* pv. *armoraciae*

ทั้งนี้ การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช ควรรวมถึงการพิจารณาปัจจัยที่ส่งผลต่อความเสี่ยงศัตรูพืชของวัสดุปลูก ซึ่งความเสี่ยงศัตรูพืชอาจขึ้นอยู่กับ วัสดุปลูกใหม่หรือใช้ซ้ำ ต้นกำเนิดของวัสดุปลูก ส่วนประกอบของวัสดุปลูก มาตรการที่ใช้ในการผลิตวัสดุปลูก ระดับของการแปรรูป การบำบัดที่ใช้ มาตรการเพื่อป้องกันการปนเปื้อนหรือการเข้าทำความเสียหายจากศัตรูพืชก่อนนำวัสดุปลูกไปใช้ เช่น ในระหว่างการขนส่ง การเก็บรักษา จนถึงการขยายพันธุ์พืช การผลิตพืช (เช่น เมล็ดพันธุ์ ท่อนพันธุ์ ต้นกล้าที่ใช้ต้องสะอาด ปลอดจากศัตรูพืช น้ำหรือระบบชลประทาน นอกจากนี้ ควรหลีกเลี่ยงการสัมผัสกับวัสดุปลูกที่มีความเสี่ยงสูง) ระยะเวลาของวงจรชีวิตพืช และปริมาณของวัสดุปลูกที่ใช้หรือที่มีอยู่ร่วมกับพืชสำหรับปลูกในสินค้าที่ส่งมอบ

วัสดุปลูกที่มีส่วนประกอบอินทรีย์ เช่น เศษซากพืช อาจมีแนวโน้มที่จะเป็นที่อยู่อาศัยหรือหลบซ่อนของศัตรูพืช ดังนั้น จึงมีความเสี่ยงศัตรูพืชมากกว่าวัสดุปลูกที่เป็นแร่ธาตุ หรือสารสังเคราะห์ ซึ่งวัสดุปลูกที่มีส่วนประกอบอินทรีย์จะยากอย่างยิ่งในการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชให้เสร็จสมบูรณ์ เนื่องจากมีแนวโน้มที่จะมีสิ่งมีชีวิตที่ไม่ทราบชนิดได้ และไม่สามารถบริหารจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชได้อย่างเพียงพอ นอกจากนี้ ควรมีการประเมินร่วมกันกับความเสี่ยงศัตรูพืชที่ก่อให้เกิดจากพืชสำหรับปลูก ดังนั้น การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกในอนาคต ควรระบุชนิดของวัสดุปลูกและชนิดของพืชปลูก เพื่อที่จะประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชได้อย่างถูกต้อง

โดยศัตรูพืชที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนย้ายวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกระหว่างประเทศอาจมีผลกระทบเชิงลบต่อความหลากหลายทางชีวภาพ ดังนั้น ต้องมีมาตรการบริหารจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชก่อนการนำเข้า เพื่อลดการนำเข้ามาและการแพร่กระจายของศัตรูพืชกักกันที่เกี่ยวข้องกับวัสดุปลูก นอกจากนี้ การบังคับใช้มาตรการสุขอนามัยพืชยังอาจลดความน่าเป็นไปได้ของการนำเข้ามาและการแพร่กระจายของสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ด้วยเช่นกัน ซึ่งอาจกลายเป็นชนิดพันธุ์ต่างถิ่น ที่รุกราน (invasive alien species) ในประเทศผู้นำเข้าหรือประเทศไทยได้ ซึ่งจะส่งผลต่อความหลากหลายทางชีวภาพ

<u>ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช</u> (Stage 3: Pest Risk Management)

มาตรการต่อไปนี้อาจใช้เดี่ยว ๆ หรือใช้ร่วมกันเพื่อให้แน่ใจว่ามีการจัดการความเสี่ยง ศัตรูพืชของวัสดุปลูกอย่างเพียงพอ

- วัสดุปลูกปลอดจากศัตรูพืชกักกัน โดยใช้วัสดุปลูกซึ่งผลิตในกระบวนการที่ทำให้วัสดุปลูกปลอดจากศัตรูพืช ใช้วัสดุปลูกหรือส่วนประกอบที่รวบรวมมาจากพื้นที่ปลอดศัตรูพืชหรือแหล่งผลิตปลอดศัตรูพืช ใช้การบำบัดที่เหมาะสมกับวัสดุปลูกซึ่งไม่ปลอดจากศัตรูพืชก่อนนำไปใช้

- การบำบัด อาจประยุกต์ใช้การบำบัดในระยะต่าง ๆ ในวงจรการผลิตเพื่อลดความเสี่ยงศัตรูพืชของวัสดุปลูก เช่น การบำบัดวัสดุปลูกก่อนปลูกหรือหลังปลูก (เช่น การบำบัดโดยใช้ไอน้ำร้อน การบำบัดโดยใช้ความร้อน การบำบัดโดยใช้สารเคมี การบำบัดแบบผสมผสาน)

- การตรวจสอบ การสุ่มตัวอย่าง และการทดสอบ โดยสถานที่ผลิตและการแปรรูปหรือวิธีการบำบัดสำหรับวัสดุปลูกอาจได้รับการตรวจสอบ ติดตาม หรืออนุมัติโดยองค์การอารักขาพืชแห่งชาติของประเทศผู้ส่งออก ซึ่งควรแน่ใจว่าเป็นไปตามเงื่อนไขการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืช

- การกักกัน องค์การอารักขาพืชแห่งชาติของประเทศผู้นำเข้าอาจกำหนดให้มีการกักกันสำหรับวัสดุปลูกที่ติดมากับพืช สำหรับปลูก เพื่อลดความเสี่ยงศัตรูพืช การกักกันจะช่วยให้มีทางเลือก เช่น การทดสอบ การสังเกตสำหรับอาการและการบำบัดสำหรับพืชสำหรับปลูก และวัสดุปลูกที่ติดมากับพืชระหว่างช่วงการกักกัน

- การห้าม ในกรณีที่มาตรการที่ระบุไว้ข้างต้นไม่สามารถใช้งานได้ เป็นไปได้ หรือเพียงพอสำหรับวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกบางชนิด อาจห้ามไม่ให้มีการเข้ามาของวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูก

**3. สรุปผลศึกษาการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช**

การนำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกจากประเทศในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก มีความเสี่ยงที่ศัตรูพืชกักกันจะติดเข้ามาได้ โดยเป็นความเสี่ยงศัตรูพืชที่เกิดขึ้นจากวัสดุปลูกโดยตรง ซึ่งมีแนวทางการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกัน และมาตรการสนับสนุนอื่น ๆ สำหรับใช้เป็นข้อมูลกำหนดมาตรการทางกฎหมาย ได้แก่ วัสดุปลูกปลอดจากศัตรูพืชกักกัน การบำบัด การตรวจสอบ การสุ่มตัวอย่าง และการทดสอบ การกักกัน หรือการห้ามนำเข้า

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

พืชสำหรับปลูกที่นำเข้า เช่น ไม้ประดับ (ไม้กระถาง) โดยชนิดของพืชสำหรับปลูกดังกล่าวจัดเป็นสิ่งกำกัดและสิ่งไม่ต้องห้ามตามกฎหมายว่าด้วยการกักพืชซึ่งยังไม่มีข้อกำหนดการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืชเฉพาะ และพบว่าวัสดุปลูกที่ใช้เป็นหรือมีส่วนประกอบเป็นสิ่งต้องห้ามหรือส่วนหนึ่งส่วนใดของสิ่งต้องห้าม เช่น เส้นใยมะพร้าว (กาบมะพร้าว ขุยมะพร้าว) รวมทั้งการนำเข้าพืชสำหรับปลูกจะมีดินติดเข้ามาด้วย ตลอดจนพบสิ่งมีชีวิต เช่น แมลง (ตัวอ่อนแมลงในอันดับ Coleoptera วงศ์ Scarabaeidae) ทาก หอย และไส้เดือน อย่างไรก็ตามสินค้าที่ส่งมอบดังกล่าว มีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย และจากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนการจัดประเภทศัตรูพืช กลุ่มศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน เช่น รา ไส้เดือนฝอย แบคทีเรีย ซึ่งต้องมีมาตรการบริหารจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชก่อนการนำเข้า โดยมาตรการต่อไปนี้ วัสดุปลูกปลอดจากศัตรูพืชกักกัน

การบำบัด การตรวจสอบ การสุ่มตัวอย่าง และการทดสอบ การกักกัน หรือการห้ามนำเข้า ทั้งนี้ การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูก ควรคำนึงถึงความเสี่ยงศัตรูพืชที่เกิดจากวัสดุปลูกและพืชสำหรับปลูก ดังนั้น การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าวัสดุปลูกร่วมกับพืชสำหรับปลูกในอนาคต ควรระบุชนิดของวัสดุปลูกและชนิดของพืชปลูก เพื่อที่จะประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชได้อย่างถูกต้อง และมีมาตรการบริหารจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่เหมาะสม

## เอกสารอ้างอิง


CABI (Centre for Agriculture and Bioscience International). 2020. Crop Protection Compendium. Wallingford, UK: CAB International. (Online). Available. http://www.cabi.org/. (March 06, 2020).

CAHFSA (Caribbean Agricultural Health and Food Safety Agency). 2016. Guidelines for pest risk analysis of imported plant and plant products. Version 1.1 published October 2016. 33p.

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

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

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2013. International Standards for Phytosanitary Measures No. 11 (ISPM 11): Pest risk analysis for quarantine pests. (Online). Available. https://www.ippc.int/en/core-activities /standards-setting/ispms/. (February 6, 2021)

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

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

**Figure 2** Samples of prohibited growing media and pests

# การตรวจวินิจฉัยและจำแนกชนิดของเชื้อไวรอยด์ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้า

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

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

## Abstract

Pospiviroids are the one of the important pests that affect plants in the Solanaceae family, including of pepper, tomato and eggplant etc. They can be effect on the plants and the plant products. Infected plants act as source of inoculum and disease transmit by seed. Disease impacts on the seeds imported and exported because they due to transmission by seeds. Currently, other countries and Thailand have declared and designated the many types of the pospiviroids as the quarantine pests. In case of the imported seeds must be follow the import conditions. Each year, Thailand imported the pepper seeds from many countries and the quantity increasing every year. The both of importing in term of the parent seeds for produce the seeds and then harvested and export them to abroad as commercial seeds. Therefore, imported tomato and pepper seeds must be test for the pospiviroids that may have been transmitted through these seeds. A total of 58 samples of imported tomato and pepper seeds were sampling between October 2022 until September 2024. These samples included 26 samples of tomato seeds imported from India, the United States, China, the Netherlands and France, and 32 samples of pepper seeds imported from India, China, the United States, Spain, the Netherlands and France. RNA extracted and tested for the pospiviroids using by RT-PCR (reverse-transcription polymerase chain reaction) and nucleotide sequence analysis was performed to identify the species. The results showed that the 26 samples of tomato seed tested and found free from the pospiviroids, while the 3 samples within 32 samples of pepper seeds seed tested and found the pospiviroids. The nucleotide sequence analysis of all 3 samples of pepper seeds are the *Columnea latent viroid* (CLVd), which originated from India.

**Keywords :** Diagnostic, Identification, Pospiviroids, Imported tomato seeds, Imported pepper seeds

รหัสการทดลอง FF65-55-03-65-00-05-66

## บทคัดย่อ

เชื้อไวรอยด์เป็นศัตรูพืชชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญและส่งผลกระทบต่อพืชในวงศ์ Solanaceae ได้แก่ พริก มะเขือเทศ และมะเขือ เป็นต้น ทั้งในด้านของการเจริญเติบโตและผลิตผลของพืช ทั้งยังเป็นแหล่งสะสมของเชื้อและสามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดได้อีกด้วย จึงนำไปสู่ผลกระทบที่เกิดขึ้นในการนำเข้าและส่งออกเมล็ดพันธุ์ระหว่างประเทศคู่ค้าเนื่องจากเป็นศัตรูพืชที่สามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดพันธุ์ได้ ปัจจุบันหลายประเทศรวมทั้งประเทศไทยได้ประกาศและกำหนดให้เชื้อไวรอยด์หลายชนิดเป็นศัตรูพืชกักกัน หากต้องการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จำเป็นต้องดำเนินการตามเงื่อนไขการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวตามที่กำหนดไว้ ในแต่ละปีประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกจากหลากหลายประเทศและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี ทั้งในลักษณะของการนำเข้าพ่อ-แม่พันธุ์เพื่อนำมาผลิตเมล็ดพันธุ์แล้วส่งกลับไปขายยังต่างประเทศและการนำเข้าเพื่อการค้า ดังนั้น จึงต้องทำการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกที่มีการนำเข้า เพื่อตรวจหาเชื้อไวรอยด์ที่อาจติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์เหล่านั้น โดยทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกที่มีการนำเข้าจากต่างประเทศในช่วงเดือนตุลาคม 2565 ถึงเดือนกันยายน 2567 จำนวนทั้งสิ้น 58 ตัวอย่าง ประกอบด้วย เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ จำนวน 26 ตัวอย่าง นำเข้าจากประเทศอินเดีย สหรัฐอเมริกา จีน เนเธอร์แลนด์และฝรั่งเศส และเมล็ดพันธุ์พริก จำนวน 32 ตัวอย่าง นำเข้าจากประเทศอินเดีย จีน สหรัฐอเมริกา สเปน เนเธอร์แลนด์ และฝรั่งเศส ทำการสกัดสารพันธุกรรมชนิดอาร์เอ็นเอแล้วนำมาตรวจหาเชื้อไวรอยด์ด้วยวิธี RT-PCR (reverse-transcription polymerase chain reaction) และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อจำแนกชนิด ผลการตรวจสอบพบว่า เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศทั้ง 26 ตัวอย่างตรวจไม่พบเชื้อไวรอยด์ ส่วนเมล็ดพันธุ์พริกตรวจพบเชื้อไวรอยด์จำนวน 3 ตัวอย่างจากทั้งหมด 32 ตัวอย่าง และผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของทั้งสามตัวอย่างคือเชื้อ *Columnea latent viroid* (CLVd) ซึ่งเป็นเมล็ดพันธุ์พริกมีแหล่งกำเนิดจากประเทศอินเดีย


**คำสำคัญ :** การตรวจวินิจฉัย, จำแนกชนิด, เชื้อไวรอยด์, เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้า, เมล็ดพันธุ์พริกนำเข้า

## คำนำ

ประเทศไทยเป็นศูนย์กลางผลิตและส่งออกสินค้าเกษตร ในขณะเดียวกันมีความจำเป็นต้องนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศ จากหลายภูมิภาค เพื่ออุปโภค บริโภค เพาะปลูกและปรับปรุงพันธุ์ หรือนำเข้าเมล็ดพันธุ์พ่อแม่เพื่อผลิตเป็นเมล็ดพันธุ์ลูกผสมเพื่อการส่งออก ซึ่งอาจจะเป็นพาหะของศัตรูพืชหลายชนิดที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทย หากศัตรูพืชร้ายแรงดังกล่าวแพร่ระบาดเข้ามาในประเทศไทย นอกจากจะทำความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศแล้ว ยังก่อให้เกิดผลกระทบกับการส่งออกสินค้าเกษตรไปยังต่างประเทศด้วย ซึ่งจะส่งผลกับเศรษฐกิจของประเทศ และต้องใช้งบประมาณสูงในการป้องกันกำจัด ดังนั้น การศึกษาและจัดจำแนกชนิดของศัตรูพืช ที่อาจจะติดเข้ามากับพืชที่นำเข้าจากแหล่งต่าง ๆ ก่อนที่จะอนุญาตให้นำออกจากสถานกักพืชได้ เป็นการป้องกันมิ

ให้ศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย เข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายต่อการเกษตรในประเทศ และข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์ต่องานด้านกักกันพืชทำให้ทราบข้อมูลศัตรูพืชของประเทศคู่ค้า และเก็บตัวอย่างศัตรูพืชไว้เป็นหลักฐานทางวิชาการ และช่วยในการกำหนดมาตรการทางสุขอนามัยพืชให้ประเทศผู้ส่งออกปฏิบัติ เพื่อลดความเสี่ยงที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามาเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว อีกทั้งการตรวจวินิจฉัยและจัดจำแนกชนิดของศัตรูพืชจำเป็นต้องมีประสิทธิภาพและมีความแม่นยำ เพื่อป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชร้ายแรงต่างถิ่นหรือศัตรูพืชกักกันติดมากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้ามาในประเทศไทย และใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจรับรองสินค้าเกษตรเพื่อการส่งออก และที่สำคัญต้องมีการพัฒนาให้สามารถตรวจสอบได้รวดเร็วขึ้น เพื่อนำไปสู่แนวทางการป้องกันกำจัดศัตรูพืชให้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และควบคุมการระบาดของศัตรูพืชได้ทันต่อสถานการณ์

ไวรอยด์เป็นศัตรูพืชชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญและส่งผลการทบต่อพืชในวงศ์ Solanaceae ได้แก่ มะเขือ มะเขือเทศ พริก และมันฝรั่ง เป็นต้น ทั้งในด้านของผลกระทบต่อต้นพืชที่ถูกเชื้อไวรอยด์เข้าทำลายและผลิตผลของพืชดังกล่าวที่สามารถเป็นแหล่งสะสมของเชื้อและสามารถถ่ายทอดเชื้อไปยังแหล่งต่าง ๆ ได้ จึงนำไปสู่ผลกระทบที่เกิดขึ้นในการนำเข้าและส่งออกเมล็ดพันธุ์ระหว่างประเทศคู่ค้า เนื่องจากเป็นเชื้อศัตรูพืชที่สามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดพันธุ์ได้ ปัจจุบันประเทศไทยมีข้อกำหนดและเงื่อนไขในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริกจากต่างประเทศ ดังรายละเอียดที่แสดงไว้ในประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริก พ.ศ. 2563 ซึ่งมีเชื้อไวรอยด์จำนวน 2 ชนิดถูกกำหนดเป็นศัตรูพืชกักกันในเมล็ดพันธุ์พริกของประเทศไทย ได้แก่ ได้แก่ *Columnea latent viroid* (CLVd) และ *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) ในแต่ละปีประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริกจากหลายประเทศเป็นจำนวนมากและมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นในทุก ๆ ปี ทั้งในลักษณะของการนำเข้าพ่อ-แม่พันธุ์เพื่อนำมาผลิตเมล็ดพันธุ์ส่งกลับไปขายยังต่างประเทศ และการนำเข้าเพื่อนำมาเพาะปลูกในประเทศ ดังนั้น ไม่ว่าจะเป็นการนำเข้ามาในประเทศไทยเพื่อวัตถุประสงค์ใด จำเป็นต้องทำการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์พริกดังกล่าวที่มีการนำเข้าเพื่อตรวจหาเชื้อไวรอยด์ที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวได้ ทั้งนี้ก็เพื่อเป็นการป้องกันการติดเข้ามาของศัตรูพืชต่างถิ่นซึ่งอาจก่อให้เกิดปัญหาและผลกระทบกับทั้งการเพาะปลูกและการผลิตเมล็ดพันธุ์พริกของเกษตรกรในประเทศไทย

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี
   1.1 เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้า
   1.2 วัสดุวิทยาศาสตร์ ประกอบด้วย
      - หลอดไมโครทิวป์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
      - หลอดไมโครทิวป์ ขนาด 2.0 มิลลิลิตร
      - ทิปดูดสารละลาย ขนาด 10 ไมโครลิตร

- ทิปดูดสารละลาย ขนาด 200 ไมโครลิตร
- ทิปดูดสารละลาย ขนาด 1 มิลลิลิตร

1.3 สารเคมี ประกอบด้วย

- สารละลาย Phosphate buffer saline (PBS)
- ชุดสกัดอาร์เอ็นเอสำเร็จรูป (FavorPrep™ Plant Genomic RNA Mini Kit)
- สารเคมี 2-mercaptoethanol (β-ME)
- สารละลาย 70% ethanol
- ชุดเอนไซม์สำหรับเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมแบบ One-Step RT-PCR (Invitrogen, SuperScript™ III One-Step RT-PCR System with Platinum™ Taq DNA Polymerase)
- สารละลายไพรเมอร์ที่จำเพาะ
- ผงอะกาโรส (agarose gel)
- สารย้อมสีดีเอ็นเอ (RedSafe™ Nucleic Acid Staining Solution)
- 6X loading dye (Bio-Helix, Novel juice supplied in 6X loading buffer)
- สารละลายดีเอ็นเอมาตรฐาน (Bio-Helix, One mark 100 DNA Ladder)

1.4 วัสดุสำนักงาน ประกอบด้วย

- ถุงพลาสติก
- ปากกามาร์กเกอร์

1.5 เครื่องมือ ประกอบด้วย

- เครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 3 ตำแหน่ง (METTLER TOLEDO, digital scale)
- เครื่องบดเมล็ดพันธุ์ (IKA® Tube mill control)
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (Thermo Scientific, Sorvall Legend Micro 21 Centrifuge)
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ (MEMMERT, water bath)
- ตู้แช่แข็ง -30 องศาเซลเซียส (SANYO, freezer)
- เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (Eppendorf, DNA thermocycler)
- เครื่องแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส (BIO-RAD, Gel Electrophoresis)
- เครื่องถ่ายภาพเจล (BIO-RAD, Gel documentation)

**วิธีการ**

1. สืบค้นข้อมูลที่เกี่ยวกับเชื้อไวรอยด์กลุ่ม *Pospiviroid* ที่มีรายงานการเข้าทำลายในมะเขือเทศและพริกทั้งของประเทศไทยและที่มีรายงานในต่างประเทศ

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

ปริมาณน้อย (small seed lot) จะสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ที่ 10 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นบันทึกข้อมูลและรายละเอียดของเมล็ดพันธุ์แต่ละตัวอย่าง

3. การเตรียมตัวอย่าง

3.1 สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจำนวน 3,000 เมล็ดต่อตัวอย่าง แบ่งเป็น 3 ตัวอย่าง ๆ ละ 1,000 เมล็ด และสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พริกจำนวน 3,000 เมล็ดต่อตัวอย่าง แบ่งเป็น 6 ตัวอย่าง ๆ ละ 500 เมล็ด (NSHS, 2020)

3.2 นำเมล็ดพันธุ์ไปปั่นละเอียดด้วยเครื่องบดเมล็ดพันธุ์ ที่ความเร็ว 20,000 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 30 วินาที โดยทำการปั่นสองครั้งเพื่อให้ละเอียด

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

4. การสกัดสารพันธุกรรมชนิดอาร์เอ็นเอ (Total RNA)

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

4.2 เตรียม Filter column จากนั้นเทสารละลายในข้อ 2.2.1 ลงไป แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นดูดส่วนของ supernatant ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร

4.3 เติมสาร 70% ethanol ปริมาตร 1 เท่า แล้วผสมให้เข้ากัน (vortex mix)

4.4 เตรียม FARB Mini Column แล้วเทสารละลายในข้อ 2.2.3 ใส่ลงไป แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นทิ้งของเหลว

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

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

4.7 ปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 rpm เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นย้าย FARB Column ใส่ลงในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติมสาร RNase-free dd$H_2O$ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บริเวณกึ่งกลางเมมเบรน จากนั้นบ่มไว้นาน 2 นาที

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

5. การตรวจหาเชื้อไวรอยด์กลุ่ม *Pospiviroids* ด้วยเทคนิค reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) โดยใช้คู่ไพรเมอร์ cPC2: 5' TGTTTCWRCDGGGATTACTCCTG 3'/ hPC2: 5' GGGTTTTCACCCTTCCTTTC 3' (Tangkanchanapas *et al*., 2005) ซึ่งเป็น universal primer ที่จำเพาะกับเชื้อไวรอยด์ในกลุ่มนี้

5.1 เตรียมส่วนผสมของปฏิกิริยา ที่ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 25 ไมโครลิตร (µl) ดังนี้

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

5.2 นำตัวอย่างทั้งหมดเข้าเครื่อง thermal cycler โดยตั้งโปรแกรมการทำงาน ดังนี้

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 48 °C | นาน | 45 | นาที | 1 รอบ |
| 94 °C | นาน | 3 | นาที | |
| 94 °C | นาน | 30 | วินาที | 35 รอบ |
| 56 °C | นาน | 45 | วินาที | |
| 68 °C | นาน | 1 | นาที | |
| 68 °C | นาน | 10 | นาที | 1 รอบ |
| 20 °C | นาน | 10 | นาที | 1 รอบ |

5.3 ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอ (PCR product) ด้วยเทคนิค gel electrophoresis

เตรียมสารละลายเจล 1.8% agarose ในสารละลาย 0.5x TBE หลอมละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นเติมสารย้อมสีดีเอ็นเอ (RedSafe™ Nucleic Acid Staining Solution) และเทเจลลงในถาดเจลตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 40 นาทีเพื่อให้เจลแข็งตัว จากนั้น ดูดสารละลาย PCR product ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมกับ 6X loading dye ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ใส่ลงไปในแต่ละหลุม (well) และใส่ดีเอ็นมาตรฐาน ปริมาตร 3 ไมโครลิตร หลังจากนั้นให้กระแสไฟฟ้าที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 40-50 นาที เมื่อครบเวลานำแผ่นเจลไปตรวจดูแถบแบนดีเอ็นเอภายใต้แสง UV ด้วยเครื่อง Gel document พร้อมทั้งบันทึกภาพ

5.4 หากตรวจพบตัวอย่างที่ปรากฏแถบแบนของดีเอ็นเอเป้าหมายถือว่าให้ผลบวกกับการตรวจสอบ จึงทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมอีกครั้งเพื่อส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และนำผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ไปเปรียบเทียบกับข้อมูลในฐานข้อมูลของ GenBank

**เวลาและสถานที่**

เวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2565 – กันยายน 2567 (2 ปี)

สถานที่ ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร และห้องปฏิบัติการตรวจสอบศัตรูพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

**ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง**

จากการสืบค้นข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับเชื้อไวรอยด์ พบว่า ไวรอยด์ (viroid) เชื้อสาเหตุโรคพืชที่มีขนาดเล็กที่สุดที่สามารถทำให้พืชเกิดโรคได้ ที่มีรายงานการศึกษาลำดับเบสแล้วมีความยาว 246-463 นิวคลีโอไทด์ มีน้ำหนักประมาณ 1.1-1.3 x $10^5$ ดาลตัน มีโครงสร้างเป็นอาร์เอ็นเอสายเดี่ยวที่เป็นวงปิด (single-stranded circular RNA) เป็นอาร์เอ็นเอแบบไม่มีโปรตีนห่อหุ้ม (naked RNA) นอกจากนี้อาร์เอ็นเอของไวรอยด์ยังไม่สามารถแปลรหัสเป็นโปรตีนได้ (non-translated RNA) (Diener, 1989; Flores *et al*., 2014; คนึงนิตย์, 2556) ไวรอยด์เป็นศัตรูพืชอีกชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญที่สามารถก่อโรคให้กับพืชปลูกและสร้างความเสียหายกับพืชและผลิตผลของพืชได้ อีกทั้งยังมีความสำคัญและเกี่ยวกับการนำเข้าและส่งออกเมล็ดพันธุ์พืชผัก เช่น เมล็ดพันธุ์พริกและมะเขือเทศอีกด้วย โดยที่เชื้อไวรอยด์ที่อยู่ในกลุ่ม *Pospiviroid* ประกอบด้วย สมาชิกจำนวน 9 ชนิด ได้แก่เชื้อ *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd), *Citrus exocortis viroid* (CEVd), *Chrysanthemum stunt viroid* (CSVd), *Columnea latent viroid* (CLVd), *Iresine viroid I* (IrVd), *Pepper chat fruit viroid* (PCFVd), *Tomato apical stunt viroid* (TASVd), *Tomato chlorotic dwarf viroid* (TCDVd) และ *Tomato planta macho viroid* (TPMVd) (Serio *et. al*., 2017) โดยเชื้อไวรอยด์ที่สามารถเข้าทำลายพืชในวงศ์ Solanaceae มีจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ เชื้อไวรอยด์ PSTVd, TPMVd, TCDVd, TASVd, CLVd และ PCFVd เชื้อไวรอยด์ PSTVd ที่ก่อโรคในมันฝรั่งในสภาพแปลงปลูกและทำให้ผลผลิตลดลง 17-24 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเชื้อที่เป็นสายพันธุ์ไม่รุนแรง (mild strains) และผลผลิตเสียหายถึง 64 เปอร์เซ็นต์ในเชื้อที่มีความรุนแรง ซึ่งความเสียหายจะขึ้นกับชนิดพันธุ์ของมันฝรั่งและความรุนแรงของเชื้อและช่วงระยะเวลาที่มันฝรั่งได้รับเชื้อไวรอยด์ PSTVd ทำให้หัวมันฝรั่งมีรอยแตก จำนวนผลผลิตต่อต้นลดลงทั้งจำนวนหัวและน้ำหนักหัว สามารถถ่ายทอดเชื้อทั้งโดยวิธีกล โดยผ่านทางเมล็ด และผ่านทางละอองเกสร (pollen) นอกจากนี้เชื้อไวรอยด์ PSTVd ทำให้ผลผลิตมะเขือเทศลดลง 10-60 เปอร์เซ็นต์ทั้งนี้ขึ้นกับพันธุ์มะเขือเทศและอายุการเจริญเติบโตของมะเขือเทศที่ได้รับเชื้อและความรุนแรงของเชื้อสาเหตุด้วย ความงอกของเมล็ดลดลง 24-48 เปอร์เซ็นต์ เชื้อไวรอยด์สามารถถ่ายทอดโรคได้ทั้งทางเมล็ด ละอองเกสรมะเขือเทศและแมลงพาหะ เชื้อไวรอยด์ TPMVd ก่อให้เกิดความเสียหายกับมะเขือเทศที่ปลูกเป็นการค้าในประเทศเม็กซิโก โดยทำให้ผลมะเขือเทศมีขนาดเล็กจนไม่สามารถขายได้ เชื้อไวรอยด์ TCDVd ก่อให้เกิดอาการกับผลมะเขือเทศ ทำให้ผลมีขนาดเล็ก สำหรับในมันฝรั่งทำให้มันฝรั่งหัวแตก (cracked tuber) พบรายงานเข้าทำลายมะเขือเทศในสภาพโรงเรือน ไม่พบกับมะเขือเทศในสภาพแปลงปลูก

อย่างไรก็ตามมะเขือเทศที่ถูกเชื้อไวรอยด์ TCDVd เข้าทำลายผลผลิตจะไม่ได้คุณภาพและมาสามารถออกสู่ตลาดได้ (คนึงนิตย์, 2556)

ทำการสุ่มตรวจเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกที่มีการนำเข้าในช่วงเดือนตุลาคม 2565 ถึงเดือนกันยายน 2567 โดยสุ่มเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจำนวน 9 ครั้ง ซึ่งนำเข้าจากประเทศอินเดีย สหรัฐอเมริกา จีน เนเธอร์แลนด์ และฝรั่งเศส รวมทั้งสิ้น 26 ตัวอย่าง (**Table 1**) และเมล็ดพันธุ์พริกจำนวน 15 ครั้ง ซึ่งนำเข้าจากประเทศอินเดีย จีน สหรัฐอเมริกา สเปน เนเธอร์แลนด์ และฝรั่งเศส รวมทั้งสิ้น 32 ตัวอย่าง (**Table 2**) ทำการสกัดสารพันธุกรรมชนิดอาร์เอ็นเอจากตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวแล้วนำมาตรวจหาเชื้อไวรอยด์ด้วยวิธี reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อจำแนกชนิด ผลการตรวจสอบพบว่า เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศทั้ง 26 ตัวอย่างตรวจไม่พบเชื้อไวรอยด์ (**Table 3**) และเมล็ดพันธุ์พริกตรวจพบเชื้อไวรอยด์จำนวน 3 ตัวอย่างจากทั้งหมด 32 ตัวอย่าง และเป็นเมล็ดพันธุ์มีแหล่งกำเนิดจากประเทศอินเดีย (**Table 4**)

นำตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พริกที่ตรวจพบเชื้อไวรอยด์ทั้ง 3 ตัวอย่างมาทำการเพิ่มปริมาณยีนเป้าหมายอีกครั้งและส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทป์ เมื่อนำข้อมูลของผลการวิเคราะห์ลำดับเบสไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI (National Center for Biotechnology Information) พบว่าทั้ง 3 ตัวอย่างคือ เชื้อ *Columnea latent viroid* (CLVd) โดยผลการวิเคราะห์ลำดับเบสของตัวอย่าง 66IM0296/1 มีจำนวน 195 นิวคลีโอไทป์ จากการเปรียบเทียบในฐานข้อมูลพบว่ามีค่าเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกับเชื้อ CLVd ที่ 100 เปอร์เซ็นต์ **(Figure 1)** ตัวอย่าง 66IM0296/2 มีจำนวน 195 นิวคลีโอไทป์ จากการเปรียบเทียบในฐานข้อมูลพบว่ามีค่าเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกับเชื้อ CLVd ที่ 98.97 เปอร์เซ็นต์ **(Figure 2)** และตัวอย่าง 66IM0495 มีจำนวน 192 นิวคลีโอไทป์ จากการเปรียบเทียบในฐานข้อมูลพบว่ามีค่าเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกับเชื้อ CLVd ที่ 93.23 เปอร์เซ็นต์ **(Figure 3)** ซึ่งเชื้อไวรอยด์ CLVd ที่ตรวจพบติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์พริกนั้น เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 และประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริก พ.ศ. 2563 ซึ่งตามข้อกำหนดของประกาศกรมวิชาการเกษตรข้างต้น กำหนดไว้ว่าหากตรวจพบเชื้อ CLVd ระหว่างการตรวจสอบการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริก ต้องส่งกลับ หรือทำลาย โดยผู้นำเข้าต้องเป็นผู้รับผิดชอบค่าใช้จ่าย

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การตรวจวินิจฉัยและจำแนกชนิดของเชื้อไวรอยด์ที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าในช่วงเดือนตุลาคม 2565 ถึงเดือนกันยายน 2567 รวมทั้งสิ้น 58 ตัวอย่าง ประกอบด้วยเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ จำนวน 26 ตัวอย่าง และเมล็ดพันธุ์พริก จำนวน 32 ตัวอย่าง จากการตรวจสอบเชื้อไวรอยด์ด้วยวิธี reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) พบเชื้อไวรอยด์ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจำนวน 3 ตัวอย่าง โดยมีแหล่งกำเนิดจากประเทศอินเดีย และเมื่อนำไปวิเคราะห์

ลำดับนิวคลีโอไทด์และจัดจำแนกชนิดจึงพบว่าทั้งสามตัวอย่างคือ *Columnea latent viroid* (CLVd) ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันของของประเทศไทย ดังนั้น เมล็ดพันธุ์พริกทั้งสามตัวอย่างจึงถูกปฏิเสธการนำเข้า

**คำขอบคุณ**

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และผู้เกี่ยวข้องทุก ๆ ท่านที่มีส่วนในการให้ความร่วมมือและให้ความช่วยเหลือในส่วนต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องในทุกส่วนงานเป็นอย่างยิ่ง จนกระทั่งส่งผลและทำให้งานวิจัยและการศึกษาทดลองในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอบคุณมากค่ะ

**เอกสารอ้างอิง**

กรมวิชาการเกษตร. 2563. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริก พ.ศ. 2563. เล่ม 138 ตอนพิเศษ 10 ง. หน้า 35-37

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550. เล่ม 124 ตอนพิเศษ 109 ง. หน้า 6

คนึงนิตย์ เหรียญวรากร. 2556. โรคพืชที่เกิดจากเชื้อไวรอยด์. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. นนทบุรี. 164 หน้า.

ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์. 2548. การตรวจสอบเชื้อไวรอยด์ในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร ภาควิชาโครงการสหวิทยาการ ระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์ วันเพ็ญ ศรีทองชัย กาญจนา วาระวิชะนี และวันเพ็ญ ศรีชาติ. 2555. การตรวจติดตามเชื้อ *Columnea latent viroid* (CLVd) ที่ติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าจากต่างประเทศ. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2555 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1859-1889.

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

ศศิประภา มาราช คนึงนิตย์ เหรียญวรากร สุพัฒน์ อรรถธรรม และรัชนี ฮงประยูร. 2550. ผลกระทบต่อมะเขือเทศพันธุ์การค้าที่เกิดจากเชื้อ *Columnea latent viroid*. วารสารโรคพืช. ปีที่ 21 เล่มที่ 1-2. หน้า 47-60.

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

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

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

International Seed Testing Association (ISTA). 2022. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association.

Reanwarakorn, K., S. Klinkong and J. Porsoongnurn. 2011. First report of natural in fection of *Pepper chat fruit viroid* in tomato plants in Thailand. New Disease Reports 24, 6.

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

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

**Table 1** The details of the imported tomato seeds

| No. | PQ no. | Date | Country of origin | Weight (KG) | Amount of samples |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 66I 0072 | 29/1/2566 | CHINA | 0.270 | 1 |
| 2 | 66I 0197 | 11/3/2566 | INDIA | 257.700 | 1 |
| 3 | 66I 0470 | 28/4/2566 | NETHERLANDS | 0.139 | 1 |
| 4 | 66I 0555 | 18/5/2066 | FRANCE | 1.000 | 3 |
| 5 | 66I 0625 | 1/6/2566 | NETHERLANDS | 0.606 | 6 |
| 6 | 66I 0793 | 5/7/2566 | CHINA | 1,256.000 | 3 |
| 7 | 66I 0903 | 21/7/2566 | U.S.A. | 0.410 | 4 |
| 8 | 66I 0980 | 7/8/2566 | U.S.A. | 0.356 | 6 |
| 9 | 66I 1030 | 17/8/2566 | CHINA | 0.310 | 1 |
| **Total samples of tomato seeds** | | | | | **26 samples** |

**Table 2** The details of the imported pepper seeds

| No. | PQ no. | Date | Country of origin | Weight (KG) | Amount of samples |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 66I 0072 | 29/1/2566 | CHINA | 0.375 | 1 |
| 2 | 66I 0197 | 11/3/2566 | INDIA | 20.050 | 1 |
| 3 | 66I 0199 | 13/3/2566 | U.S.A. | 0.355 | 2 |
| 4 | 66I 0296 | 28/3/2566 | INDIA | 600.000 | 5 |
| 5 | 66I 0363 | 19/4/2566 | CHINA | 24.195 | 1 |
| 6 | 66I 0495 | 9/5/2566 | INDIA | 245.000 | 10 |
| 7 | 66I 0793 | 5/7/2566 | CHINA | 6,695.000 | 2 |
| 8 | 66I 0818 | 7/7/2566 | SPAIN | 3.1380 | 1 |
| 9 | 66I 0850 | 13/7/2566 | FRANCE | 0.906 | 2 |
| 10 | 66I 0910 | 24/7/2566 | NETHERLANDS | 0.152 | 1 |
| 11 | 66I 1035 | 17/8/2566 | FRANCE | 0.425 | 1 |
| 12 | 66I 1130 | 24/8/2566 | U.S.A. | 0.168 | 1 |
| 13 | 66I 1457 | 18/10/2566 | NETHERLANDS | 0.150 | 1 |
| 14 | 67I 0061 | 18/1/2567 | FRANCE | 4.137 | 1 |
| 15 | 67I 0336 | 29/3/2567 | SPAIN | 0.117 | 2 |
| | | **Total samples of pepper seeds** | | | **32 samples** |

**Table 3** Results of Pospiviroids detection by RT-PCR method on imported tomato seeds

| No. | PQ no. | Country of origin | Amount of samples | Pospiviroids detection by PC2 primers |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 66I 0072 | CHINA | 1 | Not detected |
| 2 | 66I 0197 | INDIA | 1 | Not detected |
| 3 | 66I 0470 | NETHERLANDS | 1 | Not detected |
| 4 | 66I 0555 | FRANCE | 3 | Not detected |
| 5 | 66I 0625 | NETHERLANDS | 6 | Not detected |
| 6 | 66I 0793 | CHINA | 3 | Not detected |
| 7 | 66I 0903 | U.S.A. | 4 | Not detected |
| 9 | 66I 0980 | U.S.A. | 6 | Not detected |
| | | **Amount of Pospiviroids positive of tomato seeds** | | **0 samples** |

**Table 4** Results of Pospiviroids detection by RT-PCR method on imported pepper seeds

| No. | PQ no. | Country of origin | Amount of samples | Pospiviroids detection by PC2 primers |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 66I 0072 | CHINA | 1 | Not detected |
| 2 | 66I 0197 | INDIA | 1 | Not detected |
| 3 | 66I 0199 | U.S.A. | 2 | Not detected |
| 4 | **66I 0296** | **INDIA** | **5** | **Detected (2 out of 5 samples)** |
| 5 | 66I 0363 | CHINA | 1 | Not detected |
| 6 | **66I 0495** | **INDIA** | **10** | **Detected (1 out of 10 samples)** |
| 7 | 66I 0793 | CHINA | 2 | Not detected |
| 9 | 66I 0818 | SPAIN | 1 | Not detected |
| 10 | 66I 0850 | FRANCE | 2 | Not detected |
| 11 | 66I 0910 | NETHERLANDS | 1 | Not detected |
| 12 | 66I 1035 | FRANCE | 1 | Not detected |
| 13 | 66I 1130 | U.S.A. | 1 | Not detected |
| 14 | 66I 1457 | NETHERLANDS | 1 | Not detected |
| 15 | 67I 0061 | FRANCE | 1 | Not detected |
| | **Amount of Pospiviroids positive of pepper seeds** | | | **3 out of 32 samples** |

>66IM0296/1 – 195 bp

ACAGGGTTTTCACCCTTCCTTTCTTCTGGTTTCCTTCCTCTGCTTCAGCGGCCTCGCCCGGAGTCTTGA

CCAGCGCAGGTTCTGACGCGACCGGTGGCATCACCGAGTTTCGCTCAAACCTCAATCTCCTTTTTCTTC

ATTCTAGCTTGGTCTCCGGGCGAGGGTGTTTAGCCCTTGGAACCGCAGTTGGTTCCT

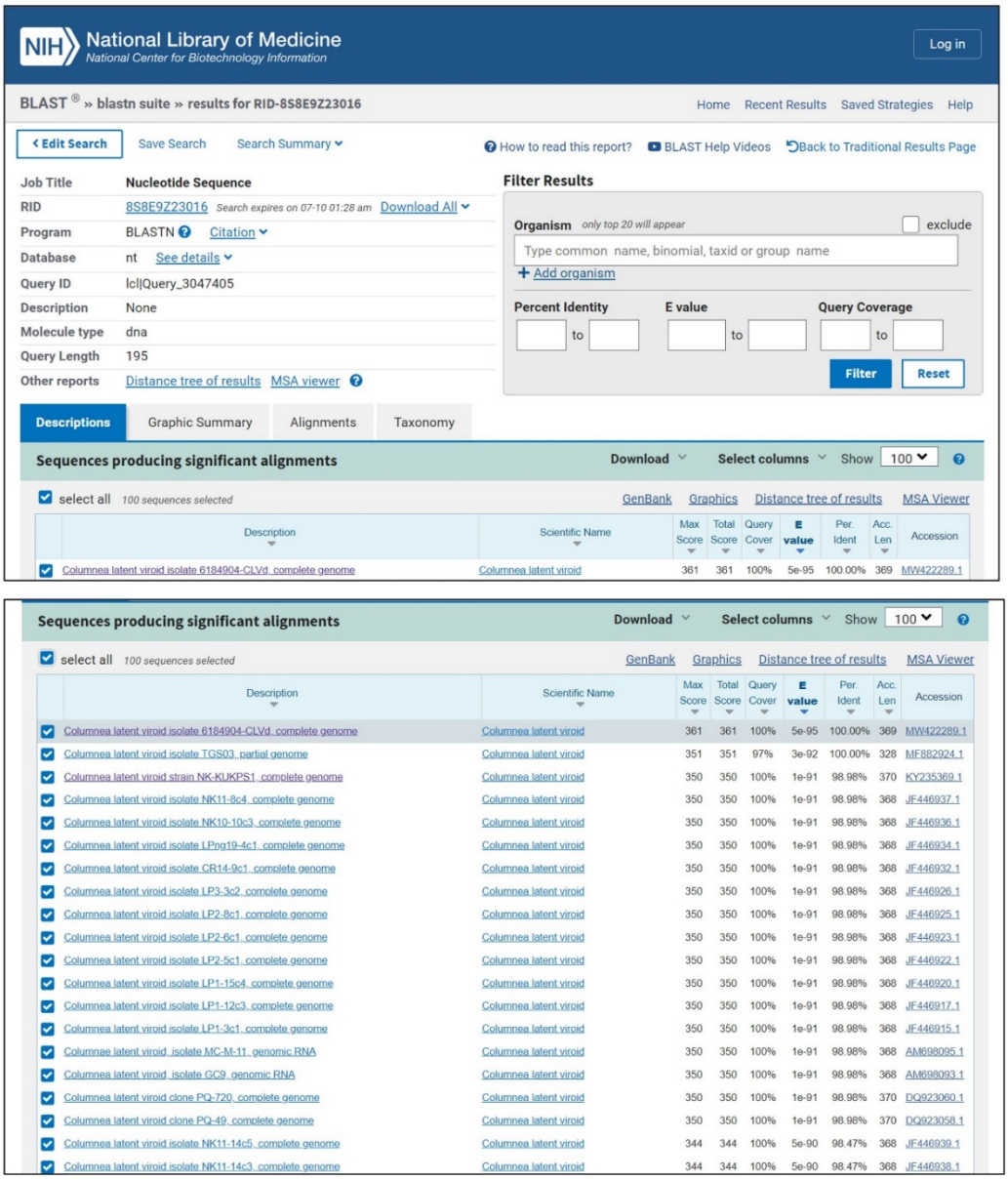



**Figure 1** The result of 66IM0296/1 from the sequencing by the PCR product

>66IM0296/2 – 195 bp

ACAGGGTTTTCACCTTTCCTTTCTTCTGGTTTCCTTCCTCTGCTTCAGCGGCCTCGCCCGGAGTCTTG

ACCAGCGCAGGTTCTGACGCGACCGGTGGCATCACCGAGTTTCGCTCAAACCTCAATCTCCTTTTTCT

TCATTCTAGCTTGGTCTCCGGGCGAGGGTGTTTAGCCTTTGGAACCGCAGTTGGTTCCTAT

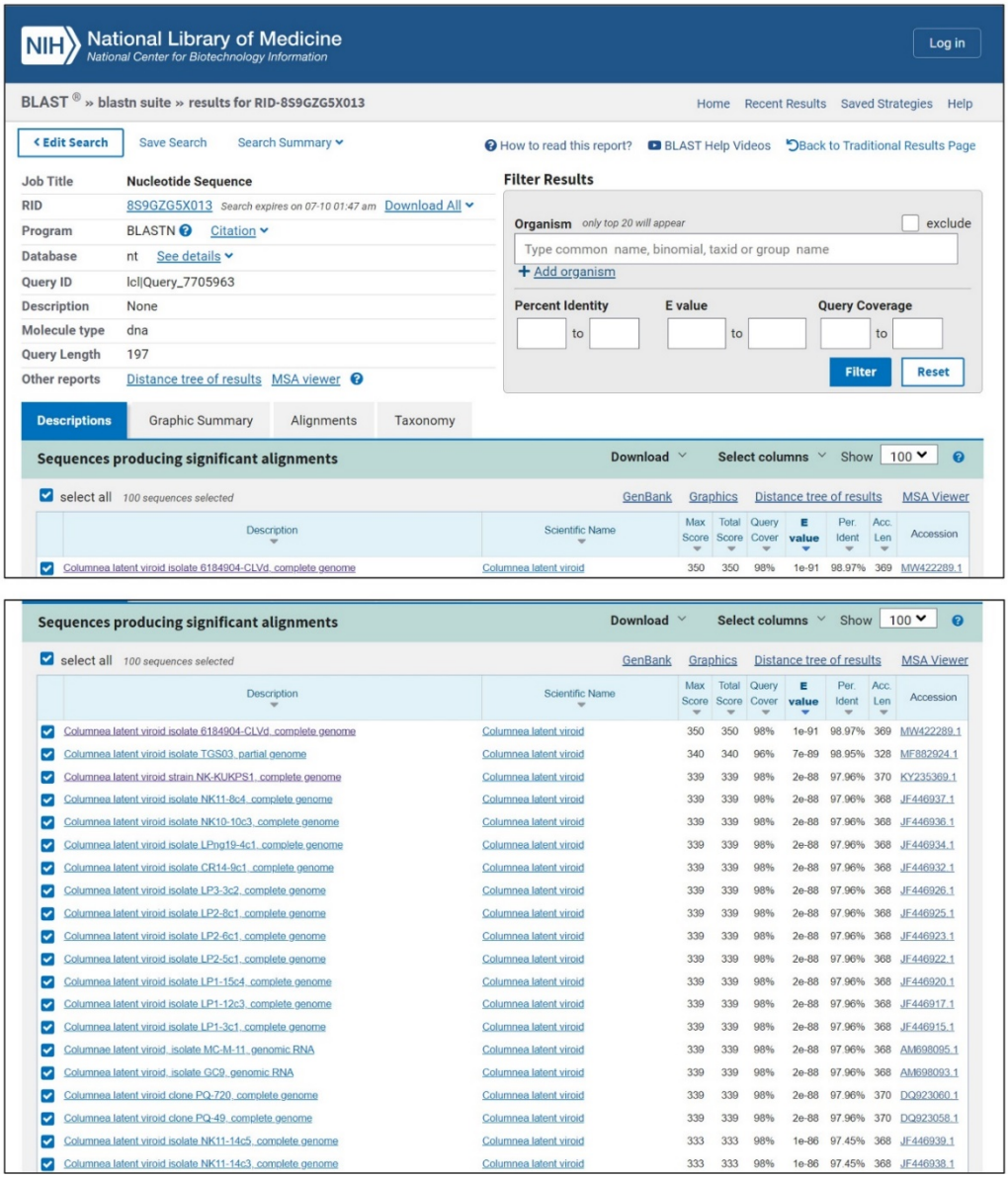






**Figure 2** The result of 66IM0296/2 from the sequencing by the PCR product

>66IM0495 – 192 bp

GGGTTTTCACCCTTCCTTTTTTCTGGTTTCCTTCCTTTGCTTCAGCGGCCTCGCCCGGAGTCTTGACCA

GCGCAGGTTTTGACGCGACCGGTGGCATCACCGAGTTTCGCTCAAACCTCAAAATCCTTTTTCTTCATT

TTAGCTTGGTTTCCGGCAGAGGGTGTTTAGCCTTGGGAACCGCAGGTAGTTCCT

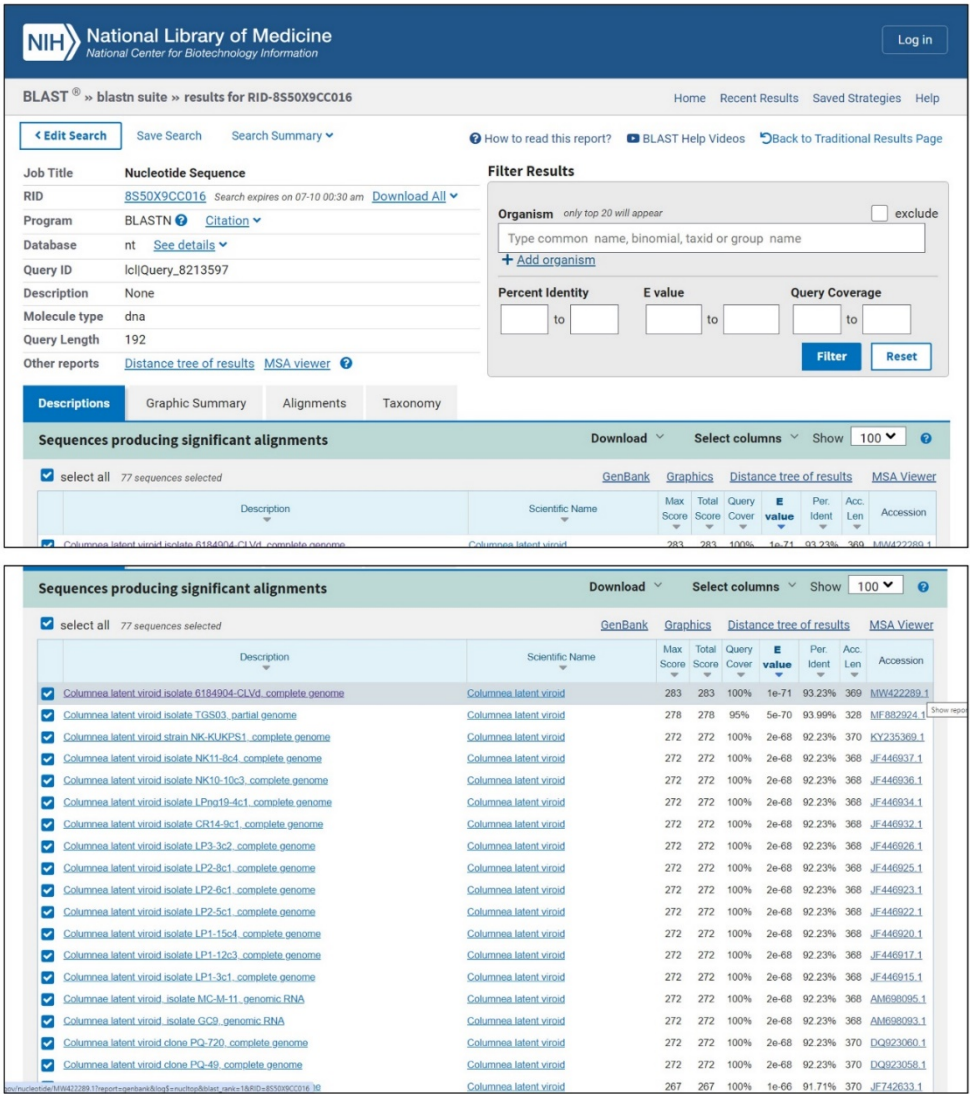



**Figure 3** The result of 66IM0495 from the sequencing by the PCR product

# การตรวจวินิจฉัย *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า

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

**สุรศักดิ์ แสนโคตร สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ วาสนา รุ่งสว่าง**
**โสภา มีอำนาจ จันทร์พิศ เดชหามาตย์**
**กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

## Abstract

*Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) is classified as a quarantine pest in Thailand. It causes disease in potatoes, leading to reduced tuber yield and poor quality for processing. Moreover, it can infect various plants within the Solanaceae family. The viroid can be transmitted through potato seeds and tubers. It is considered a serious pest that has not yet been detected in Thailand and remains a quarantine pest in several other countries. To prevent the introduction, establishment, and potential spread of this pathogen, which could severely impact potato cultivation and other susceptible host plants in Thailand, a study was conducted to develop a precise, accurate, rapid, and widely accepted diagnostic method for detecting PSTVd in imported seed potatoes. Between 2022 and 2024, samples of imported seed potatoes were collected from six countries: 1) Australia 2) Canada 3) The Netherlands 4) New Zealand 5) Scotland and 6) The United States A total of 105 samples were examined for PSTVd infection by observing abnormal symptoms in potato tubers and using molecular diagnostic techniques. The results of the analysis, conducted through symptom observation combined with Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) testing, found no presence of PSTVd in the imported seed potatoes. Additionally, field surveys of planted seed potatoes after importation showed no symptoms of the disease in potato fields. This quarantine pest monitoring data can be used to refine import regulations for seed potatoes from approved countries and for those seeking market access in Thailand.

**Keywords :** Viroid, Potato, PSTVd

รหัสการทดลอง FF65-55-03-65-00-06-66

## บทคัดย่อ

เชื้อไวรอยด์ *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) จัดเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย ก่อให้เกิดโรคในมันฝรั่งทำให้ผลผลิตหัวมันฝรั่งลดลงและไม่มีคุณภาพสำหรับการแปรรูป ทั้งยังสามารถเข้าทำลายพืชในวงศ์มะเขือ (Solanaceae) หลายชนิด สามารถถ่ายทอดเชื้อผ่านเมล็ดพันธุ์ และหัวพันธุ์มันฝรั่งได้ จัดเป็นศัตรูพืชร้ายแรงที่ยังไม่ปรากฏพบในประเทศไทยและเป็นศัตรูพืชกักกันของหลายประเทศ เพื่อเป็นการสกัดกั้นไม่ให้เชื้อสาเหตุเข้ามาตั้งรกราก และเกิดการแพร่ระบาดสร้างความเสียหายให้กับการเพาะปลูกมันฝรั่งและพืชอาศัยชนิดอื่น ๆ ภายในประเทศ จึงได้ศึกษาหาวิธีการตรวจวินิจฉัยที่ถูกต้องแม่นยำ รวดเร็ว เหมาะสมเป็นที่ยอมรับสำหรับการตรวจวินิจฉัยหาเชื้อสาเหตุในหัวพันธุ์มันฝรั่ง โดยทำการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าระหว่างปี พ.ศ. 2565 ถึง พ.ศ. 2567 มีการนำเข้าจาก 6 ประเทศ ได้แก่ 1) ออสเตรเลีย 2) แคนาดา 3) เนเธอร์แลนด์ 4) นิวซีแลนด์ 5) สกอตแลนด์ และ 6) สหรัฐอเมริกา จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 105 ตัวอย่าง นำมาตรวจสอบหาเชื้อสาเหตุด้วยการสังเกตลักษณะอาการบิดเบี้ยวผิดปกติของหัวพันธุ์มันฝรั่งร่วมกับการตรวจสอบด้วยเทคนิคชีวโมเลกุล ผลการตรวจสอบตัวอย่างหัวพันธุ์นำเข้าด้วยการสังเกตลักษณะอาการของโรคร่วมกับการตรวจสอบหาเชื้อสาเหตุด้วยเทคนิค Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) ยังไม่พบเชื้อไวรอยด์ *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) และผลการติดตามสำรวจแปลงปลูกหัวพันธุ์มันฝรั่งหลังการนำเข้าในพื้นที่แปลงปลูก ยังไม่พบกลุ่มอาการของโรคในแปลงปลูกมันฝรั่ง ซึ่งข้อมูลการตรวจสอบศัตรูพืชดังกล่าวสามารถนำมาใช้เป็นข้อกำหนดปรับปรุงเงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากประเทศที่มีการอนุญาตนำเข้าแล้วและประเทศที่ยังต้องการเปิดตลาดนำเข้าใหม่ได้


**คำหลัก :** ไวรอยด์, มันฝรั่ง, PSTVd

## คำนำ

ไวรอยด์ *Potato spindle viroid* (PSTVd) สาเหตุโรคในมันฝรั่งทำให้หัวมันฝรั่งรูปร่างผิดปกติ ขนาดเล็กผลผลิตลดลง มีองค์ประกอบเป็นอาร์เอ็นเอสายเดี่ยว (ssRNA) ไม่มีโปรตีนห่อหุ้มเหมือนกับไวรัสสาเหตุโรคพืช มีขนาดความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์ 359 เบส ซึ่งเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจนและในสภาพธรรมชาติอาร์เอ็นเอของไวรอยด์จะอยู่ในลักษณะโครงสร้างทุติยะภูมิคล้ายท่อนตรง (rod-like) เนื่องจากการเชื่อมเกาะกันด้วยพันธะโควาเลนของนิวคลีโอไทด์ใกล้เคียงกัน (stem-loop) ทำให้เกิดโครงสร้างที่แข็งแรงของอาร์เอ็นเอไวรอยด์ และเป็นไวรอยด์ชนิดแรกที่รายงานการก่อโรคในมันฝรั่ง จัดจำแนกในวงศ์ (Family) *Pospiviroidae* สกุล (Genus) *Pospiviroid* ไวรอยด์ชนิดนี้เข้าทำลายพืชได้หลายชนิด เช่น มันฝรั่ง มะเขือเทศ พริก ไม้ผลและไม้ดอกไม้ประดับ โดยเป็นโรคที่สำคัญสำหรับ มันฝรั่ง มะเขือเทศ และพริก จากการรายงานพบว่าอาการของโรคในไม้ผลและไม้ดอกไม้ประดับแสดงอาการเพียง

เล็กน้อยหรือไม่พบการแสดงอาการของโรค ซึ่งไวรอยด์สามารถถ่ายทอดโรคได้หลายทาง ได้แก่ วิธีกล เช่น การสัมผัส ติดไปกับอุปกรณ์ทางการเกษตร เมล็ดพันธุ์ หัวพันธุ์ แต่สำหรับเมล็ดพันธุ์มันฝรั่งยังไม่พบรายงานการถ่ายทอดของไวรอยด์ (EPPO, 2024)

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

## วิธีดำเนินการ

**อุปกรณ์**

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ วารสาร
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก มาร์กเกอร์ คัตเตอร์
3. วัสดุและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น สารเคมีต่าง ๆ สารละลายสกัดอาร์เอ็นเอ ไปเปรต ทิปบีกเกอร์ หลอดพลาสติกขนาด 1.5 - 2 มิลลิลิตร
4. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
5. เครื่อง Thermal cycler (PCR)
6. เครื่อง Gel electrophoresis
7. เครื่อง Gel Documentation UV-transilluminator
8. ตู้แช่แข็ง -20 หรือ -80 องศาเซลเซียส
9. โรงเรือนปลูกพืช กระถางปลูกพืช ดินปลูก ปุ๋ยเคมี

**วิธีการ**

1. สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับเชื้อไวรอยด์ *potato spindle tuber viroid* ที่มีรายงานการเข้าทำลายในหัวพันธุ์มันฝรั่งของประเทศคู่ค้าที่ประเทศไทยมีการนำเข้า รวมทั้งข้อมูลเทคนิควิธีการตรวจสอบเชื้อและมาตรการการป้องกันการเข้ามาของเชื้อนี้

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

3. การตรวจสอบเบื้องต้นโดยการตรวจสอบด้วยตาเปล่า บันทึกข้อมูลต่าง ๆ และบันทึกภาพ หากตรวจพบลักษณะอาการหัวผิดปกติหรือขนาดเล็กกว่าปกติ นำมาตรวจวินิจฉัยขั้นละเอียดด้วยเทคนิค PCR ต่อไป

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

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

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

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

4.4 ตัวอย่างที่ปรากฏแถบแบนของดีเอ็นเอเป้าหมายถือว่าให้ผลบวกกับการตรวจสอบทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมอีกครั้งเพื่อส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

4.5 วิเคราะห์และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของแต่ละตัวอย่าง โดยจัดการข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป DNASTAR และเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GenBank

5. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงของบริษัทที่นำเข้าในจังหวัดตาก

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

**เวลาและสถานที่**

| | |
|---|---|
| เวลา | ปีเริ่มต้นตุลาคม 2565 สิ้นสุด กันยายน 2567 |
| สถานที่ | ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช แปลงปลูก หัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าของบริษัทเอกชนหรือเกษตรกรใน อำเภอพบพระ จังหวัดตาก |

**ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง**

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

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

**เชื้อไวรอยด์** Family : *Pospiviroidae* Genus : *Pospiviroid*

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

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

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

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

**พืชอาศัย**

พืชอาศัยหลักได้แก่ มันฝรั่ง (*Solanum tuberosum*) และพืชสกุล Solanum ชนิดอื่น ๆ ที่สร้างหัวสะสมอาหาร และพืชในตระกูลพริกมะเขือเทศ (Solanaceae) หลายชนิดมีรายงานเป็นพืชอาศัยของเชื้อไวรอยด์ เช่น มะเขือเทศ (*Solanum lycopersicum*) พริก (*Capsicum* spp.) ไม้ผล ไม้ดอกไม้ประดับ และวัชพืช สำหรับการติดเชื้อในไม้ดอกไม้ประดับและวัชพืชพบการแสดงอาการเพียงเล็กน้อยหรือไม่พบแสดงอาการเป็นโรค เช่นเดียวกับพืชบางชนิดในพืชสกุลพริกมะเขือเทศจากการทดสอบปลูกเชื้อก็พบอาการเพียงเล็กน้อย และพืชที่มีผลกระทบจากเชื้อไวรอยด์ PSTVd ที่สำคัญคือยังคงเป็น มันฝรั่ง และมะเขือเทศ

ชนิดพืชอาศัยที่มีรายงานพบเชื้อไวรอยด์ PSTVd ได้แก่ *Atriplex semilunaris, Brugmansia hybrids, Brugmansia sanguinea, Brugmansia suaveolens, Calibrachoa* sp., *Capsicum annuum, Cestrum aurantiacum, Cestrum elegans, Cestrum endlicheri, Cestrum nocturnum,*

*Chenopodium eremaeum*, *Dahlia* sp., *Datura leichhardtii*, *Datura* sp., *Erigeron bonariensis*, *Hevea brasiliensis*, *Ipomoea batatas*, *Lycianthes rantonnetii*, *Lycium* sp., *Nicandra physalodes, Persea americana, Petunia sp., Physalis angulata, Physalis peruviana, Solanum anguivi, Solanum coagulans, Solanum dasyphyllum, Solanum laxum, Solanum lycopersicum, Solanum muricatum, Solanum nigrum, Solanum pseudocapsicum, Solanum sisymbriifolium, Solanum tuberosum, Streptoglossa sp., Streptosolen jamesonii*

**การแพร่กระจาย**

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

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

**แอฟริกา** : อียิปต์ กานา เคนยา ไนจีเรีย และยูกันดา

**เอเชีย** : อัฟกานิสถาน บังคลาเทศ จีน อินเดีย (หิมาจัลประเทศ, กรณาฏกะ, มหาราษฏระ) อิหร่าน อิสราเอลญี่ปุ่น คาซัคสถาน ปากีสถาน และเวียดนาม

**อเมริกาเหนือ** : เม็กซิโก

**อเมริกากลางและแคริบเบียน** : คอสตาริกา และสาธารณรัฐโดมินิกัน

**อเมริกาใต้** : เปรู และเวเนซุเอลา

**โอเชียเนีย** : ออสเตรเลีย (ควีนส์แลนด์ ออสเตรเลียใต้ วิกตอเรีย ออสเตรเลียตะวันตก)

**ลักษณะทางชีววิทยาเชื้อสาเหตุ**

เชื้อไวรอยด์ PSTVd ที่เข้าทำลายต้นมะเขือเทศสามารถถ่ายทอดได้ผ่านทางท่ออาหารพืชโฟลเอ็ม (phloem) จากการทดสอบการปลูกเชื้อที่ใบพืชสามารถถ่ายทอดเชื้อได้ไปทั่วทั้งต้นของพืช เช่นส่วนของใบใหม่หรือส่วนของผล และมีแนวโน้มกลไกในการถ่ายทอดของเชื้อคล้ายกับไวรัสพืช สำหรับต้นมันฝรั่งสามารถตรวจพบไวรอยด์ได้ทั่วทั้งต้น รวมทั้งส่วนหัวด้วย และพบว่าตำแหน่งของใบที่ต่างกัน มีความเข้มข้นของเชื้อที่ต่างกันเพียงเล็กน้อยเท่านั้น เช่นเดียวกันกับส่วนต่าง ๆ ของส่วนหัวมันฝรั่ง แต่สำหรับพริกยังไม่มีรายละเอียดเพิ่มเติมมากพอจากการตรวจสอบสามารถพบเชื้อ PSTVd ทั้งในส่วนใบและผลของ

พริก ซึ่งการติดเชื้อในระยะเริ่มแรกมักพบความเข้มข้นสูงสุดของเชื้อที่ส่วนใบยอด และระยะฟักตัวของเชื้อยังเป็นเรื่องยากในการศึกษาเนื่องจากขึ้นอยู่กับชนิดของไวรอยด์ ปริมาณของเชื้อ ชนิดพันธุ์และพันธุ์พืชอาศัย ตลอดจนสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะอุณหภูมิ โดยเชื้อ PSTVd สามารถถ่ายทอดได้โดยการสัมผัส แมลง ละอองเกสร (pollen) และเมล็ดพืช (seed)

**การถ่ายทอดของเชื้อ**

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

**การถ่ายทอดด้วยวิธีกล (Mechanical transmission)**

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

**การถ่ายทอดเชื้อด้วยละอองเกสรตัวผู้ และเมล็ดพันธุ์ (pollen and seeds)**

จากการศึกษาพบว่าเชื้อสามารถถ่ายทอดผ่านทางละอองเกสรตัวผู้ (pollen) และ เมล็ดพันธุ์ของมันฝรั่งได้ ทั้งยังมีรายงานพบว่า PSTVd ถูกตรวจพบในเมล็ดพันธุ์พริก และมะเขือเทศ ซึ่งมีการรายงานอัตราการถ่ายทอดสู่เมล็ดพันธุ์ตั้งแต่ 0 ถึง 100 เปอร์เซนต์ จากพันธุ์พืชและสถานที่ที่แตกต่างกัน โดยข้อมูลการศึกษาได้จากการทอสอบระดับห้องปฏิบัติการ อย่างไรก็ตาม เนื่องจาก PSTVd สามารถถ่ายทอดได้ง่ายผ่านการสัมผัสและการปลิวของละอองเกษรจากต้นที่เป็นโรค แต่ก็เป็นที่ถกเถียงกันว่าอาจเกิดจากการปนเปื้อนระหว่างต้นในการเพาะปลูก การเก็บตัวอย่าง การปนเปื้อนระหว่างทดสอบ ดังนั้นข้อมูลการถ่ายทอดของเชื้อผ่านละอองเกสรตัวผู้จึงเป็นที่ถกเถียงกันในการระบาดของเชื้อ PSTVd

**การถ่ายทอดเชื้อด้วยแมลง (insects)**

บทบาทของแมลงในการถ่ายทอดเชื้อ PSTVd ในมันฝรั่งยังไม่พบข้อมูลที่ชัดเจน เดิมพบการรายงานว่าเพลี้ยอ่อนเป็นแมลงพาหะสามารถถ่ายทอดเชื้อได้ แต่ก็มีการศึกษาที่ให้ผลตรงกันข้ามกับการศึกษาก่อนหน้านี้อย่างไรก็ตาม มีรายงานการถ่ายทอดเชื้อ PSTVd โดยเพลี้ยอ่อนจากต้นมันฝรั่งที่ติด

เชื้อไวรัส potato leaf roll virus ได้ สำหรับในมะเขือเทศมีรายงานการการถ่ายทอดเชื้อ *Pospiviroids* โดยเพลี้ยอ่อน แต่ก็ยังไม่สามารถยืนยันได้สำหรับ PSTVd การผสมเกสรโดยผึ้งบัมเบิลบีมีความเกี่ยวข้องกับการถ่ายทอดเชื้อไวรอยด์ในมะเขือเทศที่ปลูกในสภาพโรงเรือนจากต้นที่เป็นโรคได้ แต่ไม่พบในเชื้อ PSTVd เนื่องจากปฏิสัมพันธ์ที่ไม่เฉพาะเจาะจงระหว่างผึ้งบัมเบิลบีกับไวรอยด์ จึงไม่สามารถถ่ายทอดโดยแมลงผสมเกสรได้

**ลักษณะอาการ**

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

**ลักษณะอาการโรคในมันฝรั่ง**

พืชที่ติดเชื้ออาจต้นแคระแกรน ใบอาจเล็กกว่า ตั้งตรงมากขึ้น มีสีเขียวเข้มกว่าปกติ และมีลักษณะขรุขระเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับพืชปกติ ส่วนหัวที่ติดเชื้ออาจมีขนาดเล็ก ยาวบิวเกลียว มีรูปทรงผิดรูปและแตกร้าว ส่วนตาใบของพืชอาจเด่นชัดมากขึ้นและมีส่วนที่ยื่นออกมาคล้ายปุ่มอาจพัฒนาเป็นหัวขนาดเล็ก

**ลักษณะอาการโรคในมะเขือเทศ**

ในระยะแรกของการติดเชื้อ พืชที่ติดเชื้อจะมีการเจริญเติบโตลดลงและมีคลอรีนบริเวณส่วนบนของพืช การเจริญเติบโตลดลงอาจรุนแรงมากขึ้น และใบที่มีสีซีดเปลี่ยนสีอาจเปลี่ยนเป็นสีแดงและ/หรือสีม่วงและเปราะบาง ในระยะนี้การออกดอกและติดผลจะชะงัก พืชอาจตายหรือฟื้นตัวได้บางส่วน

**ลักษณะอาการโรคในพริก**

โดยทั่วไปพืชที่ติดเชื้อจะไม่แสดงอาการหรือมีอาการเพียงเล็กน้อย เช่น ขอบใบปลายบิดเบี้ยว ในสถาพห้องทดลอง ออกดอกล่าช้าและส่วนของผลมีสีไม่สม่ำเสมอและมีรูปร่างผิดปกติ

**ลักษณะลักษณะสัณฐานวิทยา**

PSTVd ประกอบด้วยโมเลกุล RNA สายเดี่ยวที่เป็นวงกลมปิดด้วยโควาเลนต์ซึ่งมีนิวคลีโอไทด์ประมาณ 359 นิวคลีโอไทด์ (nt) เปล่าสร้างโครงสร้างคล้ายแท่งโดยการจับคู่ฐานภายใน

**การตรวจวินิจฉัย**

การติดเชื้อ PSTVd อาจตรวจพบได้ด้วยการตรวจในสภาพแปลงปลูกและสภาพปลูกในโรงเรือนเรือน ขึ้นอยู่กับปัจจัยสภาพแวดล้อม เช่น ชนิดของไวรอยด์ ชนิดพืชอาศัยและพันธุ์พืช และสภาพแวดล้อม

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

**การแพร่ระบาดของเชื้อ**

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

การแพร่ระบาดของไวรอยด์ได้อย่างกว้างขวางโดยส่วนขยายพันธุ์ของพืชและอุปกรณ์ทางการเกษตรที่มีการติดเชื้อ สำหรับการถ่ายทอดไวรอยด์ผ่านทางเมล็ดพันธุ์ของมันฝรั่ง ยังคงไม่มีข้อสนับสนุนมากเพียงพอที่จะสรุปได้ว่าสามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ด แม้ว่าปัจจุบันจะมีการซื้อขายเมล็ดพันธุ์มันฝรั่งเพื่อปลูกเพิ่มมากขึ้นก็ตาม แต่อย่างไรจำเป็นต้องมีการศึกษาข้อมูลเชิงลึกเพิ่มเติมเกี่ยวกับกลไกการเคลื่อนย้านของไวรอยด์ PSTVd ในเมล็ดพันุ์มันฝรั่ง แต่สำหรับมะเขือเทศและพริก มีรายงานการตรวจพบไวรอยด์ PSTVd ในเมล็ดพันธุ์นำเข้าเป็นจำนวนมาก อย่างไรก็ตาม มีรายงานการแพร่ของไวรอยด์ชนิดนี้ในจำนวนจำกัดเท่านั้น การปลูกเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริกไทยที่เพื่อจำหน่ายเชิงการค้ามีการตรวจพบเชื้อ PSTVd หรือไวรอยด์กลุ่ม *pospiviroid* แต่ไม่ส่งผลกระทบในต้นกล้าราว 100,000 ต้น และการศึกษาไวรอยด์ PSTVd พบว่าต้นกล้ามะเขือเทศ 1 ใน 370 ต้นจากล็อตเมล็ดมะเขือเทศที่ปนเปื้อน สำหรับไวรอยด์ tomato chlorotic dwarf viroid และรายงานว่าต้นกล้ามะเขือเทศ 2 - 20 ต้นจาก 2,500 ต้นที่พบเชื้อ ข้อเท็จจริงที่ว่าในปี 2016 มีการตรวจพบอาการจากไวรอยด์ในต้นมะเขือเทศที่มาจากเมล็ดที่มีการปนปเปื้อนของเชื้อไวรอยด์ ในปี 1992 อย่างน้อย 10 ปีก่อนที่จะมีการบังคับการตรวจสอบไวรอยด์ เป็นไปได้ว่า *Pospiviriod* ที่ปนปเปื้อนในเมล็ดพันธุ์ เดิมไม่ค่อยมีการบันทึกถึงความเสียหายและการ

ระบาด จึงสรุปว่าการแพร่ระบาดของเชื้อในมะเขือเทศมาจากการปนปื้อนไวรอยด์ในเมล็ดพันธุ์ สำหรับพริกยังไม่มีหรือพบการระบาดมากนัก ดังนั้นการแพร่ระบาดของ PSTVd จึงอาจถูกประเมินสูงเกินไปในอดีต สำหรับการแพร่กระจายของ PSTVd ในพื้นที่ปลูกนั้น ๆ และการถ่ายทอดด้วยวิธีกลจึงเป็นวิธีการถ่ายทอดที่ดีที่สุด รวมถึงกิจกรรมของมนุษย์ เช่น ถ่ายทอดผ่านอุปกรณ์และเครื่องจักรที่ใช้ในระหว่างการเพาะปลูก ตัวอย่างเช่น การระบาดหลายครั้งในมะเขือเทศอาจเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อในไม้ประดับไม้ประดับ จากข้อมูลการวิเคราะห์สายวิวัฒนาการของไวรอยด์ที่แยกได้ในพืชเหล่านี้

**ผลกระทบทางเศรษฐกิจ**

ผลกระทบทางเศรษฐกิจจากไวรอยด์ PSTVd ทั้งผลกระทบทางตรงและทางอ้อม ผลกระทบโดยตรง ได้แก่ การสูญเสียผลผลิตและคุณภาพ ในขณะที่ผลกระทบทางอ้อมเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของราคาและผลกระทบต่อการค้าระหว่างประเทศ ได้ทำการประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจทั้งหมดโดยอาศัยการสร้างแบบจำลอง โดยคำนึงถึงความชุก การสูญเสียผลผลิต ข้อมูลภูมิอากาศ (อุณหภูมิ) รวมถึงราคาและการเปลี่ยนแปลงทางการค้า การประเมินผลกระทบนี้แสดงให้เห็นความแตกต่างอย่างมากขึ้นอยู่กับอุบัติการณ์โดยประมาณของไวรอยด์ และยากต่อการหาปริมาณ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเนื่องจากความไม่แน่นอนเกี่ยวกับความเป็นไปได้ของการแพร่กระจายและการแพร่กระจายต่อไปในพืชและภูมิภาค อย่างไรก็ตาม สรุปได้ว่าผลกระทบโดยตรงรวมกับการสูญเสียการส่งออกมันฝรั่งและมะเขือเทศ ทำให้เกิดต้นทุนของมาตรการสุขอนามัยพืชในปัจจุบันในสหภาพยุโรป ในช่วงศตวรรษที่ผ่านมา มีรายงานการสูญเสียผลผลิตอย่างมีนัยสำคัญเนื่องจากการติดเชื้อ PSTVd ในมันฝรั่ง ปัจจุบันซึ่งรวมถึงมาตรการสุขอนามัยพืชที่ครอบคลุม ในทำนองเดียวกัน PSTVd อาจทำให้เกิดการติดเชื้อร้ายแรงในมะเขือเทศเป็นครั้งคราว สำหรับไม้ผลมีผลกระทบต่ำมีการรายงานตรวจพบน้อย แต่สำหรับพริกไม่มีรายงานอาการหรือมีอาการเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จากการทดลองพบว่าขนาดผลพริกจะลดลงและยังไม่มีข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับการระบาดและผลกระทบในพริก สำหรับไม้ผลอื่น ๆ ที่ไม่แสดงอาการ คาดว่าจะไม่ได้รับผลกระทบโดยตรง แต่การส่งออกพืชเหล่านี้และไม้ผลอื่น ๆ อาจได้รับผลกระทบ

**การป้องกันและควบคุม**

เนื่องจากยังไม่มีวิธีการทางเคมีหรือชีวภาพในการควบคุม PSTVd ภายในต้นพืชที่ติดเชื้อ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการป้องกันเพื่อหลีกเลี่ยงการติดเชื้อ PSTVd มาตรการกำจัดเป็นสิ่งจำเป็นในกรณีที่มีการระบาด

ควรมีขั้นตอนสุขอนามัยตลอดกระบวนการผลิตเพื่อป้องกันการติดเชื้อจากการปนเปื้อน มาตรการอาจเกี่ยวข้องกับการแยกพื้นที่ของพืช (โฮสต์) รวมถึงการใช้เครื่องมือที่สะอาด (ฆ่าเชื้อ) และชุดป้องกันโดยเจ้าหน้าที่ในระหว่างการจัดการการปลูกภายในแปลงปลูกพืช

**2. สุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากทุกประเทศตามมาตรฐาน ISPM 31 (Methodologies for sampling of consignments)** โดยทำการสุ่มตัวอย่างจากด่านตรวจพืชต่างๆ ที่มีการนำเข้า 600

หัวต่อครั้ง หัวพันธุ์มันฝรั่งที่มีการนำเข้าตั้งแต่ ปี 2565 ถึง 2567 มีการนำเข้าจาก 6 ประเทศ ได้แก่ 1) เครือรัฐออสเตรเลีย นำเข้าจำนวน 37 ครั้ง น้ำหนักรวม 2,574.325 ตัน 2) แคนาดา นำเข้าจำนวน 14 ครั้ง น้ำหนักรวม 2,808.000 ตัน 3) เนเธอร์แลนด์ นำเข้าจำนวน 4 ครั้ง น้ำหนักรวม 200 ตัน 4) สกอตแลนด์ นำเข้าจำนวน 42 ครั้ง น้ำหนักรวม 8,223.340 ตัน 5) นิวซีแลนด์ 5 ครั้ง น้ำหนักรวม 475 ตัน 6) สหรัฐอเมริกา นำเข้าจำนวน 3 ครั้ง น้ำหนักรวม 0.396 ตัน โดยทำการสุ่มหัวพันธุ์มันฝรั่งจำนวน 600 หัวต่อครั้ง เป็นจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 105 ตัวอย่าง สำหรับการตรวจสอบอาการของโรคที่เกิดจากไวรอยด์ในหัวพันธุ์มันฝรั่ง การตรวจสอบเบื้องต้นโดยการตรวจสอบด้วยตาเปล่า บันทึกข้อมูลต่าง ๆ และบันทึกภาพ หากตรวจพบลักษณะอาการคล้ายโรคที่เกิดจากไวรอยด์ในมันฝรั่งให้นำไปบ่มหัวพันธุ์เพื่อให้เกิดตาอ่อน (sprouted potato) ประมาณ 7-14 วัน และนำไปสกัดอาร์เอ็นเอเพื่อตรวจหาเชื้อสาเหตุต่อไป

**3. จากการติดตามและตรวจสอบโรคภายหลังการนำเข้าในแหล่งปลูก อำเภอพบพระ จังหวัดตาก ยังไม่พบลักษณะอาการที่เกิดจากไวรอยด์ในพื้นที่ปลูก**

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

4.1 การสกัดอาร์เอ็นเอจากตาอ่อนบนหัวมันฝรั่ง (sprouted potato) ด้วยสารละลายสกัด CTAB ตามวิธี Gambino และคณะ (2008) การสกัดดีเอ็นเอจากหัวพันธุ์มันฝรั่งบริเวณเนื้อเยื่อ vascular ring (ภาพที่ 1) ด้วยวิธี cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) โดยนำส่วนตาอ่อนบดให้ละเอียดและเติมสารละลาย CTAB 1 มิลลิลิตร (100 mM Tris, pH 8.0, 1.4 M NaCl, 50 mM EDTA, pH 8.0, 2% (w/v) CTAB, 1% (w/v) polyvinylpyrrolidone (PVP)-40 and 0.2 % (v/v) 2-mercaptoethanol) บดให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน และดูดสารละลายลงในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที แล้วจึงทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำไปปั่นเหวี่ยงตกตะตอนที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที่ นาน 10 นาที ดูดส่วนใสใสในหลอดใหม่ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย Chloroform: isoamyl (24:1) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากันด้วยการพลิกกลับหลอดไปมา และนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ดูดส่วนใสด้านบนใสในหลอดใหม่ แล้วเติมด้วยสาระลลาย isopropanal ที่แช่เย็นปริมาตร 1 เท่าของสารละลายส่วนใสและกลับหลอดไปมาให้สารละลายเข้ากันจะสังเกตเห็นการตกตะกอนของโมเลกุลดีเอ็นเอถ้าความเข้มข้นของโมเลกุลดีเอ็นเอสูง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนดีเอ็นเอที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที เทส่วนสารละลายใสทิ้งแล้วล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอทานอลเย็นจัดเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ สองครั้ง และนำตะกอนดีเอ็นเอไปตากไว้ที่อุณภูมิห้องจนสารละลายเอลกอฮอร์ระเหยจนแห้งสนิท จึงนำตะกอนดีเอ็นเอมาละลายด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 20 – 50 ไมโครลิตร เมื่อตะกอนดีเอ็น

เอละลายดีแล้วจึงนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ไม่เกิน 30 วัน ที่ -80 องศสเซลเซียส สามารถเก็บได้นานหลายปี เพื่อนำไปตรวจหาเชื้อไวรอยด์ *Potato spindle tuber* viroid ด้วยเทคนิค PCR ต่อไป

4.2 การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อไวรอยด์ *Potato spindle tuber viroid* ด้วยเทคนิค One-step RT-PCR ตามวิธีตรวจสอบของหน่วยงาน The Subcommittee on Plant Health Diagnostic Standards (SPHDS) ประเทศออสเตรเลีย National Diagnostic Protocol for Potato spindle tuber viroid, PSTVd. (2015) โดยใช้คู่ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงคือ TG21(F)1 5'-TGTGGTTCACACCTGACCTCC-3'CT20(R)1 5'-CTTCAGTTGTTTCCACCGGG-3' ให้ผลิตภัณฑ์ PCR 258 bp (Constable and Moran., 1996) และใช้ nad5 gene เป็น internal control nad5-R 5'-CTCCAGTCACCAACATTGGCATAA-3' (Figure 5) เนื่องจากเชื้อไวรอยด์ยังไม่ปรากฏพบในประเทศไทย จึงต้องสังเคราะห์สารพันธุกรรมจำลองเพื่อใช้เป็นสารพันธุกรรมต้นแบบสำหรับ positive control

4.2.1 เตรียมส่วนผสมของปฏิกิริยา ที่ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 25 ไมโครลิตร (µl) ดังนี้

| | | |
|---|---|---|
| น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ | 10.0 | µl |
| 2X Reaction Mix | 12.5 | µl |
| 10 µM TG21(F) | 1.0 | µl |
| 10 µM CT20(R) | 1.0 | µl |
| SuperScript™ III RT/Platinum™ Taq Mix | 0.5 | µl |
| Total RNA | 1.0 | µl |

4.2.2 นำตัวอย่างทั้งหมดเข้าเครื่อง thermal cycler (PCR) โดยตั้งโปรแกรมการทำงาน ดังนี้

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 48 °C | นาน | 45 | นาที | 1 รอบ |
| 94 °C | นาน | 2 | นาที | |
| 94 °C | นาน | 30 | วินาที | 35 รอบ |
| 55 °C | นาน | 30 | วินาที | |
| 68 °C | นาน | 1 | นาที | |
| 68 °C | นาน | 5 | นาที | 1 รอบ |
| 20 °C | นาน | 10 | นาที | 1 รอบ |

4.2.3 ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอ (PCR product) ด้วยเทคนิค gel electrophoresis เตรียมสารละลายเจล 2 เปอร์เซนต์อะกาโรสเจล (gel agarose) ในสารละลาย 0.5x TBE buffer หลอมละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นเติมสารย้อมสีดีเอ็นเอ (RedSafe™ Nucleic Acid Staining Solution) และเทเจลลงในถาดเจลตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 45 นาทีเพื่อให้เจลแข็งตัว จากนั้น ดูดสารละลาย PCR product ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมกับ 6X loading dye ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ใส่ลงไปในแต่ละหลุม (well)

และใส่ดีเอ็นมาตรฐาน ปริมาตร 3 ไมโครลิตร หลังจากนั้นให้กระแสไฟฟ้าที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 40-50 นาที เมื่อครบเวลานำแผ่นเจลไปตรวจดูแถบแบนดีเอ็นเอภายใต้แสง UV ด้วยเครื่อง Gel document พร้อมทั้งบันทึกภาพ

4.2.4 หากตรวจพบตัวอย่างที่ปรากฏแถบแบนของดีเอ็นเอเป้าหมายถือว่าให้ผลบวกกับการตรวจสอบ จึงทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมอีกครั้งเพื่อส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และนำผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ไปเปรียบเทียบกับข้อมูลในฐานข้อมูลของ GenBank

5. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงของบริษัทที่นำเข้าในอำเภอพบพระ จังหวัดตาก ผลการติดตามในแปลงปลูกยังไม่พบลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากไวรอยด์

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

### สรุปผลการทดลอง

1. การสืบค้นข้อมูล โครงสร้างของสารพันธุกรรมเป็นโมเลกุลของ RNA ลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 359 bp เชื่อมต่อกันคล้ายท่อนตรง เมื่อนำไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่เรียกว่าไวรอยด์ ซึ่งเชื้อ PSTVd จัดอยู่ในสกุล (Genus) ไวรอยด์ Pospiviroid ภายใต้วงศ์ (Family) Pospiviroidae พืชอาศัยหลักได้แก่ มันฝรั่ง (Solanum tuberosum) และพืชสกุล Solanum ชนิดอื่น ๆ ไวรอยด์จะสามารถถ่ายทอดไปกับส่วนหัวใต้ดิน กิ่งชำ กิ่งตอน ต้นกล้า วิธีการขยายพันธุ์พืชเป็นสาเหตุสำคัญของการแพร่กระจายของ PSTVd ในมันฝรั่งและไม้ประดับที่นำไปขยายพันธุ์ต่อ แต่ยังไม่พบการรายงานแน่ชัดสำหรับการถ่ายทอดผ่านเมล็ดพันธุ์ของมันฝรั่ง

2. การสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจาก 6 ประเทศ ได้แก่ สกอตแลนด์ แคนาดา ออสเตรเลีย เนเธอร์แลนด์ นิวซีแลนด์ และสหรัฐอเมริกา รวมทั้งหมด 105 ครั้ง โดยการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์ดำเนินการตามมาตรฐาน ISPM No. 31โดยสุ่ม 600 หัวต่อครั้ง

3. การตรวจลักษณะอาการผิดปกติของหัวพันธุ์ ตัวอย่างจากทุกประเทศที่นำเข้าไม่พบลักษณะอาการบิดเบี้ยวหรือขนาดผิดปกติ

4. การตรวจหาเชื้อไวรอยด์ *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) การสกัดอาร์เอ็น (RNA) จากตาอ่อนของหัวพันธุ์มันฝรั่ง (sprouted potato) ด้วยวิธีการ CTAB method และตรวจสอบด้วยเทคนิค One-step RT-PCR ร่วมกับไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจง TG21(F)1 และ CT20(R) ให้ขนาด PCR product 258 bp ควรเจือจางความเข้มข้นของตัวอย่างอาร์เอ็นเอที่สกัดได้ก่อนนำมาตรวจสอบที่ระดับความเข้มข้น 1: 10 หรือ 1: 100 เท่าตรวจสอบด้วยเจลอิเล็กโตรโฟรีซีสพบว่า ตัวอย่าง RNA ทั้งหมด 105 ตัวอย่าง ไม่พบสารพันธุกรรมของเชื้อไวรอยด์ PSTVd ทวนสอบความถูกต้องของกระบวนการตรวจสอบด้วย RNA

จำลองที่สังเคราะห์ (positive control) พบว่าเทคนิค One-step RT-PCR มีความน่าเชื่อถือ ถูกต้อง แม่นยำเหมาะสมในการตรวจสอบเชื้อไวรอยด์ PSTVd ในหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า (Figure 6)

5. การติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้าในแปลงปลูก ณ อำเภอพบพระ จังหวัดตาก ไม่พบลักษณะอาการคล้ายโรคที่เกิดจาก PSTVd เช่น ใบลดรูป ต้นแคระแกร็น สีเขียวเข้มหรือเนื้อเยื่อตายร่วมด้วย

**คำแนะนำ**

1. การดำเนินงานเพิ่มเติมเพื่อความปลอดภัยทางการเกษตร

- เฝ้าระวังอย่างต่อเนื่องควรมีการสุ่มตรวจในแปลงปลูกเป็นระยะ เพื่อยืนยันว่าไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อ PSTVd

- ควบคุมการนำเข้าดำเนินการสุ่มตัวอย่างและตรวจหาเชื้อทุกครั้งตามมาตรฐาน ISPM No. 31

2. การพัฒนาขีดความสามารถการตรวจวินิจฉัย

- พัฒนาเทคนิคที่มีความไวมากขึ้น เช่น Real-time RT-PCR เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจสอบเชื้อในปริมาณต่ำ

3. การให้ความรู้แก่เกษตรกร

- เผยแพร่ข้อมูลเกี่ยวกับโรคที่เกิดจากไวรอยด์ PSTVd และอาการที่ควรสังเกต เพื่อให้เกษตรกรสามารถแจ้งเตือนและป้องกันการแพร่ระบาดได้ตั้งแต่ระยะแรก

การวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าเทคนิค One-step RT-PCR สามารถใช้เป็นมาตรฐานในการตรวจหาเชื้อ PSTVd ได้อย่างมีประสิทธิภาพในประเทศไทย และช่วยลดความเสี่ยงจากการระบาดของศัตรูพืชในอนาคต.

**คำขอบคุณ**

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชลาดกระบังและด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่อำนวยความสะดวกในการสุ่มตรวจตัวอย่างในเบื้องต้นและนำส่งตัวอย่างมายังห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักพืชและอนุเคราะห์ให้ข้อมูลการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งเสมอมา และขอขอบคุณผู้ร่วมงานวิจัยทุกท่านที่อนุเคราะห์อุปกรณ์ สถานที่และให้คำปรึกษาข้อมูลด้านศัตรูพืชและวิธีการตรวจสอบได้จนสำเร็จครบตามวัตถุประสงค์ของโครงการ

**เอกสารอ้างอิง**

กรมวิชาการเกษตร. 2552ก. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากนิวซีแลนด์ พ.ศ. 2558 ประกาศ ณ วันที่ 9 กรกฎาคม 2552 ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 126 ตอนพิเศษ 110 ง. ลงวันที่ 6 สิงหาคม 2552. หน้า 19

กรมวิชาการเกษตร. 2552ข. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากราชอาณาจักรเนเธอร์แลนด์ พ.ศ. 2552 ประกาศ ณ วันที่ 13 พฤศจิกายน 2552 ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 126 ตอนพิเศษ 182 ง. ลงวันที่ 21 ธันวาคม 2552. หน้า 68.

กรมวิชาการเกษตร. 2552ค. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสกอตแลนด์ พ.ศ. 2552 ประกาศ ณ วันที่ 9 กรกฎาคม 2552 ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 126 ตอนพิเศษ 110 ง. ลงวันที่ 6 สิงหาคม 2552. หน้า 33.

กรมวิชาการเกษตร. 2552ง. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสหรัฐอเมริกา พ.ศ. 2552 ประกาศ ณ วันที่ 13 ตุลาคม 2552 ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 126 ตอนพิเศษ 170 ง. ลงวันที่ 23 พฤศจิกายน 2552. หน้า 55-56.

กรมวิชาการเกษตร. 2552จ. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากเครือรัฐออสเตรเลีย พ.ศ. 2552 ประกาศ ณ วันที่ 15 กรกฎาคม 2552 ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 126 ตอนพิเศษ 114 ง. ลงวันที่ 14 สิงหาคม 2552. หน้า 56.

กรมวิชาการเกษตร. 2552ฉ. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากรัฐอิสราเอล พ.ศ. 2552 ประกาศ ณ วันที่ 9 กรกฎาคม 2552 ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 126 ตอนพิเศษ 110 ง. ลงวันที่ 6 สิงหาคม 2552. หน้า 54.

กรมวิชาการเกษตร. 2559. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากแคนาดา พ.ศ. 2559 ประกาศ ณ วันที่ 28 กันยายน 2559 ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 133 ตอนพิเศษ 221 ง. ลงวันที่ 30 กันยายน 2559. หน้า 32-33.

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

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

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

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

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

**Table 1** Quantity and value of seed potatoes imports from Thailand during 2022 – 2024

| importing country | Year 2022 | | Year 2023 | | Year 2024 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Quantity (Ton) | Value (Million Bath ) | Quantity (Ton) | Value (Million Bath ) | Quantity (Ton) | Value (Million Bath ) |
| Australia | 1,650 | 54.92 | 749.92 | 24.70 | 175 | 6.74 |
| Canada | 729 | 18.51 | 1,107 | 32.18 | 972 | 33.40 |
| Netherlands | 125 | 3.84 | 75 | 2.50 | 0 | 0.00 |
| Scotland | 5,012 | 165.42 | 2,899.84 | 90.39 | 311.75 | 10.19 |
| New Zealand | 25 | 0.96 | 150 | 5.81 | 300 | 12.30 |
| United States of America | 0.376 | 0.34 | 0.02 | 0.14 | 0 | 0.00 |
| **Total** | **7,541.12** | **244.00** | **4,981.18** | **155.71** | **1,758.75** | **62.63** |

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

| Countries that allow the import of seed potato | Status of *potato spindle tuber viroid* (PSTVd) | Reported |
|---|---|---|
| Australia | Present | New South Wales : Absent, pest eradicated<br>Northern Territory : Absent, pest eradicated<br>Queensland : Present, few occurrences<br>South Australia : Present, few occurrences<br>Victoria : Present, few occurrences<br>Western Australia : Present, restricted distribution |
| Canada | Absent | Alberta : Absent, pest no longer present<br>British Columbia : Absent, pest no longer present<br>New Brunswick : Absent, pest eradicated<br>Ontario : Absent, unreliable record<br>Prince Edward Island : Absent, pest eradicated<br>Québec : Absent, unreliable record |
| Netherlands | Present | Present, few occurrences |
| Scotland | Absent | Absent, intercepted only |
| New Zealand | Absent | Absent, pest no longer present |

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

| Countries that allow the import of seed potato | Status of *potato spindle tuber viroid* (PSTVd) | Reported |
|---|---|---|
| **United States of America** | Absent | Alaska : Absent, pest eradicated<br>California : Absent, pest eradicated<br>Colorado : Absent, pest eradicated<br>Idaho : Absent, pest eradicated<br>Kansas : Absent, invalid record<br>Maine : Absent, pest eradicated<br>Maryland : Absent, invalid record<br>Michigan : Absent, pest eradicated<br>Minnesota : Absent, pest eradicated<br>Mississippi : Absent, pest eradicated<br>Montana : Absent, pest eradicated<br>Nebraska : Absent, pest eradicated<br>New Hampshire : Absent, pest eradicated<br>New York : Absent, pest eradicated<br>North Carolina : Absent, pest eradicated<br>North Dakota : Absent, pest eradicated<br>Ohio : Absent, pest eradicated<br>Oregon : Absent, pest eradicated<br>Washington : Absent, pest eradicated<br>Wisconsin : Absent, pest eradicated<br>Wyoming : Absent, pest eradicated |
| **Israel** | **Present** | **Present, no details** |

**Table 3** Detected of *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) of imported seed potatoes during 2022 to 2024

| Country | Quantity of sample | Quantity (Ton) | PSTVd | Other Pest | Frequency |
|---|---|---|---|---|---|
| Australia | 37 | 2,574.325 | Not | Not | 0 |
| Canada | 14 | 2,808.000 | Not | Not | 0 |
| Netherlands | 4 | 200.000 | Not | Not | 0 |
| Scotland | 42 | 8,223.340 | Not | Not | 0 |
| New Zealand | 5 | 475.000 | Not | Not | 0 |
| United States of America | 3 | 0.396 | Not | Not | 0 |
| **Total** | **105** | **14,281.061** | | | |

Not=Not found

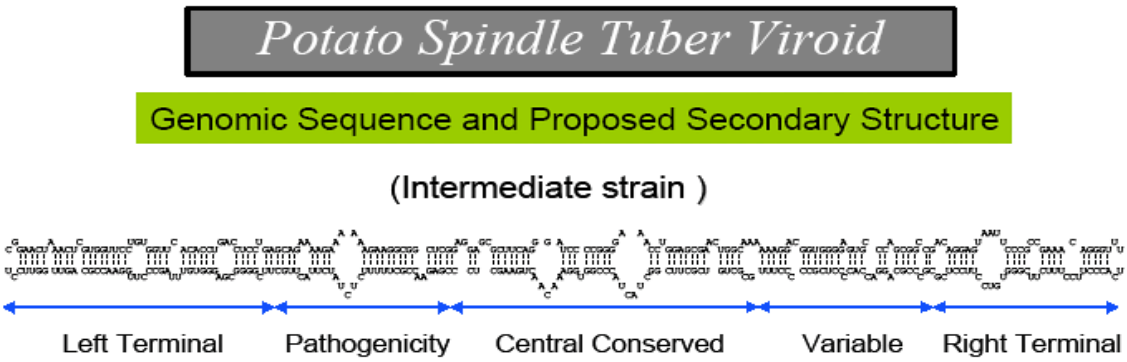



**Figure 1** Secondary structure ssRNA of *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd)
Hammond, R. W. and Owens, R. A (2006)

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

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

**Figure 4** Extraction RNA of viroid from the sprouted potato

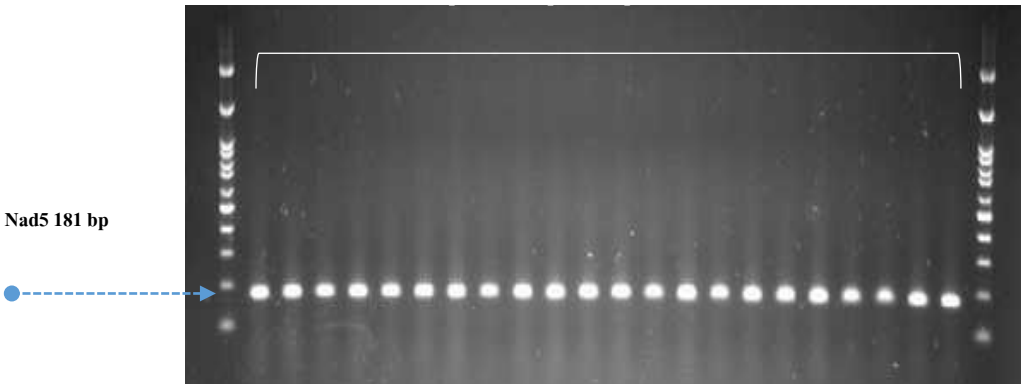



**Figure 5** Internal control using the nad5 gene to assess RNA quality

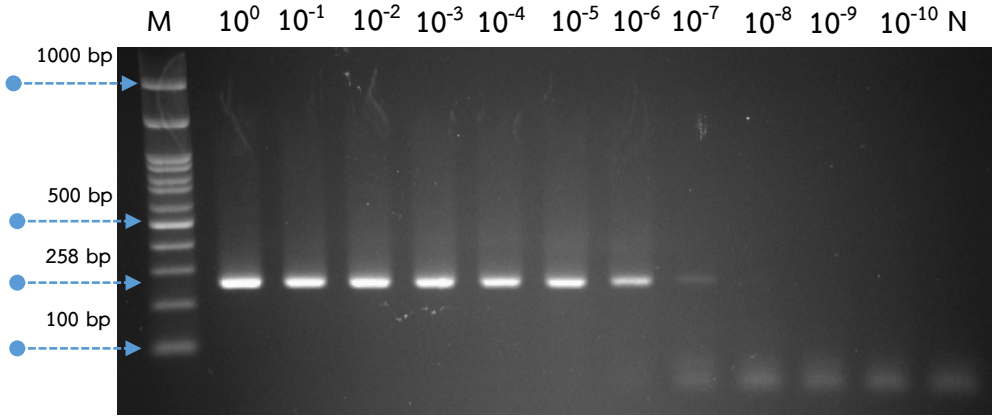



**Figure 6** Gel electrophoresis on 2% agarose using one-step RT-PCR for PSTVd detection with primersTG21(F)1 and CT20(R)1. A 258 bp PCR product was successfully obtained from the positive control RNA (synthesized at 5 ng/µl) with various RNA dilutions. Lane M = DNA Marker 100 bp Lane $10^{0}$-$10^{-10}$ = RNA dilution and Lane N = negative control ($dH_2O$)

# การตรวจและศึกษาชนิดเมล็ดวัชพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์แครอทนำเข้า

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

**จันทร์พิศ เดชหามาตย์[1/] โสภา มีอำนาจ[1/] วันเพ็ญ ศรีชาติ[2/]**
**สุรศักดิ์ แสนโคตร[1/] วานิช คำพานิช[1/] พรรณิภา เปชัยศรี[1/]**
**[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
**[2/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2**

### Abstract

Thailand imports a large quantity of seeds each year, and the importation of seeds is one of the pathway through which plant pests can be unintentionally brought along with the seeds. Therefore, studying the species of weed seeds that are contaminated with imported seeds will identify the specie of weeds that may be introduced. In the 2023-2024, carrot seeds were randomly sampled from many countries. It was found that a total of fourty consignments of carrot seeds were imported, amounting to 29,051.028 kilograms. The initial inspection of weeds through visual inspection and further diagnostic inspecting in the laboratory to identify the weed seed species revealed the following weed seeds contaminated with carrot seeds. Species of *Amaranthus retroflexus, Cuscuta chinensis, Echinochloa colona, Medicago sativa,* and *Ipomoea purpurea* found from the People's Republic of China. *Lolium rigidum* and *Solanum ptychanthum* found from Italy. *Lolium rigidum* from New Zealand and from and *Panicum miliaceum*, *Lolium perenne*, and *Echinochloa colona* from the United States. A germination test of the detected weed seeds was conducted by planting them in sand, and it was found that the seeds were able to germinate. The weeds *Amaranthus retroflexus*, *Medicago sativa*, *Lolium rigidum*, *Panicum miliaceum*, *Lolium perenne,* and *Solanum ptychanthum* have not been reported in Thailand and will be used as data for pest risk analysis to determine phytosanitary measures for the importation of carrot seeds to prevent quarantine pests or potential weed pests from spreading in the country.

**Keywords :** Carrot, Weed seed, Import, Quarantine plant

รหัสการทดลอง FF65-55-03- 65-00-07-66

## บทคัดย่อ

ประเทศไทยนำเข้าเมล็ดพันธุ์ในแต่ละปีปริมาณมากซึ่งการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เป็นช่องทางหนึ่งที่ศัตรูพืชจะติดปนมากับเมล็ดพันธุ์ ดังนั้นการศึกษาชนิดเมล็ดวัชพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์นำเข้าจะทำให้ทราบชนิดของวัชพืชที่ติดปนมากับเมล็ดพันธุ์ โดยในปี 2566-2567 ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แครอทนำเข้าจากต่างประเทศ พบว่ามีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์แครอทจำนวนทั้งสิ้น 40 ครั้ง (consignment) ปริมาณทั้งสิ้น 29,051.028 กิโลกรัม ผลการตรวจสอบวัชพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่า (visual inspection) และตรวจวินิจฉัยขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการเพื่อจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืช พบเมล็ดวัชพืชปนมากับเมล็ดพันธุ์แครอทจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ได้แก่ *Amaranthus retroflexus Cuscuta chinensis Echinochloa colona Medicago sativa* และ *Ipomoea purpurea* สาธารณรัฐอิตาลี ได้แก่ *Lolium rigidum* และ *Solanum ptychanthum* ประเทศนิวซีแลนด์ ได้แก่ *Lolium rigidum* และสหรัฐอเมริกา ได้แก่ *Panicum miliaceum Lolium perenne* และ *Echinochloa colona* ทำการทดสอบความงอกของเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบโดยการเพาะในทราย พบว่าเมล็ดวัชพืชสามารถงอกได้ ซึ่งวัชพืช *Amaranthus retroflexus Medicago sativa Lolium rigidum Panicum miliaceum Lolium perenne* และ *Solanum ptychanthum* ไม่มีรายงานการพบในประเทศไทยและจะใช้เป็นข้อมูลประกอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์แครอท ป้องกันมิให้ศัตรูพืชกักกันหรือวัชพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศ


**คำหลัก :** แครอท, เมล็ดวัชพืช, นำเข้า, ศัตรูพืชกักกัน

## คำนำ

แครอท (*Daucus carota* L.) จัดเป็นสิ่งกำกัด ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนด เป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 ซึ่งกำหนดให้ส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชในวงศ์ผักชี ในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ต้องแจ้งการนำเข้า และมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาโดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยพืชกำหนดไว้แต่อย่างใด จึงมีความเสี่ยงสูงที่จะมีศัตรูพืชติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศได้ ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ผักเพื่อการส่งออกที่สำคัญ ซึ่งทำรายได้แก่เกษตรกรจำนวนมาก ในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์แครอทจากแหล่งต่างๆเพื่อใช้ในการเพาะปลูก บริโภค และการผลิตเมล็ดพันธุ์ส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ เมล็ดพันธุ์แครอทเป็นพาหะของวัชพืชร้ายแรงหลายชนิดที่ยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทย เช่น วัชพืช *Circium arvense*, *Cuscuta campestris*, *Lolium temulentum*, *Orobanche aegyptiaca*, *Orobanche crenata*, *Orobanche ramosa*, *Parthenium histerophorus*, *Polygonum aviculare*, *Polygonum convolvulus*, *Raphanus raphanistrum*, *Senicio vulgaris* และ *Thlaspi arvense* (CABI, 2024) จึงมีความเสี่ยงที่วัชพืช

เหล่านี้จะติดเข้ามาและสามารถแพร่กระจายในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย ซึ่งจะก่อให้เกิดผลกระทบต่อการเกษตรในประเทศและการส่งออกเมล็ดพันธุ์ไปยังต่างประเทศ ดังนั้นการศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้าเพื่อให้ทราบชนิดของศัตรูพืช แหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวสามารถใช้เป็นฐานข้อมูล สำหรับอ้างอิงทางวิชาการ เพื่อกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสมรัดกุม และป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศ

## วิธีดำเนินการ

**อุปกรณ์**

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

**วิธีการ**

1. สืบค้นข้อมูลวัชพืชเป้าหมาย เช่น ชีววิทยา ลักษณะเมล็ดวัชพืช วิธีการตรวจศัตรูพืชในเมล็ดพันธุ์ และวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์

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

2.1 การสุ่มตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในกระสอบ หรือภาชนะอื่นๆ ที่มีขนาดบรรจุของภาชนะแต่ละใบเท่าๆกัน โดยมีน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์จำนวน 15 กิโลกรัม ถึง 100 กิโลกรัม

2.1.1 เมล็ดพันธุ์จำนวน – 1 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 3 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.2 เมล็ดพันธุ์จำนวน 5 – 8 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 2 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.3 เมล็ดพันธุ์จำนวน 9 – 15 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 1 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.4 เมล็ดพันธุ์จำนวน 16 – 30 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 15 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.5 เมล็ดพันธุ์จำนวน 31 – 59 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 20 ตัวอย่าง ขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.6 เมล็ดพันธุ์จำนวนตั้งแต่ 60 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 30 ตัวอย่าง จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

3. ตรวจสอบวัชพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบเมล็ดพันธุ์แครอทนำเข้าด้วยตาเปล่า (visual inspection) ตรวจสอบหาเมล็ดวัชพืชที่ปนมากับเมล็ดพันธุ์ แล้วนำเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบนำไปตรวจสอบจำแนกชนิดขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4. การตรวจวัชพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

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

4.2 เปรียบเทียบลักษณะเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบกับตัวอย่างเมล็ดวัชพืชในพิพิธภัณฑ์และใช้คู่มือจำแนกชนิดวัชพืชที่เป็นเอกสารและเวบไซต์ที่เชื่อถือได้

5. การทดสอบความงอกของเมล็ดวัชพืช

5.1 วิธีการเพาะในกระดาษเพาะ ตัดกระดาษเพาะขนาดเท่าจานเพาะเชื้อสองชิ้น วางลงในจานให้สนิท ค่อยๆหยอดน้ำลงบนกระดาษให้เปียกทั่วถึง แต่ไม่แฉะ (ให้เอียงจานเล็กน้อยหยอดน้ำจากด้านบนลงมา เมื่อน้ำเริ่มสะสมที่มุมจานด้านล่าง แสดงว่าความชื้นพอดี) และวางเมล็ดบนและสัมผัสกระดาษเพาะให้มากที่สุด โดยกระจายให้ทั่วกระดาษอาจปิดหรือเปิดฝาจานเพื่อช่วยรักษาหรือลดความชื้น แล้ววางจานในที่อุณหภูมิห้อง

5.2 วิธีเพาะในทราย ใส่ทรายที่เตรียมไว้ (ทรายละเอียด สม่ำเสมอ และสะอาด) ในกล่องพลาสติกให้แน่นพอสมควร โดยใช้แผ่นไม้ปาดผิวทรายให้ได้ระดับสม่ำเสมอ ค่อยๆ รดน้ำในกล่องทรายให้ทั่วถึง คอยเอียงกล่องและดูที่มุมกล่อง หากมีน้ำเริ่มขังที่มุมล่าง แสดงว่ามีความชื้นพอดี วางเมล็ดลงบนทรายไว้ที่อุณหภูมิห้อง (กิตติ, 2559)

6. รวบรวมและจัดทำข้อมูลวัชพืชที่ตรวจพบและสรุปผลการ

1. ข้อมูลการตรวจพบและไม่พบวัชพืช ชนิดเมล็ดวัชพืช จำนวนครั้ง ปริมาณ และประเทศผู้ส่งออกเมล็ดพันธุ์แครอท

2. บันทึกภาพลักษณะของเมล็ดวัชพืช และเก็บตัวอย่างเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

**เวลาและสถานที่**

เวลา ระยะเวลาโครงการ 2 ปี 0 เดือน

วันที่เริ่มต้น 1 ตุลาคม 2565 วันที่สิ้นสุด 30 กันยายน 2567

สถานที่ ห้องปฏิบัติการอาคารศูนย์ตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชกักกัน กลุ่มงานวินิจฉัยศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. การสืบค้นข้อมูลวัชพืชเป้าหมาย**

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

**2. การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์และการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น**

ทำการสุ่มตัวอย่างจากด่านตรวจพืช เมล็ดพันธุ์ที่สุ่มมาบรรจุมาในบรรจุภัณฑ์สะอาด เมล็ดมีความสมบูรณ์ มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์แครอทจำนวน 40 ครั้ง จากประเทศนิวซีแลนด์ 2 ครั้ง อิตาลี 7 ครั้ง ญี่ปุ่น 4 ครั้ง สหรัฐอเมริกา 5 ครั้ง ออสเตรเลีย 3 ครั้ง แอฟริกาใต้ 5 ครั้ง ชิลี 6 ครั้ง อาร์เจนตินา 3 ครั้ง บราซิล 1 ครั้ง บราซิล 2 ครั้ง อินเดีย 1 ครั้ง ไทย 1 ครั้ง และสาธารณรัฐประชาชนจีน 1 ครั้ง ทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ลาดกระบัง ไปรษณีย์ และท่าอากาศยานเชียงใหม่ ปริมาณทั้งสิ้น 19,785.718 กิโลกรัม ผลการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นพบการปนของเมล็ดวัชพืช 3 ครั้ง โดยตรวจพบการปนจากประเทศนิวซีแลนด์ 1 ครั้ง อิตาลี 1 ครั้ง สหรัฐอเมริกา 1 ครั้ง และสาธารณรัฐประชาชนจีน 1 ครั้ง (Table 1 และ Figure 1)

**3. การตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ**

ทำการจัดจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชภายใต้กล้องกำลังขยายต่ำ (stereo microscope) ที่ตรวจพบปนมากับตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากประเทศนิวซีแลนด์ พบเมล็ดวัชพืช 1 ชนิด คือ *Lolium rigidum* ตัวอย่างจากสาธารณรัฐประชาชนจีนพบเมล็ดวัชพืช 5 ชนิด คือ *Amaranthus retroflexus*, *Cuscuta chinensis*., *Echinochloa* sp., *Ipomea purpurea* และ *Medicago sativa* ตัวอย่างจากประเทศอิตาลี พบเมล็ดวัชพืช 2 ชนิด คือ *Lolium rigidum* และ *Solanum ptychanthum* และสหรัฐอเมริกาพบเมล็ดวัชพืช 3 ชนิด ได้แก่ *Lolium perenne Panicum miliaceum* และ *Echinochloa colona* (Table 2) (Figure 2, Figure 3, Figure 4, Figure 5)

จากการสืบค้นข้อมูลวัชพืช พบว่าเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบจำนวน 5 ชนิด ไม่มีรายงานพบในประเทศไทย คือ *Lolium rigidum*, *Lolium perenne*, *Amaranthus retroflexus, Medicago sativa* และ *Solanum ptychanthum* (EPPO, 2024)

**4. การทดสอบความงอกของเมล็ดวัชพืช**

**การทดสอบความงอกของเมล็ดวัชพืช** ทำการทดสอบความงอกของเมล็ดวัชพืช *Lolium rigidum*, *Panicum miliaceum* และ *E. colona* ด้วยวิธีการเพาะในทรายในห้องปฏิบัติการ พบว่าเมล็ดวัชพืชทั้งสองชนิดสามารถงอกได้ ซึ่งแสดงว่าเมล็ดวัชพืชดังกล่าวยังมีชีวิต

**สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ**

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

2. การสุ่มตัวอย่างและตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์แครอทนำเข้าจากต่างประเทศทั้งหมด 40 ครั้ง จากประเทศนิวซีแลนด์ อิตาลี ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย แอฟริกาใต้ ชิลี อาร์เจนตินา บราซิล บราซิล อินเดีย ไทย และสาธารณรัฐประชาชนจีน ทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ลาดกระบัง ไปรษณีย์ และท่าอากาศยานเชียงใหม่ ปริมาณทั้งสิ้น 19,785.718 กิโลกรัม พบการปนของเมล็ดวัชพืช 3 ครั้ง ประเทศนิวซีแลนด์ 1 ครั้ง ได้แก่ *Lolium rigidum* อิตาลี 1 ครั้ง ได้แก่ *Lolium rigidum* และ *Solanum ptychanthum* สหรัฐอเมริกา 1 ครั้ง ได้แก่ *Lolium perenne Panicum miliaceum* และ *Echinochloa colona* และสาธารณรัฐประชาชนจีน 1 ครั้ง ได้แก่ *A. retroflexus*, *M. sativa*, *L. rigidum, Medicago sativa* และ *S. ptychanthum*

จากการศึกษาครั้งนี้ พบศัตรูพืชที่มีความสำคัญด้านกักกันพืช 5 ชนิด ที่ไม่มีรายงานในประเทศไทย คือ เมล็ดวัชพืช *Lolium rigidum, Lolium perenne, Medicago sativa, Amaranthus retroflexus* และ *Solanum ptychanthum* จากการสืบค้นข้อมูล (CABI, 2022) วัชพืชดังกล่าวเป็นวัชพืชที่ยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทย ก่อนนำเมล็ดพันธุ์มาใช้ในการเพาะปลูกหรือเพื่อการค้าควรทำการคัดแยกเมล็ดวัชพืชกักกันออกจากเมล็ดพันธุ์ก่อน แล้วทำลายเมล็ดวัชพืชกักกันดังกล่าว และทำการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังป้องกันการแพร่ระบาดในแปลงปลูกของเกษตรกร ดังนั้น การนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศในแต่ละปีมีความเสี่ยงที่ศัตรูพืชกักกันและศัตรูพืชที่ศักยภาพเป็นศัตรูพืชร้ายแรงติดปนมากับเมล็ดพันธุ์ จะทำความเสียหายกับพืชปลูกและระบบการเกษตรในประเทศไทย ต้องทำการศึกษาข้อมูลเพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อกำหนดมาตรการในการป้องกันศัตรูพืชกักกันและศัตรูพืชชนิดใหม่ที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชร้ายแรงมิให้เข้ามาแพร่ระบาดในประเทศ และข้อมูลรายชื่อศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์แครอทนำเข้าจากต่างประเทศสามารถนำไปใช้

เป็นข้อมูลอ้างอิงทางวิชาการ และใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชและการกำหนดมาตรการด้านสุขอนามัยพืชต่อไป เพื่อป้องกันมิให้ศัตรูพืชต่างถิ่นที่เป็นศัตรูพืชกักกันหรือศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชร้ายแรงเข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายให้กับการเกษตรในประเทศ

**คำขอบคุณ**

ขอขอบคุณ นักวิชาการและเจ้าหน้าที่กลุ่มงานวินิจฉัยศัตรูพืชกักกันทุกท่าน ที่ช่วยให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในการทำงานวิจัย รวมทั้งขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่าง

**เอกสารอ้างอิง**

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2550 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 124 ง. ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550.

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

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

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

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

**Table 1** The importation of carrot seeds (October 2023 – September 2024)

| No. | Country | Importation (time) | Quantity (kgs.) | Plant Quarantine Station |
|---|---|---|---|---|
| 1 | Japan | 4 | 481.500 | Bangkok port, Chiang Mai airport |
| 2 | USA | 5 | 2,273.318 | Suvannabhumi airport |
| 3 | China | 1 | 950.5 | Bangkok port |
| 4 | Australia | 3 | 1,302.400 | Lat krabang, Chiang Mai airport |
| 5 | New Zealand | 2 | 11,873 | Bangkok port |
| 6 | Italy | 7 | 7,557 | Bangkok port, Lat krabang |
| 7 | Chile | 6 | 2,794.784 | Suvannabhumi airport, Bangkok port |
| 8 | South africa | 5 | 1,233.5 | Chiang Mai airport, Postal plant, Suvannabhumi airport |
| 9 | Argentina | 3 | 0.021 | Suvannabhumi airport |
| 10 | Brazil | 2 | 400.005 | Bangkok port, Suvannabhumi airport |
| 11 | India | 1 | 2 | Suvannabhumi airport |
| 12 | Thailand | 1 | 183 | Bangkok port |
| | **Total** | **40** | **29,051.028** | |

**Table 2** The weed species contaminated in imported carrot seeds (October 2023 – September 2024)

| Country | Consignment | Quantity (Kgs.) | Weed species | Status of pest in Thailand | Detection frequency |
|---|---|---|---|---|---|
| China | 1 | 950.500 | *Amaranthus retroflexus* | not present | 1 |
| | | | *Cuscuta chinensis* | present | 1 |
| | | | *Echinochloa colona* | present | 1 |
| | | | *Medicago sativa* | not present | 1 |
| | | | *Ipomoea purpurea* | present | 1 |
| Italy | 7 | 7,557 | *Lolium rigidum* | not present | 1 |
| | | | *Solanum ptychanthum* | not present | 1 |
| New Zealand | 2 | 11,873 | *Lolium rigidum* | not present | 1 |
| USA | 5 | 2,273.318 | *Lolium perenne* | not present | 1 |
| | | | *Panicum miliaceum* | present | 1 |
| | | | *Echinochloa colona* | present | 1 |
| **Total** | **15** | **22,653.818** | - | - | - |

**Figure 1** The inspection of weed seeds in imported carrot seeds
(a) (b) (c) Samples of carrot seed

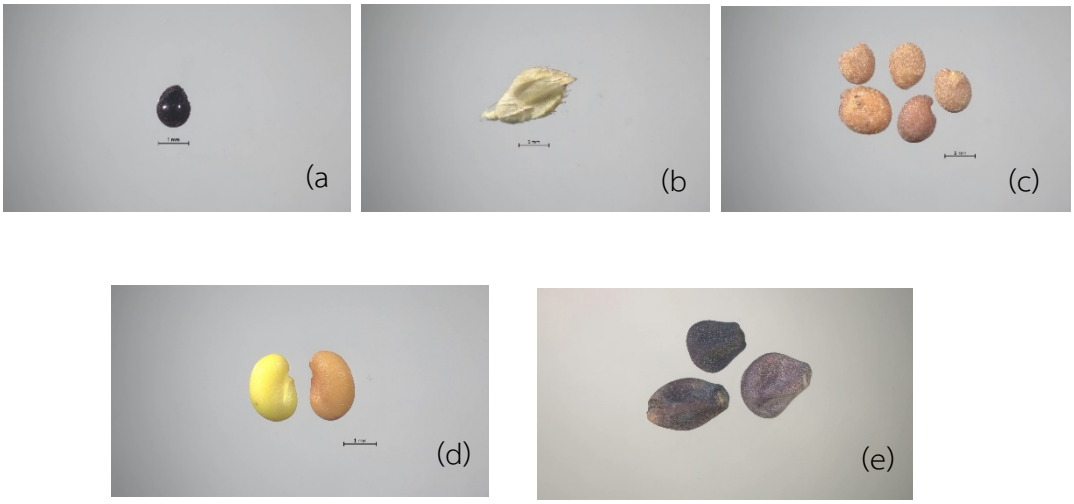



**Figure 2** Contamination of weed seeds in imported celery seeds

(a) *Amaranthus retroflexus*

(b) *Echinochloa colona*

(c) *Cuscuta chinensis*

(d) *Medicago sativa*

(e) *Ipomea purpurea*

**Figure 3** Seed of weed contamination in carrot seeds from New Zealand

(a) *Lolium rigidum*

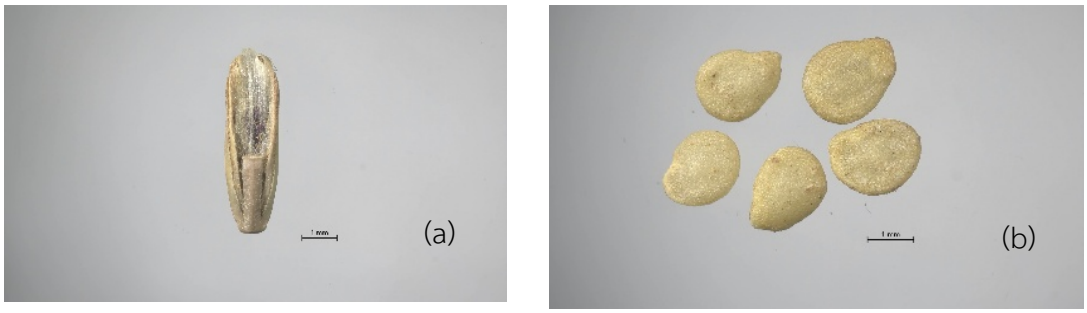



**Figure 4** Seed of weed contamination in carrot seeds from Italy

(a) *Lolium rigidum*

(b) *Solonum ptychanthum*

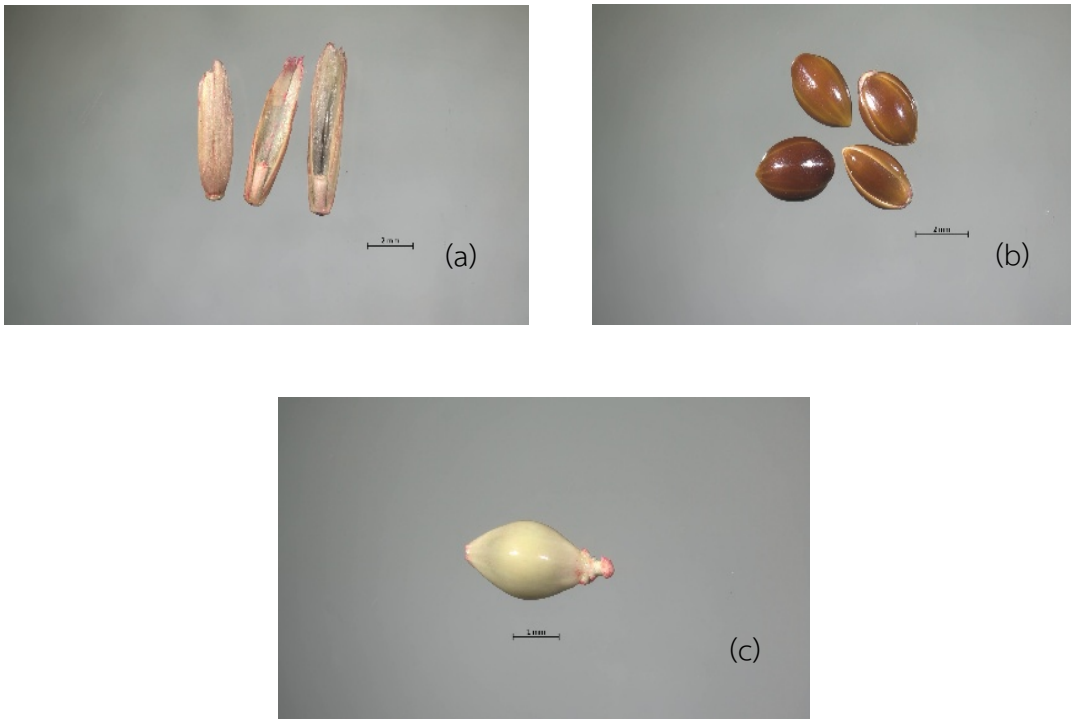



**Figure 5** Seed of weed contamination in carrot seeds from the United States

(a) *Lolium perenne*

(b) *Panicum miliaceum*

(c) *Echinochloa colona*

# การพัฒนาการตรวจสอบแมลงวันทองฝรั่ง *Bactrocera correcta* และแมลงวันแตง *Zeugodacus cucurbitae* (Diptera: Tephritidae) เพื่อการนำเข้าและส่งออกด้วย multiplex PCR จากไพร์เมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจง

# Primer design for identifying economically important *Bactrocera correcta* and *Zeugodacus cucurbitae* (Diptera: Tephritidae) by multiplex PCR

**ยุวรินทร์ บุญทบ[1/] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[2/] ชุติกาญจน์ ใจแล[3/]**

[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

[3/]ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

## Abstract

The guava fruit fly (*Bactrocera correcta*) and the melon fly (*Zeugodacus cucurbitae*) are significant agricultural pests that cause extensive damage to vegetables and fruits, particularly Thailand's export crops. Both species are also major quarantine pests for many trading partner countries worldwide. The presence of larvae in agricultural products can severely impact exports and the economy. Due to the morphological similarities among fruit fly larvae, species identification is challenging. Thus, it is crucial to develop accurate and rapid diagnostic techniques to support phytosanitary decision-making. This study developed multiplex PCR and loop-mediated isothermal amplification (LAMP) techniques for species identification of *B. correcta* and *Z. cucurbitae*. The multiplex PCR technique efficiently differentiated *B. correcta* and *Z. cucurbitae* when tested on samples from 20 fruit fly species. Furthermore, the two primer sets were tested alongside primers from other studies. The primer specific to *Z. cucurbitae* was successfully applied to diagnose four fruit fly species simultaneously: *Z. cucurbitae*, *Z. cilifer*, *B. dorsalis*, and *B. tuberculata*. However, the primer specific to *B. correcta* could not be integrated with other research due to challenges in determining optimal annealing temperatures. For the LAMP technique, primers specific to *Z. cucurbitae* were designed based on the *cytochrome oxidase I* (cox1) gene.

รหัสการทดลอง FF65-55-04-65-01-01-65

The assay amplified DNA effectively at 63°C for 90 minutes, with results observable by color change using SYBR Green I and UV fluorescence. The LAMP method successfully detected *Z. cucurbitae* across all developmental stages (egg, larva, pupa, and adult), change using SYBR Green I and UV fluorescence. The LAMP method successfully detected *Z. cucurbitae* across all developmental stages (egg, larva, pupa, and adult), including samples found in exported vegetables and fruits, within a diagnostic time of just two hours. The findings indicate that the multiplex PCR and LAMP techniques are highly effective for diagnosing fruit flies. These methods are fast, user-friendly, and suitable for application by national plant protection organizations or the private sector. Their adoption can enhance confidence in the quality of Thailand's agricultural exports and add value at the international level.

**Keywords :** fruit flies, guava fruit fly, melon fly, LAMP technique, multiplex PCR

**บทคัดย่อ**

แมลงวันทองฝรั่ง (*Bactrocera correcta*) และแมลงวันแตง (*Zeugodacus cucurbitae*) เป็นศัตรูพืชสำคัญที่สร้างความเสียหายต่อพืชผักและผลไม้ โดยเฉพาะพืชผักส่งออกของประเทศไทย ทั้งสองชนิดยังเป็นศัตรูพืชกักกันที่สำคัญต่อประเทศคู่ค้าในหลายประเทศทั่วโลก หากพบตัวหนอนในสินค้าเกษตรจะส่งผลกระทบต่อการส่งออกและเศรษฐกิจอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากตัวหนอนแมลงวันผลไม้มีลักษณะทางสัณฐานคล้ายกันมาก การจำแนกชนิดจึงทำได้ยาก ดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการพัฒนาเทคนิคที่แม่นยำและรวดเร็วเพื่อสนับสนุนการตรวจวินิจฉัยและการตัดสินใจด้านสุขอนามัยพืช งานวิจัยนี้จึงพัฒนาเทคนิค multiplex PCR สำหรับการตรวจสอบชนิดของ *B. correcta* และ *Z. cucurbitae* ผลการทดสอบ multiplex PCR พบว่าสามารถจำแนก *B. correcta* และ *Z. cucurbitae* ได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อทดลองกับตัวอย่างจากแมลงวันผลไม้ 20 ชนิด นอกจากนี้ได้นำคู่ไพรเมอร์ทั้งสองมาทดสอบร่วมกับไพรเมอร์จากงานวิจัยอื่น พบว่า ไพรเมอร์ที่มีจำเพาะเจาะจงต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* นั้นสามารถประยุกต์ใช้ตรวจวินิจฉัยชนิดแมลงวันผลไม้ได้มากถึง 4 ชนิดในครั้งเดียวกัน ได้แก่ *Z. cucurbitae, Z. cilifer, B. dorsalis* และ *B. tuberculata* แต่ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* นั้นไม่สามารถนำมาพัฒนาร่วมกับงานวิจัยอื่น ๆ เนื่องจากไม่สามารถหาอุณหภูมิที่เหมาะสม นอกจากนี้มีการพัฒนาเทคนิค Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) โดยใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบมาอย่างจำเพาะเจาะจงกับ *Z. cucurbitae* จากยีน *cytochrome oxidase I* (cox1) พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ภายใต้อุณหภูมิ 63°C เป็นเวลา 90 นาที พร้อมตรวจสอบผลด้วยตาเปล่าจากการเปลี่ยนสีของ SYBR Green I และการเรืองแสง UV โดยเทคนิค LAMP ความสามารถตรวจสอบแมลงวันแตงได้ทุกระยะการ

เจริญเติบโต (ไข่ ตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย) รวมถึงตัวอย่างที่ตรวจพบในผักและผลไม้ส่งออก โดยใช้เวลาตรวจเพียง 2 ชั่วโมงผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าเทคนิค multiplex PCR และ LAMP มีศักยภาพสูงในการตรวจวินิจฉัยแมลงวันผลไม้ มีจุดเด่นด้านความเร็วและความง่ายในการใช้งาน ซึ่งเหมาะสมสำหรับการประยุกต์ใช้โดยหน่วยงานอารักขาพืชแห่งชาติหรือภาคเอกชน เพื่อสร้างความเชื่อมั่นด้านคุณภาพสินค้าเกษตรส่งออกของไทย และเพิ่มมูลค่าสู่ระดับสากล

**คำหลัก :** แมลงวันผลไม้, แมลงวันทองฝรั่ง, แมลงวันแตง, multiplex PCR, เทคนิค LAMP

## คำนำ

ในปัจจุบันการส่งออกและนำเข้าผักและผลไม้มีการกำหนดมาตรฐานที่เข้มงวดมากขึ้น โดยเฉพาะการควบคุมสิ่งปนเปื้อน เช่น แมลงศัตรูพืชที่อาจติดกับผลผลิตทางการเกษตร สิ่งนี้ส่งผลให้การพัฒนาเทคนิคการตรวจวินิจฉัยแมลงศัตรูพืชที่มีความรวดเร็ว แม่นยำ และสอดคล้องกับมาตรฐานสากลกลายเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับประเทศไทย ซึ่งเป็นหนึ่งในผู้ส่งออกพืชผักและผลไม้รายใหญ่ของโลก

แมลงวันผลไม้ (Family Tephritidae) เป็นแมลงศัตรูพืชที่สร้างความเสียหายร้ายแรงต่อผลผลิตทางการเกษตร เนื่องจากตัวเมียสามารถวางไข่ภายในผักผลไม้ ตัวอ่อนเจริญเติบโตและกัดกินอยู่ภายในเนื้อผลไม้ ทำให้ตรวจพบได้ยาก จึงมีโอกาสติดไปกับผลผลิตในการส่งออกสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งแมลงวันผลไม้ในสกุล *Bactrocera* และ *Zeugodacus* ที่เป็นศัตรูพืชที่สำคัญในประเทศไทยนั้น พบว่าแมลงวันทองฝรั่ง *Bactrocera correcta* และแมลงวันแตง *Zeugodacus cucurbitae* นั้นเป็นแมลงศัตรูพืชที่สร้างความเสียหายทางเศรษฐกิจและเป็นปัญหาด้านสุขอนามัยพืชในระดับสากล แมลงวันผลไม้ทั้งสองชนิดนี้สร้างความเสียหายร้ายแรงต่อพืชผักและผลไม้หลากหลายชนิด โดยเฉพาะพืชส่งออกของประเทศไทย นอกจากนี้ยังเป็นศัตรูพืชกักกัน (quarantine pests) ที่สำคัญในประเทศคู่ค้าหลายประเทศ การตรวจพบตัวหนอนในสินค้าเกษตรส่งออก เช่น ผักและผลไม้ ส่งผลกระทบต่อการยอมรับในตลาดโลกและเกิดการกีดกันทางการค้าตามมาอีก

อย่างไรก็ตามในปัจจุบันประเทศไทยยังใช้วิธีการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชยังใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกของตัวเต็มวัยเป็นหลัก ซึ่งใช้เวลานานและมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น การระบุชนิดในระยะไข่ ตัวหนอน หรือดักแด้ ซึ่งมีลักษณะใกล้เคียงกันมาก จำเป็นต้องเลี้ยงจนถึงระยะตัวเต็มวัยเพื่อการวิเคราะห์ชนิด ดังนั้นการระบุชนิดด้วยวิธีทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวจึงทำได้ยาก การพัฒนาเทคนิคที่มีความแม่นยำ รวดเร็ว และเชื่อถือได้จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง โดยเฉพาะการใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยา (molecular techniques) ซึ่งสามารถแยกชนิดแมลงได้อย่างถูกต้องในระยะเวลาที่สั้น

ในทศวรรษที่ผ่านมา การนำเทคนิคทางอณูชีววิทยา เช่น ดีเอ็นเอบาร์โค้ด (DNA Barcode) และการใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจง (species-specific primers) มาช่วยในการตรวจวินิจฉัยชนิดแมลงวันผลไม้นั้นได้รับการพิสูจน์ว่าเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรวจวินิจฉัยชนิด

แมลงวันผลไม้ได้อย่างแม่นยำและรวดเร็ว อย่างไรก็ตาม แต่เทคนิคดังกล่าวยังมีข้อจำกัดเรื่องค่าใช้จ่ายและความซับซ้อนในการปฏิบัติการ (ยุวรินทร์และคณะ, 2564, 2565)

ดังนั้นจึงมีการวิจัยมุ่งเน้นการพัฒนาเทคนิค multiplex PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบมาอย่างจำเพาะเจาะจง เพื่อให้สามารถทำการตรวจวินิจฉัยชนิดแมลงวันผลไม้ได้มากกว่าหนึ่งชนิดภายในครั้งเดียว และสามารถใช้ในการตรวจสอบแมลงวันผลไม้ได้ในทุกระยะการเจริญเติบโต นอกจากนี้ยังมีการนำเอาเทคนิค Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ได้รับการพัฒนาขึ้น โดยมีจุดเด่นคือความรวดเร็ว ใช้งานง่าย และความจำเพาะสูงจากการออกแบบไพรเมอร์ 4 ชุดที่ตรวจจับดีเอ็นเอเป้าหมายในตำแหน่งที่จำเพาะเจาะจง เทคนิคนี้ได้รับการพิสูจน์ประสิทธิภาพในระดับสากล และมีการนำไปใช้ในการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชที่สำคัญ เช่น ด้วงกระเบื้องและหนอนกระทู้ลายจุด (Rako *et al*., 2021; Agarwal *et al*., 2022) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเทคนิค multiplex PCR จากไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงเป็นเครื่องมือสำคัญในการตรวจวินิจฉัยชนิดของ *B. correcta* และ *Z. cucurbitae* รวมทั้งพัฒนาเทคนิค LAMP เพื่อใช้ตรวจวินิจฉัย *Z. cucurbitae* เพื่อเพิ่มความรวดเร็วและความแม่นยำในการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืช เพื่อสนับสนุนมาตรฐานการส่งออกของไทยให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

- สารเคมีและอุปกรณ์ ได้แก่ ชุดสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction kit: Isolate Genomic DNA Kit) (Bioline, Australia), GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Bioline, Australia), Agarose gel (Bioline, Australia) และ TBE Buffer (10 mMTris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0), สารละลาย GoTaq® Green Master Mix (Promega, USA)

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

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

### วิธีการ

**1. สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างแมลงวันผลไม้**

สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างแมลงวันผลไม้ที่เก็บรวบรวมได้โดยดึงขาขวา 3 ขา จากแมลงวันผลไม้ใส่หลอด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างแมลงที่เตรียมไว้ด้วยชุดสกัด ISOLATE II Genomic DNA Kit (Bioline, Australia) เติม Lysis buffer GL 180 ไมโครลิตร และเติม Proteinase

K 25 ไมโครลิตร เขย่าเล็กน้อย บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นานข้ามคืน เขย่าเล็กน้อย จากนั้นเติม Lysis buffer G3 ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เขย่าเล็กน้อย จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จากนั้นเติม absolute ethanol 210 ไมโครลิตร เขย่าเล็กน้อย ดูดสารละลายทั้งหมดลงในคอลัมน์ นำคอลัมน์ไปปั่นเหวี่ยงที่ 11,000 g นาน 1 นาที แล้วล้างคอลัมน์ด้วยการเติม Wash buffer GW1 ปริมาตร 500 ไมโครลิตรลงในคอลัมน์ แล้วนำคอลัมน์ไปปั่นเหวี่ยงที่ 11,000 g นาน 1 นาที เทส่วนใสด้านล่างทิ้งไป จากนั้นล้างคอลัมน์อีกครั้งด้วยการเติม Wash buffer GW2 ปริมาตร 600 ไมโครลิตรลงในคอลัมน์ แล้วนำคอลัมน์ไปปั่นเหวี่ยงที่ 11,000 g นาน 1 นาที เทส่วนใสด้านล่างทิ้งไป จากนั้นนำคอลัมน์ไปปั่นเหวี่ยงที่ 11,000 g นาน 1 นาที เพื่อกำจัด ethanol ที่เหลือออกให้หมด เปลี่ยนคอลัมน์ไปใส่ในหลอด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นชะดีเอ็นเอออกจากคอลัมน์โดยเติม elution buffer G ที่ผ่านการบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ปริมาตร 50 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที จากนั้นนำคอลัมน์ไปปั่นเหวี่ยงที่ 11,000 g นาน 2 นาที (Figure 1) ตรวจวัดปริมาณและความเข้มข้นดีเอ็นเอจากการดูดกลืนแสงที่ A260/A280 เจือจางดีเอ็นเอที่ระดับ 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร และทดสอบคุณภาพของดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วย universal ไพรเมอร์ LCO และ HCO สำหรับตรวจสอบยีน *cox1* (LCO1490 5’-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3’ และ HCO2198 5’-TAAACTTCA GGGTGACCAAAAAATCA-3’) ขนาดประมาณ 650 คู่เบส ส่งตัวอย่างตรวจสอบวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อตรวจสอบยืนยันชนิดแมลงวันผลไม้ก่อนดำเนินการทดสอบด้วยไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อไป

**2. ทดสอบคู่ไพร์เมอร์ที่เฉพาะเจาะจงต่อแมลงทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae***

2.1 ทดสอบคู่ไพร์เมอร์ที่เฉพาะเจาะจงต่อแมลงทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* จากภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย (ยุวรินทร์ และคณะ; 2564, 2566) (Table 1)

2.2 หาวิธีการที่เหมาะสมสำหรับเทคนิค multiplex PCR ด้วยการทดสอบ species - specific primer โดยใช้คู่ไพร์เมอร์จากแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* และตรวจสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธีการกับตัวอย่างแมลงวันผลไม้ที่มีรายงานในประเทศไทย โดยการตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ ด้วยวิธีเจลอิเล็คโตรโฟรีซีส (gel electrophoresis) ที่อะกาโรสเจลความความเข้มข้น 2.5% ผสม RedSafe dye (iNtRON Biotechnology, USA) ในสารละลาย 1X TAE buffer แล้วนำมาผ่านสนามไฟฟ้าความต่างศักย์ 100 โวลต์ เป็นเวลา 45 นาที และตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตบันทึกผลด้วยเครื่องถ่ายภาพเจลพร้อมโปรแกรมวิเคราะห์ภาพ (gel documentation XR) รุ่น Universal Hood II (Biorad, USA)

**3. ทดสอบคู่ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และ แมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ร่วมกับคู่ไพร์เมอร์อื่น ๆ ด้วยเทคนิค Multiplex PCR**

3.1 คัดเลือกไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงในการตรวจสอบชนิดแมลงวันผลไม้จากงานวิจัยอื่นๆ (CAUPQL, 2016) เพื่อพัฒนาการตรวจสอบแมลงวันผลไม้ด้วยวิธี multiplex PCR ร่วมกับคู่ไพรเมอร์ ที่มีความจำเพาะเจาะจงโดยใช้คู่ไพร์เมอร์จากแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และ แมลงวันแตง *Z. cucurbitae* (ยุวรินทร์ และคณะ; 2564, 2566) (Table 1)

3.2 เปรียบจากค่า annealing ที่มีความใกล้เคียงกัน และขนาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่มีขนาดแตกต่างกันเพื่อให้สามารถแยกออกอย่างชัดเจน นำคู่ไพรเมอร์ที่ออกแบบและงานวิจัยทำการศึกษามาพัฒนาการตรวจสอบชนิดแมลงวันผลไม้ ด้วยวิธี multiplex PCR สำหรับตรวจสอบแมลงวันผลไม้ชนิดต่าง ๆ

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

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

**4. พัฒนาเทคนิค LAMP ในการตรวจวินิจฉัยแมลงวันแตง *Z. cucurbitae***

**4.1 ออกแบบชุดไพรเมอร์ LAMP สำหรับการตรวจสอบแมลงวันแตง *Z. cucurbitae***

นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ที่สกัดได้ร่วมกับการสืบค้นข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์แมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ที่รายงานอยู่ในฐานข้อมูล NCBI มาเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอด้วยโปรแกรม Blastn (http://www.ncbi. nlm.nih.gov/Blast) จากนั้นทำการเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* กับแมลงวันผลไม้ชนิดอื่น ๆ และเลือกบริเวณที่ให้ความแตกต่างระหว่าง *Z. cucurbitae* กับแมลงวันผลไม้ชนิดอื่น ๆ มาใช้เป็นไพรเมอร์สำหรับการตรวจสอบด้วยเทคนิค LAMP ซึ่งเป็นชุดไพรเมอร์ที่ประกอบด้วยไพรเมอร์ 2 - 3 คู่ ประกอบด้วย Displacement primers (outer primers), Lamp primers (inner primers) และ Loop primers โดยใช้โปรแกรมการออกแบบไพรเมอร์ Primer Explorer version 5 (http://primerexplorer.jp/e)

**4.2. ทดสอบความจำเพาะของชุดไพรเมอร์ outer ด้วยเทคนิค Polymerase chain reaction (PCR)**

นำดีเอ็นเอของแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* และ *Z. tau* เป็นดีเอ็นเอต้นแบบ เนื่องจากแมลงวันผลไม้ทั้งสองชนิดนี้มีลักษณะสัณฐานและความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการใกล้ชิดที่สุด (ยุวรินทร์

และคณะ, 2565) โดยใช้องค์ประกอบของปฏิกิริยา PCR ประกอบด้วย ดีเอ็นเอต้นแบบปริมาณ 100 นาโนกรัม ไพรเมอร์ $F_3$ และ $B_3$ ความเข้มข้น 0.4 ไมโครโมลาร์ Go Taq ®Green Master Mix (Promega) ความเข้มข้น 1 เท่า รวมปริมาตร 20 ไมโครลิตร โดยใช้อุณหภูมิช่วง annealing 55, 58 และ 60 องศาเซลเซียส ตรวจสอบผลผลิตของปฏิกิริยา PCR ที่ได้โดยการนำมาทำอิเล็คโตรโฟรีซีสบนอะกาโรสเจล 2 เปอร์เซ็นต์ ในบัฟเฟอร์ 0.5X TBE ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 45 นาที เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp DNA ladder marker (Thermo Science) เมื่อครบเวลานำเจลมาย้อมด้วยสารละลายเอธิเดียมโบรไมด์ตรวจสอบผลภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต

**4.3 ทดสอบความจำเพาะของชุดไพรเมอร์ด้วยเทคนิค LAMP**

นำชุดไพรเมอร์ที่ออกแบบมาทดสอบการทำปฏิกิริยา LAMP โดยใช้ดีเอ็นเอของแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* เป็นดีเอ็นเอต้นแบบ โดยองค์ประกอบของปฏิกิริยา LAMP ประกอบด้วย ดีเอ็นเอต้นแบบปริมาณ 100 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ไพรเมอร์ F3, B3, FIP และ BIP ความเข้มข้นอย่างละ 0.4 ไมโครโมลาร์ ไพรเมอร์ $F_2$, $F_1C$, $B_2$ และ $B_1C$ ความเข้มข้นอย่างละ 0.1 ไมโครโมลาร์ WarmStart®LAMP Master Mix (NEB) ความเข้นข้น 1 เท่า ปริมาตร 25 ไมโครลิตร เติมปฏิกิริยาทั้งหมดลงหลอดพีซีอาร์ หยด Paraffin Liquid ปริมาตร 10 ไมโครลิตร เพื่อป้องกันการระเหยของปฏิกิริยาและการปนเปื้อน นำไปทำปฏิกิริยาตามช่วงอุณหภูมิ Annealing ที่ 55 - 65 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 90 นาที หลังจากเสร็จสิ้นปฏิกิริยาตรวจสอบผลผลิตภัณฑ์ LAMP ด้วยการใช้สารฟลูออเรสเซนต์ SYBR Green I (Invitrogen) ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร เติมหลังจากเกิดปฏิกิริยา LAMP ถ้ามีผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นจะเปลี่ยนสีตั้งต้น (สีส้ม) เป็นสีเขียวอมเหลือง ยืนยันผลโดยดูภายใต้แสง UV ถ้ามีผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นจะเห็นการเรืองแสง และวิธีการใช้อะกาโรสเจลอิเล็คโตรโฟรีซีส 2 เปอร์เซ็นต์ ในบัฟเฟอร์ 0.5X TBE ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เวลา 40 นาที จากนั้นย้อมเจลด้วยเอธิเดียมโบรไมด์และบันทึกภาพ

**4.4. ศึกษาสภาวะ (condition) ที่เหมาะสมสำหรับการทำปฏิกิริยาเทคนิค LAMP**

4.4.1 ทดสอบหาอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยา LAMP จากชุดไพรเมอร์ที่ออกแบบโดยใช้ดีเอ็นเอของแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* เป็นดีเอ็นเอต้นแบบ ปริมาณ 100 นาโนกรัม และใช้องค์ประกอบเช่นเดียวกับข้อ 4.3 และใช้อุณหภูมิที่ 60, 63, 64, 65, 66, 67, 68 และ 69 องศาเซลเซียส

4.4.2 ทดสอบหาปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา LAMP โดยใช้องค์ประกอบและอุณหภูมิที่เหมาะสมจากข้อ 4.4.1 มาทดสอบความเข้มข้นของดีเอ็นเอของแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ที่ 20, 50, 100, 200 และ 300 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร

4.4.3 ทดสอบหาเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา LAMP โดยใช้อุณหภูมิที่เหมาะสมจากข้อ 4.4.1 และปริมาณดีเอ็นเอที่เหมาะสมจากข้อ 4.4.2 มาทดสอบที่เวลา 15, 30, 45, 60, 90 และ 120 นาที ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ตามวิธีการในข้อ 4.3

**4.5 ศึกษาความจำเพาะ (specificity) ของเทคนิค LAMP ในการคัดแยกแมลงวันแตง *Z. cucurbitae***

ใช้ปฏิกิริยาจากการทดสอบหาความเหมาะสมในข้อ 4.4 โดยใช้ดีเอ็นเอของแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ในระยะตัวเต็มวัยและตัวหนอนเป็นดีเอ็นเอต้นแบบ

4.5.1 ทดสอบกับแมลงวันผลไม้ที่มีลักษณะสัณฐานและความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการใกล้ชิดกัน

4.5.2 ทดสอบกับแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยชนิดต่าง ๆ จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ แมลงวันแตง *Z. cucurbitae* (positive), *Z. caudatus, Z. cilifer, Z. isolatus*, *Z. tau*, *B. carambolae*, *B. correcta*, *B. dorsalis*, *B. umbrosa* และ *B. zonata*

4.5.3 ทดสอบกับตัวหนอนแมลงวันผลไม้ที่มักพบเข้าทำลายผักและผลไม้ จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Z. cucurbitae* (positive), *B. carambolae*, *B. correcta*, *B. dorsalis, Z. tau* และ *B. latifrons*

**4.6 ศึกษาความจำเพาะกับดีเอ็นเอแมลงวันผลไม้ชนิดต่าง ๆ ที่มีการสำรวจพบในประเทศไทยและแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ในระยะการเจริญเติบโตต่าง ๆ**

ทดสอบการเกิดปฏิกิริยาข้ามกับแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยชนิดต่าง ๆ จำนวน 21 ชนิด ได้แก่ แมลงวันแตง *Z. cucurbitae* (positive), *D. formosanus, B. albistrigata, B. carambolae, B. correcta, B. dorsalis, B. latifrons, B. limbifera, B. nigrotibialis, B. tuberculata, B. umbrosa, B. zonata, Z. apicalis, Z. caudatus, Z. cilifer, Z. cucurbitae, Z. hochii, Z. incisus, Z. isolatus, Z. platamus* และ *Z. tau* รวมทั้งทดสอบร่วมกับแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ในระยะการเจริญเติบโตต่าง ๆ

**4.7 ทดสอบประสิทธิภาพของเทคนิค LAMP ต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* กับตัวหนอนแมลงวันผลไม้ที่พบปนเปื้อนในพืช ผัก และผลไม้ส่งออก**

ทดสอบประสิทธิภาพของเทคนิค LAMP กับตัวหนอนแมลงวันผลไม้ที่พบปนเปื้อนในพืชผักและผลไม้ที่พบจากการสุ่มตรวจผัก ผลไม้ส่งออก (intercepted samples) จากเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ยืนยันชนิดตัวหนอนแมลงวันผลไม้ที่ตรวจพบโดยการนำตัวหนอนที่ได้จากการสุ่มตัวอย่างบางส่วนมาเลี้ยงไว้เพื่อให้เป็นตัวเต็มวัยและจัดจำแนกชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาตามหลักอนุกรมวิธานและศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง ABI 3730 x 1automated sequencer (Applied Biosystems, Forster City, CA, USA) ตามกรรมวิธีของบริษัท Macrogen ประเทศเกาหลีใต้ และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์กับฐานข้อมูล GenBank

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

บันทึกข้อมูล ดีเอ็นเอบาร์โค้ด ในรูปแบบของ FASTA ไฟล์

**เวลาและสถานที่**

เวลา ระยะเวลาการทดลอง : ตุลาคม พ.ศ. 2564 - มีนาคม พ.ศ. 2568

สถานที่ 1) แหล่งปลูกพืชจังหวัดต่าง ๆ ในภาคกลาง ภาคตะวันตก ภาคเหนือ ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้

2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างแมลงวันผลไม้**

ได้กระบวนการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างแมลงวันผลไม้ (Figure 1) และการสกัดดีเอ็นเอของแมลงวันผลไม้ตรวจวัดปริมาณและความเข้มข้นดีเอ็นเอที่ A260/A280 ค่าการดูดกลืนแสงของดีเอ็นเอที่สกัดได้อยู่ในช่วง 1.7-1.9 ถือว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์ และทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ LCO1490/ HCO2198 จากยีน *cox1* สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและตรวจสอบขนาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ได้ขนาด 650 - 700 คู่เบส เมื่อนำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ไปตรวจวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์เปรียบเทียบ พบว่า มีเปอร์เซ็นต์ความเหมือน (identity) ที่ 99 - 100 % แสดงว่าวิธีการสกัดดีเอ็นเอมีความเหมาะสมสามารถนำไปใช้สกัดดีเอ็นเอตัวอย่างแมลงวันผลไม้ คุณภาพดีเอ็นเอที่ได้สามารถนำไปใช้เป็นดีเอ็นเอต้นแบบสำหรับการพัฒนาเทคนิคทางอณูชีววิทยา

**2. ทดสอบคู่ไพร์เมอร์ที่เฉพาะเจาะจงต่อแมลงทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae***

2.1 ทดสอบคู่ไพร์เมอร์ที่เฉพาะเจาะจงต่อแมลงทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* จากภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย (ยุวรินทร์ และคณะ, 2564, 2566)

การทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อแมลงทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* จากกลุ่มประชากรต่างภูมิศาสตร์ (geographical populations) จากตัวอย่างแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ที่เก็บรวบรวมมาจากภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย โดยใช้คู่ไพร์เมอร์จากแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และ แมลงวันแตง *Z. cucurbitae* นั้น พบว่าการตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ด้วยวิธีเจลอิเล็คโตรโฟรีซีสบนอะกาโรสเจลความเข้มข้น 2 % ผสม RedSafe dye (iNtRON Biotechnology, USA) 5 ไมโครลิตร ต่ออะกาโรสเจล 100 มิลลิลิตร โหลดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ตัวอย่างละ 7 ไมโครลิตร โหลดดีเอ็นเอขนาดมาตรฐาน HyperLadder 25 bp (Bioline, Australia) 3 ไมโครลิตร รันผ่านสนามไฟฟ้าความต่างศักย์ 100 โวลต์ เป็นเวลา 45 นาที ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต แล้วถ่ายภาพบันทึกผล พบผลิตภัณฑ์ PCR แมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* ได้ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 141 คู่เบส (Figure 2) แมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ได้ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 83 คู่เบส (Figure 3)

2.2 วิธีการที่เหมาะสมในด้วยวิธีการ multiplex PCR ด้วยการทดสอบ species - specific primer โดยใช้คู่ไพร์เมอร์จากแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* (Table 1) กับแมลงวันผลไม้ชนิดต่าง ๆ ที่พบในประเทศไทย นั้น ได้มีส่วนผสมของปฏิกิริยา PCR (Table 2) และสภาวะปฏิกิริยา PCR ที่เหมาะสมสำหรับการจำแนกแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ด้วยวิธี Multiplex PCR (Table 3) ซึ่งพบว่าสามารถใช้คัดแยกแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* จากแมลงวันผลไม้ชนิดอื่น ๆ ได้ โดยพบผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นในแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* ได้ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 141 คู่เบส และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ได้ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 83 คู่เบส และแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยชนิดต่าง ๆ จำนวน 20 ชนิด ได้แก่ แมลงวันผลไม้ *B. albistrigata, B. carambolae, B. correcta, B. dorsalis, B. latifrons, B. limbifera, B. nigrotibialis, B. tuberculata, B. umbrosa, B. zonata, D. formosanus, Z. apicalis, Z. caudatus, Z. cilifer, Z. cucurbitae, Z. hochii, Z. incisus, Z. isolatus, Z. platamus* และ *Z. tau* นั้น ไม่พบผลิตภัณฑ์ (Figure 4)

**3. ทดสอบคู่ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และ แมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ร่วมกับคู่ไพร์เมอร์อื่น ๆ ด้วยเทคนิค Multiplex PCR**

จากการนำไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* มาประยุกต์ร่วมกับงานวิจัยอื่น ๆ นั้น พบว่าไพรเมอร์ที่มีจำเพาะเจาะจงต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* สามารถพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบแมลงวันผลไม้ด้วยเทคนิค multiplex PCR โดยคู่ไพรเมอร์ที่ได้ออกแบบ คือ Zcur-F2 และ Zcur-R1 ร่วมกับไพรเมอร์ B. dorsalis-F, B. dorsalis-R, B. tuberculata-F, B. tuberculata-R, Z. cilifer-F Z. cilifer-R (Table 4) นั้น ได้มีส่วนผสมของปฏิกิริยา PCR (Table 5) และสภาวะปฏิกิริยา Multiplex PCR ที่เหมาะสมสำหรับจำแนกแมลงวันผลไม้ด้วยวิธี PCR พบว่าช่วงอุณหภูมิในขั้นตอนการ annealing ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณยีน *cox1* ของแมลงวันผลไม้ทั้ง 4 ชนิด พร้อมกันที่อุณหภูมิ 60 °ซ. กำหนดขั้นตอนและเวลาในปฏิกิริยา PCR cycle (Table 6) และเมื่อนำมาทดสอบกับแมลงวันผลไม้ที่มีรายงานในประเทศไทย 19 ชนิด ได้แก่ *B. albistrigata, B. carambolae, B. correcta, B. dorsalis, B. latifrons, B. limbifera, B. tuberculata, B. umbrosa, B. zonata, D. longicornis, D. spaeroidalis, Z. apicalis, Z. caudatus, Z. cilifer, Z. cucurbitae, Z. hochii, Z. incisus, Z. isolatus, Z. platamus* และ *Z. tau* การตรวจสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธีการด้วยการตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ด้วยวิธีเจลอิเล็คโตรโฟรีซีสที่อะกาโรสเจลความเข้มข้น 2.5% ผสม RedSafe dye (iNtRON Biotechnology, USA) ในสารละลาย 1X TAE buffer แล้วนำมาผ่านสนามไฟฟ้าความต่างศักย์ 100 โวลต์ เป็นเวลา 45 นาที และตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตบันทึกผลด้วยเครื่องถ่ายภาพเจลพร้อมโปรแกรมวิเคราะห์ภาพ (gel documentation XR) รุ่น Universal Hood II (Biorad, USA) พบว่าได้ขนาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาดประมาณ 216, 225, 159 และ 113 คู่เบส (Figure 5) ซึ่งเป็นขนาดของแมลงวันผลไม้ ได้แก่ *B. dorsalis, B. tuberculata,*

*Z. cilifer* และ *Z. cucurbitae* ตามลำดับ โดยไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับแมลงวันผลไม้ชนิดอื่น ๆ ถึงแม้ว่าขนาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* และ *B. tuberculata* จะมีขนาดที่ใกล้เคียงกันแต่อย่างไรก็ตามยังสามารถแยกความแตกต่างได้ด้วยสายตาเมื่อเทียบกับตัวเปรียบเทียบบวก (positive control) ผลการตรวจสอบด้วยเทคนิค multiplex PCR นั้นสามารถยืนยันการตรวจสอบ ดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะต่อแมลงวันผลไม้ 4 ชนิด โดยสามารถใช้ตรวจสอบแมลงวันผลไม้ที่เข้าทำลายพืชผักเศรษฐกิจของไทย ได้แก่ *Z. cucurbitae, Z. cilifer, B. dorsalis* และ *B. tuberculata* และสอดคล้องกับผลที่ได้จากการจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา แต่ไพรมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* นั้นไม่สามารถนำมาพัฒนาร่วมกับงานวิจัยอื่น ๆ เนื่องจากไม่สามารถหาอุณหภูมิที่เหมาะสม

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

**4. พัฒนาเทคนิค LAMP ในการตรวจวินิจฉัยแมลงวันแตง *Z. cucurbitae***

**4.1. ออกแบบชุดไพรเมอร์ LAMP สำหรับการตรวจสอบแมลงวันแตง *Z. cucurbitae***

ได้ชุดไพรเมอร์ LAMP เพื่อใช้ในการจำแนกชนิดแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ประกอบด้วยไพรเมอร์ในการทำงาน 4 เส้น (Forward และ Reverse) และมีการออกแบบในบริเวณที่จำเพาะ 6 บริเวณ ของยีนเป้าหมาย โดยไพรเมอร์ทั้ง 4 เส้น ประกอบไปด้วย Displacement primers (outer primers) จำนวน 2 เส้น (F3 และ B3) และ Lamp primers (inner primers) จำนวน 2 เส้น (FIP และ BIP) และ Loop primers ทำหน้าที่ในการสร้าง loop ช่วยให้เกิด strand displacement สมบูรณ์ อีกทั้งการเพิ่ม loop primer จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเกิดปฏิกิริยาได้ดียิ่งขึ้น (Table 7)

**4.2 ทดสอบความจำเพาะของชุดไพรเมอร์ outer ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)**

พบแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ที่มีขนาด 418 คู่เบส ลักษณะแถบมีความเข้มชัดเจน ในขณะที่ไม่แสดงแถบดีเอ็นเอของตัวอย่าง *Z. tau* (Figure 6) แสดงว่าชุดไพรเมอร์ที่ได้ทำการออกแบบนั้นสามารถแยกความแตกต่างระหว่างแมลงวันผลไม้ 2 ชนิด ที่มีลักษณะสันฐานภายนอกคล้ายคลึงกันและมีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการใกล้ชิดกันมากที่สุดได้ชัดเจน แสดงให้เห็นว่าชุดไพรเมอร์ที่ออกแบบนั้นมีความจำเพาะและเหมาะสมต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* สามารถนำไปใช้ทำปฏิกิริยา LAMP ในขั้นตอนต่อไป

**4.3 ทดสอบความจำเพาะของชุดไพรเมอร์ด้วยเทคนิค LAMP**

จากการทดสอบการทำปฏิกิริยา LAMP ตามช่วงอุณหภูมิ Annealing ที่แตกต่างกัน (55 - 65 องศาเซลเซียส) พบว่าที่อุณหภูมิ 62 และ 65 องศาเซลเซียส นั้น มีผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นโดยมีการเปลี่ยนสี

ตั้งต้น (สีส้ม) เป็นสีเขียวอมเหลือง และเมื่อดูภายใต้แสง UV มีผลิตภัณฑ์เกิดขึ้น เห็นการเรืองแสง และพบแถบผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นจากอิเล็คโตรโฟรีซีสบนอะกาโรสเจล (Figure 7) แสดงว่าอุณหภูมิที่ 62 - 65 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่มีความเหมาะสมที่สามารถนำมาทดสอบได้ต่อไป

**4.4 การศึกษาสภาวะ (condition) ที่เหมาะสมสำหรับการทำปฏิกิริยาเทคนิค LAMP**

4.4.1 พบผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยา LAMP จากการเติมสารฟลูออเรสเซนต์ SYBR Green I เกิดการเรืองแสงเมื่อดูภายใต้แสง UV และบนเจลอิเล็คโตรโฟรีซีส แสดงผลที่สอดคล้องกันที่อุณหภูมิ 60 - 65 องศาเซลเซียส (Figure 8) โดยจะเลือกใช้อุณหภูมิที่ 63 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยา LAMP ในการทดสอบสภาวะอื่น ๆ ต่อไป เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่อยู่ระหว่างอุณหภูมิ 60 - 65 องศาเซลเซียส เพื่อเป็นการป้องกันการคลาดเคลื่อนของอุณหภูมิได้

4.4.2 การทดสอบหาปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยา LAMP ใช้อุณหภูมิที่ 63 องศาเซลเซียส พบผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยา LAMP โดยมีการเปลี่ยนสีตั้งต้น (สีส้ม) เป็นสีเขียวอมเหลือง เห็นการเรืองแสง เมื่อดูภายใต้แสง UV และบนเจลอิเล็คโตรโฟรีซีส เมื่อใช้ปริมาณดีเอ็นเอตั้งแต่ 100 - 300 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร (Figure 9) แสดงว่าเป็นปริมาณที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาด้วยเทคนิค LAMP

4.4.3 การทดสอบหาเวลาที่เหมาะสม จากการใช้อุณหภูมิที่ 63 องศาเซลเซียส ปริมาณดีเอ็นเอที่ 300 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร พบผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยา LAMP มีการเปลี่ยนสีตั้งต้น (สีส้ม) เป็นสีเขียวอมเหลือง เมื่อดูภายใต้แสง UV เห็นการเรืองแสง และบนเจลอิเล็คโตรโฟรีซีสแสดงผลที่สอดคล้องกันที่ระยะเวลา 90 และ 120 นาที (Figure 10) จึงสรุปได้ว่า จากการทดสอบหาความเหมาะสมของปฏิกิริยา LAMP ในการตรวจแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ใช้ปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้น 300 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา 63 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 90 นาที

**4.5 ศึกษาความจำเพาะ (specificity) ของเทคนิค LAMP ในการคัดแยกแมลงวันแตง *Z. cucurbitae***

ความจำเพาะของเทคนิค LAMP ในการคัดแยกแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* จากแมลงวันผลไม้ที่มีสกุลและชนิดใกล้ชิด จากการใช้ปฏิกิริยาการทดสอบหาความเหมาะสมในข้อ 5 (ใช้ดีเอ็นเอต้นแบบ 300 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา 63 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที) โดยใช้ดีเอ็นเอแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ตัวเต็มวัยและตัวหนอนเป็นดีเอ็นต้นแบบ ได้ผลดังนี้

4.5.1 พบปฏิกิริยา LAMP ในแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* และสามารถแยกออกจาก *Z. tau* ซึ่งเป็นแมลงวันผลไม้ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลำดับนิวคลีโอไทด์ใกล้ชิดได้ เนื่องจากพบผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นโดยมีการเปลี่ยนสีตั้งต้น (สีส้ม) เป็นสีเขียวอมเหลืองในแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* และเมื่อดูภายใต้แสง UV เห็นการเรืองแสง ส่วน *Z. tau* ยังคงเป็นสีส้ม ผลที่ได้สอดคล้องกับเจลอิเล็คโตรโฟรีซีส (Figure 11)

4.5.2 พบปฏิกิริยา LAMP ใช้ในการคัดแยกแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* จากแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยชนิดต่าง ๆ จำนวนอีก 9 ชนิด ได้แก่ แมลงวันผลไม้ *B. carambolae, B. correcta*, *B. dorsalis*, *B. umbrosa*, *B. zonata*, *Z. caudatus, Z. cilifer, Z. isolatus* และ *Z. tau* โดยมีการเปลี่ยนสีตั้งต้น (สีส้ม) เป็นสีเขียวอมเหลือง และเมื่อดูภายใต้แสง UV เห็นการเรืองแสงในแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ส่วนแมลงวันผลไม้อีก 9 ชนิดยังคงเป็นสีส้มและไม่พบการเรืองแสงภายใต้ยูวี และแสดงผลที่สอดคล้องกับเจลอิเล็คโตรโฟรีซีส (Figure 12)

4.5.3 พบปฏิกิริยา LAMP ในการคัดแยกแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* กับตัวหนอนแมลงวันผลไม้ที่มักพบเข้าทำลายผักผลไม้อีก 5 ชนิด คือ แมลงวันผลไม้ *B. carambolae*, *B. correcta*, *B. dorsalis, B. latifrons* และ *Z. tau* โดยพบผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นมีการเปลี่ยนสีตั้งต้น (สีส้ม) เป็นสีเขียวอมเหลืองและเรืองแสงยูวีในแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ส่วนแมลงวันผลไม้อีก 5 ชนิดยังคงเป็นสีส้มและไม่เรืองแสงยูวีแสดงผลที่สอดคล้องกับเจลอิเล็คโตโฟรีซีส (Figure 13)

**4.6. ศึกษาความจำเพาะกับดีเอ็นเอแมลงวันผลไม้ชนิดต่าง ๆ ที่มีการสำรวจพบในประเทศไทย และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ในระยะการเจริญเติบโตต่าง ๆ**

พบปฏิกิริยา LAMP สามารถใช้คัดแยกแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* โดยพบผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นโดยมีการเปลี่ยนสีตั้งต้น (สีส้ม) เป็นสีเขียวอมเหลืองและเรืองแสงยูวีในแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ในทุกระยะการเจริญเติบโต (ไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย) ส่วนแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยชนิดต่าง ๆ จำนวน 20 ชนิด ได้แก่ แมลงวันผลไม้ *B. albistrigata, B. carambolae, B. correcta, B. dorsalis, B. latifrons, B. limbifera, B. nigrotibialis, B. tuberculata, B. umbrosa, B. zonata, D. formosanus, Z. apicalis, Z. caudatus, Z. cilifer, Z. cucurbitae, Z. hochii, Z. incisus, Z. isolatus, Z. platamus* และ *Z. tau* นั้น ยังคงเป็นสีส้มและไม่เรืองแสงยูวี แสดงผลที่สอดคล้องกับเจลอิเล็กโตรโฟรีซีส (Figure 14)

**4.7 ทดสอบประสิทธิภาพของเทคนิค LAMP ต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* กับตัวหนอนแมลงวันผลไม้ที่พบปนเปื้อนในพืช ผัก และผลไม้ส่งออก**

ทดสอบประสิทธิภาพของเทคนิค LAMP กับตัวหนอนแมลงวันผลไม้ที่พบปนเปื้อนในพืชผักผลไม้จากการสุ่มตรวจ (intercepted samples) จากพืช ผัก และผลไม้ที่ต้องการส่งออกจากเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ระหว่างวันที่ 1 มกราคม 2567 - 30 กรกฎาคม 2567 จำนวน 25 ตัวอย่าง พบว่าเกิดผลิตภัณฑ์ LAMP กับตัวหนอนแมลงวันผลไม้ที่สุ่มตรวจเจอในถั่วฝักยาว โดยมีการเปลี่ยนสีตั้งต้น (สีส้ม) เป็นสีเขียวอมเหลืองและเรืองแสงยูวี และผลการทดสอบเป็นบวก จำนวน 9 ตัวอย่าง และไม่เกิดปฏิกิริยากับตัวหนอนแมลงวันผลไม้ที่พบจากผักและผลไม้ชนิดอื่น ๆ จำนวน 16 ตัวอย่าง (Table 8) การตรวจสอบครั้งนี้ใช้เวลาในการตรวจสอบเพียง 2-3 ชั่วโมง ผลที่ได้สอดคล้องกับสัณฐานภายนอกของตัวเต็มวัยที่เลี้ยงได้และลำดับนิวคลีโอไทด์เมื่อทำการตรวจสอบยืนยันด้วยเทคนิคดีเอ็นเอบาร์โคด แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพและประโยชน์ของเทคนิค

LAMP ที่มีการตรวจวินิจฉัยที่แม่นยำ เนื่องจาก LAMP ให้ผลบวกเฉพาะกับแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* เท่านั้น

การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเทคนิค LAMP ในการตรวจวินิจฉัยแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ครั้งนี้ ยืนยันได้ว่าไพรเมอร์ที่ออกแบบและสภาวะที่ได้ทำการทดสอบนั้นมีความเหมาะสมสามารถใช้เทคนิค LAMP ในการตรวจสอบชนิดแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ในทุกระยะการเจริญเติบโตได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็วกว่าการจำแนกชนิดด้วยเทคนิคดีเอ็นเอบาร์โคดซึ่งต้องใช้เวลาในการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequencing) ประมาณ 7-10 วัน นอกจากนี้ยังสามารถประยุกต์ใช้ในการตรวจภาคสนาม (on-site) เนื่องจากสามารถทราบผลจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนสีด้วยสายตาเพียงเท่านั้น (Nagamine *et al*., 2002) นอกจากนี้ยังสามารถนำเทคนิค LAMP ไปต่อยอดในการประยุกต์ใช้ตรวจสอบศัตรูพืชกักกันชนิดต่าง ๆได้อีกด้วย สอดคล้องกับ Blaser *et al*. (2018) ที่มีการใช้เทคนิค LAMP ในการตรวจสอบศัตรูพืชกักกัน (*Bactrocera* spp., *Bemisia tabaci*, *Liriomyza* spp. และ *Thrips palmi*) ที่สนามบินซูริคและเจนีวา ประเทศสวิตเซอร์แลนด์เนื่องจากการส่งออกหรือนำเข้านั้นมักเป็นผัก หรือ ผลไม้สดที่เน่าเสียได้ง่าย ดังนั้นการนำเทคนิค LAMP ที่มีความสะดวก รวดเร็ว มาใช้ในการตรวจภาคสนาม จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งเพื่อที่จะต้องจำแนกชนิดศัตรูพืชได้อย่างมั่นใจและรวดเร็วแทนกระบวนการทางห้องปฏิบัติการที่ใช้ระยะเวลานานและต้องอาศัยความเชี่ยวชาญของผู้ปฏิบัติงานเป็นอย่างสูง (Blacket *et al*., 2020, Starkei *et al*., 2021) และการศึกษาครั้งนี้เป็นครั้งแรกที่สามารถใช้เทคนิค LAMP แยกแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ออกจากแมลงวันผลไม้ชนิดอื่น ๆ ได้อย่างถูกต้อง ทำให้มั่นใจได้ว่าประเทศไทยซึ่งเป็นประเทศผู้ส่งออกผักและผลไม้รายใหญ่นั้นมีองค์ความรู้และมีเทคนิคที่มีศักยภาพสามารถระบุชนิดศัตรูพืชได้อย่างแม่นยำและรวดเร็ว ช่วยลดระยะเวลาในการตรวจวินิจฉัยแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ซึ่งเป็นศัตรูพืชที่มักพบปนเปื้อนในผัก ผลไม้ และยังเป็นศัตรูพืชกักกันของหลายประเทศคู่ค้าของประเทศไทย การศึกษาครั้งนี้ยังเป็นการเพิ่มจำนวนของไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงของเทคนิค LAMP ต่อการตรวจวินิจฉัยชนิดแมลงวันผลไม้ของโลกเพิ่มเติมอีกด้วย (Blaser *et al*., 2018; Blacket *et al.,* 2020) ถือเป็นการเพิ่มศักยภาพการตรวจวินิจฉัยแมลงวันผลไม้ระดับสากล

การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเทคนิค LAMP ในการตรวจวินิจฉัยแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ครั้งนี้ ยืนยันได้ว่าไพรเมอร์ที่ออกแบบและสภาวะที่ได้ทำการทดสอบนั้นมีความเหมาะสมสามารถใช้เทคนิค LAMP ในการตรวจสอบชนิดแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ในทุกระยะการเจริญเติบโตได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็วกว่าการจำแนกชนิดด้วยเทคนิคดีเอ็นเอบาร์โคดซึ่งต้องใช้เวลาในการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequencing) ประมาณ 7-10 วัน นอกจากนี้ยังสามารถประยุกต์ใช้ในการตรวจภาคสนาม (on-site) เนื่องจากสามารถทราบผลจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนสีด้วยสายตาเพียงเท่านั้น (Nagamine *et al*., 2002) นอกจากนี้ยังสามารถนำเทคนิค LAMP ไปต่อยอดในการประยุกต์ใช้ตรวจสอบศัตรูพืชกักกันชนิดต่าง ๆได้อีกด้วย สอดคล้องกับ Blaser *et al*., 2018 ที่มีการใช้เทคนิค LAMP ในการตรวจสอบศัตรูพืชกักกัน (*Bactrocera* spp.,

*Bemisia tabaci*, *Liriomyza* spp. และ *Thrips palmi*) ที่สนามบินซูริคและเจนีวา ประเทศสวิตเซอร์แลนด์เนื่องจากการส่งออกหรือนำเข้านั้นมักเป็นผัก หรือ ผลไม้สดที่เน่าเสียได้ง่าย ดังนั้นการนำเทคนิค LAMP ที่มีความสะดวก รวดเร็ว มาใช้ในการตรวจภาคสนาม จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งเพื่อที่จะต้องจำแนกชนิดศัตรูพืชได้อย่างมั่นใจและรวดเร็วแทนกระบวนการทางห้องปฏิบัติการที่ใช้ระยะเวลานานและต้องอาศัยความเชี่ยวชาญของผู้ปฏิบัติงานเป็นอย่างสูง (Blacket *et al*., 2020, Starkei *et al*., 2021) และการศึกษาครั้งนี้เป็นครั้งแรกที่สามารถใช้เทคนิค LAMP แยกแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ออกจากแมลงวันผลไม้ชนิดอื่น ๆ ได้อย่างถูกต้อง ทำให้มั่นใจได้ว่าประเทศไทยซึ่งเป็นประเทศผู้ส่งออกผักและผลไม้รายใหญ่นั้นมีองค์ความรู้และมีเทคนิคที่มีศักยภาพสามารถระบุชนิดศัตรูพืชได้อย่างแม่นยำและรวดเร็ว ช่วยลดระยะเวลาในการตรวจวินิจฉัยแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ซึ่งเป็นศัตรูพืชที่มักพบปนเปื้อนในผัก ผลไม้ และยังเป็นศัตรูพืชกักกันของหลายประเทศคู่ค้าของประเทศไทย การศึกษาครั้งนี้ยังเป็นการเพิ่มจำนวนของไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงของเทคนิค LAMP ต่อการตรวจวินิจฉัยชนิดแมลงวันผลไม้ของโลกเพิ่มเติมอีกด้วย (Blaser *et al*., 2018; Blacket *et al*., 2020) ถือเป็นการเพิ่มศักยภาพการตรวจวินิจฉัยแมลงวันผลไม้ระดับสากล

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

งานวิจัยนี้จึงเป็นงานวิจัยแรกที่มีการประยุกต์และพัฒนาเทคนิค multiplex PCR จากคู่ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อ แมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ซึ่งเป็นศัตรูพืชที่มีความสำคัญกับพืชเศรษฐกิจ และมักพบปนเปื้อนไปกับสินค้าเกษตร ซึ่งการศึกษาครั้งนี้ยืนยันได้ว่าไพรเมอร์ทั้งสองคู่นั้นสามารถนำมาตรวจสอบแมลงวันทองฝรั่ง *B. correcta* และแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* พร้อมกันได้ในครั้งเดียว และสามารถตรวจสอบแมลงวันผลไม้ทั้งสองชนิดจากภูมิภาคต่าง ๆ ทั้ง 6 ภูมิภาคของไทยได้เป็นอย่างดี โดยใช้เพียงขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอ ทำ PCR และอิเล็กโตรโฟรีซีส เท่านั้น

นอกจากนี้พบว่าไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* นั้น สามารถพัฒนาร่วมกับไพรเมอร์จากงานวิจัยอื่น ๆ เพื่อตรวจสอบแมลงวันผลไม้ซึ่งเป็นศัตรูพืชที่มีความสำคัญกับพืชเศรษฐกิจ โดยมีความจำเพาะต่อแมลงวันผลไม้ได้ 4 ชนิดที่มักพบปนเปื้อนไปกับสินค้าเกษตรได้ในคราวเดียวกัน ได้แก่ แมลงวันแตง *Z. cucurbitae, B. dorsalis, B. tuberculata* และ *Z. cilifer*

จากการพัฒนาเทคนิค multiplex PCR สามารถนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยโดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแมลงวันผลไม้และตรวจสอบชนิดแมลงวันผลไม้ได้ เป็นการลดขั้นตอนในการตรวจสอบแมลงวันผลไม้ซึ่งใช้เพียงขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอ ทำ PCR และอิเล็กโตรโฟรีซีส เท่านั้น ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าเทคนิค multiplex PCR เป็นวิธีการตรวจสอบที่มีประสิทธิภาพ ช่วยลดระยะเวลาและค่าใช้จ่ายในการตรวจสอบได้มาก เมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจด้วยเทคนิค conventional PCR เพราะฉะนั้นเทคนิค multiplex PCR เป็นเทคนิคต้นแบบสู่การพัฒนาวิธีการตรวจสอบแมลงวันผลไม้ที่เป็นศัตรูพืชกักกันในพืชผัก และผลไม้ ก่อนการส่งออกไปยังต่างประเทศ ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อ

การวินิจฉัยชนิดศัตรูพืช งานด้านการกักกันพืช และการส่งออกผักผลไม้ของประเทศไทย เนื่องจากทำให้การวินิจฉัยแมลงศัตรูพืชมีความสะดวก รวดเร็ว แม่นยำ และเป็นที่ยอมรับในระดับสากล

นอกจากนี้การศึกษาครั้งนี้เป็นครั้งแรกของโลกที่ได้มีการพัฒนาเทคนิค LAMP โดยการออกแบบไพรเมอร์จากยีน *cox1* ให้มีความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ซึ่งเป็นเทคนิคที่ตรวจวินิจฉัยแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ได้อย่างรวดเร็วและแม่นยำ โดยสภาวะที่เหมาะสมของเทคนิค LAMP คือ ดีเอ็นเอเริ่มต้น 300 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาที่ 63 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที การทดสอบครั้งนี้ประสบความสำเร็จในการตรวจคัดแยกแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ออกจากแมลงวันผลไม้ชนิดอื่น ๆ จำนวน 20 ชนิด โดยไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับแมลงวันผลไม้ชนิดอื่น ๆ และสามารถใช้ตรวจชนิดแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ได้ทุกระยะการเจริญเติบโต ผลที่ได้มีความถูกต้อง และแม่นยำ

จากการศึกษาครั้งนี้เป็นครั้งแรกที่มีการพัฒนาเทคนิค LAMP ขึ้นสำหรับแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความรวดเร็วกว่าเทคนิคดีเอ็นเอบาร์โคดที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน เนื่องจากสามารถตรวจจำแนกชนิดแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ทุกระยะการเจริญเติบโตได้ภายในเวลา 2 ชั่วโมง และสามารถตรวจสอบผลได้ด้วยสายตาจากการเปลี่ยนสีของปฏิกิริยาได้ แทนการศึกษาลำดับพันธุกรรม (sequencing) ที่จะต้องใช้เวลานาน 7-10 วัน ด้วยคุณสมบัติและข้อดีดังกล่าว การใช้เทคนิค LAMP ในการตรวจสอบแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ซึ่งมักพบในพืชผักส่งออกอย่างต่อเนื่องจึงมีความเหมาะสมกับห้องปฏิบัติการที่มีทรัพยากรจำกัด หรือด่านตรวจพืชต่าง ๆ ที่มีการส่งออกหรือนำเข้าพืช ผัก และผลไม้ รวมทั้งสามารถประยุกต์ใช้งานในการปฏิบัติงานภาคสนามอีกด้วย

นอกจากนี้สามารถใช้องค์ความรู้จากการศึกษาครั้งนี้เพื่อเป็นต้นแบบในการประยุกต์ใช้กับศัตรูพืชสำคัญชนิดต่าง ๆ ได้อีกด้วย และข้อมูลจากการศึกษานี้ช่วยให้ประเทศไทยในฐานะประเทศผู้ส่งออก แสดงถึงความพร้อมและความสามารถในการจำแนกชนิดศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ ลดความเสี่ยงในการกีดกันทางการค้าจากประเทศปลายทาง และยังสามารถสร้างความร่วมมือกับประเทศคู่ค้าเพื่อพัฒนามาตรการกักกันและแลกเปลี่ยนข้อมูลศัตรูพืชอย่างโปร่งใส เป็นการเสริมสร้างความน่าเชื่อถือในการส่งออกอีกด้วย

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางสาวณฐณน แก้วนุ้ย นักวิชาการโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ในการช่วยเหลือทำให้งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จ และลุล่วงไปด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

ยุวรินทร์ บุญทบ จารุวัตถ์ แต้กุล ชมัยพร บัวมาศ เกศสุดา สนศิริ และ สุนัดดา เชาวลิต. 2565. การจำแนกชนิดและการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของแมลงวันผลไม้เผ่า Dacini ในประเทศไทย โดยยีน *COX1*. วารสารเกษตร. 38(2): 159-173.

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

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

Agarwal, A., L. Rako, M.K. Schutze, M.L. Starkie, T.T. Brendan, C. Rodoni and Blacket M.J. 2022. A diagnostic LAMP assay for rapid identification of an invasive plant pest, fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Sci. Rep. 12(1): 1116. https://doi: 10.1038/s41598-021-04496-x.

Blacket, M.J., A. Agarwal, L. Zheng, J.P. Cunningham, D. Britton, I. Schneider and B.C. Rodoni. 2020. A LAMP assay for the detection of *Bactrocera tryoni* Queensland fruit fly (Diptera: Tephritidae). Sci. Rep. 10(1): 9554. https://doi.org/10.1038 /s41598-020-65715-5

Blaser S, H. Diem, A. von Felten, M. Gueuning, M. Andreou, N. Boonham, J. Tomlinson, P. Müller, J. Utzinger, J.E. Frey and A. Bühlmann. 2018. From laboratory to point of entry: development and implementation of a loop-mediated isothermal amplification based genetic identification system to prevent introduction of quarantine insect species. Pest Manag Sci. 74(6): 1504-1512. https:// doi: 10.1038/s41598-020-65715-5.

Nagamine, K., T. Hase and T. Notomi. 2002. Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplification using loop primers. Mol. Cell. Probes. 16: 223-229.

Rako, L. A. Agarwal, L. Semeraro, A. Broadley, B. Rodonia and M. Blacketa.2021. A LAMP (Loop-mediated isothermal amplification) test for rapid identification of Khapra beetle (*Trogoderma granarium*). Pest Manag. Sci. 77: 5509- 5521. https:// doi 10.1002/ps.6591

Starkie, M., E. Fowler, X. Zhu, A. Agarwal, L. Rako, I. Schneider, M. Schutze, J. Royer, D. Gopurenko, P. Gillespie and M. Blacket. 2021. Loop - mediated isothermal amplifcation (LAMP) assays for detection of the New Guinea fruit fy *Bactrocera trivialis* (Drew) (Diptera: Tephritidae). Sci. Rep. 12: 12602. https:// doi: 10.1038/s41598-022-16901-0. PMID: 35871253; PMCID: PMC9308764.

**Table 1** Nucleotide of sequences and properties of broad-spectrum primer set used in *Bactrocera correcta* screening in this study primer (primer name, sequences, position, no. of base pair, temperature (Tm), % GC and size of PCR product). Details of Primers Used for PCR Amplification, Including Sequences, Positions, and Product Sizes

| No. | Primer name | Sequences | Position | No. of base pair | Tm | %GC | Size of PCR product |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Bco-F1 | CTAGGACACCCCGGAGCAC | 85-103 | 19 | 54.2 | 68.4 | 141 |
| 2 | Bco-R1 | CAGTATTAGGGGGACAAGT CAA | 204-225 | 22 | 50.3 | 45.5 | |
| 1 | Zcur-F1 | TGAGCTGTAGTATTGACAG CTCTTC | 518-542 | 25 | 52 | 44 | 83 |
| 2 | Zcur-R1 | AGCCGGGTCGAAGAAAGAG GTG | 580-601 | 22 | 60 | 59 | |

**Table 2** Preparation of the PCR Reaction Mixture with a Final Volume of 25 µL

| Reagents | Final concentration | Volume (µl) |
|---|---|---|
| dH2O | - | 6.5 |
| 2x Green PCR Master Mix Direct-load (Biotechrabbit) | 1x | 12.5 |
| 10 µM Bco-F1 | 0.4 µM | 1 |
| 10 µM Bco-F1 | 0.4 µM | 1 |
| 10 µM Zcu-F1 | 0.4 µM | 1 |
| 10 µM Zcu-R1 | 0.4 µM | 1 |
| DNA template | - | 2 |
| Total | - | 25 |

**Table 3** Thermal Cycling Protocol for PCR Amplification

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

**Table 4** Nucleotide of sequences and properties of broad-spectrum primer set used in *B. dorsalis, B. tuberculata, Z. cilifer* and *Z. cucurbitae* screening in this study primer (primer name, sequences, position, no. of base pair, temperature (Tm), % GC and size of PCR product)

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

**Table 5** PCR Reaction Setup for Multiplex Detection of Fruit Fly Species in a Total Volume of 25 µL

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

**Table 6** Thermal Cycling Conditions for Multiplex PCR Amplification

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

**Table 7** Primer name, positions and sequences of primers designed in this study for *cox1* LAMP assays were developed for the detection of *Zeugodacus cucurbitae*

| Primer name | Position | Primer sequence (5'-3') |
|---|---|---|
| 1ZC-$F_3$ | Outer | CGGGCAGAACTGGGT |
| 1ZC-$B_3$ | | TGATTCCTGTTGATCGCATAT |
| 1ZC_FIP | Inner | CGATAATTGATGAAAGGGGAGGATATTTTTTAGTGAGCAGTATAGTAGAAAACG |
| 1ZC_BIP | | TGGAGCCTCAGTTGATTTAGCTATTTTTTGTAGTAATGAAATTTACGGCC |
| 1ZC_$F_2$ | Loop | TAGTGAGCAGTATAGTAGAAAACG |
| 1ZC_$F_1$C | | CGATAATTGATGAAAGGGGAGGATA |
| 1ZC_$B_2$ | | TGTAGTAATGAAATTTACGGCC |
| 1ZC_$B_1$C | | TGGAGCCTCAGTTGATTTAGCTATT |

**Table 8** Application of LAMP for rapid detection of fruit flies in exported crops. The details of number of samples, sample collection date, intercepted fruits, destination country, LAMP test results and scientific name of fruit fly were intercepted at plant quarantine, Suvarnabhumi airport, Bangkok, Thailand

| No. | Sample Collection Date | Intercepted fruit | Destination Country | LAMP Test Result | Identified Fruit Fly Species |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 27/01/2024 | Turkey berry | Kingdom of Sweden | - | *Bactrocera latifrons* |
| 2 | 2/3/2024 | Yardlong bean | United Kingdom | + | *Zeugodacus cucurbitae* |
| 3 | 2/4/2024 | Thai eggplant | Swiss Confederation | - | *Bactrocera latifrons* |
| 4 | 2/5/2024 | Yardlong bean | Swiss Confederation | + | *Zeugodacus cucurbitae* |
| 5 | 18/2/2024 | Yellow eggplant | United Kingdom | - | *Bactrocera latifrons* |
| 6 | 25/2/2024 | Yellow eggplant | United Kingdom | - | *Bactrocera latifrons* |
| 7 | 21/2/2024 | Yardlong bean | Swiss Confederation | + | *Zeugodacus cucurbitae* |
| 8 | 3/2/2024 | Yardlong bean | United Kingdom | + | *Zeugodacus cucurbitae* |
| 9 | 3/2/2024 | Yardlong bean | Swiss Confederation | + | *Zeugodacus cucurbitae* |
| 10 | 13/3/2024 | Jujube | Kingdom of the Netherlands | - | *Bactrocera dorsalis* |
| 11 | 15/3/2024 | Striped eggplant | Czech Republic | - | *Bactrocera latifrons* |

**Table 8** Application of LAMP for rapid detection of fruit flies in exported crops. The details of number of samples, sample collection date, intercepted fruits, destination country, LAMP test results and scientific name of fruit fly were intercepted at plant quarantine, Suvarnabhumi airport, Bangkok, Thailand

| No. | Sample Collection Date | Intercepted fruit | Destination Country | LAMP Test Result | Identified Fruit Fly Species |
|---|---|---|---|---|---|
| 12 | 4/2/2024 | Jujube | United Kingdom | - | *Bactrocera dorsalis* |
| 13 | 4/6/2024 | Thai eggplant | United Kingdom | - | Bactrocera latifrons |
| 14 | 4/9/2024 | Rose apple | United Kingdom | - | Bactrocera dorsalis |
| 15 | 4/9/2024 | Rambai fruit | Swiss Confederation | - | Bactrocera dorsalis |
| 16 | 13/4/2024 | Jujube | United Kingdom | - | Bactrocera dorsalis |
| 17 | 5/6/2024 | Rambai fruit | French Republic | - | Bactrocera dorsalis |
| 18 | 6/5/2024 | Rambai fruit | United Kingdom | - | Bactrocera dorsalis |
| 19 | 16/6/2024 | Yardlong bean | United Kingdom | + | Zeugodacus cucurbitae |
| 20 | 16/6/2024 | Yardlong bean | Swiss Confederation | + | Zeugodacus cucurbitae |
| 21 | 24/6/2024 | Yardlong bean | Swiss Confederation | + | Zeugodacus cucurbitae |
| 22 | 26/6/2024 | Yardlong bean | Swiss Confederation | + | Zeugodacus cucurbitae |
| 23 | 7/6/2024 | Thai eggplant | Kingdom of Sweden | - | Bactrocera latifrons |
| 24 | 7/7/2024 | Yardlong bean | Kingdom of Sweden | - | Bactrocera dorsalis |
| 25 | 29/7/2024 | Yardlong bean | United Kingdom | - | Bactrocera dorsalis |

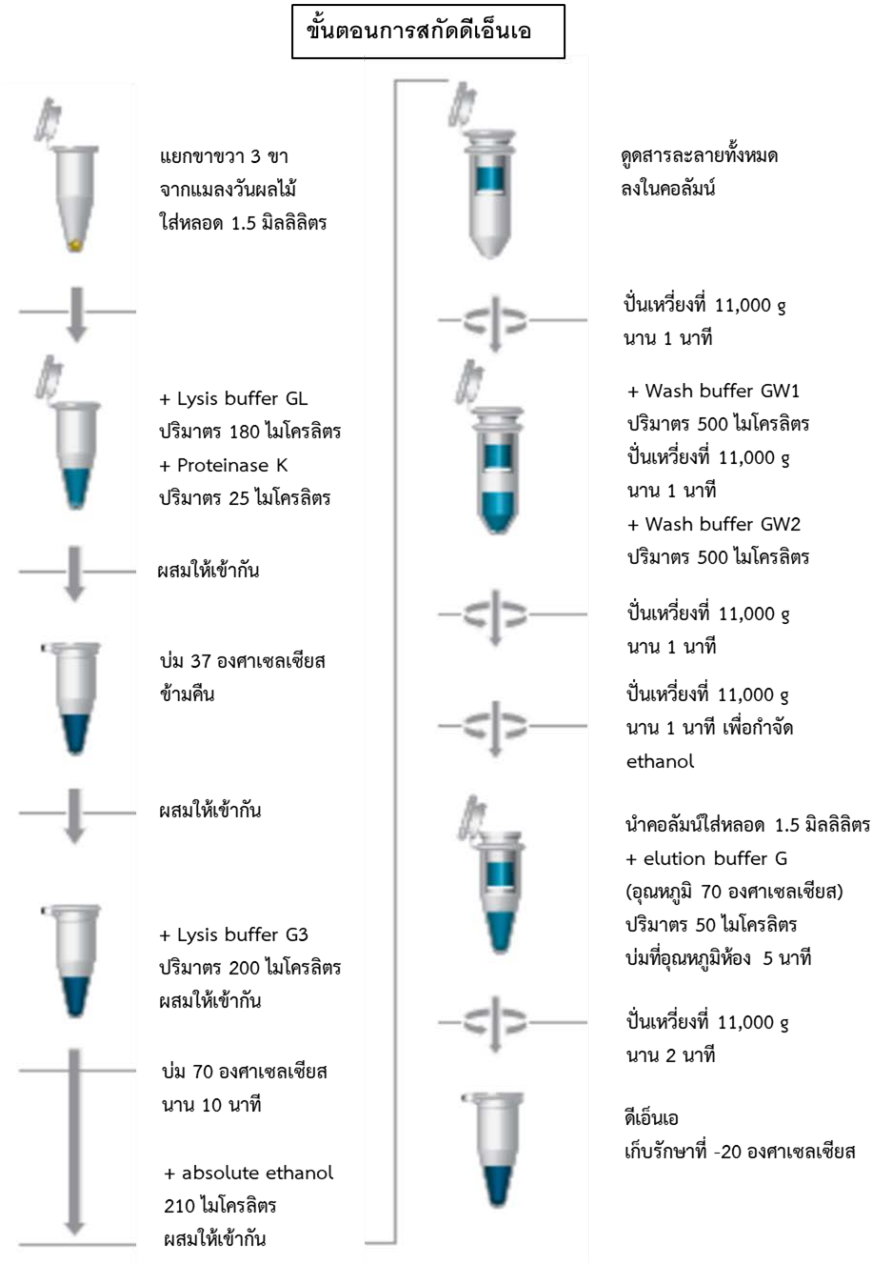



**Figure 1** The DNA extraction process from fruit fly samples for the identification of the guava fruit fly (*Bactrocera correcta*) and the melon fly (*Zeugodacus cucurbitae*) using multiplex PCR with species-specific primers

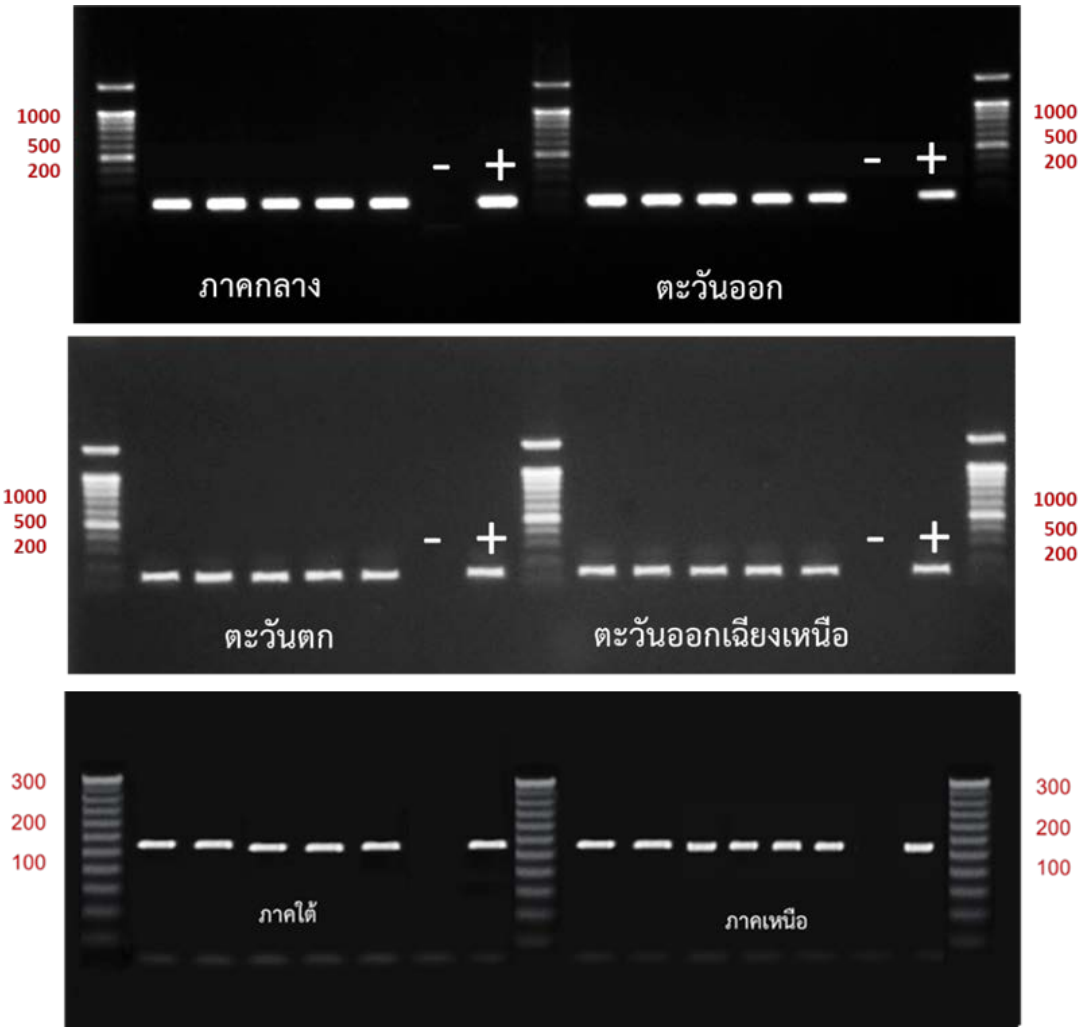



**Figure 2** PCR product of *Bactrocera correcta* from six Thai biogeographical regions (Central, East, West, Northeast, South, and North) was amplified using the *B. correcta* - specific primer pair Bco-F1 and Bco-R1. Negative control was dd$H_2O$. Positive control sample was *B. correcta*. Lane M: D2000 Marker

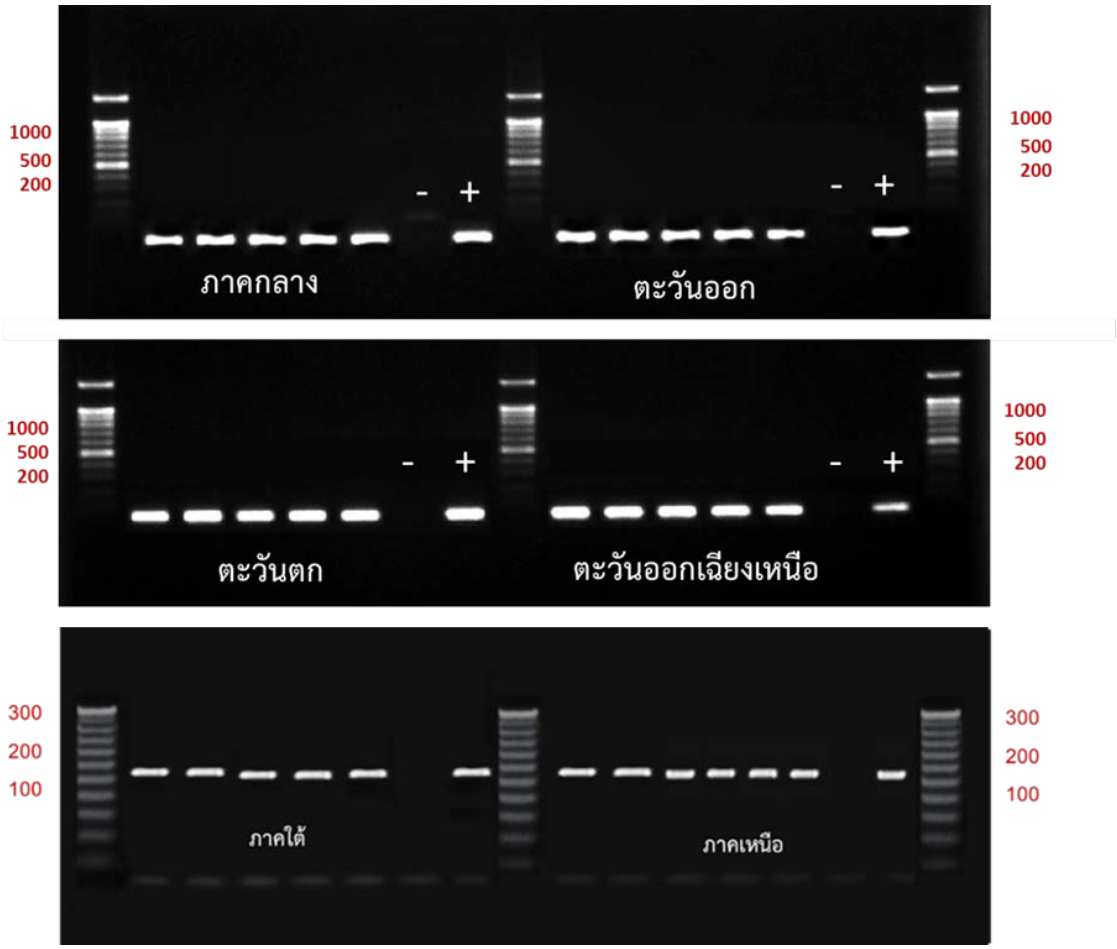



**Figure 3** PCR product of *Zeugodacus curcubitae* from six Thai biogeographical regions (Central, East, West, Northeast, South, and North) was amplified using the *Z. curcubitae* - specific primer pair Zcu-F1 and Zcu-R1. Negative control was dd$H_2O$. Positive control sample was *B. correcta*. Lane M: D2000 Marker

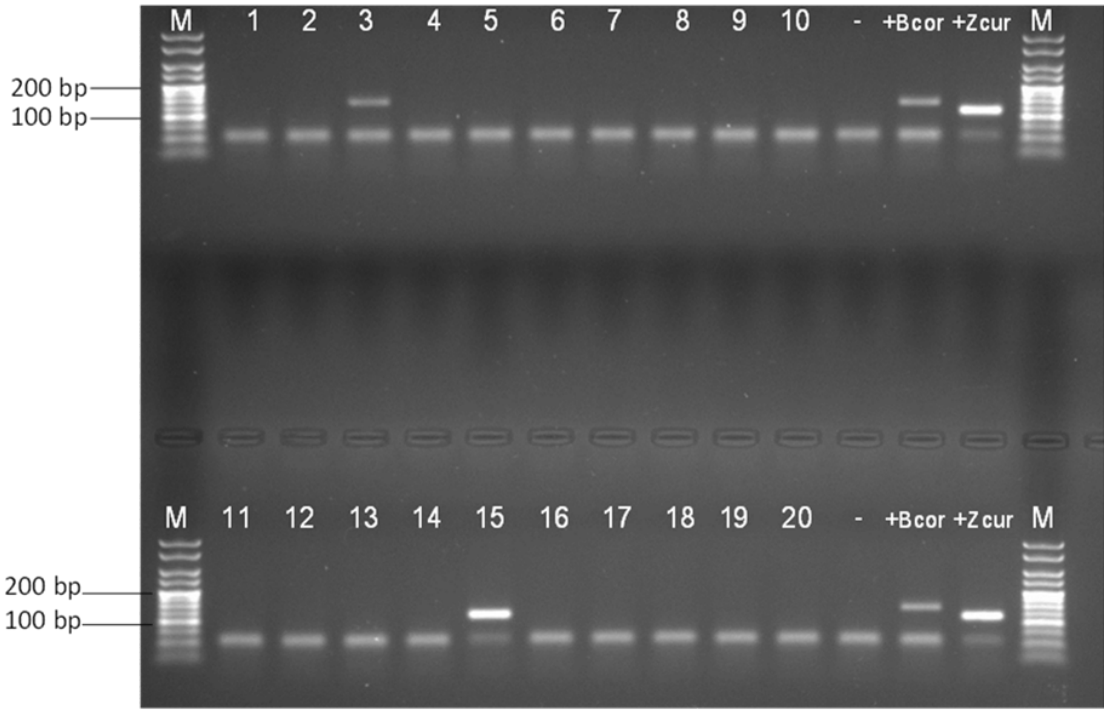



**Figure 4** PCR product of *Bactrocera correcta* from six Thai biogeographical regions (Central, East, West, Northeast, South, and North) was amplified using the *B. correcta* - specific primer pair Bco-F1 and Bco-R1. Negative control was dd$H_2O$. Positive control sample was *B. correcta*. Lane M: D2000 Marker

1. *Bactrocera albistrigata* 2. *Bactrocera carambolae* 3. *Bactrocera correcta*
4. *Bactrocera dorsalis* 5. *Bactrocera latifrons* 6. *Bactrocera limbifera*
7. *Bactrocera tuberculata* 8. *Bactrocera umbrosa* 9. *Bactrocera zonata*
10. *Dacus longicornis* 11. *Dacus spaeroidalis* 12. *Zeugodacus apicalis*
13. *Zeugodacus caudatus* 14. *Zeugodacus cilifer* 15. *Zeugodacus cucurbitae*
16. *Zeugodacus hochii* 17. *Zeugodacus incisus* 18. *Zeugodacus isolatus*
19. *Zeugodacus platamus* 20. *Zeugodacus tau*

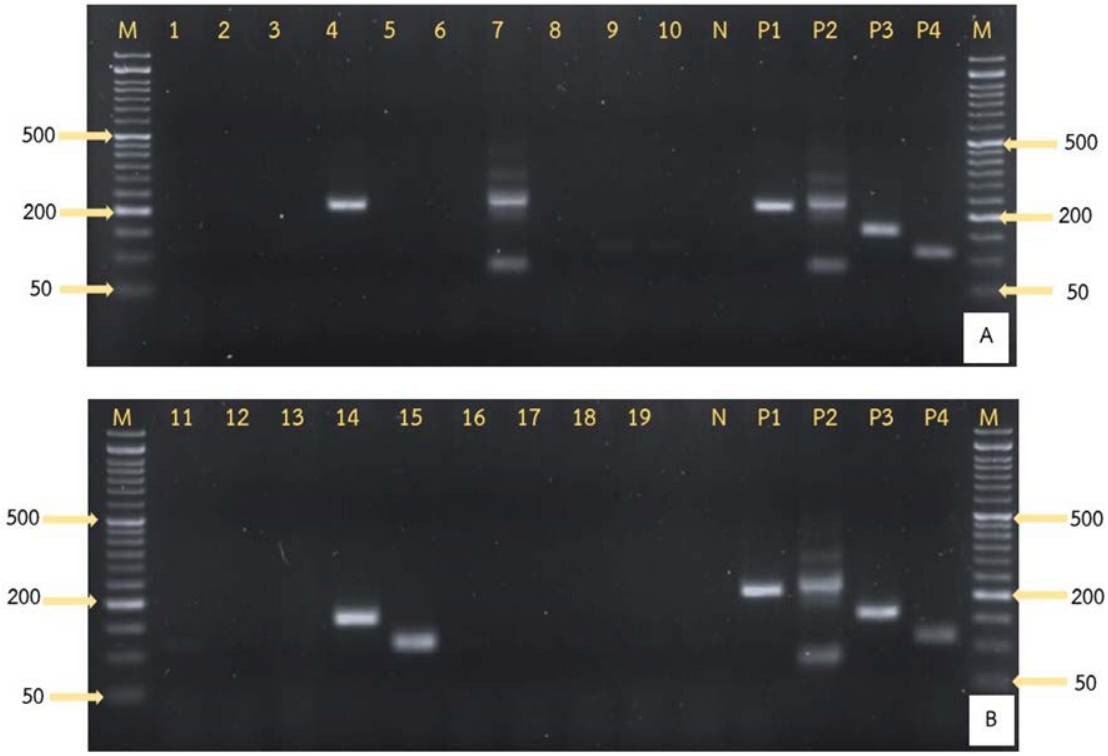



**Figure 5** The PCR products from the detection of the guava fruit fly, Bactrocera correcta, and the melon fly, Zeugodacus cucurbitae, using multiplex PCR with species-specific primers were analyzed. The assay was conducted using DNA extracted from 19 species of fruit flies as follows:

1 = *B. albistrigata,* 2 = *B. carambolae,* 3 = *B. correcta,* 4 = *B. dorsalis,*

5= *B. latifrons,* 6= *B. limbifera,* 7 = *B. tuberculata,* 8 = *B. umbrosa,*

9 = *B. zonata,* 10 = *D. longicornis,* 11 = *D. spaeroidalis,* 12 = *Z. apicalis,*

13 = *Z. caudatus,* 14 = *Z. cilifer,* 15 = *Z. cucurbitae,* 16 = *Z. hochii,*

17= *Z. incisus,* 18 = *Z. isolatus,* 19 = *Z. platamus,* N = Nuclease free water,

P1 = *B. dorsalis,* P2 = *B. tuberculata,* P3 = *Z. cilifer,* P4 = *Z. cucurbitae*

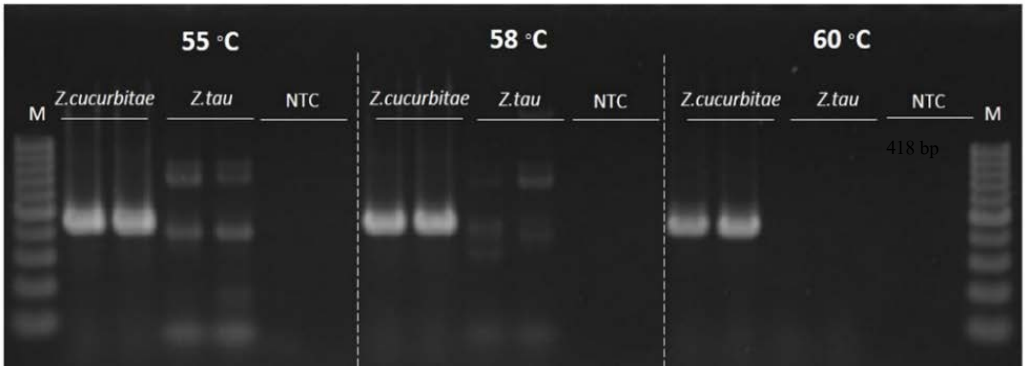



**Figure 6** The specificity of the outer primer set was demonstrated using PCR at different temperatures (M = 100 bp ladder marker; NTC = H2O negative template control)

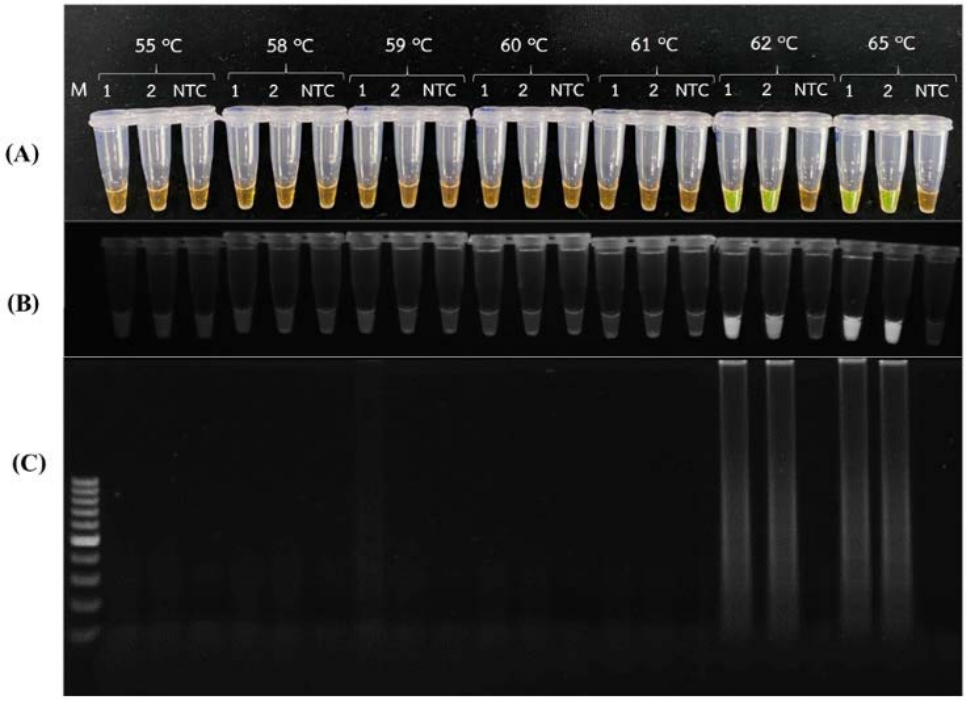



**Figure 7** The specificity of the primer set was demonstrated using the LAMP technique at 55°C - 65°C. (A) The fluorescence of DNA-binding SYBR Green I was visually detected under visible light: positive reactions (green) at 62°C and 65°C, negative reactions (orange) (B) UV light (C) Agarose gel electrophoresis of LAMP products. (M = 100 bp ladder marker, 1-2 = replicates, NTC = $H_2O$ negative template control)

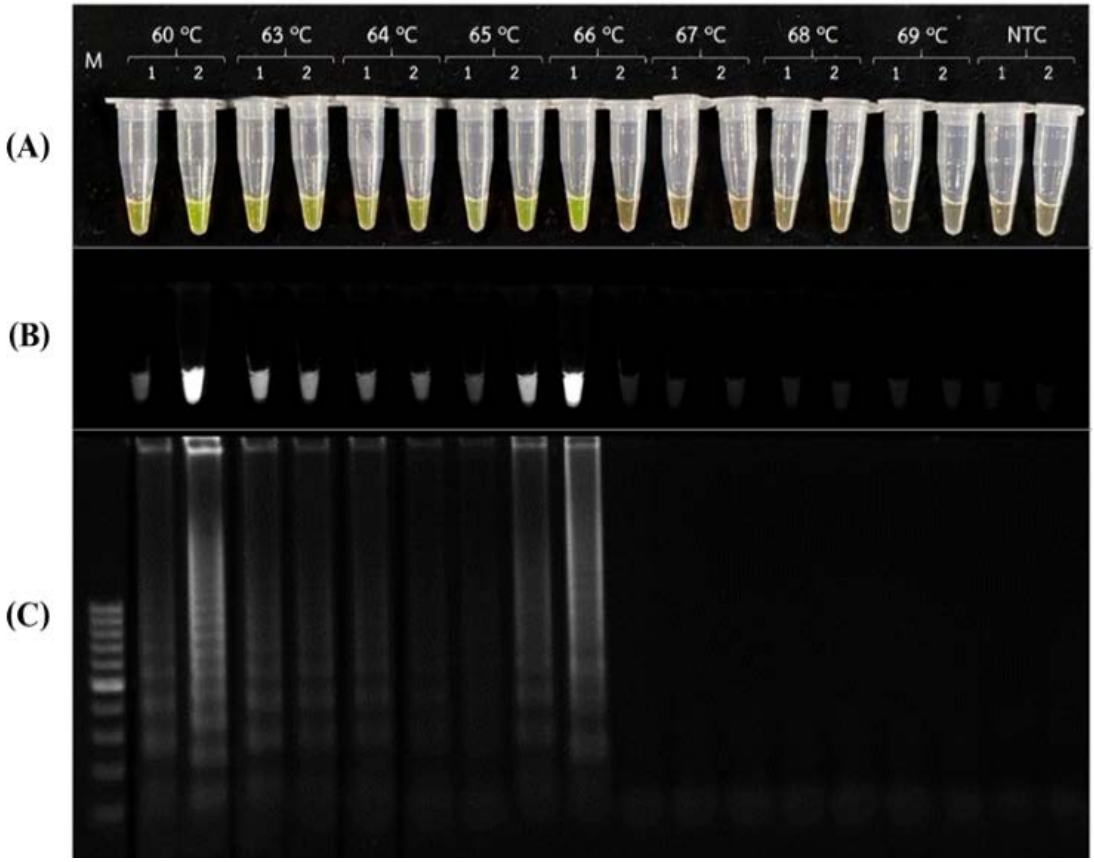



**Figure 8** The optimal temperature for the LAMP reaction is 60-65°C for detecting in *Zeugodacus cucurbitae.* (A) shows the visual detection of amplified products at various temperatures (60°C to 69°C), with green coloration indicating successful amplification. (B) the fluorescence under UV light (C) agarose gel electrophoresis results. (M = 100 bp ladder marker, 1-2 = replicates, NTC = $H_2O$ negative template control)

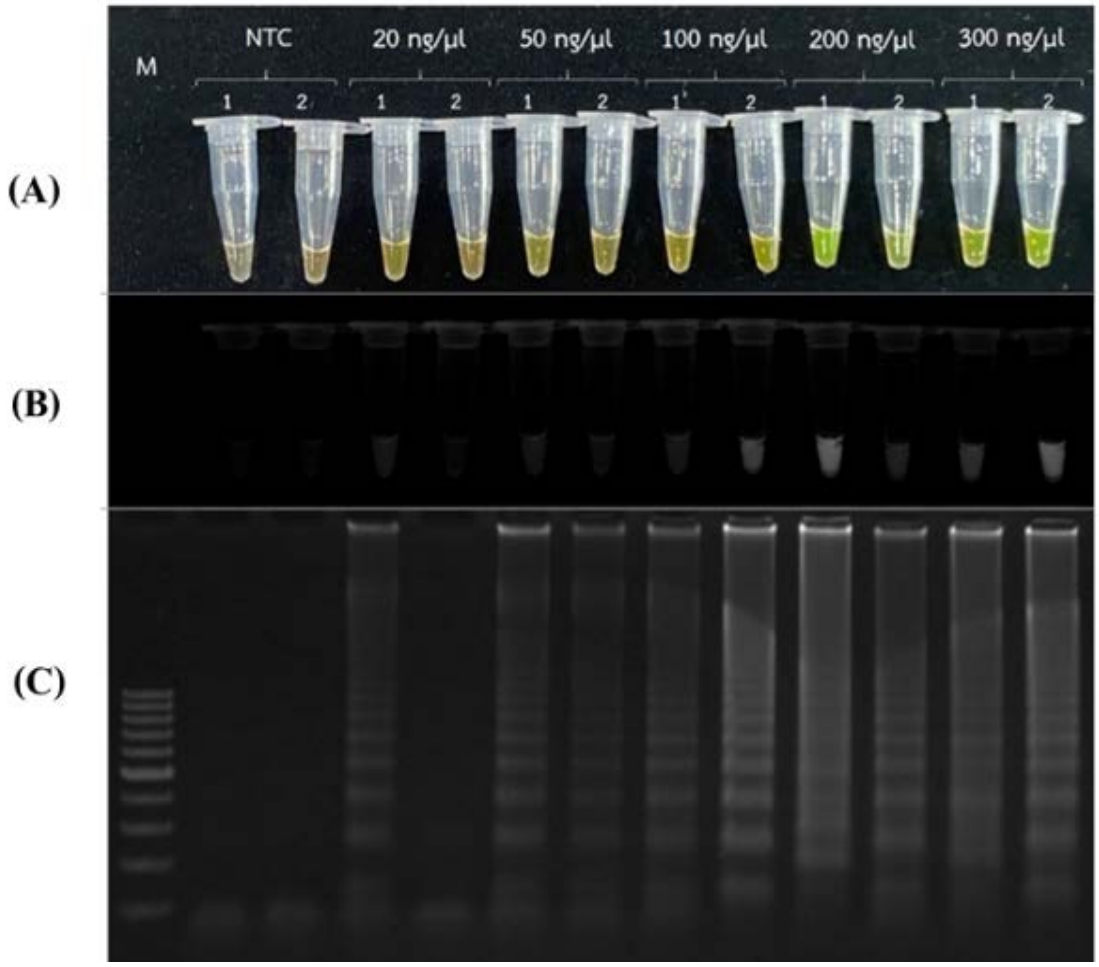



**Figure 9** The optimal starting DNA concentration for the LAMP reaction is 20-300 nanograms per microliter for detecting the *Zeugodacus cucurbitae*. The reaction is performed at 63°C (A) shows the visual detection of amplified products at various concentration (20 - 300 nanograms) (B) the fluorescence under UV light (C) displays agarose gel electrophoresis results. (M = 100 bp ladder marker, 1-2 = replicates, NTC = $H_2O$ negative template control)

**Figure 10** The fluorescence of DNA-binding SYBR Green I was visually detected under visible light (A) and UV light (B). (C) Agarose gel electrophoresis of LAMP products obtained using different reaction times (15, 30, 45, 60, 90 and 120 minutes) as indicated. DNA was obtained in all cases at 63°C with a concentration of 300 µg/µL. (M = 100 bp ladder marker, 1-2 = $H_2O$ Negative template control, 3-4 = *Z. cucurbitae*)

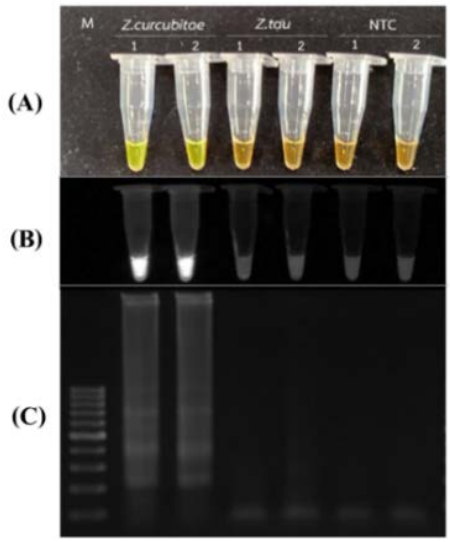



**Figure 11** The LAMP reaction results for differentiating *Zeugodacus cucurbitae* from the closely related species *Z. tau.* (A) visible light with SYBR, (B) ultraviolet light with SYBR, and (C) gel electrophoresis. (M = 100 bp ladder marker, 1-2 = replicates, NTC = $H_2O$ negative template control)

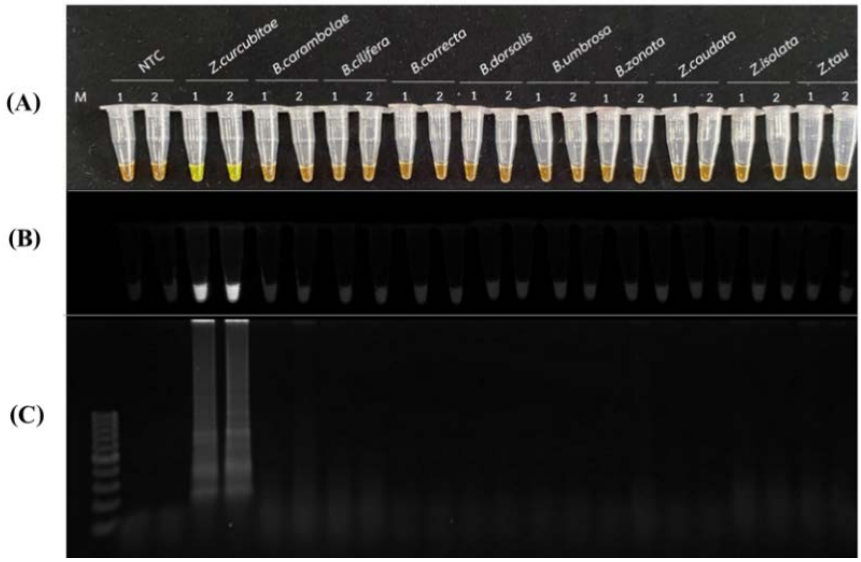



**Figure 12** LAMP primers demonstrated high specificity, sensitivity, and reliability for *Zeugodacus cucurbitae* when validated against representatives of 9 fruit fly species. (A) visible light with SYBR, (B) ultraviolet light (C) gel electrophoresis. (M=100 bp ladder marker, NTC=$H_2O$ Negative template control)

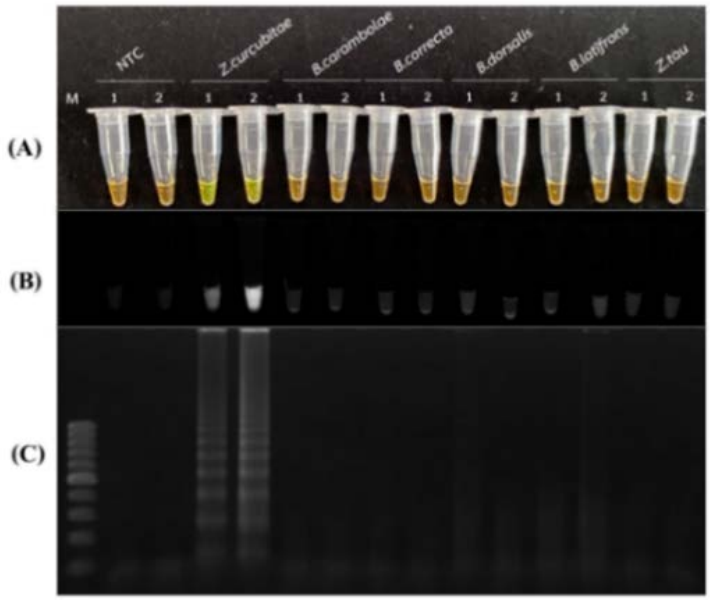



**Figure 13** The LAMP reaction results for identifying the melon fly *Zeugodacus cucurbitae* at the larval stage. (A) visible light with SYBR, (B) ultraviolet light (C) gel electrophoresis. (M = 100 bp ladder marker, 1-2 = replicates, NTC = $H_2O$ negative template control)

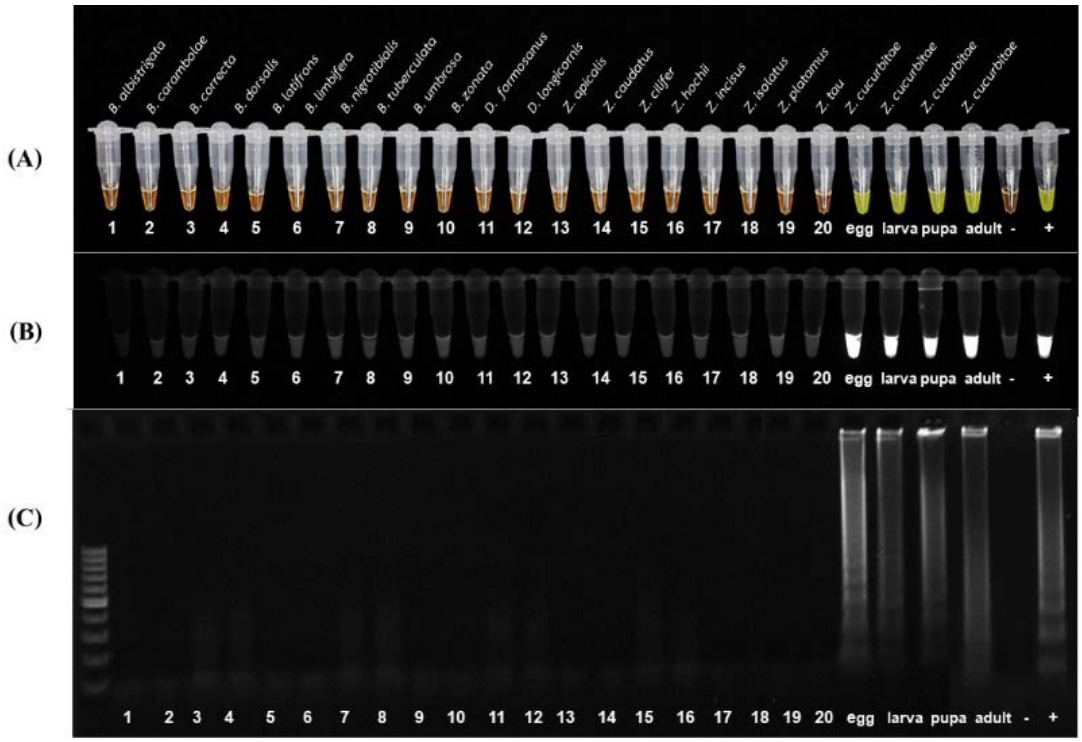



**Figure 14** LAMP primers validated against representatives of 21 fruit fly species. (A) visible light with SYBR, (B) ultraviolet light with SYBR, and (C) gel electrophoresis. (M=100 bp ladder marker, NTC=$H_2O$ Negative template control)

# พัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas perforans* สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ

# Developing Method to Detection of *Xanthomonas perforans* Causing Bacterial Spot of Chili and Tomato

**ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[1/] ทิพวรรณ กันหาญาติ[2/]**
**ชลธิชา รักใคร่[3/] วันเพ็ญ ศรีชาติ[4/]**
**[1/]ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
**[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
**[3/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
**[4/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2**

## Abstract

The bacterium *Xanthomonas perforans* is seed-transmissible and is listed as a quarantine pest on the EPPO A2 list, requiring Thailand to certify its absence before seed export. Therefore, a rapid and accurate detection method is essential to support seed exports. This study aimed to develop a PCR-based detection method for *X. perforans* as a tool for certifying agricultural exports in compliance with trading partner requirements and for quarantine pest surveillance. The study was conducted from October 2021 to March 2025, focusing on selecting primers suitable for PCR-based detection of *X. perforans*. The HpaF-f/HpaF-r primers were found to be highly effective, accurately detecting *X. perforans* in all tested isolates and at low bacterial concentrations. Diagnostic testing from samples demonstrated that the PCR detection of *X. perforans* in tomato leaves with leaf spot symptoms, using centrifugation and DNA extraction methods for sample preparation, produced consistent results. For tomato seed samples, the soaking method in 0.85% NaCl solution was used, which required less time while maintaining accurate detection of *X. perforans*. The findings of this study provide an efficient tool for agricultural export certification in compliance with trading partner requirements and for effective quarantine pest surveillance.

**Keyword :** leaf spot, chili, tomato, detection

รหัสการทดลอง FF65-55-04-65-01-03-65

## บทคัดย่อ

เชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดได้ และเป็นศัตรูพืชกักกันที่มีรายชื่ออยู่ใน EPPO A2 list ซึ่งทำให้ประเทศไทยต้องตรวจรับรองการปลอดเชื้อดังกล่าวก่อนการส่งออก เทคนิควิธีการตรวจสอบเชื้อที่รวดเร็วและแม่นยำ จึงมีความจำเป็นในการช่วยสนับสนุนการส่งออกเมล็ดพันธุ์เป็นอย่างยิ่ง การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจสอบแบคทีเรีย *X. perforans* ด้วยเทคนิค PCR สำหรับใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจรับรองสินค้าเกษตรในการส่งออกตามเงื่อนไขของประเทศคู่ค้าและเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน โดยการทดลองในเดือนตุลาคม 2564 - มีนาคม 2568 ได้ดำเนินการคัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถใช้ในการตรวจสอบแบคทีเรีย *X. perforans* ด้วยเทคนิค PCR ได้ พบว่าไพรเมอร์ HpaF-f/HpaF-r มีประสิทธิภาพ สามารถตรวจแบคทีเรีย *X. perforans* ได้ถูกต้องทุกไอโซเลตและสามารถตรวจเชื้อแบคทีเรียได้ในปริมาณต่ำ ทดสอบการตรวจวินิจฉัยจากตัวอย่าง พบว่าวิธีการตรวจ *X. perforans* ในใบมะเขือเทศที่แสดงอาการใบจุดด้วยเทคนิค PCR จากการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธี centrifugation และ DNA extraction ให้ผลการตรวจที่สอดคล้องกัน ส่วนตัวอย่างเมล็ดมะเขือเทศใช้วิธี soaking ในสารละลาย 0.85% NaCl ซึ่งใช้เวลาน้อยและสามารถตรวจวินิจฉัย *X. perforans* ได้อย่างถูกต้อง ซึ่งผลจากการศึกษาในครั้งนี้สามารถใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจรับรองสินค้าเกษตรในการส่งออกตามเงื่อนไขของประเทศคู่ค้าและเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ


**คำหลัก :** ใบจุด, พริก, มะเขือเทศ, ตรวจสอบ

## คำนำ

โรคใบจุดที่เกิดจากแบคทีเรียของพริกและมะเขือเทศเป็นโรคที่สำคัญของประเทศผู้ผลิตพริกและมะเขือเทศทั่วโลกโดยเฉพาะในเขตร้อนและร้อนชื้นเนื่องจากทำให้ผลผลิตลดลงถึง 50% (Pohronezny and Volin, 1983) มีรายงานเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* หลายชนิดเป็นสาเหตุโรคและมีการจัดจำแนกเชื้อสาเหตุและเปลี่ยนชื่อใหม่หลายครั้ง การจัดจำแนกเชื้อโดย Jones *et al*. (2004) พบความแตกต่างกันภายในกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* สาเหตุโรคใบจุดในพริกและมะเขือเทศ จากการใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันและผลการศึกษา DNA-DNA hybridization ทำให้แบ่งกลุ่มเชื้อใหม่เป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ *X. euvesicatoria X. perforans X. vesicatoria* และ *X. gardneri* (Jones *et al*., 2004)

เชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดได้ อีกทั้งการพบข้อมูลอ้างอิงเชื้อ *X. perforans* จากประเทศไทยในผลงานตีพิมพ์ของต่างประเทศ (Strayer *et al*., 2016; Timilsina *et al*., 2020) จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีวิธีการตรวจสอบเชื้อที่มีความแม่นยำ เนื่องจากประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศเพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมในประเทศและส่งกลับไปจำหน่ายยังต่างประเทศ นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* เป็นศัตรูพืชที่มีรายชื่ออยู่ใน EPPO

A2 list (EPPO, 2013) ซึ่งทำให้ประเทศไทยต้องตรวจรับรองการปลอดเชื้อดังกล่าวก่อนการส่งออก Koenraadit *et al*. (2009) ได้พัฒนา specific primer สำหรับใช้ตรวจวินิจฉัยแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ โดยใช้เทคนิค PCR แต่จากรายงานของ Roach *et al*. (2018) ซึ่งจำแนกเชื้อ *Xanthomonas* สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศที่พบในออสเตรเลียและใช้วิธีการของ Koenraadit *et al*. (2009) พบว่าไม่สามารถตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* ที่พบในออสเตรเลียได้ ดังนั้น เทคนิควิธีการตรวจวินิจฉัยเชื้อที่รวดเร็วและแม่นยำ จึงมีความจำเป็นในการช่วยสนับสนุนการส่งออกเมล็ดพันธุ์เป็นอย่างยิ่ง การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจสอบแบคทีเรีย *X. perforans* ด้วยเทคนิค PCR สำหรับใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจรับรองสินค้าเกษตรในการส่งออกตามเงื่อนไขของประเทศคู่ค้าและเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง เช่น อุปกรณ์จับพิกัด GPS ถุงพลาสติก

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น กระบอกตวง จานเลี้ยงเชื้อ ลูป ตู้อบลมร้อน หม้อนึ่งความดันไอ ตู้ควบคุมอุณหภูมิ เครื่องชั่ง ปิเปตต์ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง อ่างควบคุมอุณหภูมิ เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เครื่องแยกวิเคราะห์สารพันธุกรรม เครื่องถ่ายภาพสารพันธุกรรม

3. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ สกัดดีเอ็นเอ และทำปฏิกิริยา PCR เช่น ชุดสกัดดีเอ็นเอ QIAamp DNA Mini kit (Qiagen, USA) สารเคมี One PCR Master Mix (GeneDirex® Inc., Taiwan) ดีเอ็นเอขนาดมาตรฐาน Onemark 100 (GeneDirex® Inc., Taiwan)

### วิธีการ

**1. คัดเลือกไพรเมอร์และทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของเทคนิค PCR ในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ**

1.1 สืบค้นข้อมูลและคัดเลือกไพรเมอร์

สืบค้นข้อมูลไพรเมอร์ที่มีรายงานว่าสามารถใช้ตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศได้อย่างเฉพาะเจาะจง และคัดเลือกเพื่อสั่งสังเคราะห์สำหรับใช้ในการตรวจวินิจฉัย

1.2 ทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของเทคนิค PCR ในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ

ดำเนินการทดสอบไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับการตรวจวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศด้วยเทคนิค PCR ตามรายงานของ Koenraadt *et al*. (2009) โดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้น 10 ng/µl, 1X One PCR Master Mix (GeneDirex Inc., Taiwan) และไพรเมอร์ชนิดละ 0.2 µM เพิ่มปริมาณ

ดีเอ็นเอด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ Biometra TAdvanced (Analytik Jena GmbH, Germany) ตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส และตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตด้วยเครื่อง UVITEC Cambridge Platinum (Uvitec Ltd., UK)

**2. ทดสอบความจำเพาะ (specificity) และความไว (sensitivity) ของเทคนิคทางโมเลกุลในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ**

นำดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบมาวัดความเข้มข้นและคุณภาพของดีเอนเอที่ช่วงคลื่น A260/A280 ด้วยเครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (GENESYS 150 UV-Vis Spectrophotometer, Thermo Fisher Scientific Inc., USA) และปรับความเข้มข้นดีเอ็นเอเท่ากับ 10 ng/ul เพื่อนำไปทดสอบความจำเพาะของไพรเมอร์ด้วยเทคนิค PCR และทดสอบความไวในการตรวจสอบโดยใช้ DNA ของแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 5 นาโนกรัม ถึง 5 เฟมโตกรัม ตรวจด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรีย, 1X One PCR Master Mix (GeneDirex Inc., Taiwan) และไพรเมอร์ ชนิดละ 0.2 µM เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ Biometra TAdvanced (Analytik Jena GmbH, Germany) ตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส และตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตด้วยเครื่อง UVITEC Cambridge Platinum (Uvitec Ltd., UK)

**3. ทดสอบวิธีการที่เหมาะสมในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศจากตัวอย่างพืช**

**3.1 วิธีการตรวจจากตัวอย่างพืชที่แสดงอาการ**

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างที่มีลักษณะอาการคล้ายโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศจากแหล่งปลูกสำคัญ เช่น กาญจนบุรี เชียงใหม่ ตาก นครพนม สกลนคร หนองคาย อุบลราชธานี สระบุรี และน่าน เป็นต้น เพื่อนำมาใช้ในสำหรับทดสอบวิธีการที่เหมาะสมในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ โดยมีวิธีการเตรียมตัวอย่างดังนี้

3.1.1 น้ำบดใบพืช (sap) : เตรียมตัวอย่างโดยตัดใบที่แสดงอาการใบจุดบดในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ นำส่วนของน้ำบดใบพืช (sap) มาใช้ในการตรวจด้วย PCR

3.1.2 เตรียมตัวอย่างโดยตัดใบที่แสดงอาการใบจุด บดในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ นำส่วนของน้ำบดใบพืช (sap) มาปั่นเหวี่ยงตกตะกอน (centrifugation) ที่ความเร็ว 10,000g เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนน้ำใสออก ละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นจึงนำมาตรวจด้วย PCR

3.1.3 เตรียมตัวอย่าง (DNA extraction) โดยตัดใบที่แสดงอาการใบจุดบดในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ นำส่วนของน้ำบดใบพืช (sap) มาปั่นเหวี่ยงตกตะกอนน้ำบดใบพืช (centrifugation) ความเร็ว 10,000g เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนน้ำใสออก สกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอ QIAamp DNA Mini kit (Qiagen, USA) ขั้นตอนตามคำแนะนำของผลิตภัณฑ์ จากนั้นนำมาใช้ในการตรวจด้วย PCR

ทำปฏิกิริยา PCR ด้วยสภาวะที่เหมาะสม โดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรีย, 1X One PCR Master Mix (GeneDirex Inc., Taiwan) และไพรเมอร์ชนิดละ 0.2 µM เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ Biometra TAdvanced (Analytik Jena GmbH, Germany) ตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส และตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตด้วยเครื่อง UVITEC Cambridge Platinum (Uvitec Ltd., UK)

**3.2 วิธีการตรวจจากตัวอย่างเมล็ด** มีวิธีการเตรียมตัวอย่างดังนี้

เตรียมตัวอย่างเมล็ดมะเขือเทศ โดยวิธีการแช่เมล็ด (soaking) ใน 0.85% NaCl ในอัตราส่วน 3 มิลลิลิตร/เมล็ด 1 กรัม เขย่าที่อุณหภูมิห้อง ความเร็ว 140 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นปั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความเร็ว 10,000g เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนน้ำใสออก แล้วละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นจึงนำมาตรวจด้วย PCR

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2564 – มีนาคม 2568

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. คัดเลือกไพรเมอร์และทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของเทคนิค PCR ในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ**

คัดเลือกไพรเมอร์ (Table 1) สกัดดีเอ็นเอ และได้สภาวะการทำ PCR ที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัย *X. perforans* ดังนี้ คู่ไพรเมอร์ Bs-XpF และ Bs-XpR ตามรายงานของ Koenraadt *et al*. (2009) ซึ่งใช้ใน diagnostic protocol ของ EPPO (EPPO, 2023) กำหนดอุณหภูมิและเวลาในขั้นตอนการทำปฏิกิริยา PCR ดังนี้ 94°C นาน 5 นาที, 94°C นาน 30 วินาที, 66°C นาน 1 นาที, 72°C นาน 1 นาที จำนวน 30 รอบ และที่ 72°C นาน 7 นาที มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 197 bp และคู่ไพรเมอร์ตามรายงานของ Ning (2012) ได้แก่ HpaF-f และ HpaF-r กำหนดอุณหภูมิและเวลาในขั้นตอนการทำปฏิกิริยา PCR ดังนี้ 94°C นาน 5 นาที, 94°C นาน 30 วินาที, 65°C นาน 30 วินาที, 72°C นาน 30 วินาที จำนวน 10 รอบ และที่ 94°C นาน 30 วินาที, 58°C นาน 30 วินาที, 72°C นาน 30 วินาที จำนวน 20 รอบ และที่ 72°C นาน 10 นาที มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 300 bp โดยใช้ดีเอ็นเอแบคทีเรีย *X. perforans* จากมะเขือเทศ 3 ไอโซเลต จากศูนย์เก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ กลุ่มวิจัยโรคพืช (Figure 1)

**2. ทดสอบความจำเพาะ (specificity) และความไว (sensitivity) ของเทคนิคทางโมเลกุลในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ**

ทดสอบความจำเพาะของไพรเมอร์ต่อเชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* ด้วยเทคนิค PCR พบว่าไพรเมอร์ HpaF-f/HpaF-r ตรวจสอบแบคทีเรีย *X. perforans* ได้ถูกต้องทุกไอโซเลต ไม่เกิดผลบวกกับแบคทีเรียชนิดอื่นที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ แบคทีเรีย *X. euvesicatoria*, *X. campestris* pv. *campestris*, *X. citri* pv. *citri*, *X. oryzae* pv. *oryzae*, *X. oryzae* pv. *oryzicola*, *Acidovorax cattleyae*, *A. citrulli*, *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli*, *Dickeya zeae*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* และ *Ralstonia pseudosolanacearum* ส่วนไพรเมอร์ BS-XpF/BS-XpR ไม่สามารถตรวจได้ทุกไอโซเลต (Figure 2) ไพรเมอร์มีความไวในการตรวจดีเอ็นเอความเข้มข้นต่ำสุด 5 เฟมโตกรัมต่อไมโครลิตร และ 50 พิโคกรัมต่อไมโครลิตร ความเข้มข้นของเซลล์แบคทีเรียที่ $5x10^2$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร และ $5x10^3$ โคโลนีต่อต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (Figure 3)

การใช้ไพรเมอร์ Koenraadt *et al.* (2009) ตามมาตรฐาน EPPO Diagnostic Protocol PM 7/110 (1) (EPPO, 2023) ไม่สามารถตรวจพบเชื้อ *X. perforans* สายพันธุ์ที่พบในประเทศไทย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Roach *et al*. (2017) ที่พบว่าการใช้วิธีนี้ตรวจพบเชื้อได้เพียงบางส่วนในออสเตรเลีย และไม่มีการทดสอบกับเชื้อจากไทย ขณะที่รายงานของ Tapia-de la Barrera *et al.* (2023) ไม่พบปัญหาในการตรวจสอบเชื้อชนิดนี้ในเม็กซิโก จากข้อมูลดังกล่าว งานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ไพรเมอร์ HpaF-f/HpaF-r ที่ออกแบบจากยีน *hpaF* (Ning, 2012) ซึ่งให้ผลการตรวจแม่นยำกว่า

**3. ทดสอบวิธีการที่เหมาะสมในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศจากตัวอย่างพืช**

ในการศึกษานี้ ได้เลือกใช้ไพรเมอร์ HpaF-f/HpaF-r สำหรับทดสอบการตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* จากตัวอย่างใบพริกและมะเขือเทศที่แสดงอาการใบจุด จำนวน 40 ตัวอย่าง โดยทำการบดใบพืชในน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วนำตัวอย่างไปตรวจหาเชื้อภายใต้กระบวนการเตรียมตัวอย่างที่แตกต่างกัน พบว่า วิธีปั่นเหวี่ยงตกตะกอน (centrifugation) และการสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction) ให้ประสิทธิภาพดีกว่าการตรวจจากน้ำบดใบพืช (sap) โดยตรง (Figure 4; Table 2)

สำหรับการตรวจหาเชื้อจากเมล็ดมะเขือเทศ ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากกลุ่มตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช โดยใช้วิธีแช่เมล็ดในสารละลาย NaCl 0.85% อัตราส่วน 3 มิลลิลิตรต่อเมล็ด 1 กรัม เขย่าที่อุณหภูมิห้องด้วยความเร็ว 140 รอบ/นาที นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ 10°C ความเร็ว 10,000g นาน 10 นาที แล้วเทส่วนน้ำใสออกและละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ผลการตรวจไม่พบเชื้อ *X. perforans* อย่างไรก็ตาม เมื่อนำเมล็ดที่ผสมเชื้อ *X. perforans* มาทดสอบ พบว่าสามารถตรวจพบเชื้อได้อย่างแม่นยำ (Figure 5)

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ในงานวิจัยนี้ได้คัดเลือกไพรเมอร์ 2 คู่ สำหรับตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas perforans* ด้วยเทคนิค PCR ได้แก่ คู่ไพรเมอร์ Bs-XpF/Bs-XpR ซึ่งให้ผลิตภัณฑ์ PCR ขนาด 197 bp

ตามรายงานของ Koenraadt *et al*. (2009) ซึ่งถูกนำมาใช้ในแนวทางการวินิจฉัยของ EPPO และคู่ไพรเมอร์ HpaF-f/HpaF-r ซึ่งให้ผลิตภัณฑ์ PCR ขนาด 300 bp ตามรายงานของ Ning (2012)

จากการทดสอบความจำเพาะและความไวของทั้งสองชุดไพรเมอร์ พบว่าไพรเมอร์ HpaF-f/HpaF-r มีประสิทธิภาพดีกว่า โดยสามารถตรวจพบเชื้อ *X. perforans* ได้ถูกต้องในทุกไอโซเลต และไม่เกิดผลบวกลวงกับแบคทีเรียชนิดอื่น ขณะที่ไพรเมอร์ Bs-XpF/Bs-XpR ไม่สามารถตรวจพบเชื้อได้ครบทุกไอโซเลต นอกจากนี้ ไพรเมอร์ HpaF-f/HpaF-r ยังสามารถตรวจพบดีเอ็นเอและจำนวนเซลล์ของเชื้อ *X. perforans* ในปริมาณที่ต่ำกว่าอีกด้วย

การตรวจวินิจฉัย *X. perforans* ด้วย PCR ตามแนวทาง EPPO ไม่สามารถตรวจพบสายพันธุ์ที่พบในประเทศไทยได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นจึงเลือกใช้ไพรเมอร์ HpaF-f/HpaF-r ซึ่งให้ผลการตรวจแม่นยำกว่า โดยจากการทดสอบกับตัวอย่างใบมะเขือเทศที่แสดงอาการใบจุด พบว่าการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการ centrifugation และ DNA extraction ให้ผลการตรวจที่สอดคล้องกัน ส่วนการตรวจจากตัวอย่างเมล็ดมะเขือเทศด้วยวิธี soaking ในน้ำเกลือ 0.85% เป็นวิธีที่ใช้เวลาน้อยและสามารถตรวจพบเชื้อได้อย่างถูกต้อง

ข้อมูลจากงานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการสนับสนุนการส่งออกเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริกของไทยอย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจาก *X. perforans* สามารถปนเปื้อนและถ่ายทอดผ่านเมล็ดพันธุ์ได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีมาตรการสุขอนามัยพืชที่เข้มงวดในการกำจัดเชื้อที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ โดยสามารถใช้วิธีมาตรฐานต่าง ๆ เช่น การแช่ในกรดอะซิติก 0.8% นาน 24 ชั่วโมง, กรดไฮโดรคลอริก (HCl) 5% นาน 5–10 ชั่วโมง, โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.05% นาน 30 นาที, เมอร์คิวรีคลอไรด์ ($HgCl_2$) 0.05% นาน 5 นาที หรือการแช่น้ำร้อนที่ 56°C นาน 30 นาที ซึ่งล้วนเป็นวิธีที่สามารถนำมาใช้ในการทำลายเชื้อในเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าและส่งออกได้อย่างมีประสิทธิภาพ

## เอกสารอ้างอิง


Burlakoti, R.R., C.F. Hsu, J.R. Chen and J.F. Wang. 2018. Population Dynamics of Xanthomonads Associated with Bacterial Spot of Tomato and Pepper during 27 Years across Taiwan. *Plant dis* 102: 1348-1356.

EPPO. 2013. PM 7/110 (1) *Xanthomonas* spp. (*Xanthomonas euvesicatoria*, *Xanthomonas gardneri*, *Xanthomonas perforans*, *Xanthomonas vesicatoria*) causing bacterial spot of tomato and sweet pepper. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 43: 7-20.

Jones, J.B., G.H. Lacy, H. Bouzar, R.E. Stall and N.W. Schaad. 2004. Reclassification of the xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. *Systematic and Applied Microbiology.* 27: 755–762.

Koenraadt, H., B. Van Betteray, R. Germain, G. Hiddink, J.B. Jones, J. Oosterhof, A. Rijlaarsdam, P. Roorda and B. Woudt. 2009. Development of specific primers for the molecular detection of bacterial spot of pepper and tomato, pp. 99-102. *In* II International Symposium on Tomato Diseases 808. *International Soc. Hort. Sci.* Belgium.

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

Pohronezny, K. and R.B. Volin. 1983. The effect of bacterial spot on yield and quality of fresh market tomatoes. *Hort. Sci.* 18: 69-70.

Roach, R., R. Mann, C.G. Gambley, R.G. Shivas and B. Rodoni. 2018. Identification of Xanthomonas species associated with bacterial leaf spot of tomato, capsicum and chilli crops in eastern Australia. *Eur. J. Plant Pathol*. 150: 595–608.

Strayer, A., A. Jeyaprakash, G.V. Minsavage, S. Timilsina, G.E. Vallad and J.B. Jones. 2016. A multiplex real-time PCR assay differentiates four *Xanthomonas* species associated with bacterial spot of tomato. *Plant Dis.* 100: 1660–1668.

Timilsina, S., S. Kara, M.A. Jacques, N. Potnis, G.V. Minsavage, G.E. Vallad, J.B. Jones and M. Fischer-Le Saux. 2020. Corrigendum: Reclassification of *Xanthomonas gardneri* (ex Šutič 1957) Jones *et al*. 2006 as a later heterotypic synonym of *Xanthomonas cynarae* Trébaol *et al*. 2000 and description of *X. cynarae* pv. *cynarae* and *X. cynarae* pv. *gardneri* based on whole genome analyses. *Int J Syst Evol Microbiol* 69: 343-349, doi: 10.1099/ijsem.0.003104.

**Table 1** Primers used in this study

| Primers | Sequence (5'–3') | Annealing Temperature | PCR product | Reference |
|---|---|---|---|---|
| BS-XpF | GTCGTGTTGATGGAGCGTTC | 64°C | 197 bp | Koenraadt *et al*. (2009) |
| BS-XpR | GTGCGAGTCAATTATCAGAATGTGG | | | |
| HpaF-f | GTGGCAGGCAGGCAATCGACG | 65°C | 300 bp | Ning (2012) |
| HpaF-r | CCGGCACGTCGACGCCTGGAAACC | | | |

**Table 2** Results of diagnostic testing for *Xanthomonas perforans* in chili and tomato samples using PCR technique

| Extraction method | Sample | No. of sample | Results (No. of sample) | |
|---|---|---|---|---|
| | | | HpaF-f/HpaF-r | Bs-XpF/Bs-XpR |
| 1. plant sap | chili leaf | 20 | 0 | 0 |
| | tomato leaf | 20 | 1 | 0 |
| 2. centrifugation of sap | chili leaf | 20 | 0 | 0 |
| | tomato leaf | 20 | 3 | 0 |
| 3. DNA extraction | chili leaf | 20 | 0 | 0 |
| | tomato leaf | 20 | 3 | 0 |
| 4. seed soaking in 0.85% NaCl | Tomato seed | 10 | 0 | 0 |

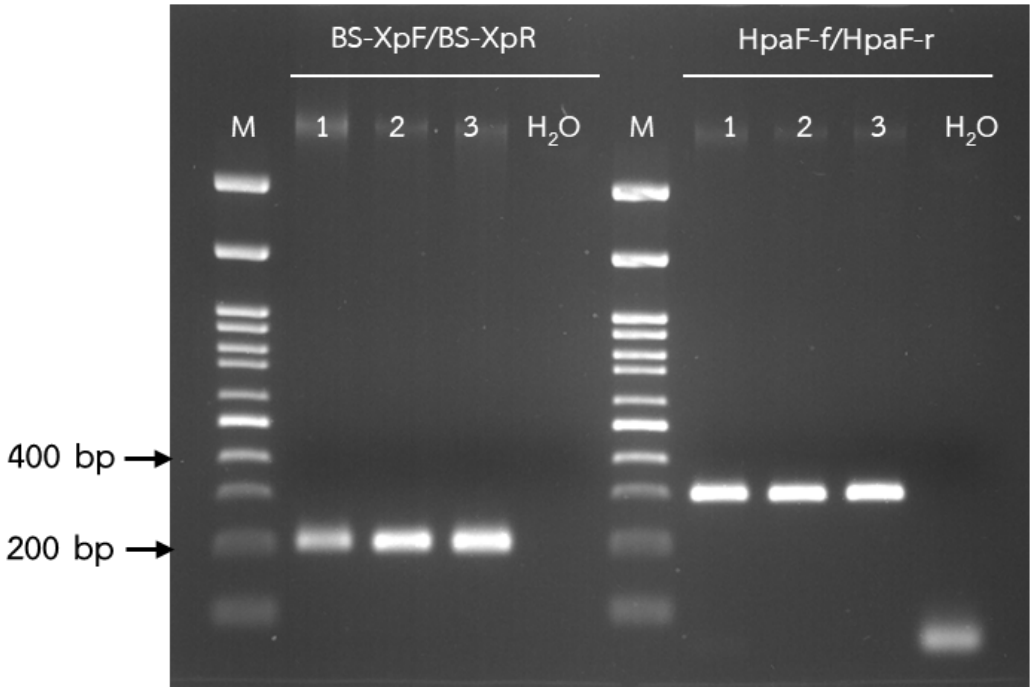



**Figure 1** Agarose gel electrophoresis of PCR products amplified for detection *Xanthomonas perforans* using Bs-XpF/Bs-XpR and HpsF-f/HpaF-r primers, M: onemark 100, lane 1: *X. perforans* 1692, lane 2: *X. perforans* 1696, lane 3: *X. perforans* 1697

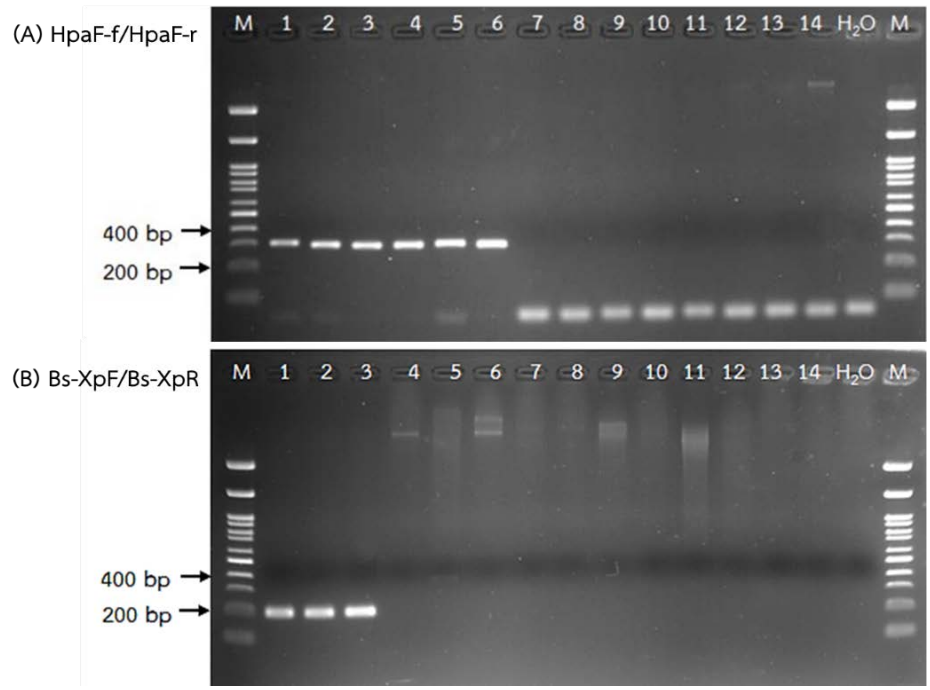



**Figure 2** Specificity of primer pairs for *Xanthomonas perforans* diagnosis using PCR technique. (A) HpaF-f/HpaF-r primers (B) Bs-XpF/Bs-XpR primers; M: onemark 100, lane 1-6: *X. perforans*, lane 7: *X. euvesicatoria*, lane 8: *X. axonopodis* pv. *manihotis*, lane 9: *X. campestris* pv. *campestris*, lane 10: *X. citri* pv. *citri*, lane 11: *X. oryzae* pv. *oryzae*, lane 12: *X. oryzae* pv. *oryzicola*, lane 13: *Acidovorax cattleyae*, lane 14: *A. citrulli*

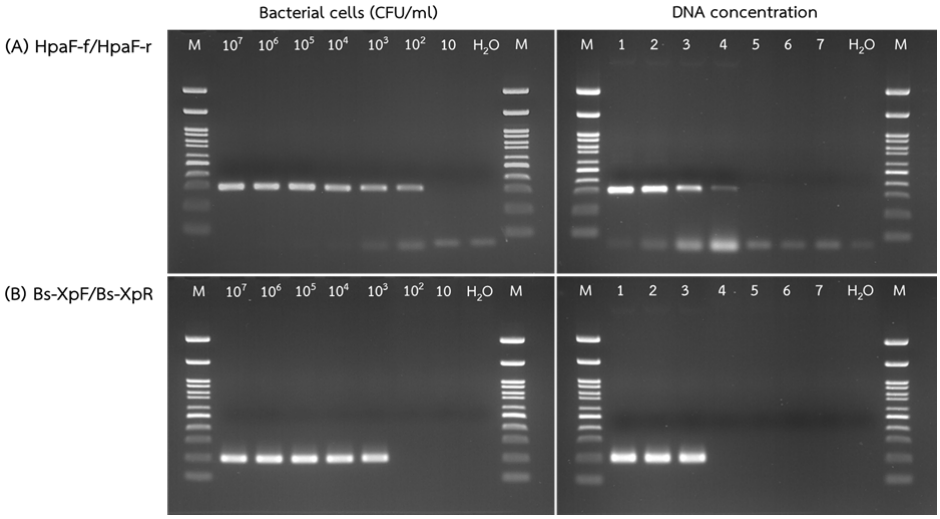



**Figure 3** Sensitivity of primer pairs for *Xanthomonas perforans* diagnosis using PCR technique. (A) HpaF-f/HpaF-r primers (B) Bs-XpF/Bs-XpR primers; M: onemark 100, lane 1-7: 10 fold dilution of bacterial DNA (5 ng/µl)

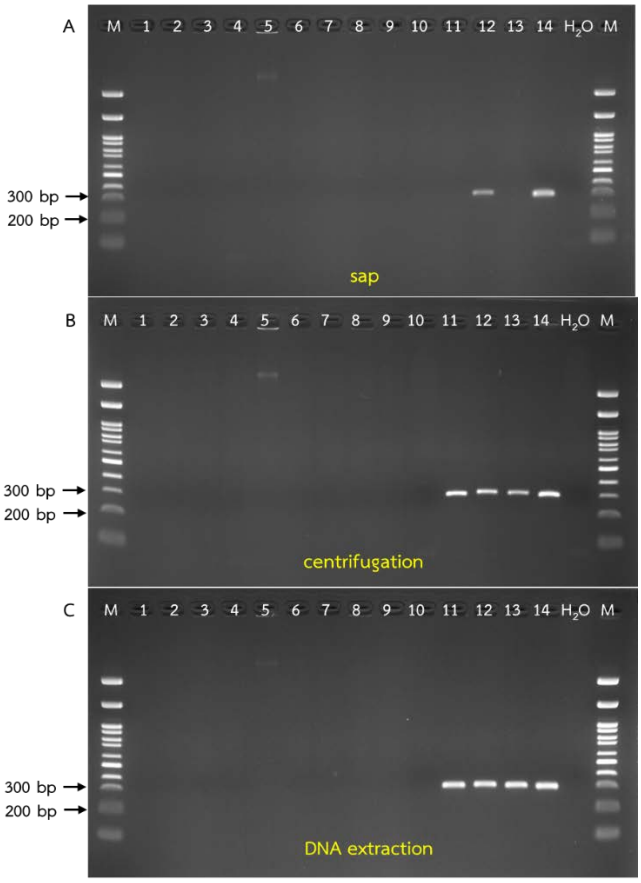



**Figure 4** Results of diagnostic testing for *Xanthomonas perforans* in tomato leaf samples using PCR technique with HpaF-f/HpaF-r primers: (A) direct testing from plant sap, (B) centrifuged plant sap, and (C) DNA extraction. M represents the DNA size marker (Onemark 100); samples 1–13 are tomato leaf samples; sample 14 is *Xanthomonas perforans* (positive control)

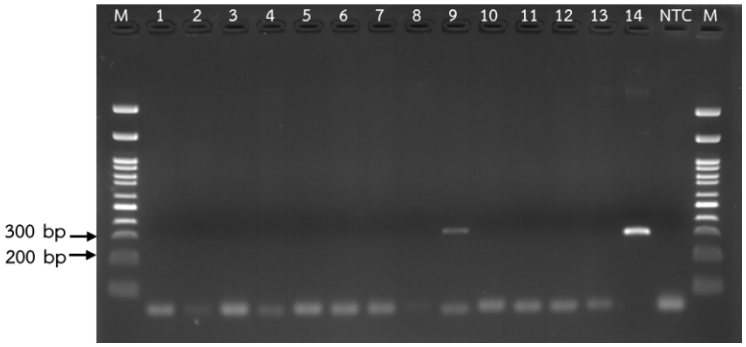



**Figure 5** Results of diagnostic testing for *Xanthomonas perforans* in tomato seed samples using PCR technique with HpaF-f/HpaF-r primers. M represents the DNA size marker (Onemark 100); samples 1–13 are tomato seed samples; sample 14 is *Xanthomonas perforans* (positive control); NTC is $H_2O$ (negative template control)

# พัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas vesicatoria* สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ

# Developing Method to Detection of *Xanthomonas vesicatoria* Causing Bacterial Spot of Chili and Tomato

**ทิพวรรณ กันหาญาติ[1/] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[2/] ชลธิชา รักใคร่[3/] วันเพ็ญ ศรีชาติ[3/]**

[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[3/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[4/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2

## Abstract

*Xanthomonas vesicatoria* is a seed-transmitted bacterium and is considered a quarantine pest in many countries. Consequently, Thailand is required to certify the absence of this pathogen prior to seed export. Therefore, rapid and accurate detection techniques are essential to support seed export activities. This study aimed to develop a PCR-based detection method for *X. vesicatoria* to serve as a tool for field certification and quarantine pest surveillance according to the requirements of trading partners. During experiments conducted from October 2021 to March 2025, two primer pairs, Xv-gyrB-F/Xv-gyrB-R and Xv1/Xv2, were selected for the PCR detection of *X. vesicatoria*. Both primer pairs specifically amplified the synthetic gyrB and atpD genes with equal sensitivity and did not produce false positives with other tested bacteria. Detection tests performed on chili and tomato leaf samples exhibiting leaf spot symptoms using crude extracts, pellets from centrifuged plant sap, DNA extraction, and tomato seed samples soaked in 0.85% NaCl solution revealed no contamination with *X. vesicatoria*. Additionally, a multiplex PCR method was developed to detect *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* by using the primer sets Xv-gyrB-F/Xv-gyrB-R, Xv1/Xv2, and Bs-XeF/Bs-XeR together, successfully detecting the pathogen in artificially inoculated samples. The findings of this study are significant for supporting the export of tomato and chili seeds from Thailand, as well as for the surveillance of *X. vesicatoria* within the country

**Keyword :** leaf spot, chili, tomato, detection

รหัสการทดลอง FF65-55-04-65-01-04-65

## บทคัดย่อ

*Xanthomonas vesicatoria* เป็นแบคทีเรียที่สามารถถ่ายทอดผ่านเมล็ดพันธุ์ได้ และถือเป็นศัตรูพืชกักกันในหลายประเทศ ส่งผลให้ประเทศไทยต้องดำเนินการตรวจรับรองการปลอดเชื้อก่อนการส่งออก ดังนั้น เทคนิคการตรวจสอบเชื้อที่รวดเร็วและแม่นยำจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการสนับสนุนการส่งออกเมล็ดพันธุ์ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจสอบ *X. vesicatoria* ด้วยเทคนิค PCR เพื่อใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจรับรองแปลงตามเงื่อนไขของประเทศคู่ค้าและการเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน ในการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงมีนาคม 2568 ได้คัดเลือกไพรเมอร์ Xv-gyrB-F/Xv-gyrB-R และ Xv1/Xv2 สำหรับการตรวจสอบเชื้อด้วยเทคนิค PCR ซึ่งทั้งสองคู่ไพรเมอร์สามารถตรวจจับยีนสังเคราะห์ *gyrB* และ *atpD* ได้อย่างจำเพาะและมีความไวในการตรวจสอบเท่ากัน โดยไม่เกิดผลบวกกับแบคทีเรียชนิดอื่นที่นำมาทดสอบ ผลการตรวจสอบตัวอย่างใบพริกและมะเขือเทศที่แสดงอาการใบจุด โดยใช้ crude extract, ตะกอนจากการปั่นเหวี่ยง, การสกัดดีเอ็นเอ และตัวอย่างเมล็ดมะเขือเทศที่แช่ในสารละลาย NaCl 0.85% พบว่าไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อ *X. vesicatoria* นอกจากนี้ ได้มีการพัฒนาวิธีการตรวจหา *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* โดยใช้ชุดไพรเมอร์ Xv-gyrB-F/Xv-gyrB-R, Xv1/Xv2 และ Bs-XeF/Bs-XeR ร่วมกันในเทคนิค multiplex PCR ซึ่งสามารถตรวจพบเชื้อได้อย่างแม่นยำในตัวอย่างที่ปลูกเชื้อ ข้อมูลการทดสอบจากงานวิจัยนี้จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการส่งเสริมการส่งออกเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริกของไทย รวมถึงการเฝ้าระวังเชื้อ *X. vesicatoria* ภายในประเทศ


**คำหลัก :** ใบจุด, พริก, มะเขือเทศ, ตรวจสอบ

## คำนำ

โรคใบจุดที่เกิดจากแบคทีเรียในกลุ่ม *Xanthomonas* เป็นโรคสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อการผลิตพริกและมะเขือเทศทั่วโลก โดยเฉพาะในเขตร้อนและเขตร้อนชื้น ซึ่งอาจทำให้ผลผลิตลดลงมากถึง 50% (Pohronezny and Volin, 1983) แบคทีเรียกลุ่มนี้ก่อให้เกิดอาการของโรคที่คล้ายคลึงกัน และมีการจำแนกชนิดของเชื้อที่เป็นสาเหตุหลายครั้ง ในการศึกษาของ Jones *et al.* (2004) พบว่าสามารถจำแนกเชื้อในกลุ่มนี้ออกเป็น 4 ชนิด ได้แก่ *X. euvesicatoria, X. perforans, X. gardneri* และ *X. vesicatoria* โดยอาศัยการใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันและเทคนิค DNA-DNA hybridization ต่อมา Constantin *et al.* (2016), Timilsina *et al.* (2019) และ Morinière *et al.* (2020) ได้เสนอให้เปลี่ยนชื่อทั้ง 4 ชนิดใหม่เป็น *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria, X. euvesicatoria* pv. *perforans, X. hortorum* pv. *gardneri* และ *X. vesicatoria* ตามลำดับ ในประเทศไทยมีรายงานการพบเชื้อ *X. campestris* pv. *vesicatoria* เป็นสาเหตุของโรคใบจุดในพริกและมะเขือเทศ (Uematsu *et al.*, 1983) และจากการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์หลายตำแหน่ง พบว่าเชื้อที่เป็นสาเหตุโรคใบจุดในพริกและมะเขือเทศในไทยประกอบด้วย *X. euvesicatoria* และ *X. perforans* (สันติพงษ์ และคณะ, 2563)

เชื้อ *X. vesicatoria* สามารถถ่ายทอดผ่านเมล็ดพันธุ์ได้ และยังไม่มีรายงานการพบในประเทศไทย จึงมีความจำเป็นต้องเฝ้าระวังอย่างเข้มงวด เนื่องจากไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศเพื่อการผลิตลูกผสมและส่งกลับไปจำหน่ายยังต่างประเทศ อีกทั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ยังเป็นศัตรูพืชกักกันในหลายประเทศ และถูกจัดอยู่ในรายชื่อศัตรูพืชควบคุมของ EPPO A2 list (EPPO, 2023) ซึ่งทำให้ต้องมีการตรวจสอบและรับรองการปลอดเชื้อก่อนส่งออกสินค้าเกษตร ดังนั้น การพัฒนาวิธีตรวจสอบที่รวดเร็วและแม่นยำจึงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อสนับสนุนการส่งออกเมล็ดพันธุ์พืชให้เป็นไปตามเงื่อนไขของประเทศคู่ค้า รวมถึงช่วยในการเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อ *X. vesicatoria* ด้วยเทคนิค PCR ซึ่งจะเป็นเครื่องมือสำคัญในการตรวจรับรองสินค้าเกษตรก่อนการส่งออก

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง เช่น อุปกรณ์จับพิกัด GPS ถุงพลาสติก กรรไกร ปากกา
2. อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น กระบอกตวง จานเลี้ยงเชื้อ ลูป ตู้อบลมร้อน หม้อนึ่งความดันไอ ตู้ควบคุมอุณหภูมิ เครื่องชั่ง ปิเปตต์ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง อ่างควบคุมอุณหภูมิ เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เครื่องแยกวิเคราะห์สารพันธุกรรม เครื่องถ่ายภาพสารพันธุกรรม
3. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ สกัดดีเอ็นเอ และทำปฏิกิริยา PCR เช่น ชุดสกัดดีเอ็นเอ QIAamp DNA Mini kit (Qiagen, USA) สารเคมี One PCR Master Mix (GeneDirex® Inc., Taiwan) ดีเอ็นเอขนาดมาตรฐาน Onemark 100 (GeneDirex® Inc., Taiwan)

### วิธีการ

**1. คัดเลือกไพรเมอร์และทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของเทคนิค PCR ในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ**

1.1 สืบค้นข้อมูลและคัดเลือกไพรเมอร์

สืบค้นข้อมูลไพรเมอร์ที่มีรายงานว่าสามารถใช้ตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศได้อย่างเฉพาะเจาะจง และคัดเลือกเพื่อสั่งสังเคราะห์สำหรับใช้ในการตรวจวินิจฉัยในเบื้องต้นพบรายงานของ Araújo *et al*. (2013) และ Beran *et al*. (2015)

1.2 ทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของเทคนิค PCR ในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ

ดำเนินการทดสอบไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับการตรวจวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศด้วยเทคนิค PCR ตามรายงานของ Araújo *et al*. (2013) และ Beran *et al*.

(2015) โดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้น 10 ng/µl, 1X One PCR Master Mix (GeneDirex Inc., Taiwan) และไพรเมอร์ชนิดละ 0.2 µM เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ Biometra TAdvanced (Analytik Jena GmbH, Germany) ตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส และตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตด้วยเครื่อง UVITEC Cambridge Platinum (Uvitec Ltd., UK)

**2. ทดสอบความจำเพาะ (specificity) และความไว (sensitivity) ของเทคนิคทางโมเลกุลในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ**

นำดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบมาวัดความเข้มข้นและคุณภาพของดีเอ็นเอที่ช่วงคลื่น A260/A280 ด้วยเครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (GENESYS 150 UV-Vis Spectrophotometer, Thermo Fisher Scientific Inc., USA) และปรับความเข้มข้นดีเอ็นเอเท่ากับ 50 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร เพื่อนำไปทดสอบความจำเพาะของไพรเมอร์ด้วยเทคนิค PCR และทดสอบความไวในการตรวจสอบโดยใช้ยีนสังเคราะห์ของแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 50 นาโนกรัม ถึง 100 เฟมโตกรัม ตรวจด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรีย, 1X One PCR Master Mix (GeneDirex Inc., Taiwan) และไพรเมอร์ ชนิดละ 0.2 µM เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ Biometra TAdvanced (Analytik Jena GmbH, Germany) ตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส และตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตด้วยเครื่อง UVITEC Cambridge Platinum (Uvitec Ltd., UK)

**3. ทดสอบวิธีการที่เหมาะสมในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศจากตัวอย่างพืช**

**3.1 วิธีการตรวจจากตัวอย่างพืชที่แสดงอาการ**

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างที่มีลักษณะอาการคล้ายโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศจากแหล่งปลูกสำคัญ เช่น กาญจนบุรี เชียงใหม่ ตาก นครพนม สกลนคร หนองคาย อุบลราชธานี สระบุรี และน่าน เป็นต้น เพื่อนำมาใช้ในสำหรับทดสอบวิธีการที่เหมาะสมในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ โดยการเตรียมตัวอย่าง 3 วิธี ดังนี้

3.1.1 น้ำบดใบพืช (crude extract) เตรียมตัวอย่างโดยตัดใบที่แสดงอาการใบจุดบดในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ นำส่วนของน้ำบดใบพืชมาใช้ในการตรวจด้วย PCR

3.1.2 ปั่นเหวี่ยงตกตะกอน (centrifugation) เตรียมตัวอย่างโดยตัดใบที่แสดงอาการใบจุด บดในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ นำส่วนของน้ำบดใบพืช (crude extract) มาปั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็ว 10,000g เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนน้ำใสออก ละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นจึงนำมาตรวจด้วย PCR

3.1.3 สกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction) เตรียมตัวอย่างโดยตัดใบที่แสดงอาการใบจุดบดในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ นำส่วนของน้ำบดใบพืช (crude extract) มาปั่นเหวี่ยงตกตะกอนน้ำบดใบพืช (centrifugation) ความเร็ว 10,000g เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนน้ำใสออก สกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอ QIAamp DNA Mini kit (Qiagen, USA) ขั้นตอนตามคำแนะนำของผลิตภัณฑ์ จากนั้นนำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาใช้ในการตรวจด้วย PCR

ทำปฏิกิริยา PCR ด้วยสภาวะที่เหมาะสม โดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วยตัวอย่างที่ต้องการตรวจเชื้อแบคทีเรีย, 1X One PCR Master Mix (GeneDirex Inc., Taiwan) และไพรเมอร์ชนิดละ 0.2 µM เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ Biometra TAdvanced (Analytik Jena GmbH, Germany) ตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส และตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตด้วยเครื่อง UVITEC Cambridge Platinum (Uvitec Ltd., UK)

**3.2 วิธีการตรวจจากตัวอย่างเมล็ด** มีวิธีการเตรียมตัวอย่างดังนี้

เตรียมตัวอย่างเมล็ดมะเขือเทศ โดยทดสอบวิธีการแช่เมล็ด (soaking) ในสารละลาย NaCl 0.85% ในอัตราส่วน 3 มิลลิลิตร/เมล็ด 1 กรัม เขย่าที่อุณหภูมิห้อง ความเร็ว 140 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำน้ำแช่เมล็ดมาปั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความเร็ว 10,000g เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนน้ำใสออก แล้วละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 100 ไมโครลิตร จากนั้นจึงนำมาตรวจด้วย PCR

การทดสอบวิธีการตรวจเพื่อให้สามารถตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคใบจุดในพริกและมะเขือเทศในประเทศไทย โดยใช้เทคนิค multiplex PCR ร่วมกับไพรเมอร์ Bs-XeF/Bs-XeR ตามรายงานของ Koenraadt *et al.* (2009) โดยผสมตัวอย่างเมล็ดมะเขือเทศที่ปลูกเชื้อแบคทีเรีย *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* จำนวน 1 เมล็ด ในตัวอย่างเมล็ดมะเขือเทศที่ต้องการตรวจ 2,000 เมล็ด เตรียมตัวอย่างเมล็ดมะเขือเทศ โดยวิธีการแช่เมล็ด (soaking) ตามวิธีการตรวจจากตัวอย่างเมล็ดดังกล่าวข้างต้น จากนั้นจึงนำมาตรวจด้วย PCR โดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วยตัวอย่างที่ต้องการตรวจเชื้อแบคทีเรีย, 1X One PCR Master Mix (GeneDirex Inc., Taiwan) และไพรเมอร์ชนิดละ 0.2 µM ทำปฏิกิริยา PCR เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ Biometra TAdvanced (Analytik Jena GmbH, Germany) ตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส และตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตด้วยเครื่อง UVITEC Cambridge Platinum (Uvitec Ltd., UK)

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2564 – มีนาคม 2568

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. คัดเลือกไพรเมอร์และทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของเทคนิค PCR ในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ**

คัดเลือกไพรเมอร์ สังเคราะห์ยีน *gyrB* และ *atpD* เพื่อทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของเทคนิค PCR และได้สภาวะการทำ PCR ที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัย *X. vesicatoria* ดังนี้ คู่ไพรเมอร์ตามรายงานของ Araújo *et al.* (2013) ได้แก่ Xv-gyrB-F (5′-ATACGCGTTGGGCGAGCCT-3′) และ Xv-gyrB-R (5′-CATCGC TGAAGATGGCCACGGCT-3′) กำหนดอุณหภูมิและเวลาในขั้นตอนการทำปฏิกิริยา PCR ที่อุณหภูมิ 95°C นาน 5 นาที, 95°C นาน 30 วินาที, 68°C นาน 30 วินาที, 72°C นาน 30 วินาที จำนวน 30 รอบ และที่ 72°C นาน 3 นาที มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 104 bp และคู่ไพรเมอร์ตามรายงานของ Beran *et al.* (2015) ได้แก่ Xv1 (5′-TGGGAAATCCATCGCACT-3′) และ Xv2 (5′-TTGCCCTTGCCGTTCTCG-3′) กำหนดอุณหภูมิและเวลาในขั้นตอนการทำปฏิกิริยา PCR ที่อุณหภูมิ 94°C นาน 5 นาที, 94°C นาน 30 วินาที, 69°C นาน 40 วินาที, 72°C นาน 45 วินาที จำนวน 30 รอบ และที่ 72°C นาน 10 นาที มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 404 bp (Table 1-2; Figure 1)

**2. ทดสอบความจำเพาะ (specificity) และความไว (sensitivity) ของเทคนิคทางโมเลกุลในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ**

ทดสอบความจำเพาะของไพรเมอร์ต่อเชื้อแบคทีเรีย *X. vesicatoria* พบว่าไพรเมอร์ Xv-gyrB-F/Xv-gyrB-R สามารถตรวจยีนสังเคราะห์ *gyrB* และไพรเมอร์ Xv1/Xv2 ตรวจยีนสังเคราะห์ *atpD* ซึ่งได้จากการสังเคราะห์ยีนของแบคทีเรีย *X. vesicatoria* LMG 911 (type strain) และ *X. vesicatoria* LMG 923 ได้ถูกต้อง ไม่เกิดผลบวกกับแบคทีเรียชนิดอื่นที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ แบคทีเรีย *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans* (*X. perforans*), *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* (*X. euvesicatoria*), *X. campestris* pv. *campestris*, *X. citri* pv. *citri*, *X. oryzae* pv. *oryzae*, *X. oryzae* pv. *oryzicola*, *Acidovorax cattleyae*, *A. citrulli*, *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli*, *Dickeya zeae*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* และ *Ralstonia pseudosolanacearum* (Figure 2) ไพรเมอร์ทั้งสองคู่มีความไวในการตรวจยีนสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นดีเอ็นเอ 5 เฟมโตกรัมต่อไมโครลิตร (Figure 3)

**3. ทดสอบวิธีการที่เหมาะสมในการตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศจากตัวอย่างพืช**

ดำเนินการทดสอบวิธีตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย *X. vesicatoria* จากตัวอย่างใบพริกและใบมะเขือเทศที่แสดงอาการใบจุดจำนวน 40 ตัวอย่าง โดยใช้ตัวอย่างที่เตรียมด้วยวิธีต่าง ๆ ได้แก่ น้ำบดใบพืช (crude extract) ที่ได้จากการบดใบพืชในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ตัวอย่างจากการปั่นเหวี่ยงน้ำบดใบพืชให้ตกตะกอน (centrifugation) แล้วละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ตัวอย่างจากการสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction) และตัวอย่างเมล็ดมะเขือเทศที่ได้รับความอนุเคราะห์จากกลุ่มตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช ซึ่งเตรียมด้วยวิธีการแช่เมล็ดในสารละลาย

NaCl 0.85% ในอัตราส่วน 3 มิลลิลิตรต่อเมล็ด 1 กรัม เขย่าที่อุณหภูมิห้องด้วยความเร็ว 140 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นปั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่อุณหภูมิ 10°C ด้วยความเร็ว 10,000g เป็นเวลา 10 นาที แล้วเทส่วนน้ำใสออก และละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ผลการตรวจไม่พบเชื้อแบคทีเรีย *X. vesicatoria* ในตัวอย่างที่ตรวจ ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจโดยใช้ไพรเมอร์ของ Koenraadt *et al*. (2009) ตามแนวทางใน EPPO Diagnostic Protocol PM 7/110 (1) (EPPO, 2023) (Table 3)

นอกจากนี้ ได้ทดสอบวิธีการตรวจเพิ่มเติมเพื่อให้สามารถตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคใบจุดในพริกและมะเขือเทศในประเทศไทย โดยใช้เทคนิค multiplex PCR ร่วมกับไพรเมอร์ Bs-XeF/Bs-XeR (Koenraadt *et al.*, 2009) ซึ่งผลการทดสอบในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า ไพรเมอร์ Bs-XeF/Bs-XeR มีความจำเพาะต่อเชื้อ *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* มากกว่าไพรเมอร์ RST13/RST14 (Jones *et al*., 1993) และ Xeu2.4/Xeu2.5 (Moretti *et al*., 2009) (Table 1; Figure 4) โดยในการตรวจ ได้ผสมเมล็ดมะเขือเทศที่ปลูกเชื้อ *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* ลงในสารละลาย NaCl 0.85% ร่วมกับตัวอย่างเมล็ดมะเขือเทศที่ต้องการตรวจสอบ พบว่าสามารถตรวจพบเชื้อ *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* ได้ในทุกตัวอย่างที่มีการผสมเมล็ดมะเขือเทศที่ปลูกเชื้อ (Figure 5) การตรวจเมล็ดมะเขือเทศด้วยวิธี soaking เป็นวิธีที่แนะนำใน Diagnostic Protocol PM 7/110 (1) ของ EPPO (EPPO, 2023) ซึ่งในงานวิจัยนี้ใช้การแช่เมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาไม่เกิน 3 ชั่วโมง เพื่อช่วยลดการเจริญเติบโตของ saprophytes ที่อาจรบกวนการตรวจหาแบคทีเรียเป้าหมาย (EPPO, 2023)

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

*Xanthomonas vesicatoria* เป็นสาเหตุของโรคใบจุดในพริกและมะเขือเทศ แม้ว่ายังไม่มีรายงานการพบเชื้อในประเทศไทย แต่การตรวจรับรองเป็นข้อกำหนดสำคัญสำหรับการส่งออกเมล็ดพันธุ์ งานวิจัยนี้ได้คัดเลือกไพรเมอร์ 2 คู่ ได้แก่ Xv-gyrB-F/Xv-gyrB-R และ Xv1/Xv2 เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจหาเชื้อ *X. vesicatoria* ด้วยเทคนิค PCR ซึ่งผลการทดสอบพบว่า ทั้งสองคู่ไพรเมอร์สามารถตรวจจับยีนสังเคราะห์ *gyrB* และ *atpD* จากสายพันธุ์ LMG 911 และ LMG 923 ได้อย่างจำเพาะและมีความไวในการตรวจสอบเท่ากันโดยไม่เกิดผลบวกกับแบคทีเรียชนิดอื่นที่นำมาทดสอบ

การทดสอบจากตัวอย่างใบพริกและมะเขือเทศที่แสดงอาการใบจุด โดยใช้ crude extract, ตะกอนจากการปั่นเหวี่ยง, การสกัดดีเอ็นเอ และตัวอย่างเมล็ดมะเขือเทศที่แช่ในสารละลาย NaCl 0.85% พบว่าไม่มีเชื้อ *X. vesicatoria* ในตัวอย่างทั้งหมด นอกจากนี้ ยังได้พัฒนาวิธีการตรวจหา *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* ด้วยเทคนิค multiplex PCR โดยใช้ชุดไพรเมอร์ Xv-gyrB-F/Xv-gyrB-R, Xv1/Xv2 และ Bs-XeF/Bs-XeR ร่วมกัน พบว่าสามารถตรวจพบเชื้อได้อย่างแม่นยำในตัวอย่างที่ปลูกเชื้อ ถือเป็นครั้งแรกที่มีการนำชุดไพรเมอร์นี้มาใช้ในการวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดพร้อมกัน

แม้ว่าวิธีการ PCR ตามแนวทางของ EPPO จะสามารถตรวจหา *X. vesicatoria* ได้อย่างมีประสิทธิภาพในสายพันธุ์ต่างประเทศ แต่การเลือกไพรเมอร์จากยีนต่างชนิดในงานวิจัยนี้ช่วยเพิ่มความแม่นยำและความเชื่อมั่นในการตรวจวินิจฉัยเชื้อในประเทศไทย นอกจากนี้ วิธี soaking ตัวอย่างเมล็ดใน NaCl 0.85% เป็นวิธีที่ใช้เวลาน้อยและสามารถตรวจพบการติดเชื้อได้อย่างถูกต้อง

ข้อมูลจากงานวิจัยนี้มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการส่งเสริมการส่งออกเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริกของไทย เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดสามารถปนเปื้อนและถ่ายทอดผ่านเมล็ดพันธุ์ได้ ดังนั้น นอกจากการมีวิธีการตรวจวินิจฉัยที่น่าเชื่อถือแล้ว ยังจำเป็นต้องมีมาตรการสุขอนามัยพืชที่เข้มงวดเพื่อกำจัดเชื้อที่ปนเปื้อนในเมล็ดพันธุ์ โดย EPPO (1988) แนะนำมาตรการ เช่น การแช่เมล็ดในกรดอะซิติก 0.8% นาน 24 ชั่วโมง, กรดไฮโดรคลอริก 5% นาน 5–10 ชั่วโมง, โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.05% นาน 30 นาที, เมอร์คิวรีคลอไรด์ 0.05% นาน 5 นาที หรือแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 56°C เป็นเวลา 30 นาที ในขณะที่ Sherf and Macnab (1986) ใช้วิธีแช่เมล็ดพริกและมะเขือเทศในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 25 นาที จากนั้นปล่อยให้เมล็ดเย็นลงและผึ่งให้แห้ง ซึ่งวิธีนี้อาจส่งผลให้อัตราการงอกลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากอุณหภูมิสูงเกิน 50°C ในทำนองเดียวกัน Mtui *et al*. (2010) จะแช่เมล็ดในน้ำที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 10 นาที ก่อนนำไปแช่ต่อในน้ำที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 25 นาที และ Cox (1982) ใช้วิธีการแช่เมล็ดมะเขือเทศในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 1.3% เป็นเวลา 1 นาที ก่อนล้างและผึ่งให้แห้ง ซึ่งวิธีทั้งหมดนั้นล้วนมีประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อนของเชื้อในเมล็ดพันธุ์สำหรับการนำเข้าและส่งออก ทั้งนี้ วิธีที่เลือกใช้ขึ้นอยู่กับข้อกำหนดด้านสุขอนามัยพืชของแต่ละประเทศ

## เอกสารอ้างอิง

สันติพงศ์ สิทธิธนสิน, จุฑาเทพ วัชระไชยคุปต์, ชัญญานุช กอรักงาม, ทิพวรรณ กันหาญาติ, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วิชัย โฆสิตรัตน และ สุจินต์ ภัทรภูวดล. 2563. การจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของมะเขือเทศในประเทศไทย. *วารสารวิชาการเกษตร.* 36: 80-88.

Araújo, E.R., M.A.S.V. Ferreira and A.M. Quezado-Duval. 2013. Specific primers for *Xanthomonas vesicatoria*, a tomato bacterial spot causal agent. *Eur J Plant Pathol* 137: 5-9.

Beran, P., I. Mráz, B. Kokoskova and A. Bohata. 2015. Monitoring the occurrence of bacterial spot of tomato and pepper in the Czech Republic and development of new PCR primers for detection of *Xanthomonas vesicatoria*. *Eur J Plant Pathol* 141: 617-621.

Constantin, E.C., I. Cleenwerck, M. Maes, S. Baeyen, C. Van Malderghem, P. De Vos and B. Cottyn. 2016. Genetic characterization of strains named as *Xanthomonas*

*axonopodis* pv. *dieffenbachiae* leads to a taxonomic revision of the *X. axonopodis* species complex. *Plant Pathology* 65 (5): 792-806.

Cox, R.S. 1982. Control of bacterial spot of tomato in southern Florida. *Plant Disease Reporter*, 66: 870.

EPPO. 1988. *Xanthomonas campestris* (Pammel) Dowson pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye. *EPPO Bulletin*, 18: 521-525. https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.1988.tb00409.x

EPPO. 2023. PM 7/ 110 ( 2) *Xanthomonas* spp. ( *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, *Xanthomonas hortorum* pv. *gardneri*, *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans*, *Xanthomonas vesicatoria*) causing bacterial spot of tomato and sweet pepper. *EPPO Bulletin*, 53: 558 –579. https://doi.org/10.1111/epp.12960

Jones, J. B., G. V. Minsavage, R. E. Stall, R. O. Kelly and H. Bouzar. 1993. Genetic analysis of a DNA region involved in expression of two epitopes associated with lipopolysaccharide in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Mol. Plant Pathol*. 83: 551-556.

Jones, J.B., G.H. Lacy, H. Bouzar, R.E. Stall and N.W. Schaad. 2004. Reclassification of the xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. *Systematic and Applied Microbiology.* 27: 755–762.

Moretti, C., M. T. Amatulli and R. Buonaurio. 2009. PCR-based assay for the detection of *Xanthomonas euvesicatoria* causing pepper and tomato bacterial spot. *Letters in Applied Microbiology* 49: 466–471.

Morinière, L., A. Burlet, E.R. Rosenthal, X. Nesme, P. Portier and C.T. Bull. 2020. Clarifying the taxonomy of the causal agent of bacterial leaf spot of lettuce through a polyphasic approach reveals that *Xanthomonas cynarae* Trébaol *et al*. 2000 emend. Timilsina *et al*. 2019 is a later heterotypic synonym of *Xanthomonas hortorum* Vauterin *et al*. 1995. *Systematic App. Microbiol.* 43: 126087.

Mtui, H.D., M.A. Bennett, A.P. Maerere, S.A. Miller, M.D. Kleinhenz and K.P. Sibuga. 2010. Effect of seed treatments and mulch on seedborne bacterial pathogens and yield of tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.) in Tanzania. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 8(3):1006 -1015.

Pohronezny, K. and R.B. Volin. 1983. The effect of bacterial spot on yield and quality of fresh market tomatoes. *Hort. Sci.* 18: 69-70.

Sherf, A. F. and Macnab, A. A. 1986. Vegetable Diseases and Their Control. 2nd Ed. John Wiley and Sons, New York.

Timilsina, S., S. Kara, M.A. Jacques, N. Potnis, G.V. Minsavage, G.E. Vallad, J.B. Jones and M. Fischer-Le Saux. 2020. Corrigendum: Reclassification of *Xanthomonas gardneri* (ex Šutič 1957) Jones *et al*. 2006 as a later heterotypic synonym of *Xanthomonas cynarae* Trébaol *et al*. 2000 and description of *X. cynarae* pv. *cynarae* and *X. cynarae* pv. *gardneri* based on whole genome analyses. *Int J Syst Evol Microbiol* 69: 343-349, doi: 10.1099/ijsem.0.003104.

Uematsu, T., S. Chuenchitt, S. Kanjanarat, S. Vitithajinda, N. Napheerong, S. Benjathikul, S. Nilmanee, W. Dhirabhava and D. Buangsuwon. 1983. *Bacterial diseases on economic crops in Thailand*. Tropical Agricultural Research Center, Ministry of Agricultural, Forestry and Fisheries, Japan and Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperative Thailand. 266 p.

**Table 1** Primers used in this study

| Primers | Sequence (5'–3') | Annealing Temperature | PCR product | Reference |
|---|---|---|---|---|
| Xv-gyrB-F | ATACGCGTTGGGCGAGCCT | 68°C | 104 bp | Araújo *et al*. (2013) |
| Xv-gyrB-R | CATCGCTGAAGATGGCCACGGCT | | | |
| Xv1 | TGGGAAATCCATCGCACT | 69°C | 404 bp | Beran *et al*. (2015) |
| Xv2 | TTGCCCTTGCCGTTCTCG | | | |
| Bs-XeF | CATGAAGAACTCGGCGTATCG | 66°C | 173 bp | Koenraadt *et al*. (2009) |
| Bs-XeR | GTCGGACATAGTGGACACATAC | | | |
| RST13 | TGGTTCCAGCCGTCCAGCAGGG | 65°C | 560 bp | Jones *et al*. (1993) |
| RST14 | CCCTAAAGGCACTGGGCGTCGG | | | |
| Xeu2.4 | CTGGGAAACTCATTCGCAGT | 64°C | 208 bp | Moretti *et al*. (2009) |
| Xeu2.5 | TTGTGGCGCTCTTATTTCCT | | | |

**Table 2** GenBank accession numbers for gene synthesis used in this study

| Bacterial species | Strain | Gene | Accession number |
|---|---|---|---|
| *Xanthomonas vesicatoria* | LMG 911 | ATPase beta subunit (*atpD*) | EU015211 |
| | | DNA gyrase subunit beta (*gyrB*) | EU015395 |
| *Xanthomonas vesicatoria* | LMG 923 | ATPase beta subunit (*atpD*) | EU015215 |
| | | DNA gyrase subunit beta (*gyrB*) | EU015399 |

**Table 3** Results of diagnostic testing for *Xanthomonas vesicatoria* in chili and tomato samples using PCR technique

| Extraction method | Sample | No. of sample | Results (No. of sample) | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | Xv-gyrB-F/ Xv-gyrB-R | Xv1/Xv2 | Bs-XvF/ Bs-XvR |
| 1. crude extract | chili leaf | 20 | 0 | 0 | 0 |
| | tomato leaf | 20 | 0 | 0 | 0 |
| 2. centrifugation | chili leaf | 20 | 0 | 0 | 0 |
| | tomato leaf | 20 | 0 | 0 | 0 |
| 3. DNA extraction | chili leaf | 20 | 0 | 0 | 0 |
| | tomato leaf | 20 | 0 | 0 | 0 |
| 4. seed soaking in 0.85% NaCl | tomato seed | 10 | 0 | 0 | 0 |

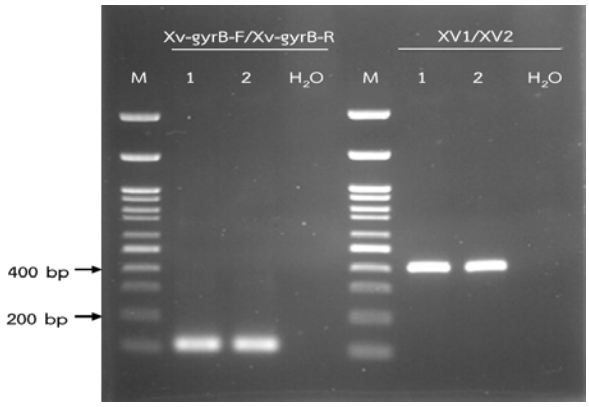



**Figure 1** Agarose gel electrophoresis of PCR products amplified for the detection of *Xanthomonas vesicatoria* using Xv-gyrB-F/Xv-gyrB-R and Xv1/Xv2 primers; M: onemark 100; Lane 1: amplicon of the synthetic *gyrB* gene of *X. vesicatoria* LMG911; Lane 2: amplicon of the synthetic *gyrB* gene of *X. vesicatoria* LMG923.

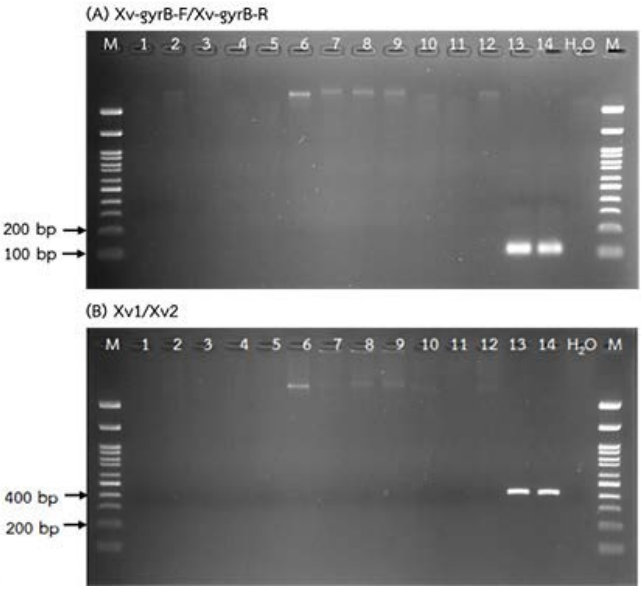



**Figure 2** Specificity of primer pairs for *Xanthomonas vesicatoria* diagnosis using PCR technique. (A) Xv-gyrB-F/Xv-gyrB-R primers (B) Xv1/Xv2 primers; M: onemark 100; Lane 1: *X. perforans*; Lane 2: *X. euvesicatoria*; Lane 3: *X. campestris* pv. *campestris*; Lane 4: *X. citri* pv. *citri*; Lane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

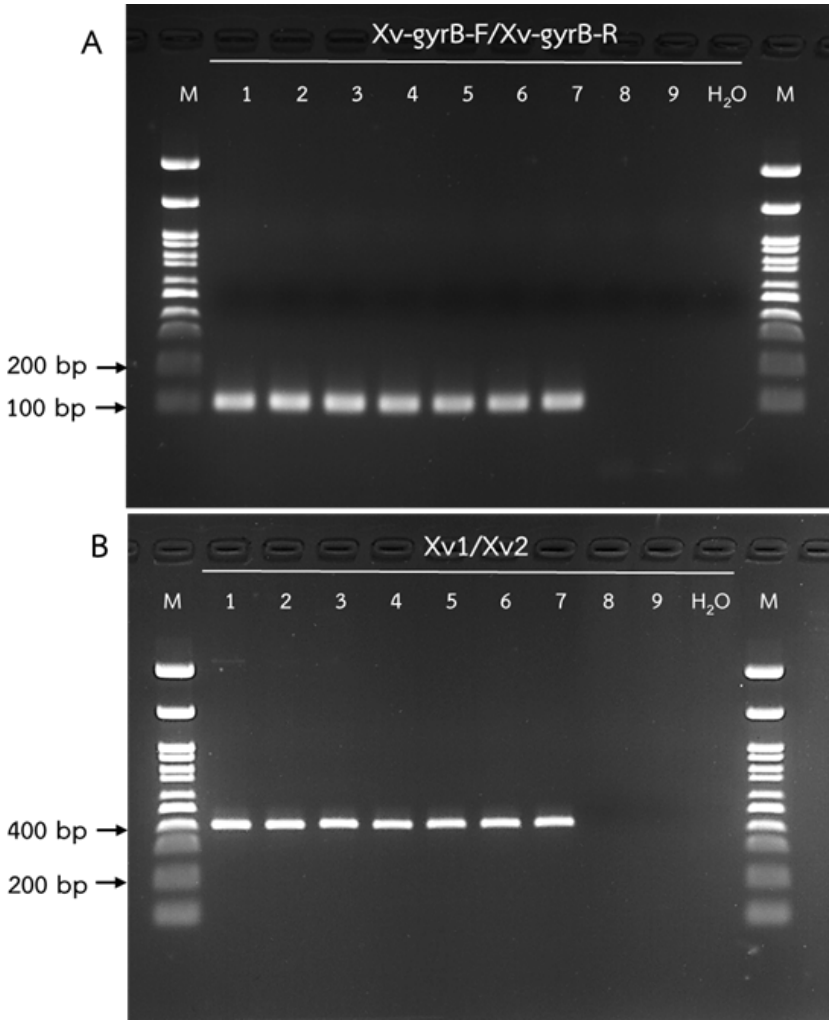



**Figure 3** Sensitivity of primer pairs for *Xanthomonas vesicatoria* diagnosis using PCR technique. (A) gyrB-F/Xv-gyrB-R primers (B) Xv1/Xv2 primers; M: onemark 100; Lane 1-9: 10 fold dilution of gene synthesis (50 ng/µl)

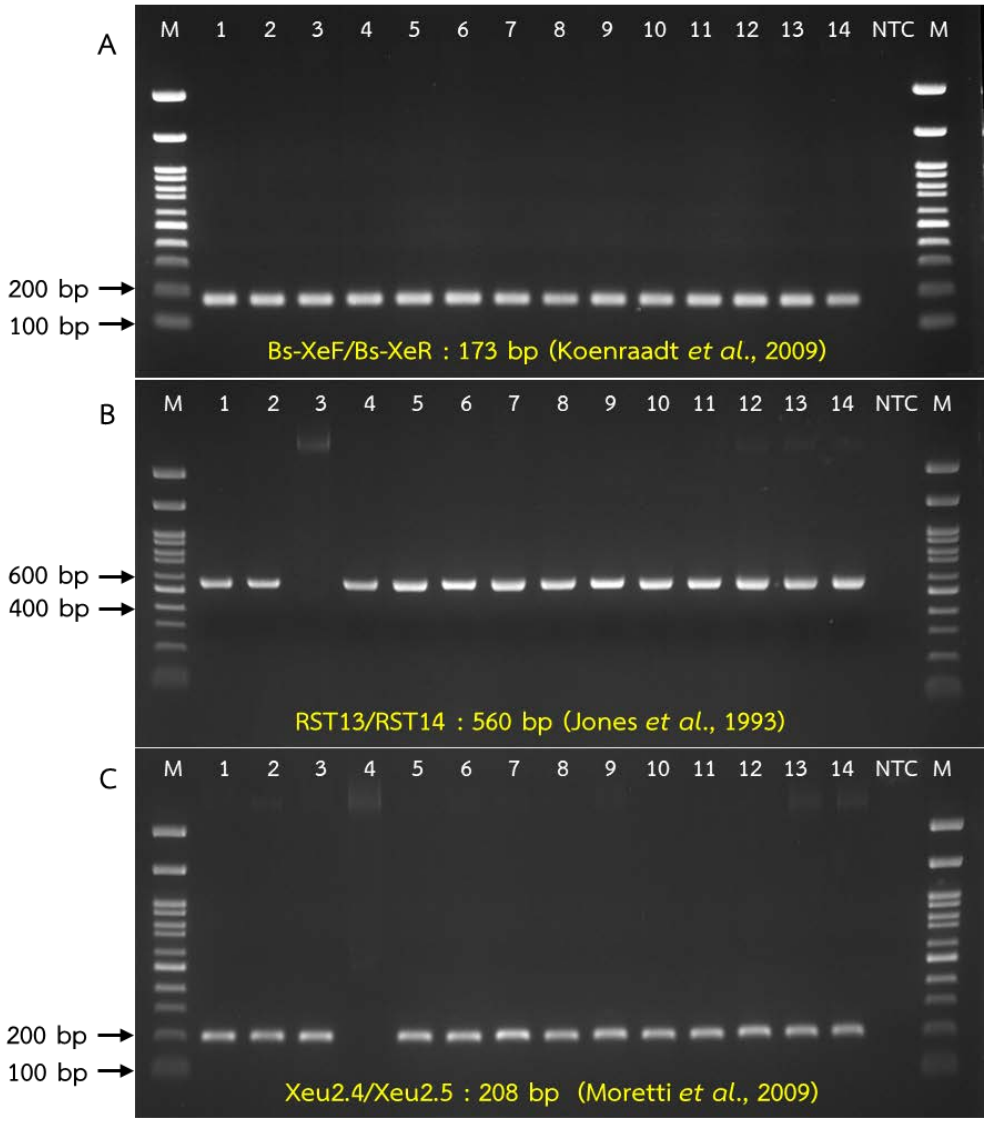



**Figure 4** Specificity test results of primer pairs for the diagnosis of *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* using the PCR technique: (A) Primer Bs-XeF/Bs-XeR (B) Primer RST13/RST14 (C) Primer Xeu2.4/Xeu2.5. M = Onemark 100; 1–14 = *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*; NTC = $H_2O$ (negative template control)

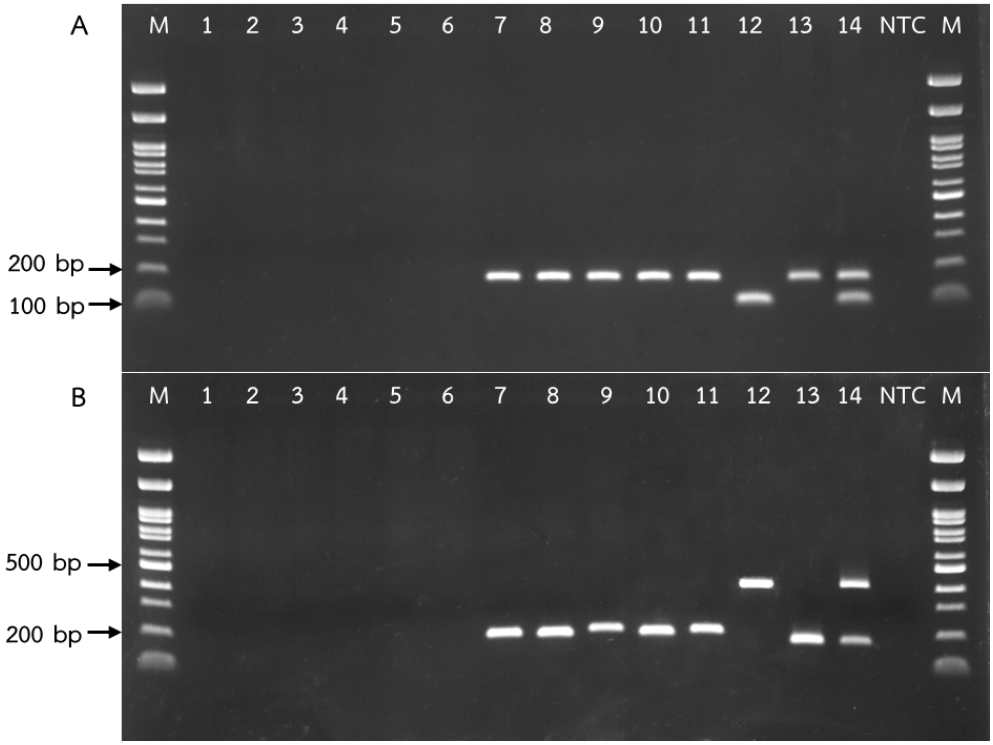



**Figure 5** Diagnostic results of *Xanthomonas vesicatoria* in tomato seed samples mixed with tomato seeds infected with *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* using the multiplex PCR technique: (A) Primers Xv-gyrB-F/Xv-gyrB-R + Bs-XeF/Bs-XeR (B) Primers Xv1/Xv2 + Bs-XeF/Bs-XeR. M = Onemark 100 DNA; 1–6 = Tomato seed samples; 7–11 = Tomato seed samples mixed with infected seeds; 12 = *X. vesicatoria* strain LMG 911 (synthetic gyrB gene/atpD gene); 13 = *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*; 14 = *X. vesicatoria* strain LMG 911 (synthetic gyrB gene/atpD gene) + *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*; NTC = $H_2O$ (negative template control)

# การเปรียบเทียบและประเมินประสิทธิภาพการตรวจไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* ด้วยเทคนิค LAMP PCR และ Real-time PCR

# Comparative Evaluation of LAMP PCR and Real-time PCR for the detection of *Radopholus similis*

**ไตรเดช ข่ายทอง รุ่งนภา ทองเครื็ง ธิติยา ชยาภัคพัฒนา**

**กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

## Abstract

The comparative evaluation of real-time PCR and LAMP PCR for the detection of *Radopholus similis* was conducted at the Nematology Section, Plant Pathology Research Group, Department of Agriculture, to assess the efficiency and limitations of these techniques and to enhance confidence in their application for *R. similis* detection in Thailand. Roots of Monstera and Anthurium were collected for nematode extraction. *Radopholus* spp. isolated from the samples were subsequently reared on alfalfa root callus. A total of 20 populations from Monstera and 30 populations from Anthurium were obtained. *Radopholus* spp. populations were further identified through morphological and molecular analyses, confirmed as *R. similis*, and subsequently used for real-time PCR and LAMP PCR analyses. The melting temperature (Tm) of the real-time PCR analysis using RAD-F and RAD-R primers was 84°C. The real-time PCR assay was specific to *R. similis* and could quantify nematode numbers as low as a single individual using a standard curve. For LAMP PCR analysis, the optimal conditions were 61°C for 45 minutes with primers targeting the D2-D3 expansion region of the rDNA gene. This technique is also specific to *R. similis* and could detect DNA concentrations as low as 10 picograms per microliter.

**Keywords :** taxonomy, diagnosis, burrowing nematodes, molecular biology

รหัสการทดลอง FF65-55-04-65-01-05-65

## บทคัดย่อ

การเปรียบเทียบและประเมินประสิทธิภาพการตรวจไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* ด้วยเทคนิค Real-time PCR และ LAMP PCR เพื่อทราบถึงประสิทธิภาพและข้อจำกัดต่าง ๆ เพื่อให้เกิดความเชื่อมั่นในการนำมาใช้ตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis* ในประเทศไทย ดำเนินการที่กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร จากการเก็บตัวอย่างพลูฉลุ และหน้าวัว นำมาแยกไส้เดือนฝอยจากรากและนำไส้เดือนฝอย *Radopholus* spp. ที่ตรวจพบไปเลี้ยงเพิ่มปริมาณในแคลลัสของรากอัลฟัลฟ่าในสภาพปลอดเชื้อ ได้ประชากรไส้เดือนฝอยจากพลูฉลุ 20 ประชากร และหน้าวัว 30 ประชากร นำไปจำแนกชนิดโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานและอณูชีววิทยา ยืนยันว่าเป็น *R. similis* นำไส้เดือนฝอยที่ได้ไปทดสอบการตรวจด้วยเทคนิค real-time PCR และ LAMP PCR พบว่าการทำปฏิกิริยา real-time PCR ด้วยคู่ไพรเมอร์ RAD-F และ RAD-R มี melting temperature (tm) เท่ากับ 84 องศาเซลเซียส มีความจำเพาะเจาะจงต่อไส้เดือนฝอย *R. similis* เพียงชนิดเดียว สามารถตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis* เชิงปริมาณได้โดยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน ซึ่งสามารถตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis* ได้ตั้งแต่ 1 ตัวขึ้นไป ส่วนการทำปฏิกิริยา LAMP PCR สำหรับตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis* โดยใช้คู่ไพรเมอร์ที่ออกแบบให้มีความจำเพาะเจาะจงกับส่วน D2-D3 expansion region ของ rDNA gene พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา LAMP PCR คือ 61 องศาเซลเซียส 45 นาที มีความจำเพาะเจาะจงต่อไส้เดือนฝอย *R. similis* และสามารถตรวจดีเอ็นเอไส้เดือนฝอย *R. similis* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 10 พิโคกรัม/ไมโครลิตร


**คำหลัก :** อนุกรมวิธาน, การตรวจวินิจฉัย, ไส้เดือนฝอยรากโพรง, อณูชีววิทยา

## คำนำ

*R. similis* เป็นหนึ่งในไส้เดือนฝอยศัตรูพืชสำคัญ 10 ชนิดที่ทำความเสียหายต่อพืชเศรษฐกิจทั่วโลก (Sasser and Freckman, 1987) มีพืชอาศัยมากกว่า 350 ชนิด เข้าทำลายพืชโดยทำลายเนื้อเยื่อของรากโดยดูดกินอาหารในส่วน cortical tissue ทำให้รากเกิดโพรงภายในและเป็นแผลลุกลามไปทั้งระบบราก (Blake, 1966) มีการแพร่กระจายทั่วโลกในเขตร้อนและเขตร้อนชื้น (Loof, 1991) ทำความเสียหายแก่พืชเศรษฐกิจ เช่น พริกไทยในอินโดนีเซีย ส้มและพืชที่ปลูกในโรงเรือนในมลรัฐฟลอริดา สหรัฐอเมริกา ในประเทศไทยมีรายงานการพบ *R. similis* ในกล้วย และพบการทำความเสียหายในไม้ดอกไม้ประดับบางชนิด เช่น หน้าวัวทำให้เกิดอาการต้นโทรม (slow decline) นอกจากนั้นยังพบ *R. similis* ติดไปกับพรรณไม้น้ำและไม้ประดับหลายชนิดที่ส่งออกไปสหภาพยุโรป

เทคนิค real-time PCR มีข้อดีคือมีความรวดเร็ว มีความไวในการตรวจสูง และให้ข้อมูลเชิงปริมาณได้ Zijlstra and Van Hoof (2006) รายงานการใช้ multiplex real-time PCR ในการตรวจไส้เดือนฝอยรากปม *M. chitwoodi* และ *M. fallax* พร้อมกัน Toyota *et al*. (2008) รายงานการใช้เทคนิค real-time PCR ในการตรวจไส้เดือนฝอย *Globodera rostochiensis* และ *M. incognita*

สามารถตรวจตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่สอง 1 ตัว ที่ปนกับไส้เดือนฝอยอื่น 1,000 ตัว ได้ Kiewnick *et al.* (2015) รายงานการใช้ LNA-based quantitative real-time PCR ในการตรวจไส้เดือนฝอยรากปม *M. enterolobii* ในตัวอย่างดีเอ็นเอที่มีดีเอ็นเอของไส้เดือนฝอยชนิดอื่นปะปนอยู่ เทคนิค real-time PCR นอกจากจะสามารถตรวจสอบชนิดไส้เดือนฝอยรากปมได้แล้วยังสามารถใช้วัดปริมาณประชากรไส้เดือนฝอยได้อีกด้วย (Zhao *et al*., 2010) เทคนิค LAMP เป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่มีการใช้ในการตรวจไส้เดือนฝอยศัตรูพืชอย่างรวดเร็ว มีรายงานการนำเทคนิค LAMP มาใช้ในการตรวจสอบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่สำคัญบางชนิด เช่น ไส้เดือนฝอยศัตรูต้นสน (pinewood nematode) *Bursaphelenchus xylophilus* (Kikuchi *et al.*, 2009) ไส้เดือนฝอยศัตรูส้ม *Tylenchulus semipenetrans* (Lin *et al*., 2016) ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. (Niu *et al*., 2011) ไส้เดือนฝอยรากปม *M. hapla* (Peng *et al*., 2017) ไส้เดือนฝอยรากปม *M. enterolobii* (Niu *et al*., 2012) สำหรับไส้เดือนฝอยรากโพรง *Radopholus similis* Peng *et al*. (2012) ได้ออกแบบไพรเมอร์ LAMP ที่จำเพาะเจาะจงกับส่วนของ D2-D3 expansion region ของ 28S rDNA ซึ่งมีความไวในการตรวจสูงกว่า conventional PCR 10-100 เท่า

งานวิจัยนี้เป็นการนำเทคนิค real-time PCR และ LAMP มาใช้ตรวจสอบไส้เดือนฝอย *R. similis* ในประเทศไทย เพื่อทราบถึงประสิทธิภาพ และข้อจำกัดต่าง ๆ เพื่อให้เกิดความเชื่อมั่นในการนำมาใช้ตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis* ในประเทศไทยต่อไป

## วิธีดำเนินการ

**อุปกรณ์**

1. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างดิน
2. อุปกรณ์สำหรับแยกไส้เดือนฝอยออกจากดินและส่วนของพืช
3. อุปกรณ์สำหรับปลูกพืช
4. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงชนิดหัวกลับ
5. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ
6. คอมพิวเตอร์และอุปกรณ์ถ่ายภาพ
7. เครื่องปั่นเหวี่ยง
8. สไลด์ กระจกปิดสไลด์
9. ถ้วยนับตัวอย่าง
10. เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม
11. เครื่องอิเล็กโตโฟรีสีส
12. microcentrifuge tube, PCR tube, pipette tip
13. ชุด kit สำหรับสกัดดีเอ็นเอ
14. agarose gel, gel star, PCR buffer, PCR mix

**วิธีการ**

**1. การแยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างและการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Radopholus***

1.1 นำตัวอย่างพืชที่มีการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย *Radopholus* รวมทั้งวัสดุปลูกมาแยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่าง ดังนี้

ตัวอย่างพืช ตัดรากเป็นท่อนสั้นๆ ยาวประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร ห่อด้วยผ้ากรอง วางลงบนชุดกรวยแยกไส้เดือนฝอยนำไปใส่ในตู้พ่นหมอก (Mistifier) เก็บตัวอย่างน้ำที่มีไส้เดือนฝอยมาผ่านตะแกรงโลหะขนาดช่อง 38 ไมโครเมตร เก็บตัวอย่างไส้เดือนฝอยไปตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์

วัสดุปลูก แยกไส้เดือนฝอยจากวัสดุปลูกโดยแช่วัสดุปลูกในน้ำนาน 24 ชั่วโมง แยกไส้เดือนฝอยโดยใช้ Decanting and Sieving with Baermann's Tray Technique กรองน้ำส่วนบนผ่านตะแกรงโลหะที่มีขนาดช่อง 850 ไมโครเมตร วางบนตะแกรงที่มีขนาดช่อง 38 ไมโครเมตร ล้างตัวอย่างดินที่ค้างอยู่บนตะแกรงอันล่างและนำตัวอย่างใส่ลงบนกระดาษกรองที่วางอยู่บนตะแกรงไนลอน วางลงในจานรองที่มีน้ำสะอาด ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วเก็บน้ำไปตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์

1.2 นำไส้เดือนฝอย *Radopholus* ที่ตรวจพบมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในแคลลัสของรากอัลฟัลฟ่าในสภาพปลอดเชื้อ ตามวิธีการของ Elsen *et al*. (2001) โดยแช่เมล็ดอัลฟัลฟ่าใน $H_2SO_4$ นาน 15 นาที ล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 4 ครั้ง จากนั้นแช่ใน $HgCl_2$ (1,000 ppm ใน 30% ethanol) นาน 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 4 ครั้ง นำเมล็ดไปเพาะใน check agar (10 g sucrose, 2 g yeast agar, 10 g agar, 1,000 ml water) เมื่อเมล็ดงอกมีรากยาวประมาณ 2 เซนติเมตร นำไปวางบน White's medium (White, 1963) ที่เติม 0.2 ppm $\alpha$-NAA และ 2 ppm 2,4-D ในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร จากนั้นทิ้งไว้ประมาณ 7-10 วัน เพื่อให้เกิดการสร้างแคลลัส จากนั้นนำตัวไส้เดือนฝอย *Radopholus* ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 0.1% w/v streptomycin sulfate ใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 1 ตัวต่อจานเลี้ยงเชื้อ เพื่อให้ได้ประชากรบริสุทธิ์

**2. การคงสภาพและทำสไลด์ถาวรของไส้เดือนฝอย**

นำไส้เดือนฝอย *Radopholus* ที่เพาะเลี้ยงได้มาทำการคงสภาพ (fixing) ด้วย 4% formaldehyde ที่ 85 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้อย่างน้อย 48 ชั่วโมง เตรียม solution 1 (20 ml ethanol 96%, 1 ml glycerine, 79 ml distilled water) และ solution 2 (93 ml ethanol 96%, 7 ml glycerine) นำตัวไส้เดือนฝอยที่คงสภาพแล้วใส่ลงใน embryo dish แล้วเติม solution 1 นำ embryo dish ใส่ลงในกล่องพลาสติก superlock เติม ethanol 96% ลงในกล่องสูงประมาณ 0.5 เซนติเมตร ปิดฝากล่องแล้วใส่ใน incubator ที่ 40 องศาเซลเซียส หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง ดูด solution 1 ออก ภายใต้กล้องกำลังขยายต่ำ แล้วใส่ solution 2 ลงใน embryo dish จากนั้นนำไปใส่ในจานเลี้ยงเชื้อแล้วปิดฝา นำไปใส่ใน incubator ที่ 40 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นใส่ dehydrated glycerine ลงใน embryo dish 2 หยด นำ embryo dish ไปเก็บในโถดูดความชื้น เก็บรักษาไส้เดือนฝอยไว้สำหรับนำไปทำสไลด์ถาวรต่อไป

**3. การสกัดดีเอ็นเอ**

3.1 สกัดดีเอ็นเอจากไส้เดือนฝอย 1 ตัว ใช้วิธีการตาม Schizas *et al.* (1997) ร่วมกับคำแนะนำของ GeneReleaser® (BioVentures) ที่แนบมากับผลิตภัณฑ์ เขี่ยไส้เดือนฝอย 1 ตัว ใส่ลงบนหยด PCR Buffer II (500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl, pH 8.3) 20 ไมโครลิตร บนสไลด์แก้ว ตัดตัวไส้เดือนฝอยออกเป็น 2-3 ท่อน โดยใช้ส่วนปลายของ pipette tip ดูดสารละลายทั้งหมดใส่ลงในหลอด microcentrifuge ขนาด 500 ไมโครลิตร นำหลอดแช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 70°C นาน 10 นาที เติม proteinase K ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ลงในหลอดและบ่มที่ 55°C ใน water bath นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นนำหลอดใส่ใน heating block ที่อุณหภูมิ 100°C 5 นาที เพื่อหยุดการทำงานของ proteinase K ใส่ GeneReleaser® 20 ไมโครลิตร ลงในหลอด นำหลอดใส่ในเตาไมโครเวฟนาน 6 นาที ปั่นเหวี่ยงแล้วเก็บส่วนใส

3.2 การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างพืชที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลาย ใช้ชุดสกัด GF-1 Plant DNA Extraction (Vivantis) วิธีการตามคำแนะนำ

3.3 การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างดินและน้ำที่มีไส้เดือนฝอยหลายชนิด ปั่นเหวี่ยงตัวอย่างน้ำที่ได้จากการแยกไส้เดือนฝอยที่ 10,000 รอบต่อนาที ดูดน้ำส่วนบนทิ้งแล้วสกัดดีเอ็นเอด้วย PowerSoil® DNA Isolation Kit (Qiagen) วิธีการตามคำแนะนำ

**4. การตรวจยืนยันชนิดของไส้เดือนฝอย *R. similis* โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานและวิธี PCR (ปี 2566)**

ตรวจยืนยันชนิดของไส้เดือนฝอย *R. similis* โดยใช้ลักษณะทางสัณฐาน (Ryss, 2003) และวิธี PCR โดยใช้คู่ไพรเมอร์จำเพาะ RsimF/RsimR ตามรายงานของ Ravindran *et al*. (2011) RsimF 5'-GATTCCGTCCTTTGGTGGGCA-3' และ RsimR 5'- GAACCAGGCGTGCCAGAGG-3' โดยใช้สภาวะปฏิกิริยาคือ Initial denaturation ที่ 94°C 2 นาที amplification cycle 35 รอบ 94°C 30 วินาที 55°C 1 นาที 72°C 1 นาที และ final polymerization step ที่ 72°C 10 นาที

**5. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเทคนิค LAMP PCR และ Real time PCR** (ปี 2566-2567)

ใช้เทคนิค LAMP PCR ตามรายงานของ Peng *et al*. (2012) ประกอบด้วยไพรเมอร์ที่ออกแบบให้มีความจำเพาะเจาะจงกับส่วน D2-D3 region ของ rDNA gene ได้แก่

Rs-F3 AGCTGGCGTATCTAGCCTG, Rs-B3 AACGCCAGAACGCA-CAAC,

Rs-FIP GCACCCAACGGACAAAACAACACATTCAGCCTCTGGGCATC,

Rs-BIP GCAGCGCTGTGAGCCTGTTTGT-TCGCCCATTCTGGGTAC และ

Rs-LF AGGCGTCGTCCCAAGGTCA

ส่วนผสมของปฏิกิริยา LAMP ประกอบด้วยไพรเมอร์ FIP และ BIP อย่างละ 40 pmol, ไพรเมอร์ F3 และ B3 อย่างละ 5 pmol, ไพรเมอร์ LF 20 pmol, dNTP mix 1.4 mM, betaine 1.6 M, $MgSO_4$ 4.5 mM, *Bst* DNA polymerase 8U, 1× Thermopol Reaction buffer (20 mM Tris-HCl, pH 8.8, 25°C), KCl 10 mM, $(NH_4)_2SO_4$, 2 mM $MgSO_4$ 10 mM, Triton X-100 0.1%,

DNA 1 µl และ PCR grade water 25 µl บ่มที่อุณหภูมิ 60-65°C นาน 45 นาที และหยุดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 85°C 5 นาที

ใช้เทคนิค real-time PCR ตามรายงานของ Krisna and Eapen (2019) ซึ่งใช้ไพรเมอร์ RAD-F: AGACTTGA TGAGCGCAGA และ RAD-R: CGTGCCAGAGGAAGTGA ที่ออกแบบให้จำเพาะเจาะจงกับส่วน ITS ของ *R. similis* โดยใช้ Quantifast SYBR green 2x master mix (Qiagen) และไพรเมอร์ 0.25 µM และสภาวะปฏิกิริยา PCR เริ่มจาก 95°C 10 นาที และ amplification cycle 40 รอบ 95°C 10 วินาที 60°C 45 วินาที และ melting ที่ 50-99°C

5.1 เปรียบเทียบความจำเพาะเจาะจง (specificity)

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

5.2 เปรียบเทียบความไว (sensitivity)

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

5.3 เปรียบประสิทธิภาพในการตรวจตัวอย่างดีเอ็นเอผสม

ทดสอบประสิทธิภาพการตรวจดีเอ็นเอผสมที่สกัดจากไส้เดือนฝอย *R. similis*: *Pratylenchus coffeae* 1:10 1:100 1:500 1:1,000 1:5,000 และ 1:10,000 ตัว ทำการทดสอบ 10 ซ้ำ

5.4 เปรียบเทียบผลการตรวจตัวอย่างประเภทต่าง ๆ

ทดสอบประสิทธิภาพการตรวจตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดจากดิน น้ำ หรือรากพืชที่มีไส้เดือนฝอย *R. similis*

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

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

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

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

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

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2564 – กันยายน 2567

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. การแยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างและการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Radopholus***

เก็บตัวอย่างพลูฉลุ และหน้าวัว แยกไส้เดือนฝอยจากราก ตรวจพบไส้เดือนฝอย *Radopholus* spp. เลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในรากพลูฉลุ และแคลลัสของอัลฟัลฟาในสภาพปลอดเชื้อ ได้ประชากรไส้เดือนฝอย *Radopholus* spp. จากพลูฉลุ 20 ประชากร และหน้าวัว 30 ประชากร

**2. การคงสภาพและทำสไลด์ถาวรของไส้เดือนฝอย**

ทำสไลด์ถาวรของไส้เดือนฝอย *Radopholus* spp. แต่ละประชากร เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา เพื่อตรวจสอบชนิดโดยใช้วิธีการจำแนกจาก EPPO PM 7/88 (1) และแนวทางการจำแนกชนิดโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานของ Ryss (2003) จากการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำแนกชนิดได้เป็นไส้เดือนฝอย *R. similis* โดยไส้เดือนฝอย *R. similis* มีลักษณะที่สำคัญคือ spermatheca มี rod-like sperm cells อยู่ภายใน spermathecae ทั้ง 2 ข้างมีขนาดเท่ากัน lobe ของ stylet knobs มีขนาดเท่ากัน ปลายหาง annulated lateral field มี lateral lines 4 เส้น แถบ lateral fields มีขนาดเท่ากัน cephalic region มีลักษณะ dome-shaped มี 3 annuli หรือมากกว่า หางลักษณะ conical lateral field ระหว่าง phasmid และปลายหาง มี lateral lines 3 เส้น (Figure 1)

**3. การสกัดดีเอ็นเอและการตรวจยืนยันชนิดของไส้เดือนฝอย *R. similis* โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานและวิธี PCR**

สกัดดีเอ็นเอและตรวจสอบชนิดด้วยคู่ไพรเมอร์จำเพาะ RsimF/RsimR ด้วยเทคนิค PCR ได้ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 398 bp ยืนยันว่าเป็นไส้เดือนฝอย *R. similis* สอดคล้องกับผลการตรวจสอบทางสันฐานวิทยา

**4. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเทคนิค LAMP PCR และ Real time PCR**

4.1 ประสิทธิภาพของเทคนิค real-time PCR

ได้สภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา real-time PCR โดยใช้คู่ไพรเมอร์ RAD-F: AGACTTGATGAG CGCAGA และ RAD-R: CGTGCCAG AGGAAGTGA (Krisna and Eapen, 2019) ที่จำเพาะเจาะจงกับยีนส่วน ITS ของ *R. similis* ผลการทำปฏิกิริยา real-time PCR พบว่าคู่ไพรเมอร์ RAD-F และ RAD-R มีขั้นตอนการควบคุมอุณหภูมิเพื่อเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมดังนี้ pre-incubation 95 องศาเซลเซียส 10 นาที amplification จำนวน 40 รอบ ประกอบด้วย denaturing 95 องศาเซลเซียส 10 วินาที annealing 60 องศาเซลเซียส 45 วินาที extension 72 องศาเซลเซียส 20 วินาที final extension 80 องศาเซลเซียส 15 วินาที (เพื่อลดการเกิด primer dimers) จากนั้นทำการวิเคราะห์ความถูกต้องของชิ้นส่วนดีเอ็นเอเป้าหมายจากค่า melting temperature (Tm) ด้วยการเพิ่มอุณหภูมิตั้งแต่ 72-95 โดยเพิ่ม 0.5 องศาเซลเซียส/วินาที เมื่อสิ้นสุดลดอุณหภูมิลงที่ 40 องศาเซลเซียส นาน 15 วินาที พบว่ามีค่า melting temperature (tm) เท่ากับ 84 องศาเซลเซียส

(Figure 2) ผลการทดสอบความจำเพาะเจาะจงโดยทดสอบกับดีเอ็นเอของไส้เดือนฝอย *R. similis* ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิดอื่น ๆ และไส้เดือนฝอยที่ไม่ใช่ศัตรูพืชที่มักพบในตัวอย่างดิน พบว่าปฏิกิริยา real-time PCR มีความจำเพาะเจาะจงต่อไส้เดือนฝอย *R. similis* เพียงชนิดเดียว (Figure 4) การทดสอบความไวของปฏิกิริยา real-time PCR พบว่าสามารถตรวจดีเอ็นเอได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 10 เฟมโตกรัม/ไมโครลิตร และสามารถตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis* เชิงปริมาณได้โดยเปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐาน โดยตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis* ได้ตั้งแต่ 1 ตัวขึ้นไป (Figure 3)

4.2 ประสิทธิภาพของเทคนิค LAMP PCR

ได้สภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา LAMP PCR สำหรับตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis* โดยใช้คู่ไพรเมอร์ที่ออกแบบให้มีความจำเพาะเจาะจงกับส่วน D2-D3 region ของ rDNA gene พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา LAMP PCR คือ 61 องศาเซลเซียส 45 นาที (Figure 5) มีความไวในการตรวจดีเอ็นเอไส้เดือนฝอย *R. similis* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 10 พิโคกรัม/ไมโครลิตร (Figure 6) และผลการทดสอบความจำเพาะเจาะจงโดยทดสอบกับดีเอ็นเอของไส้เดือนฝอย *R. similis* ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิดอื่น ๆ และไส้เดือนฝอยที่ไม่ใช่ศัตรูพืชที่มักพบในตัวอย่างดิน พบว่าปฏิกิริยา LAMP PCR มีความจำเพาะเจาะจงต่อไส้เดือนฝอย *R. similis* เพียงชนิดเดียว (Figure 7)

**5. เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตรวจตัวอย่างดีเอ็นเอผสมของเทคนิค LAMP PCR และ real-time PCR ในการตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis***

ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการตรวจตัวอย่างดีเอ็นเอผสมของเทคนิค LAMP PCR และ real-time PCR ในการตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis* โดยการนำดีเอ็นเอที่สกัดของไส้เดือนฝอย *R. similis* และ *Pratylenchus coffeae* มาผสมกันตามอัตราส่วน ดีเอ็นเอ *R. similis* : *P. coffeae* คือ 1:10 1:100 1:500 1:1,000 1:5,000 และ 1:10,000 ตัว ทำการทดสอบ 10 ซ้ำ พบว่าการตรวจด้วยเทคนิค LAMP PCR สามารถตรวจตัวอย่างดีเอ็นเอผสมได้ที่สัดส่วนดีเอ็นเอ *R. similis* : *P. coffeae* คือ 1:10 และ 1:100 การตรวจด้วยเทคนิค real-time PCR สามารถตรวจตัวอย่างดีเอ็นเอผสมได้ที่สัดส่วนดีเอ็นเอ *R. similis*: *P. coffeae* คือ 1:10, 1:100, 1:500 และ 1:1,000 จากผลการทดลองพบว่าเทคนิค real-time PCR มีความไวในการตรวจตัวอย่างสูงว่าเทคนิค LAMP PCR (Table 1) ดังนั้นจึงมีความเหมาะสมสำหรับใช้เพื่อตรวจรับรองตัวอย่าง

**6. เปรียบเทียบผลการตรวจตัวอย่างประเภทต่าง ๆ ของเทคนิค LAMP PCR และ real-time PCR ในการตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis***

ผลการทดสอบประสิทธิภาพการตรวจตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดจากรากพลูฉลุที่มีไส้เดือนฝอย *R. similis* เข้าทำลาย โดยตัดส่วนของรากพลูฉลุที่แสดงอาการรากเน่าจากการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย *R. similis* ชั่งน้ำหนักจำนวน 3 กรัม นำไปแยกเพื่อตรวจนับจำนวนตัวไส้เดือนฝอย *R. similis* พบว่ามีไส้เดือนฝอยจำนวน 10 ตัว จึงนำไปสกัดดีเอ็นเอและวัดความเข้มของดีเอ็นเอที่สกัดได้เท่ากับ 0.79 ng/ul ผลการตรวจอย่างดีเอ็นเอด้วยเทคนิค LAMP PCR พบว่าสามารถตรวจพบไส้เดือนฝอย *R. similis* ได้ ผลการตรวจด้วยเทคนิค real-time PCR พบว่าสามารถตรวจพบไส้เดือนฝอย *R. similis*

มีค่าจำนวนรอบที่แสงฟลูออเรสเซนต์ตัดกับเส้น Threshold เพื่อบ่งชี้ความเข้มข้นของดีเอ็นเอเป้าหมาย (Ct (cycle threshold) values) เท่ากับ 21.77 เมื่อนำค่า Ct ของผลการตรวจที่ได้เปรียบเทียบกับค่า Ct ของกราฟมาตรฐานซึ่งจะแสดงผลการตรวจเชิงปริมาณได้ พบว่าค่า Ct ของผลการตรวจตัวอย่างดีเอ็นเอที่ได้เทียบเท่ากับค่า Ct ของกราฟมาตรฐานที่มีจำนวนตัวไส้เดือนฝอยประมาณ 10 ตัว (Table 1)

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เทคนิค real-time PCR มีความจำเพาะเจาะจงต่อไส้เดือนฝอย *R. similis* สามารถตรวจดีเอ็นเอได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 10 เฟมโตกรัม/ไมโครลิตร และสามารถแสดงผลการตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis* เชิงปริมาณได้โดยการเปรียบเทียบค่า Ct จากกราฟมาตรฐาน ซึ่งจะตรวจไส้เดือนฝอย *R. similis* ได้ตั้งแต่ 1 ตัวขึ้นไป เทคนิค LAMP PCR มีความจำเพาะเจาะจงต่อไส้เดือนฝอย *R. similis* เพียงชนิดเดียว อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา LAMP PCR คือ 61 องศาเซลเซียส 45 นาที มีความไวในการตรวจดีเอ็นเอไส้เดือนฝอย *R. similis* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 10 พิโคกรัม/ไมโครลิตร จากผลการทดลองที่ได้ทำให้มั่นใจว่าสามารถนำเทคนิคการตรวจวินิจฉัยทั้งสองวิธีไปใช้ในการตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอย *R. similis* ในประเทศไทยได้อย่างถูกต้อง

## เอกสารอ้างอิง


Kiewnick, S., J.E. Frey and A. Braun-Kiewnick. 2015. Development and validation of LNA-based quantitative real-time PCR assays for detection and identification of the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* in complex DNA backgrounds. *Phytopathology* 105: 1245-1249.

Kikuchi, T., T. Aikawa, Y. Oeda, N. Karim and N. Kanzaki. 2009. A rapid and precise diagnostic method for detecting the Pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* by loop-mediated isothermal amplification. *Phytopathology* 99: 1365-1369.

Lin, B. R., H. H. Wang, K. Zhuo and J. L. Liao. 2016. Loop-mediated isothermal amplification for the detection of *Tylenchulus semipenetrans* in soil. *Plant Disease* 100: 877-883.

Loof, P. A. A. 1991. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. *In*: Manual of Agricultural Nematology (Ed. Nickle WR), pp. 363–421. Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hong Kong.

Niu, J.H., H. Jian, Q.X. Guo, C.L. Chen, X.Y. Wang, Q. Liu and Y.D. Guo. 2012. Evaluation of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assays based on 5S rDNA-IGS2 regions for detecting *Meloidogyne enterolobii*. *Plant Pathology* 61: 809-819.

Peng, H., D.L. Peng, X.Q. Hu, X.F. He, Q. Wang, W.K. Huang and W.T. He. 2012. Loop-mediated isothermal amplification for rapid and precise detection of the burrowing nematode, *Radopholus similis*, directly from diseased plant tissues. *Nematology* 14: 977-986.

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

Sasser, J.N. and D.W. Freckman. 1987. A world perspective on Nematology: The role of the society. *In*: Vistas on Nematology (Ed. Veech JA & Dickson DW), pp. 7–14. Society of nematologists, Hyattsville (US).

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

Zhao, Y.L., W.B. Ruan, L. Yu, J.Y. Zhang, J.M. Fu, E.B. Shain, X.T. Huang and J.G. Wang. 2010. Combining max Ratio analysis with real-time PCR and its potential application for the prediction of *Meloidogyne incognita* in field samples. *Journal of Nematology* 42: 166–172.

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

**Table 1** Comparison of LAMP PCR and real-time PCR for the detection of *R. similis*

| samples | Concentration (ng/ul) | Real-time PCR (Ct value) | LAMP PCR |
|---|---|---|---|
| 1. *R. similis* DNA (50 nematodes) | 2.01 | 18.89 | + |
| 2. *R. similis* DNA (20 nematodes) | 1.61 | 19.03 | + |
| 3. *R. similis* DNA (10 nematodes) | 0.86 | 21.74 | + |
| 4. *R. similis* DNA (5 nematodes) | 0.43 | 23.82 | + |
| 5. *R. similis* DNA (1 nematode) | 0.18 | 25.89 | + |
| 6. *P. coffeae* DNA (1 nematode) | - | - | - |
| 7. *M. enterolobii* DNA (1 nematode) | - | - | - |
| 8. *M. incognita* DNA (1 nematode) | - | - | - |
| 9. *M. javanica* DNA (1 nematode) | - | - | - |
| 10. mixed DNA 1:10 (*R. similis*: *P. coffeae*) | - | 23.92 | + |
| 11. mixed DNA 1:100 (*R. similis*: *P. coffeae*) | - | 26.86 | + |
| 12. mixed DNA 1:500 (*R. similis*: *P. coffeae*) | - | 28.03 | - |
| 13. mixed DNA 1:1,000 (*R. similis*: *P. coffeae*) | - | 31.20 | - |
| 14. mixed DNA 1:5,000 (*R. similis*: *P. coffeae*) | - | - | - |
| 15. mixed DNA 1:10,000 (*R. similis*: *P. coffeae*) | - | - | - |
| 16. Infected root DNA (10 *R. similis* in 3 g root) | 0.79 | 21.77 | + |

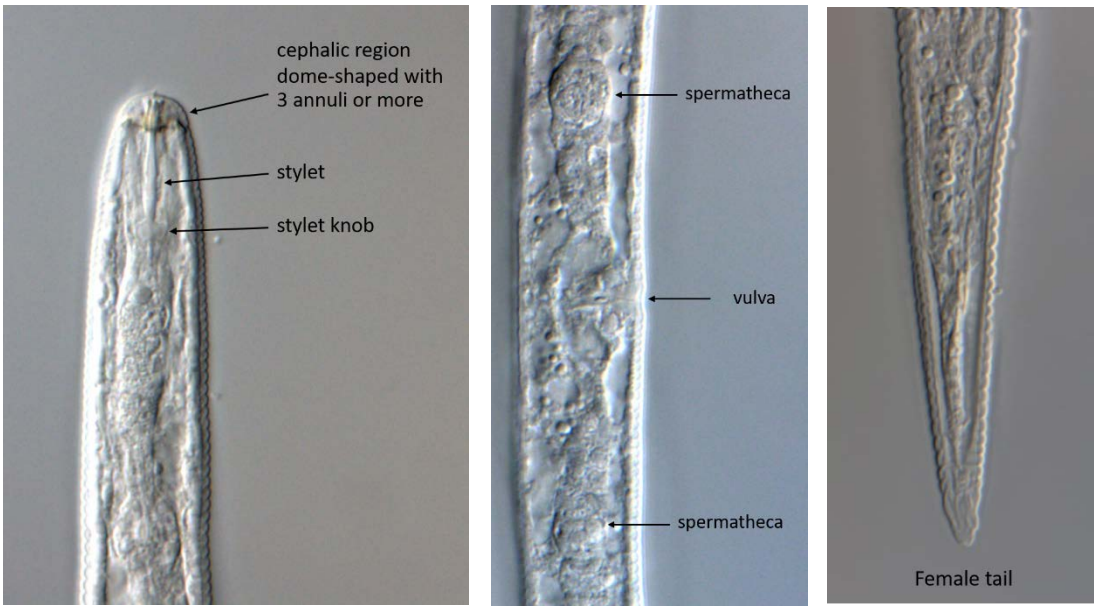



**Figure 1** Morphology of *R. similis*

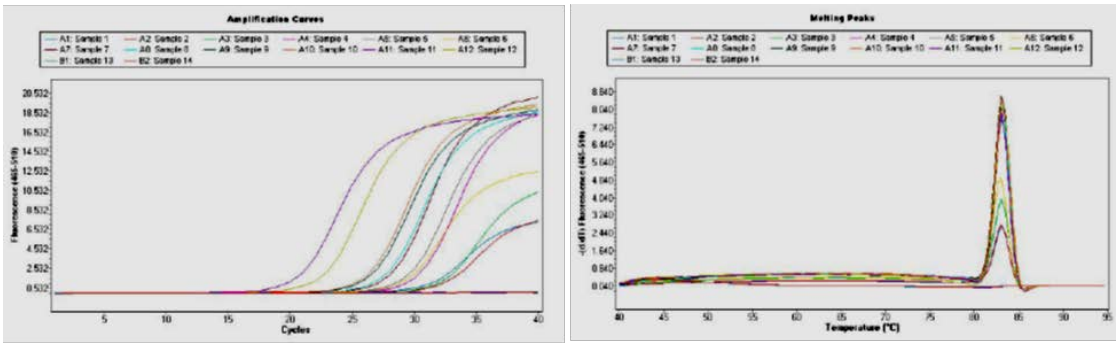



**Figure 2** Melting curve analysis is a critical technique in real-time PCR used to confirm the presence or absence of the target PCR product. The melting temperature (Tm) of the product amplified with RAD-F and RAD-R primers specific to *R. similis* is 84°C

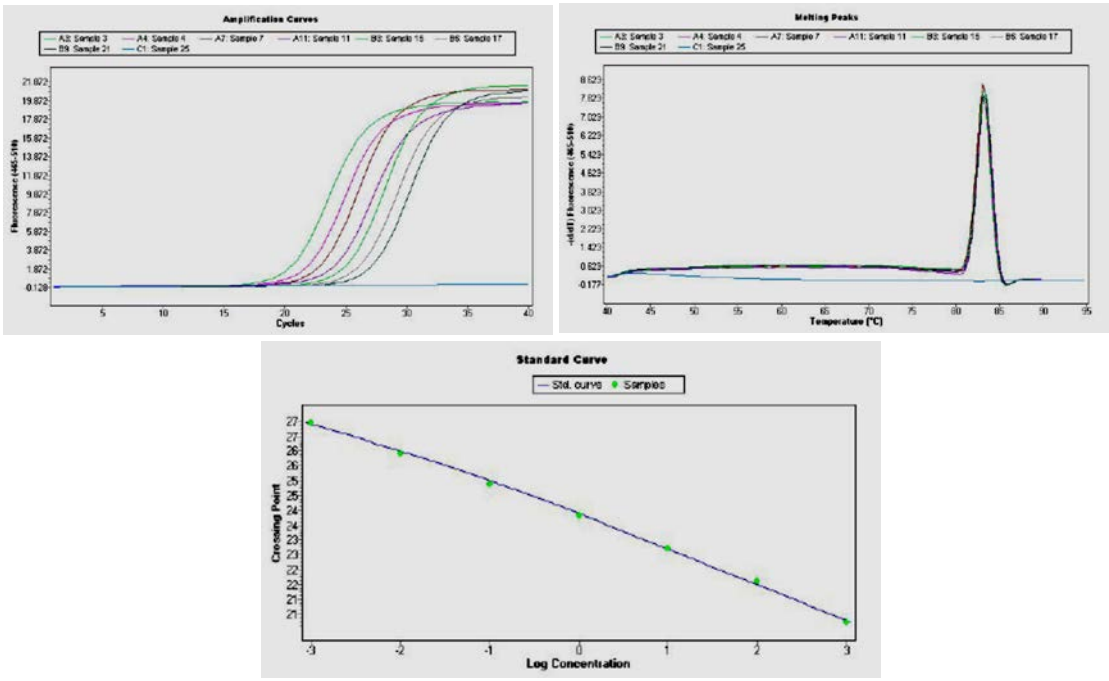



**Figure 3** The sensitivity of the real-time PCR was evaluated using DNA subjected to an eight-level, 10-fold serial dilution. The assay was able to detect DNA at a concentration as low as 10 femtograms per microliter

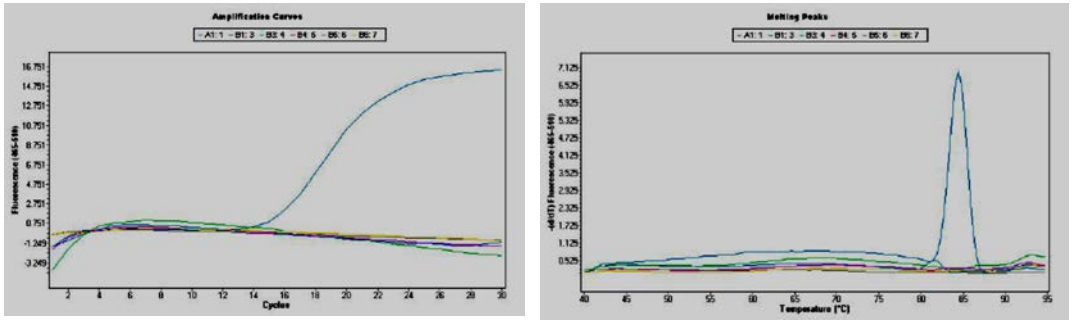



**Figure 4** The specificity of the real-time PCR assay was assessed using DNA extracted from *R. similis* as well as from various other plant-parasitic nematode species. The results confirmed that the assay exhibits high specificity for *R. similis*

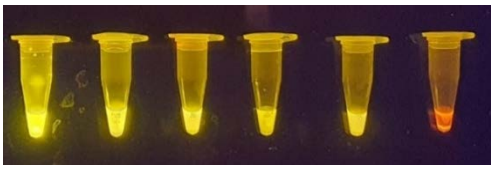


**Figure 5** The optimum conditions for LAMP PCR detection of *R. similis*, using a specific primer set targeting the D2-D3 expansion region of the rDNA gene, were determined to be 61°C for 45 minutes

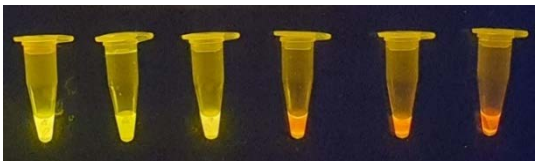


**Figure 6** The sensitivity of the LAMP PCR assay was assessed using DNA subjected to an eight-level, 10-fold serial dilution. The assay demonstrated the ability to detect DNA at a minimum concentration of 10 picograms per microliter

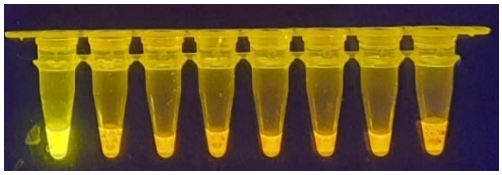


**Figure 7** The specificity of the LAMP PCR assay was evaluated using DNA extracted from *R. similis* and several other plant-parasitic nematode species. The results confirmed that the assay is highly specific to *R. similis*

# พัฒนาเทคนิค Polymerase Chain Reaction เพื่อการตรวจวินิจฉัยเชื้อรา *Trichoderma asperellum*

# Development Polymerase Chain Reaction Technique for Detection of *Trichoderma asperellum*

**ชนินทร ดวงสอาด[1/] มะโนรัตน์ สุดสงวน[1/] วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ[1/]**
**สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ[1/] อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว[1/] สุทธินี ลิขิตตระกูลรุ่ง[2/]**
**[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
**[2/]กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1**

## Abstract

Development of a rapid and accurate technique for detecting *Trichoderma* species using Polymerase Chain Reaction (PCR)-based technique and specific primers. This study was operated from October 2021 to March 2025. The specific primers were designed based on the ITS and *tef1* gene loci. The primers were tested against the *Trichoderma* type sequences database. It was found that two pairs of primers based on the ITS region were found to be specific to the *T. asperellum* complex, as well as one pair of primers for the *tef1* region, which also presented specificity to the *T. asperellum* complex. All primers had the optimum annealing temperature at 60 °C. The results of testing the designed primers on the ITS locus with various DNA of fungal species showed that the primers were specific for *T. asperellum*, but the level of specificity was specific to some of the *T. asperellum* complex, comprised of *T. asperellum* and *T. asperelloides*.

**Keywords :** *Trichoderma asperellum*, detection

รหัสการทดลอง FF65-55-04-65-02-01-65

## บทคัดย่อ

การพัฒนาเทคนิคที่มีความแม่นยำและรวดเร็วเพื่อตรวจสอบชนิดของ *Trichoderma* โดยใช้เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)-based และไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะ โดยการดำเนินงานระหว่าง ตุลาคม 2564 - มีนาคม 2568 ได้ออกแบบไพร์เมอร์จำเพาะบนยีนตำแหน่ง ITS และ *tef1* เมื่อทำการทดสอบไพร์เมอร์กับฐานข้อมูลของเชื้อรา *Trichoderma* ได้ไพร์เมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *T. asperellum* ระดับของกลุ่ม complex บนยีน ITS จำนวน 2 คู่ และยีน *tef1* จำนวน 1 คู่ โดยไพรเมอร์ทั้ง 3 คู่ มี annealing temperature ที่เหมาะสมที่สุดคือ 60 องศาเซลเซียส ผลการทดสอบไพร์เมอร์ที่ออกแบบบนตำแหน่ง ITS กับดีเอ็นเอของเชื้อราต่างๆที่ผ่านการยืนยันชนิดแล้ว พบว่าไพรเมอร์มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *T. asperellum* แต่ระดับความจำเพาะดังกล่าวเป็นความจำเพาะต่อทั้งกลุ่มของ *T. asperellum* complex โดยสามารถตรวจจับกับดีเอ็นเอของเชื้อรา *T. asperellum* และ *T. asperelloides*


**คำหลัก :** *Trichoderma asperellum*, การตรวจสอบ

## คำนำ

เชื้อราหลายสปีชีส์ใน genus *Trichoderma* (Ascomycetes, Hypocreales) มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ โดยเฉพาะทางด้านการเกษตรที่มีการใช้เชื้อรา ใน genus *Trichoderma* เป็นสารชีวภัณฑ์ (biocontrol agent) (de los Santos-Villalobos *et al.*, 2013; Kindermann *et al.*, 1998; Mbarga *et al.*, 2012) อันเนื่องมาจากคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยเชื้อรา *Trichoderma* เป็นเชื้อราที่มีอัตราการเจริญอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด จึงทำให้มีประสิทธิภาพในการแย่งใช้สารอาหารและพื้นที่ในการเจริญ รวมถึงยังสามารถใช้สารอาหารและเจริญในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (mycoparasite) นอกจากนี้ เชื้อรา *Trichoderma* ยังสร้างสารปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด และสารที่เชื้อรา *Trichoderma* สร้างขึ้นยังส่งผลดีต่อพืช โดยช่วยในการเจริญเติบโต (plant growth) รวมถึงกระตุ้นให้พืชมีความแข็งแรงต่อการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (plant defence responses) ดังนั้น เชื้อรา *Trichoderma* จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืช โดยไม่ก่อให้เกิดผลเสียแก่พืช เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และช่วยลดการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคพืช

*Trichoderma asperellum* เป็นเชื้อราที่เป็นที่รู้จักใน genus *Trichoderma* และมีการนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีอย่างแพร่หลาย ซึ่งมีการส่งเสริมให้ใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืชโดยทั้งทางภาครัฐและเอกชน รวมถึงมีการผลิตในเชิงการค้า การตรวจสอบความถูกต้องของชนิดของเชื้อรา *T. asperellum* จึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง หากมีการใช้ชนิดของเชื้อรา *Trichoderma* ไม่ถูกต้องหรือไม่เป็นไปตามวัตถุประสงค์ เช่น เกิดการปนเปื้อน หรือการผสมกันของเชื้อราปฏิปักษ์มากกว่า 1 ชนิด จะส่งผลกระทบต่อผลประสิทธิภาพและความยั่งยืนของการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช

(Druzhinina *et al*., 2010) ในปัจจุบันมีหลายบริษัทมาขอขึ้นทะเบียนชีวภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์แต่เนื่องจากลักษณะความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาเชื้อราใน genus *Trichoderma* นั้นมีความแตกต่างเพียงเล็กน้อย จึงทำให้ยากต่อการจำแนกในระดับสปีชีส์

ในการจัดจำแนกเชื้อรา *Trichoderma* สามารถทำได้โดยลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Rifai, 1969; Bissett, 1984; Bissett, 1991a-c; Bissett, 1992) เช่น รูปร่างลักษณะและขนาดของ conidia สี ลักษณะผิว conidia (ornamentation) ลักษณะการแตกกิ่งก้าน การฟอร์มเส้นใยแบบ sterile หรือ fertile ความยาวที่ยื่นออกมาจากก้านชูสปอร์ แต่ทั้งนี้ ลักษณะความแตกต่างที่มีการรายงานหรือบันทึกไว้ดังกล่าวสามารถใช้แยกความแตกต่างได้อย่างชัดเจนสำหรับบางสปีชีส์ แต่ไม่สามารถแยกความแตกต่างได้ หรือมีความคลุมเครือระหว่าง strain ของบางสปีชีส์ (Singh *et al*., 2014)

การจัดจำแนกและวิวัฒนาการของเชื้อรา *Trichoderma* โดยใช้ลักษณะทางด้านพันธุกรรม (DNA) มีการศึกษากันมากขึ้น โดยส่วนใหญ่ใช้ตำแหน่ง internal transcribed spacer (ITS) (Dodd *et al*., 2000; Kindermann *et al*., 1998) แต่พบว่าการจำแนกด้วย ITS เพียงหนึ่งตำแหน่งไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างรา *Trichoderma* บางสปีชีส์ได้ เนื่องจากเชื้อรา *Trichoderma* เหล่านั้นมีวิวัฒนาการที่ใกล้เคียงกัน มักจะมีความคล้ายคลึงหรือมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ใกล้เคียงกันมาก เช่น มีรายงานว่า *T. asperellum* เป็น complex species (มีมากกว่า 1 สปีชีส์ภายใต้ชื่อ *T. asperellum*) และลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ลักษณะของ conidia ไม่สามารถใช้อ้างอิง หรือเปรียบเทียบเพื่อจำแนกชนิดได้ แต่เมื่อใช้ลักษณะทางด้านพันธุกรรม (DNA) จำนวน 4 ตำแหน่ง ได้แก่ the Internal Transcribed Spacer (ITS) translation elongation factor 1 (*tef1*) RNA polymerase subunit 2 (*rpb2*) and actin (ACT) ในการจัดจำแนก (Samuels and Ismaiel, 2009) พบว่าเชื้อราชนิดนี้ประกอบไปด้วย *T. asperellum* และ *T. asperelloides* ซึ่งได้รับการบันทึกเป็นอีกสปีชีส์ของเชื้อรา *Trichoderma* (Samuels *et al*., 2010) นอกจากนี้ยังพบว่า ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของทั้งสองสปีชีส์นี้ มีความใกล้เคียงอย่างมากกับเชื้อรา *T. yunnanense* โดยสามารถแยกความแตกต่างได้โดยเปรียบเทียบข้อมูลของดีเอ็นเอเท่านั้น (Samuels *et al*., 2010) สำหรับเชื้อรา *T. harzianum* นั้น Chaverri *et al*. (2003) ทำการเปรียบเทียบลักษณะทางด้านพันธุกรรมจาก 4 ตำแหน่ง ได้แก่ ITS tef1 calmodulin และ actin เชื้อรา *Trichoderma* ที่พบในประเทศอินเดียจำนวนหลายไอโซเลทที่จัดจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาว่าเป็น *T. viride* แต่เมื่อใช้ข้อมูลของดีเอ็นเอจากตำแหน่ง ITS และ elongation factor พบว่าเชื้อราเหล่านี้คือเชื้อรา *T. asperellum* หรือ *T. asperelloides* (Siram *et al*., 2013) จากการศึกษาลักษณะของ conidia ของเชื้อรา *T. harzianum* พบว่ามีความใกล้เคียงกับ conidia ของเชื้อรา *T. viride* โดยมีความแตกต่างเพียงเล็กน้อยของลักษณะ ความหนาแน่น และเฉดสีของ conidia อีกทั้ง เชื้อรา *T. viride* ยังมีความใกล้เคียงกับ *T. asperellum* ดังนั้น ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ไม่สามารถใช้อ้างอิงเพื่อจัดจำแนกอย่างชัดเจนได้ (Singh *et al*., 2014)

ปัจจุบันได้มีความพยายามพัฒนาเทคนิคที่มีความแม่นยำและรวดเร็วเพื่อตรวจสอบชนิดของ *Trichoderma* เช่น การใช้ isozymes การเปรียบเทียบ sequencing ของยีน และ random amplified polymorphic DNA (RAPD) (Zamir and Chet, 1985; Grondona *et al*., 1997; Miyazaki and Tsunoda, 2003) ทั้งนี้การตรวจสอบโดยใช้เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)-based และไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะมีการนำมาใช้ในการตรวจสอบชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคพืชมากขึ้น (Mazzaglia *et al*., 2001; Konstantinova *et al*., 2002) ดังนั้นในกิจกรรมนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อรา *T. asperellum* ที่มีประสิทธิภาพ รวดเร็วและมีความแม่นยำสูง เพื่อนำไปประยุกต์ในการตรวจสอบเชื้อราดังกล่าวในสารชีวภัณฑ์ที่นำมาขึ้นทะเบียนกับกรมวิชาการเกษตร

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (centrifuge) เครื่อง Polymerase chain reaction (PCR machine) เครื่องเขย่า (vortex) เครื่อง tissue lyser gel tank เครื่องกำเนิดกระแสไฟ gel plate comb เครื่องถ่ายภาพเจล microwave micropipette ขนาด 10 100 200 และ 1000 ไมโครลิตร กล้องจุลทรรศน์แบบ compound กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ water bath และ heat block

2. วัสดุในห้องปฏิบัติการ สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์ tips ขนาด 10 100 200 และ 1000 ไมโครลิตร PCR tube ใบมีดผ่าตัด เข็มเขี่ยปลายแหลม ปากคีบ

3. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ บิกเกอร์ ขวดดูแรน กระบอกตวง ตะเกียงแอลกอฮอล์ plate

4. สารเคมี ได้แก่ เอนไซม์สำหรับทำปฏิกิริยา Taq DNA Polymerase Phusion High-Fidelity DNA Polymerase Proteinase K enzyme Lithium Borate buffer (LB) ชุดสำหรับการสกัดดีเอ็นเอ ได้แก่ Microbial DNA Isolation Kit Power Plant Isolation Kit ชุดสำหรับการสกัดเจล ชุดสำหรับทำความสะอาดดีเอ็นเอ Stain G loading dye agarose gel (PCR grade) PCR water DNA ladder อาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น potato dextrose agar (PDA) และ ไพร์เมอร์

### วิธีการ

**1. รวบรวมข้อมูลรหัสพันธุกรรมของเชื้อราในสกุล *Trichoderma*** (ปี 2565)

1.1 รวบรวมข้อมูลรหัสพันธุกรรมของเชื้อราในสกุล *Trichoderma* จากพิพิธภัณฑ์โรคพืช และ culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

<u>รวบรวมตัวอย่างและแยกเชื้อให้บริสุทธิ์</u>

แยกเชื้อรา *T. asperellum* ที่ได้จากพิพิธภัณฑ์โรคพืช และ culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชให้บริสุทธิ์ โดยวิธี single spore isolation ย้ายสปอร์

เดี่ยวของเชื้อรา *T. asperellum* เลี้ยงลงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ ห้องปฏิบัติการ นาน 7-21 วัน หากไม่มีการปนเปื้อน สามารถดำเนินการสกัดดีเอ็นเอ เชื้อที่เจริญจากสปอร์เดี่ยว จะทำการแยกเลี้ยงบนอาหาร PDA จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

สกัดดีเอ็นเอ

เขี่ยเส้นใยของเชื้อรา *T. asperellum* ที่เลี้ยงบน PDA แล้วย้ายลงในหลอดสำหรับสกัดดีเอ็นเอ เติม glass beads ลงในหลอดแล้วเขย่าด้วย TissueLyser ที่ความถี่ 30 รอบต่อวินาที นาน 3 นาที และทำการสกัดดีเอ็นเอ ตามวิธีของ Meyer *et al.* (2012) และ Doungsa-ard *et al.* (2015) เก็บรักษาดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิ -20 หรือ -40 องศาเซลเซียส

Polymerase Chain Reaction (PCR)

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่าง มาทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายตำแหน่ง the Internal Transcribed Spacer (ITS) และ the translation elongation factor 1-alpha (EF-1$\alpha$) ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ Taq DNA Polymerase ใช้ cycling และ condition ของปฏิกิริยาตามที่ผู้ผลิตแนะนำ กำหนดใช้ค่า annealing temperature 56 องศาเซลเซียส ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR โดยตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ต้องการด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส ส่งผลิตภัณฑ์ PCR ไปยังบริษัท Macrogen Korea เพื่อทำให้ผลิตภัณฑ์ PCR บริสุทธิ์ และหาลำดับนิวคลีโอไทด์

การวิเคราะห์ และตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์

นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการทดลองมาทำการวิเคราะห์ โดยนำ forward sequence และ reverse sequence ที่ได้มาเปรียบเทียบเทียบกัน โดยใช้โปรแกรม Geneious Prime 2020 (Kearse *et al.*, 2012) บันทึกข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ในรูปแบบไฟล์ fasta ทำการตรวจสอบความถูกต้องของชนิดของจุลินทรีย์ที่ทำการศึกษากับฐานข้อมูลทางพันธุกรรม เช่น Mycobank GenBank โดยเลือกวิธีเปรียบเทียบกับ type sequence

1.2 รวบรวมข้อมูลลำดับเบสของเชื้อราในสกุล *Trichoderma* จาก GenBank

รวบรวมข้อมูลลำดับเบสตำแหน่ง ITS และ EF-1$\alpha$ ของเชื้อราใน genus *Trichoderma* โดยเฉพาะกลุ่มของ *T. asperellum* complex ที่มีใน GenBank รวมถึง type sequence เพื่อนำมาเปรียบเทียบกับข้อมูลรหัสพันธุกรรมที่ได้จากข้อ 1.1

1.3 การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์

นำ contig ของลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS และ EF-1$\alpha$ ที่ได้จากการทดลองและจากการรวบรวมข้อมูลมาจัดเรียงด้วยโปรแกรม MAFFT 6.611 (Katoh and Toh, 2008) จากนั้นตรวจสอบการจัดเรียง (alignment) โดยวิธี MUSCLE ในโปรแกรม MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 (Kumar *et al.*, 2016)

**2. ออกแบบไพรเมอร์จำเพาะต่อเชื้อรา *T. asperellum*** (ปี 2566)

ออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *T. asperellum* โดยการพิจารณาชุดข้อมูลของเชื้อราในสกุล *Trichoderma* และ ใช้โปรแกรม GPRIME ในการออกแบบ โดยออกแบบตำแหน่งจับอยู่ภายในยีนตำแหน่ง ITS และ EF-1α

**3. ทดสอบไพรเมอร์** (ปี 2566)

ทดสอบประสิทธิภาพและความจำเพาะของไพรเมอร์ที่ออกแบบได้กับดีเอ็นเอในฐานข้อมูล เช่น GenBank และทดสอบกับดีเอ็นเอของเชื้อรา *T. asperellum* และเชื้อราในสกุล *Trichoderma* จากพิพิธภัณฑ์โรคพืช และ culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช โดยดำเนินการดังนี้

Polymerase Chain Reaction (PCR)

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่าง มาทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายตำแหน่ง the Internal Transcribed Spacer (ITS) ด้วยไพรเมอร์ ITS1/ITS4 (White *et al.*, 1990) และไพรเมอร์ที่ทำการออกแบบบนตำแหน่ง ITS ตำแหน่ง the translation elongation factor 1-alpha (EF-1α) ด้วยไพรเมอร์ the translation elongation factor 1-alpha (EF1-α) EF1-728F/EF1-986R (Carbone and Kohn, 1999) EF1-728F (Carbone and Kohn, 1999)/EF-2 (O'Donnell *et al*., 1998) และไพร์เมอรที่ทำการออกแบบบนตำแหน่ง EF-1α ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ Taq DNA Polymerase ใช้ cycling และ condition ของปฏิกิริยาตามที่ผู้ผลิตแนะนำ กำหนดใช้ค่า annealing temperature 56 องศาเซลเซียส

Nested Polymerase Chain Reaction

นำ PCR product ที่ได้จากการทำ PCR ตำแหน่ง ITS ซึ่งใช้ไพรเมอร์ ITS1/ITS4 และตำแหน่ง EF-1α ซึ่งใช้ไพรเมอร์ EF1-728F/EF1-986R และ EF1-728F/EF-2 มาทำ Nested PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่ทำการออกแบบโดยใช้ Taq DNA Polymerase ใช้ cycling และ condition ของปฏิกิริยาตามที่ผู้ผลิตแนะนำ กำหนดใช้ค่า annealing temperature 56 องศาเซลเซียส ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR โดยตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ต้องการด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส ส่งผลิตภัณฑ์ PCR ไปยังบริษัท Macrogen Korea เพื่อทำให้ผลิตภัณฑ์ PCR บริสุทธิ์ และหาลำดับนิวคลีโอไทด์

**4. ตรวจสอบความถูกต้องของชนิดของเชื้อรา *Trichoderma* ที่ไพรเมอร์จำเพาะตรวจจับได้ (ปี 2567)**

นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างจาก clean culture ที่ทำปฏิกริยากับไพรเมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อรา *T. asperellum* มาทำการวิเคราะห์ โดยนำ forward sequence และ reverse sequence ที่ได้มาเปรียบเทียบเทียบกัน โดยใช้โปรแกรม Geneious Prime 2020 (Kearse *et al.*, 2012) จะบันทึกข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ในรูปแบบไฟล์ fasta ทำการตรวจสอบชนิดโดยวิธี phylogenetic reconstruction ของ combined dataset ที่ได้จากตำแหน่ง ITS และ tef1

ด้วยเกณฑ์ Maximum Likelihood (ML) โดยเตรียมไฟล์ .phy ใช้โปรแกรม RAxML v8.1.15 (Stamatakis, 2014) ในการวิเคราะห์ กำหนดค่า model of evolution แบบ GTRGAMMA วิเคราะห์ด้วย rapid bootstrap (command –f a) เริ่มวิเคราะห์จาก random starting tree และกำหนดค่า 1000 ซ้ำ สำหรับ maximum likelihood bootstrap วิเคราะห์ผลเพื่อตรวจสอบชนิดที่ถูกต้องที่ไพรเมอร์จำเพาะตรวจจับได้

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูล เก็บรักษาสายพันธุ์ราที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง และเก็บรักษาดีเอ็นเอต้นแบบไว้ใน Culture Collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืชโดยเลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ข้อมูลของรหัสดีเอ็นเอ (DNA barcode) จะถูกเก็บบันทึก และรายงานเพื่อใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงสำหรับการจัดทำบัญชีรายชื่อโรคพืช รวมถึงสามารถใช้เป็นข้อมูลประกอบในการศึกษาด้านวิวัฒนาการต่อไป และดีเอ็นเอต้นแบบที่สกัดได้ จะจัดเก็บไว้ที่อุณหภูมิ –40 องศา-เซลเซียส ณ พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2564 – มีนาคม 2568

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. ออกแบบไพรเมอร์จำเพาะต่อเชื้อรา *T. asperellum***

เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อรา *T. asperellum* ดำเนินการรวบรวมเชื้อรา *Trichoderma* มาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ ได้จำนวน 115 ไอโซเลท สกัดดีเอ็นเอและทำ PCR ตำแหน่ง ITS, *tef1* และ *rpb2* หลังจาก sequencing ได้ข้อมูล sequence ของเชื้อรา *T. asperellum* ทั้ง 115 ไอโซเลท มาทำการตรวจสอบเพื่อยืนยันด้วยวิธี phylogenetic reconstruction เปรียบเทียบกับ type sequence ของเชื้อราในวงศ์ *Trichoderma* พบว่าได้เชื้อราที่อยู่กลุ่มของ *T. harzianum* complex *T. asperellum* complex และในกลุ่มของ Longibrachiatum

ออกแบบไพร์เมอร์จำเพาะบนยีนตำแหน่ง ITS และ *tef1* ของเชื้อรา *T. asperellum* voucher CBS 433.97 ซึ่งเป็น type isolate ของเชื้อรา *T. asperellum* ได้ไพร์เมอร์จากตำแหน่ง ITS จำนวน 10 คู่ และตำแหน่ง *tef1* ได้จำนวน 6 คู่ (Table 1)

**2. ทดสอบไพรเมอร์**

ทำการทดสอบไพร์เมอร์กับฐานข้อมูลเชื้อรา *Trichoderma* ในระดับของ type sequences ได้ไพร์เมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *T. asperellum* ระดับของกลุ่ม complex บนยีน ITS จำนวน 2 คู่ และยีน *tef1* จำนวน 1 คู่ (Figure 1) และมีตำแหน่งจับของไพร์เมอร์ Trias1-F Trias2-R Trias3-F และ Trias4-R บน sequence ยีน ITS ของเชื้อรา *T. asperellum* CBS 433.97 (Figure 2) โดยไพร

เมอร์ทั้ง 3 คู่ มี annealing temperature ที่เหมาะสมคือ 56-60 องศาเซลเซียส เมื่อทดสอบไพร์เมอร์ที่ออกแบบบนตำแหน่ง ITS และ *tef1* กับดีเอ็นเอของเชื้อรา *T. asperellum* และ *T. asperelloides* พบว่าไพร์เมอร์ที่ออกแบบจากตำแหน่ง ITS มีอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดคือ 56 องศาเซลเซียส และตำแหน่ง *tef1* มีอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดคือ 60 องศาเซลเซียส และได้ระยะเวลาในขั้นตอนการทำปฏิกิริยา PCR (Table 2)

ผลการทดสอบไพร์เมอร์ที่ออกแบบบนตำแหน่ง ITS และ *tef1* กับดีเอ็นเอของเชื้อราที่รวบรวมเพื่อการทดสอบ พบว่า ไพรเมอร์ Trias3-F/Trias4-R และ Trias3-F/ITS4 (Table 1) มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *T. asperellum* และ *T. asperelloides* (Figure 3)

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลจากการศึกษาเพื่อพัฒนาเทคนิค Polymerase Chain Reaction เพื่อการตรวจวินิจฉัยเชื้อรา *Trichoderma asperellum* ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีความซับซ้อน (complex) ผลการการดำเนินงานได้ไพรเมอร์ที่ออกแบบบนตำแหน่งยีน ITS ของเชื้อรา *T. asperellum* voucher CBS 433.97 ซึ่งเป็น type isolate โดยมีความจำเพาะต่อเชื้อรา *T. asperellum*และ *T. asperelloides* ได้แก่ Trias3-F/Trias4-R และ Trias3-F/ITS4 รวมถึงได้อุณหภูมิ ระยะเวลาในขั้นตอนการทำปฏิกิริยา PCR จากขั้นตอนการดำเนินงานสามารถนำมาจัดทำเป็นเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัย อย่างไรก็ตามจากผลจากการดำเนินงานพบว่าไพร์เมอร์ทำการออกแบบไม่สามารถแยก *T. asperelloides* จาก *T. asperellum* ได้ เนื่องจากทั้งสองชนิดมีความใกล้เคียงกันมาก ดั้งนั้นไพรเมอร์ที่ออกแบบจึงสามารถตรวจจับได้ทั้ง *T. asperellum* และ *T. asperelloides* แต่สามารถแยกออกจาก *Trichoderma* กลุ่มอื่น โดยไม่จับกับกลุ่มอื่นของ *Trichoderma* เช่น *T. harzianum*, *T. parareesei, T. lixii* วิธีการตรวจสอบเชื้อรา *T. asperellum* ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ สามารถนำไปประยุกต์ในการตรวจสอบเชื้อราดังกล่าวในสารชีวภัณฑ์ที่นำมาขึ้นทะเบียนกับกรมวิชาการเกษตร หรือในกระบวนการตรวจสอบความถูกต้องของชีวภัณฑ์ สามารถคัดกรองเชื้อรา *T. asperellum/ T. asperelloides* ออกจาก *T. harzianum* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวดเร็วและมีความแม่นยำสูง สามารถประหยัดเวลาและงบประมาณในการดำเนินการได้

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร. ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช ที่ให้คำแนะนำในการทดลอง ขอขอบคุณ ดร.พรพิมล อธิปัญญาคม คุณศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช อดีตผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช สมาชิกเพื่อน พี่น้อง ในกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช ที่ให้ความร่วมมือ และช่วยเหลือในการดำเนินการทดลอง และการเก็บข้อมูล รวมถึงกำลังใจที่มีให้กันเสมอมา

## เอกสารอ้างอิง


Bissett, J. 1984. A revision of the genus *Trichoderma*. I. Section *Longibrachiatum* sect. nov. *Canadian Journal of Botany* 62: 924-931.

Bissett, J. 1991a. A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. *Canadian Journal of Botany* 69: 2357-2372.

Bissett, J. 1991b. A revision of the genus *Trichoderma*. III. Section *Pachybasium*. *Canadian Journal of Botany* 69: 2373-2417.

Bissett, J. 1991c. A revision of the genus *Trichoderma*. IV. Additional notes on section *Longibrachiatum*. *Canadian Journal of Botany* 69: 2418-2420.

Bissett, J. 1992. *Trichoderma atroviride*. *Canadian Journal of Botany* 70: 639-641.

Carbone, I. and L.M. Kohn. 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia* 91: 553-556.

Chaverri, P., L.A. Castlebury, G.J. Samuels and D.M. Geiser. 2003. Multilocus phylogenetic structure within the *Trichoderma harzianum/Hypocrea lixii* complex. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 27: 302-313.

de los Santos-Villalobos, S., D.A. Guzmán-Ortiz, M.A. Gómez-Lim, J.P. Délano-Frier, S. de-Folter, P. Sánchez-García and J.J. Peña-Cabriales. 2013. Potential use of *Trichoderma asperellum* (Samuels, Liechfeldt et Nirenberg) T8 a as a biological control agent against anthracnose in mango (*Mangifera indica* L.). *Biological Control* 64: 37-44.

Dodd, S.L., R.N. Crowhurst, A.G. Rodrigo, G.J. Samuels, R.A. Hill and A. Stewart. 2000. Examination of *Trichoderma* phylogenies derived from ribosomal DNA sequence data. *Mycological Research* 104**:** 23-34.

Doungsa-ard, C., A.R. McTaggart, A.D.W. Geering, T.U. Dalisay, J. Ray and R.G. Shivas. 2015. *Uromycladium falcatarium* sp. nov., the cause of gall rust on *Paraserianthes falcataria* in south-east Asia. *Australasian Plant Pathology* 44:25-30.

Druzhinina, I.S., C.P. Kubicek, M. Komon-Zelazowska, T.B. Mulaw and J. Bissett. 2010. The *Trichoderma harzianum* demon: complex speciation history resulting in coexistence of hypothetical biological species, recent agamospecies and numerous relict lineages. *BMC evolutionary biology* 10: 1-14.

Grondona, R., R. Hermosa, M. Tejada, M.D. Gomis, P.D. Bridge, E. Monte and I. Garcia-Acha. 1997. Physiological and biochemical characterization of *Trichoderma*

*harzianum*, a biological control agent against soilborne fungal plant pathogens. *Applied Environmental Microbiology* 63:3189–3198.

Fujiimori, F. and T. Okuda. 1994. Application of the random amplified polymorphic DNA using the polymerase chain reaction for efficient elimination of duplicate strains in microbial screening. I. Fungi. *Journal of antibiotics* 47: 173-182.

Katoh, K. and H. Toh. 2008. Recent developments in the MAFFT multiple sequence alignment program. *Briefings in Bioinformatics* 9: 286-298.

Kearse, M., R. Moir, A. Wilson, S. Stones-Havas, M. Cheung, S. Sturrock, S. Buxton, A. Cooper, S. Markowitz, C. Duran, T. Thierer, B. Ashton, P. Mentjies and A. Drummond. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics 28*(12): 1647-1649.

Kindermann, J., Y. El-Ayouti, G.J. Samuels and C.P. Kubicek. 1998. Phylogeny of the genus *Trichoderma* based on sequence analysis of the Internal Transcribed Spacer region 1 of the rDNA cluster. *Fungal Genetics and Biology* 24**:** 298-309.

Konstantinova, P., P. Bonants, M. Gent-Pelzer, P. Zouwen and R. Bulk. 2002. Development of specific primers for detection and identification of *Alternaria* spp. in carrot material by PCR and comparison with blotter and plating assay. *Mycological Research* 106:23–33.

Kumar, S., G. Stecher and K. Tamura. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33: 1870-1874. doi: 10.1093/molbev/msw054.

Liu, K.L., A. Porras-Alfaro, C.R. Kuske, S.A. Eichorst and G. Xie. 2012. Accurate, rapid taxonomic classification of fungal large-subunit rRNA genes. *Applied and Environmental Microbiology* 78: 1523-1533.

Mazzaglia, A., N. Anselmi, A. Gasbarri and A. Vannini. 2001. Development of a polymerase chain reaction (PCR) assay for the specific detection of *Biscogniauxia mediterranea* living as an endophyte in oak tissues. *Mycological Research* 105:952–956.

Mbarga, J.B., G.M. Ten Hoopen, J. Kuaté, A. Adiobo, M.E.L. Ngonkeu, Z. Ambang, A. Akoa, P.R. Tondje and B.A.D. Begoude. 2012. *Trichoderma asperellum*: A potential biocontrol agent for *Pythium myriotylum*, causal agent of cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) root rot disease in Cameroon. *Crop Protection* 36: 18-22.

Miyazaki, K and M. Tsunoda. 2003. Application of DNA markers to research on *Trichoderma* in mushroom facilities of Japan (1): RAPD, SSCP marker. *Mushroom Science Biotechnology* 11:65–70.

Muthumeenakshi, S., P.R. Mills, A.E. Brownd and D.A. Seaby. 1 9 9 4 . Intraspecific molecular variation among *Trichoderma harzianum* isolates colonizing mushroom compost in the British Isles. *Microbiology* 140: 769-777.

Nylander, J.A., J.C. Wilgenbusch, D.L. Warren and D.L. Swofford. 2008. AWTY (are we there yet?): a system for graphical exploration of MCMC convergence in Bayesian phylogenetics. *Bioinformatics* 24: 581-583.

Rifai, M.A. 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycological Papers* 116: 1-116.

Ronquist, F. and J.P. Huelsenbeck. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.

Samuels, G.J., A. Ismaiel, M. Bon, S.D. Respinis, and O. Petrini. 2010. *Trichoderma asperellum* sensu lato consists of two cryptic species. *Mycologia* 102: 944-966.

Singh, A., M. Shahid and M. Srivastava. 2014. Phylogenetic relationship of *Trichoderma asperellum Tasp*/8940 using Internal Transcribed Spacer (ITS) sequences. *International Journal of Advanced Research* 2: 979-986.

Sriram, S., M.J. Savitha, H.S. Rohini and S.K. Jalali. 2013. The most widely used fungal antagonist for plant disease management in India, *Trichoderma viride* is *Trichoderma asperellum* as confirmed by oligonucleotide barcode and morphological characters. *Current Science* 104: 1332-1340.

Stamatakis, A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30: 1312-1313.

Vilgalys, R. and M. Hester. 1990. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *Journal of Bacteriology* 172: 4238-4246.

White, T.J., T. Bruns, S. Lee and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In "PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications"* (M. Innis, D. Gelfand, J. Shinsky and T. White, eds.), Academic Press. 315-322 pp.

Zamir, D. and I. Chet. 1985. Application of enzyme electrophoresis for the identification of isolates in *Trichoderma harzianum*. *Canadian Journal Microbiology* 31:578–580.

Zimand, G., L. Valinsky, Y. Elad, I. Chet and S. Manulis. 1994. Use of the RAPD procedure for the identification of *Trichoderma* strains. *Mycological Research* 98: 531-534.

**Table 1** List of primers specific to *Trichoderma asperellum/ T. asperelloides*, designed based on the ITS and *tef1* gene region

| | | ITS | | | | | *tef1* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Sequence (5'->3') | Tm | size | | | Sequence (5'->3') | Tm | size |
| 1 | F | ACGTTACCNNNCTGTTGCCT | 57.95 | 269 | 1 | F | GGCTTTTAGTNNNGTGTCAA | 58.01 | 319 |
| | R | CGCAATGTGCGTTCNNNGAT | 58.03 | | | R | TGCAATGTNNNCTGAAGTGT | 57.76 | |
| 2 | F | TCTGGCANNNATGAAGAACG | 58.07 | 215 | 2 | F | TTGGCTNNNAGTGGGGTGTC | 58.01 | 320 |
| | R | GACCGCCNNNGTATTTAGGG | 58.05 | | | R | GCAATGTCNNNTGAAGTGTC | 57.14 | |
| 3 | F | ACAACTCCCNNNCCCAATGT | 57.53 | 214 | 3 | F | GCCCGANNNTTCTGTTCTCA | 58.19 | 426 |
| | R | CATCGATGCCAGAACCAAGA | 57.97 | | | R | TGTCGACTNNNGTGTCCAAA | 57.03 | |
| 4* | F | CCTCGCGNNNGTATTTCTTT | 58.36 | 223 | 4 | F | TGCCCGACNNNTCTGTTCTC | 58.19 | 428 |
| | R | GGGTTCGNNNGTTGAAATGA | 57.81 | | | R | ATGTCGNNNGAAGTGTCCAA | 56.8 | |
| 5 | F | ATCTCTTNNNTCTGGCATCG | 57.68 | 263 | 5 | F | TTCCATNNNCCACCACATGC | 58.23 | 257 |
| | R | GAGTTGTGCNNNCTACTGCG | 57.7 | | | R | AATGTCGACTNNNGTGTCCA | 56.8 | |
| 6 | F | TTACCNNNCTGTTGCCTCGG | 58.4 | 430 | 6 | F | TGTTTGGCTNNNAGTGGGGT | 57.54 | 319 |
| | R | CGAGTTGTGCNNNCTACTGC | 57.7 | | | R | TGTCGACTGAANNNTCCAAAA | 57.75 | |
| 7 | F | TCCCNNNCCCAATGTGAACG | 58.68 | 210 | | | | | |
| | R | TCATCGATGNNNGAACCAAG | 57.97 | | | | | | |
| 8 | F | ACTCCCNNNCCCAATGTGAA | 57.23 | 214 | | | | | |
| | R | CTTCATCGATNNNAGAACCA | 57.97 | | | | | | |
| 9 | F | ATGAAGANNNCAGCGAAATG | 57.47 | 286 | | | | | |
| | R | AGTTGGGTGNNNTACGGACG | 58.41 | | | | | | |
| 10 | F | AACTCCCNNNCCCAATGTGA | 57.23 | 216 | | | | | |
| | R | TCTTCATCNNNGCCAGAACC | 57.68 | | | | | | |

*4: Trias3-F/Trias4R

**Table 2** Thermocycle for Polymerase Chain Reaction (PCR) for specific primers to *Trichoderma asperellum/ T. asperelloides*

| PCR steps | Temperature °C | Time | Cycle |
|---|---|---|---|
| Initial denaturation | 95 | 5 mins | 1 cycle |
| Denaturation | 95 | 1 min | |
| Annealing | 56 | 1 min | 30 cycles |
| Extension | 72 | 3 mins | |
| Final extension | 72 | 5 mins | 1 cycle |

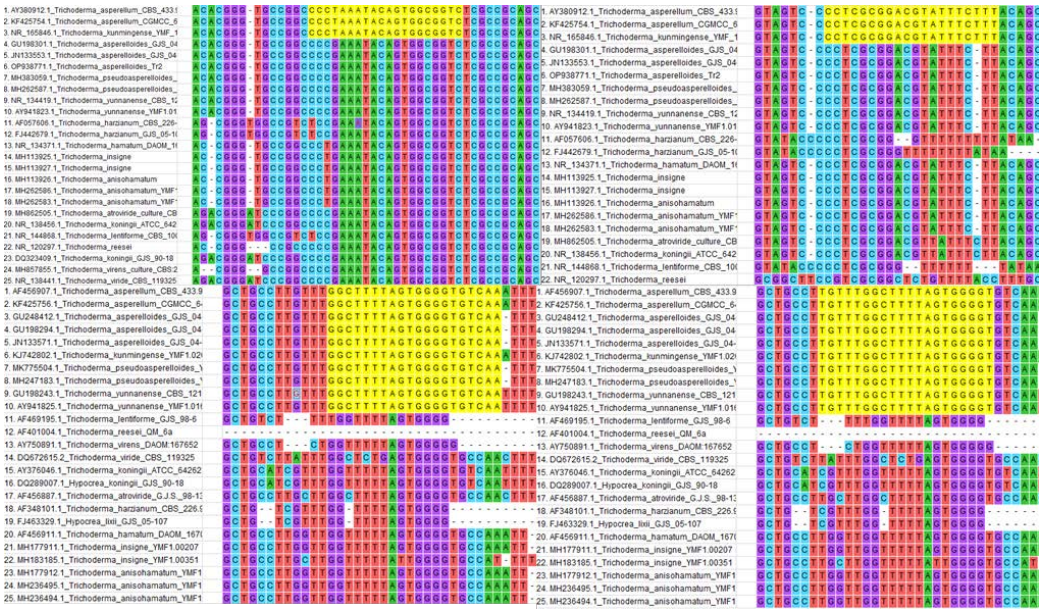


**Figure 1** The specificity of the designed primers against *Trichoderma asperellum* CBS 433.97 (type)

**Figure 2** Binding sites of the Trias1-F, Trias2-R, Trias3-F, and Trias4-R primers on the ITS gene sequence of *Trichoderma asperellum* (CBS 433.97, type)

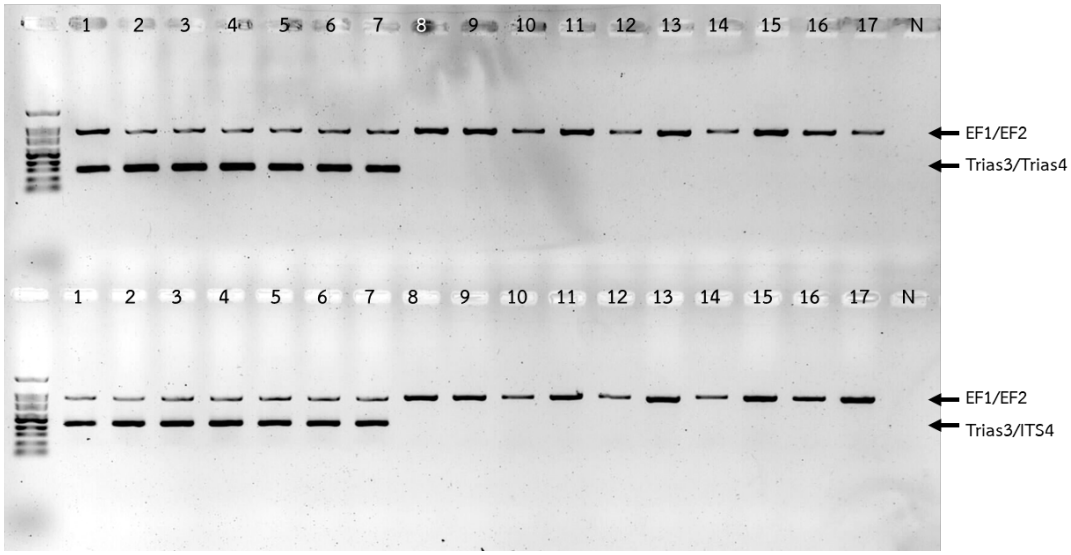



**Figure 3** The results of specific primers tested with DNA templates of *Trichoderma* spp. and *Gliocladium* sp. The lower bands showed that Trias3/Trias4 and Trias3/ITS4 detected only *T. asperellum* and *T. asperelloides*. (Lane no.1-4= *T. asperellum*; 5-7= *T. asperelloides*; 8-9= *T. parareesei*; 10= *T. longibrachiatum*; 11-12= *T. viride* complex; 13= *T. lixii*; 14= *T. harzianum*; 15= *T. lentiforme*; 16= *T. afroharzianum*; 17= *Gliocladium* sp.)

# การพัฒนาเทคนิคสำหรับตรวจสอบเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ

# Detection Techniques for *Metarhizium anisopliae* with Specific Primer

ทิภาพร นวลเนตร[1/] เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์[2/] ภัททิรา ศาตร์วงษ์[1/]
[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

## Abstract

Detection techniques for *Metarhizium anisopliae* with specific primer. The research was conducted from 2022 to 2025 at the Entomopathogenic Fungi Laboratory, Biological Control Research Group, Division of Entomology and Zoology, Plant Protection Research and Development Office. This study aimed to develop a specific primer for accurate, rapid, and precise identification of *Metarhizium anisopliae*. DNA fragments of ITS, 28S rDNA (LSU), and RPB2 regions from 30 fungal isolates were amplified. The fragment sizes were approximately 600 bp (ITS and LSU) and 1,200 bp (RPB2). Multiple sequence alignments and phylogenetic tree analysis using MrBayes v.3.2.7a revealed that isolates DOA-M7 and DOA-M165 clustered with *M. majus*, while isolates DOA-M1, DOA-M3, DOA-M5, DOA-M6, DOA-M8, DOA-M9, DOA-M10, DOA-M12, DOA-M14, DOA-M15, DOA-M16, DOA-M26, DOA-M32, DOA-M33, DOA-M35, DOA-M37, DOA-M39, DOA-M42, DOA-M51, DOA-M52, DOA-M53, DOA-M54, DOA-M56, DOA-M59, DOA-M63, DOA-M75, DOA-M80, and DOA-M115 clustered within the *M. anisopliae* species complex. Sequence data were compared with GenBank entries to design specific primers using Primer3. Primers could not be designed from ITS and LSU regions due to high sequence similarity among *Metarhizium* species. However, specific primers were successfully designed from the β-tubulin and RPB2 gene regions. For the β-tubulin region, specific primers BT-META-F1 (5'TGGCAGACCATCTCTGG 3') and BT-META-R1 (5' TGGTGCCAGGTTCAAGATC 3') were successfully designed, showing specificity towards the *Metarhizium* genus. Additionally, primers for the RPB2 region were designed as RPB2-META-F1 (5' AAGTTCCGTGAGCTGCCTG 3') and RPB2-META-R1

รหัสการทดลอง FF65-55-04-65-02-02-65

(5’ TGGTTCCCTTTTGACCGTGA 3’), demonstrating specificity for *M. anisopliae*. When tested with DNA from *Metarhizium* collected by the Entomopathogenic Fungi Laboratory, the *M. anisopliae* species complex samples showed DNA fragments of 256 and 532 base pairs.

**Keywords :** *Metarhizium*, specific primer

**บทคัดย่อ**

การพัฒนาเทคนิคสำหรับตรวจสอบเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ ดำเนินการระหว่างปี 2565-2568 ณ ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบชนิดของเชื้อรา *M. anisopliae* ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ ให้มีความถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็ว ซึ่งจากการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอในตำแหน่ง ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 ของเชื้อรา *Metarhizium* จำนวน 30 ไอโซเลท พบว่า ชิ้นส่วนดีเอ็นเอในตำแหน่ง ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 มีขนาดประมาณ 600, 600 และ 1,200 คู่เบส (base pair) เมื่อนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อรา *Metarhizium* มาเปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูล GenBank จัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ (multiple alignment) และวิเคราะห์ข้อมูลของการจัดกลุ่ม ด้วยโปรแกรม MrBayes v. 3.2.7a พบว่าเชื้อรา *Metarhizium* ไอโซเลท DOA-M7 และ DOA-M165 จัดกลุ่มอยู่ร่วมกับเชื้อรา *M. majus* จากฐานข้อมูล GenBank และเชื้อรา *Metarhizium* ไอโซเลท DOA-M1, DOA-M3, DOA-M5, DOA-M6, DOA-M8, DOA-M9, DOA-M10, DOA-M12, DOA-M14, DOA-M15, DOA-M16, DOA-M26, DOA-M32, DOA-M33, DOA-M35, DOA-M37, DOA-M39, DOA-M42, DOA-M51, DOA-M52, DOA-M53, DOA-M54, DOA-M56, DOA-M59, DOA-M63, DOA-M75, DOA-M80 และ DOA-M115 จัดกลุ่มอยู่ร่วมกับเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* species complex จากนั้นทำการรวบรวมข้อมูลที่ได้ และนำมารวมกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราในสกุล *Metarhizium* จากฐานข้อมูล เพื่อใช้ในการออกแบบไพรเมอร์จำเพาะ ออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *M. anisopliae* ด้วยโปรแกรม Primer3 พบว่า ตำแหน่งบริเวณ ITS และ 28S rDNA (LSU) ไม่สามารถออกแบบไพรเมอร์จำเพาะได้ เนื่องจากมีความเหมือนกันของลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราในสกุล *Metarhizium* ส่วนตำแหน่ง β-tubulin ไพรเมอร์ที่ออกแบบได้ คือ BT-META-F1 (5’TGGCAGACCATCTCTGG 3’) และ BT-META-R1 (5’ TGGTGCCAGGTTCAA GATC 3’) ซึ่งมีแนวโน้มจำเพาะต่อเชื้อราในสกุล *Metarhizium* และตำแหน่ง RPB2 ไพรเมอร์ที่ออกแบบได้ คือ RPB2-META-F1 (5’ AAGTTCCGTGAGCTGCCTG 3’) และ RPB2-META-R1 (5’ TGGTTCCC TTTTGACCGTGA 3’) ซึ่งมีแนวโน้นจำเพาะต่อเชื้อรา *M. anisopliae* เมื่อนำมาทดสอบกับดีเอ็นเอของเชื้อรา *Metarhizium* ที่เก็บรวบรวมโดยห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

พบว่า ตัวอย่างเชื้อรา *M. anisopliae* species complex พบชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ขนาด 256 และ 532 คู่เบส (base pair)

**คำหลัก :** เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม, ไพรเมอร์จำเพาะ

## คำนำ

ในปัจจุบันมีการนำข้อมูลทางพันธุกรรม (Genetic data) หรือข้อมูลชีวสารสนเทศน์ (Bioinformatics) มาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะทางด้านกีฏวิทยา โรคพืช เชื้อราสาเหตุโรคพืช เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับวิวัฒนาการของเชื้อ ความหลากหลายทางพันธุกรรม ความแปรปรวนของเชื้อสาเหตุโรค หรือใช้สำหรับการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรค เนื่องจากมีข้อจำกัดจากการใช้ลักษณะอื่นๆ เช่น ลักษณะทางสัณฐานวิทยา เป็นต้น การวิเคราะห์ลำดับเบสหรือลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง เป็นวิธีการที่มีการพัฒนาการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตในห้องปฏิบัติการ คือ เทคนิค PCR (Polymerase Chain Reaction) การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง เป็นวิธีการหนึ่งที่ให้ข้อมูลสนับสนุนการศึกษาจากข้อมูลพื้นฐาน ช่วยให้การจำแนกมีความถูกต้อง แม่นยำยิ่งขึ้น เนื่องจากเป็นการตรวจสอบจากสารพันธุกรรมหรือจีโนไทป์ของเชื้อโดยตรง โดยชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่นิยมนำมาศึกษาและวิเคราะห์ ได้แก่ ribosomal DNA (rDNA) gene cluster ซึ่งมีการแบ่งออกเป็นหลายๆ ส่วนขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ว่าจะเลือกส่วนใดมาวิเคราะห์ เช่น ส่วนที่อยู่ระหว่างยีนที่เรียกว่า Internal transcribed spacer (ITS) แบ่งเป็นส่วน ITS1 และ ITS2 ซึ่งคั่นด้วยส่วน 5.8S ส่วน ITS นั้น เป็นส่วนที่เรียกว่าส่วนผันแปร (variable region) เนื่องจากเกิดความผันแปรหรือเปลี่ยนแปลงได้เร็วกว่าส่วนอื่นๆ โดยเฉพาะเมื่อมีการเกิดความผันแปรระดับสปีชีส์ขึ้นมา ส่วนนี้จะมีการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสหรือมีเบสที่แตกต่างออกไป ดังนั้นส่วนนี้จึงเหมาะสำหรับการศึกษาความสัมพันธ์หรือจำแนกในระดับที่ต่ำกว่าจีนัสหรือสปีชีส์ นอกจากนี้เชื้อราในบางสายพันธุ์เป็น species complex ซึ่งมีความสัมพันธ์ใกล้ชนิดกันมากในระดับสปีชีส์ จึงจำเป็นต้องใช้ตำแหน่งที่มีความผันแปรสูงในการจัดจำแนกชนิด โดยตำแหน่งที่นิยมนำมาใช้ได้แก่ RNA polymerase II (RPB2) และสำหรับส่วนอื่นๆ เช่น Large subunit (28S), Small subunit (18S) และ 5.8S นั้น จัดเป็นส่วนอนุรักษ์ (conserve region) ซึ่งเหมาะสำหรับการจัดจำแนกเชื้อราในระดับจีนัสขึ้นไป เนื่องจากถ้าใช้วิเคราะห์ในระดับจีนัสเดียวกันหรือสปีชีส์เดียวกันอาจจะไม่มีความแตกต่างกันในส่วนนี้ โดยปัจจุบันการใช้ข้อมูลนิวคลีโอไทด์เพียงตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งอาจไม่เพียงพอต่อการจัดจำแนกชนิด จึงมีความจำเป็นต้องใช้ข้อมูลในหลายๆตำแหน่งประกอบกัน ร่วมกับการใช้ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยา เพื่อให้การจัดจำแนกชนิดมีความถูกต้อง แม่นยำ

โดยห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช มีการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเชื้อรา *Metarhizium* ไว้ เพื่อใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี เช่น หนอนด้วงแรดมะพร้าว

หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย เป็นต้น แต่ยังไม่มีการจำแนกชนิดที่เป็นปัจจุบัน และปัจจุบันการขอขึ้นทะเบียนวัตถุอันตรายของเชื้อรา *Metarhizium* กับกรมวิชาการเกษตรมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นในทุกๆปี โดยสปีชีส์ส่วนใหญ่ที่นำมาขอขึ้นทะเบียนคือ *M. anisopliae*

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ จึงทำการจัดจำแนกชนิดของเชื้อรา *Metarhizium* โดยใช้ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานทางวิทยา ร่วมกับการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ และนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการออกแบบไพรเมอร์จำเพาะ เพื่อตรวจสอบชนิดของเชื้อรา *M. anisopliae* ให้มีความถูกต้องแม่นยำ และรวดเร็วยิ่งขึ้น ซึ่งสามารถนำไปขยายผลต่อยอดงานวิจัยในการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของชนิดของเชื้อรา *Metarhizium* ที่ทำการขอขึ้นทะเบียนวัตถุอันตรายกับกรมวิชาการเกษตร

## วิธีดำเนินการ

**อุปกรณ์**

1. เชื้อรา *Metarhizium* จำนวน 30 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท DOA-M1, DOA-M3, DOA-M5, DOA-M6, DOA-M7, DOA-M8, DOA-M9, DOA-M10, DOA-M12, DOA-M14, DOA-M15, DOA-M16, DOA-M26, DOA-M32, DOA-M33, DOA-M35, DOA-M37, DOA-M39, DOA-M42, DOA-M51, DOA-M52, DOA-M53, DOA-M54, DOA-M56, DOA-M59, DOA-M63, DOA-M75, DOA-M80, DOA-M115 และ DOA-M165
2. Potato Dextrose Agar (PDA)
3. Potato Dextrose Broth (PDB)
4. Sodium chloride (NaCl)
5. Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)
6. Tris base
7. Chloroform
8. Isoamyl alcohol
9. RnaseA
10. $dH_2O$
11. 10xbuffer
12. Magnesium Chloride ($MgCl_2$)
13. Deoxynucleotide triphosphates (dNTPs)
14. ไพร์เมอร์ ได้แก่ NL1 primer/NL4 primer, ITS1 primer/ITS5 primer และ RPB2-5F3 primer/RPB2-7Cr2 primer
15. Taq DNA polymerase
16. Agarose

17. RedSafe
18. Marker ได้แก่ 100 base pair plush และ HindIII
19. Microspin S-400 HR column
20. Streptomycin sulfate salt
21. Petri dish
22. Microcentrifuge tube
23. PCR tube

**วิธีการ**

**ขั้นตอนที่ 1 รวบรวมข้อมูลรหัสพันธุกรรมของเชื้อราในสกุล *Metarhizium***

1.1 การจำแนกชนิดของเชื้อรา *Metarhizium* ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

นำเชื้อรา *Metarhizium* จำนวน 30 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อรา *Metarhizium* ไอโซเลท DOA-M1, DOA-M3, DOA-M5, DOA-M6, DOA-M7, DOA-M8, DOA-M9, DOA-M10, DOA-M12, DOA-M14, DOA-M15, DOA-M16, DOA-M26, DOA-M32, DOA-M33, DOA-M35, DOA-M37, DOA-M39, DOA-M42, DOA-M51, DOA-M52, DOA-M53, DOA-M54, DOA-M56, DOA-M59, DOA-M63, DOA-M75, DOA-M80, DOA-M115 และ DOA-M165 ที่เก็บรวมรวมจากห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่ได้ทำการแยกสปอร์เดี่ยวแล้วมาจำแนกชนิด โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ลักษณะโคโลนี ลักษณะโคนิเดีย (Conidia) ได้แก่ สี รูปร่าง ขนาด (Flora of British Fungi: Colour Identification Chart, 1969)

1.2 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS (internal transcribed spacer) ribosomal DNA, LSU (28S rDNA) และ RPB2 (Second largest subunit of RNA polymerase II)

1.2.1 การเตรียมเส้นใยเชื้อรา (Fungal mycelia preparation)

เตรียมสารแขวนลอยสปอร์ (spore suspension) โดยเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อลงบนผิวหน้าอาหารที่มีเชื้อราเจริญอยู่ แล้วขูดผิวหน้าด้วยแท่งแก้วรูปตัวแอล ดูดสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราใส่ในอาหารเหลว potato dextrose broth (PDB) ที่บรรจุอยู่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มไว้พร้อมเขย่าเป็นเวลา 6-8 ชั่วโมง ทำการกรองเส้นใยด้วยเครื่อง vacuum pump และล้างเส้นใยด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 300 มิลลิลิตร เก็บเส้นใยที่กรองได้ในแผ่นกระดาษกรอง Whatman No.1 นำไปทำให้แห้งด้วยวิธี freeze dry (lyophilization) เป็นเวลา 14-18 ชั่วโมง และเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (จินตนา, 2562)

1.2.2 การสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction) ดัดแปลงจากวิธีการของ Zimand *et al*. (1994)

สกัดดีเอ็นเอเชื้อราด้วยวิธี Phenol chloroform method

1.2.3 การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 ด้วยเทคนิค PCR (Mullis KB, 1990)

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ ITS rDNA ของเชื้อรา *Metarhizium* ด้วยไพรเมอร์ 2 ชนิด คือ ITS4 (5'- TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') และ ITS5 (5'- GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG -3') ตามรายงานของ White *et al*. (1990)

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ 28S rDNA (LSU) ด้วยไพรเมอร์ NL1 (5'-GCATATCAATAAGCGGAGG AAAAG-3') และ NL4 (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3') ตามรายงานของ Kurtzman *et al*. (1997)

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ Second largest subunit of RNA polymerase II (RPB2) ด้วยไพรเมอร์ RPB2-5F3 (5'-GACGACCGTGATCACTTTGG-3') และ RPB2-7Cr2 (5'-CCCATGGCCTGTTTGCCCAT-3') ตามรายงานของ Liu *et al*. (1999) และ O'Donnell *et* al. (2007)

จากนั้นนำ PCR product ทั้งสองส่วนที่ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ มาตรวจสอบด้วย 1% agarose gel electrophoresis จากนั้นทำ PCR product ให้บริสุทธิ์ด้วย Microspin S-400 HR columm และส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

1.3 <u>รวบรวมข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราในสกุล *Metarhizium* จาก GenBank</u>

นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในตำแหน่ง ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 ที่ได้จากข้อ 1.2 มาทำการวิเคราะห์ โดยนำ forward sequence และ reverse sequence ที่ได้มาเปรียบเทียบกัน บันทึกข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ในรูปแบบไฟล์ fasta ทำการตรวจสอบความถูกต้องของชนิดของจุลินทรีย์ที่ทำการศึกษากับฐานข้อมูลทางพันธุกรรม เช่น Mycobank GenBank โดยเลือกวิธีเปรียบเทียบกับ type sequence จากนั้นรวบรวมข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS (internal transcribed spacer) ribosomal DNA, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 ของเชื้อราใน genus *Metarhizium* ที่มีใน GenBank รวมถึง type sequence เพื่อนำมาเปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการส่งวิเคราะห์ และนำ contig ของลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS (internal transcribed spacer) ribosomal DNA, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 ที่ได้จากการส่งวิเคราะห์และจากการรวบรวมมาจัดเรียง (alignment) โดยวิธี MUSCLE ในโปรแกรม MrBayes v. 3.2.7a (Ronquist *et al.,* 2012)

**ขั้นตอนที่ 2 ออกแบบไพรเมอร์จำเพาะต่อเชื้อรา *Metarhizium***

ออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *M. anisopliae* โดยการพิจารณาชุดข้อมูลของเชื้อราในสกุล *Metarhizium* และใช้โปรแกรม GPRIME หรือ Primer3 ในการออกแบบ โดยออกแบบตำแหน่งจับอยู่ภายในยีนตำแหน่ง ITS (internal transcribed spacer) ribosomal DNA, 28S rDNA (LSU) และ RPB2

ทดสอบไพรเมอร์ (Primers validation)

ทดสอบประสิทธิภาพและความจำเพาะของไพรเมอร์ที่ออกแบบได้กับดีเอ็นเอในฐานข้อมูล เช่น GenBank และทดสอบกับดีเอ็นเอของเชื้อรา *M. anisopliae* ที่เก็บรวบรวมโดยห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช โดยนำดีเอ็นเอของแต่ละตัวอย่างมาตรวจสอบด้วยวิธี Nested Polymerase Chain Reaction นำ PCR product ที่ได้จากการทำ PCR ตำแหน่ง ITS ซึ่งใช้ไพร์เมอร์ ITS5/ITS4 (ITS5 : 5′-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG -3′/ITS4 : 5′-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3′ ) (White *et al*., 1990) ตำแหน่ง 28S rDNA (LSU) ใช้ไพรเมอร์ (NL1 : 5′-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG -3′/NL4 : 5′-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3′) (Kurtzman *et al*. ,1997) และตำแหน่ง RPB2 ซึ่งใช้ไพรเมอร์ RPB2-5F3/ RPB2-7Cr2 (RPB2-5F3 : 5′-GACGACCGTGATCACTTTGG-3′/RPB2-7Cr2 : 5′-CCCATGGCCTGTTTGCCCAT-3′ ) (Liu *et al*., 1999; O'Donnell *et al*., 2007) มาทำ Nested PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่ทำการออกแบบ ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR โดยตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ต้องการด้วย 1% agarose gel electrophoresis จากนั้นทำ PCR product ให้บริสุทธิ์ด้วย Microspin S-400 HR columm และส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

**ขั้นตอนที่ 3 การตรวจสอบความถูกต้องของชนิดของเชื้อรา *M. anisopliae* ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ**

นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างที่ทำปฏิกิริยากับไพรเมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 20 ไอโซเลท ได้แก่ DOA-M3, DOA-M6, DOA-M8, DOA-M10, DOA-M12, DOA-M14, DOA-M15, DOA-M19, DOA-M33, DOA-M35, DOA-M37, DOA-M39, DOA-M51, DOA-M52, DOA-M53, DOA-M54, DOA-M56, DOA-M75, DOA-80 และDOA-M115 มาทำการวิเคราะห์ โดยนำ forward sequence และ reverse sequence ที่ได้มาเปรียบเทียบเทียบกัน โดยใช้โปรแกรม Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11 (MEGA11) (Tamura *et al.,* 2021) บันทึกข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ในรูปแบบไฟล์ fasta ทำการตรวจสอบชนิด โดยวิธี phylogenetic reconstruction ของ combined dataset ที่ได้จากตำแหน่ง RPB2 และ β-tubulin ด้วยวิธี Maximum Likelihood (ML) โดยเตรียมไฟล์ .phy ใช้โปรแกรม RAxML v8.1.15 (Stamatakis, 2014) ในการวิเคราะห์กำหนดค่า model of evolution แบบ GTRGAMMA วิเคราะห์ด้วย rapid bootstrap (command –f a) เริ่มวิเคราะห์จาก random starting tree และ กำหนดค่า 1,000 ซ้ำ สำหรับ maximum likelihood bootstrap วิเคราะห์ผลเพื่อตรวจสอบชนิดของเชื้อรา *M. anisopliae* ที่ไพรเมอร์จำเพาะตรวจจับได้

การบันทึกข้อมูล

- ข้อมูลประสิทธิภาพและความจำเพาะของไพรเมอร์ที่ออกแบบ
- ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อรา *M. anisopliae*

**เวลาและสถานที่**

เวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2564 – สิ้นสุด มีนาคม 2568

สถานที่ ห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร และห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคพืชระดับโมเลกุล ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**ขั้นตอนที่ 1 รวบรวมข้อมูลรหัสพันธุกรรมของเชื้อราในสกุล *Metarhizium***

1.1 <u>การจำแนกชนิดของเชื้อรา *Metarhizium* ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา</u>

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโคโลนีเชื้อรา *Metarhizium* (อ้างอิงการจำแนกสีจาก Flora of British Fungi: Colour Identification Chart, 1969) สามารถแบ่งออกได้เป็น 9 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่ม A โคโลนีสีเขียวเข้ม ผสมสีส้ม เส้นใยไม่ฟูผสมสีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ ประกอบด้วย *Metarhizium* ไอโซเลท DOA-M10, DOA-M12, DOA-M15, DOA-M32, DOA-M33, DOA-M54 และ DOA-M165 มีขนาดความกว้างโคนิเดียเฉลี่ยระหว่าง 2.59-3.10 µm ความยาวเฉลี่ยระหว่าง 6.56-12.68 µm

กลุ่ม B โคโลนีสีเหลือง เส้นใยมีสีเขียวฟู ขอบไม่เรียบ ประกอบด้วย *Metarhizium* ไอโซเลท DOA-M16 มีขนาดความกว้างโคนิเดียเฉลี่ย 2.90 µm ความยาวเฉลี่ย 7.18 µm

กลุ่ม C โคโลนีสร้างเป็นวงแหวนเป็นชั้น เส้นใยฟู พร้อมสร้างกลุ่มสปอร์ ขอบโคโลนีไม่เรียบ ประกอบด้วย *Metarhizium* ไอโซเลท DOA-M39 และ DOA-M115 มีขนาดความกว้างโคนิเดียเฉลี่ยระหว่าง 2.53-2.78 µm ความยาวเฉลี่ยระหว่าง 6.40-7.17 µm

กลุ่ม D โคโลนีสีเขียวเข้มดำ สร้างเป็นวงแหวนชัดเจน เส้นใยฟูสีขาว พร้อมสร้างกลุ่มสปอร์สีส้ม ขอบโคโลนีไม่เรียบ ประกอบด้วย *Metarhizium* ไอโซเลท DOA-M6, DOA-M26, DOA-M51, DOA-M52 และ DOA-M53 มีขนาดความกว้างโคนิเดียเฉลี่ยระหว่าง 2.69-3.27 µm ความยาวเฉลี่ยระหว่าง 6.95-11.98 µm

กลุ่ม E โคโลนีสีเขียวอ่อน เส้นใยฟูและสร้างกลุ่มสปอร์สีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ ประกอบด้วย *Metarhizium* ไอโซเลท DOA-M35 และ DOA-M63 มีขนาดความกว้างโคนิเดียเฉลี่ยระหว่าง 2.59-2.80 µm ความยาวเฉลี่ยระหว่าง 7.08-7.13 µm

กลุ่ม F โคโลนีมีสีเขียวผสมสีเหลือง สร้างเป็นวงแหวนสร้างกลุ่มสปอร์สีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบประกอบด้วย *Metarhizium* ไอโซเลท DOA-M5, DOA-M8, DOA-M9, DOA-M14 และ DOA-M56 มีขนาดความกว้างโคนิเดียเฉลี่ยระหว่าง 2.51-2.89 µm ความยาวเฉลี่ยระหว่าง 6.73-6.88 µm

กลุ่ม G โคโลนีสีเขียวเข้ม สร้างเป็นวงแหวนชัดเจน เส้นใยฟูสีขาว พร้อมสร้างกลุ่มสปอร์สีส้ม ขนาดใหญ่ ขอบโคโลนีไม่เรียบ ประกอบด้วย *Metarhizium* ไอโซเลท DOA-M7 มีขนาดความกว้างโคนิเดียเฉลี่ย 2.98 µm ความยาวเฉลี่ย 12.20 µm

กลุ่ม H โคโลนีสีเขียวเข้มไม่เป็นระเบียบ เส้นใยสีขาวฟู สร้างกลุ่มสปอร์สีส้ม ขอบโคโลนีไม่เรียบ ประกอบด้วย *Metarhizium* ไอโซเลท DOA-M37, DOA-M59, DOA-M75 และ DOA-M80 มีขนาดความกว้างโคนิเดียระหว่าง 2.54-3.00 µm ความยาวเฉลี่ยระหว่าง 7.02-7.41 µm

กลุ่ม I โคโลนีสีเขียวอ่อนผสมสีเหลือง เส้นใยสีขาวฟู ขอบโคโลนีไม่เรียบ ประกอบด้วย *Metarhizium* ไอโซเลท DOA-M1, DOA-M3 และ DOA-M42 มีขนาดความกว้างโคนิเดียเฉลี่ยระหว่าง 2.68-3.00 µm ความยาวเฉลี่ยระหว่าง 6.45-7.11 µm

1.2 <u>การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS (internal transcribed spacer) ribosomal DNA, LSU (28S rDNA) และ RPB2 (Second largest subunit of RNA polymerase II)</u>

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ซึ่งจากการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอในตำแหน่ง ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 ของเชื้อรา *Metarhizium* จำนวน 30 ไอโซเลท โดยส่วนผสมในปฏิกิริยา PCR (Master mix) ที่เหมาะสม คือการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ ITS5 (5′-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3′)/ITS4 (5′-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3′) หรือ NL1 (5′-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG -3′)/NL4 (5′-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3′) หรือ RPB2-5F3 (5′-GACGACCGTGATCACTTTGG-3′)/RPB2-7Cr2 (5′-CCCATGGCCTGTTTGCCCAT-3′) อย่างละ 10 µM และเติมด้วย 2.5 mM $MgCl_2$, 0.2 mM dNTPs, 1x PCR buffer และ 1 unit *Taq* polymerase (Takara) ซึ่งทำปฏิกิริยาที่ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที จำนวน 1 รอบ จากนั้นทำปฏิกิริยาแบบวนซ้ำที่ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ต่อด้วยที่ 51.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที และที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ทั้งหมดจำนวน 35 รอบ และรอบสุดท้ายที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ได้ ด้วย 1% agarose gel electrophoresis พบว่าชิ้นส่วนดีเอ็นเอในตำแหน่ง ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 มีขนาดประมาณ 600, 600 และ 1,200 คู่เบส (base pair)

1.3 <u>รวบรวมข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราในสกุล *Metarhizium* จาก GenBank</u>

เมื่อนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อรา *Metarhizium* มาเปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูล GenBank จัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ (multiple alignment) และวิเคราะห์ข้อมูลของการจัดกลุ่ม ด้วยโปรแกรม MrBayes v. 3.2.7a (Ronquist *et al.,* 2012) พบว่าเชื้อรา *Metarhizium* ไอโซเลท DOA-M7 และ DOA-M165 จัดกลุ่มอยู่ร่วมกับเชื้อรา *M. majus* จากฐานข้อมูล GenBank และเชื้อรา *Metarhizium* ไอโซเลท DOA-M1, DOA-M3, DOA-M5, DOA-M6, DOA-M8, DOA-M9, DOA-M10, DOA-M12, DOA-M14, DOA-M15, DOA-M16, DOA-M26, DOA-M32, DOA-M33, DOA-M35, DOA-M37, DOA-M39, DOA-M42, DOA-M51, DOA-M52, DOA-M53, DOA-M54, DOA-M56, DOA-M59, DOA-M61, DOA-M62, DOA-M63, DOA-M73, DOA-M75, DOA-M80

และ DOA-M115 จัดกลุ่มอยู่ร่วมกับเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* species complex ซึ่งประกอบด้วย *M. acridum, M. alvesii, M. anisopliae, M. baoshanense, M. brachyspermum, M. brittlebankisoides, M. brunneum, M. campsosterni, M. clavatum, M. globosum, M. guizhouense, M. humberi, M. indigoticum, M. majus, M. lepidiotae, M. kalasinense, M. pingshaense, M. robertsii, M. phasmatodeae, M. gryllidicola* และ *M. sulphureum*

สอดคล้องกับการศึกษาของ Mongkolsamrit *et al.* (2020) ทำการจัดจำแนกชนิดของเชื้อรา *Metarhizium* โดยใช้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอในตำแหน่ง ITS, SSU, LSU, RPB1, RPB2, TEF-1$\alpha$ พบว่าเป็นเชื้อรา *M. clavatum* และ *M. sulphureum* ซึ่งอยู่ในกลุ่ม *Metarhizium anisopliae* species complex และการศึกษาของ Kepler *et al.* (2014) ที่ศึกษาลักษณะของเชื้อรา *Metarhizium* โดยใช้ข้อมูลทางสัณฐานวิทยา ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS, APN2, $\beta$-tubulin, RPB1, RPB2 และ TEF พบว่าเชื้อรา *Metarhizium* จัดอยู่ในกลุ่ม *Metacordyceps* เช่นเดียวกับ *Nomuraea* ซึ่งมีการสร้างสปอร์สีเขียว และพบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* และ *M. flavoviride* species complexes มีความคล้ายคลึงกัน

นอกจากนี้ยังใกล้เคียงกับการศึกษาของ Bischoff *et al.* (2009) พบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* complex มีความคล้ายคลึงกันมาก จึงทำการจัดจำแนกเชื้อรา *M. anisopliae* complex โดยใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ TEF-1$\alpha$, RPB1, RPB2 และ $\beta$-tubulin (multigen) ร่วมกับข้อมูลทางสัณฐานวิทยา ซึ่งจัดจำแนกเป็น *M. anisopliae*, *M. guizhouense*, *M. pingshaense*, *M. acridum*., *M. lepidiotae* และ *M. majus*

**ขั้นตอนที่ 2 ออกแบบไพรเมอร์จำเพาะต่อเชื้อรา *Metarhizium***

รวบรวมข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 ของเชื้อรา *M. anisopliae* species complex และ *M. majus* จำนวน 30 ไอโซเลท และข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราในสกุล *Metarhizium* จากฐานข้อมูล เพื่อใช้ในการออกแบบไพรเมอร์จำเพาะ ออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *M. anisopliae* ด้วยโปรแกรม Primer3 พบว่า ตำแหน่งบริเวณ ITS และ 28S rDNA (LSU) ไม่สามารถออกแบบไพรเมอร์จำเพาะได้ เนื่องจากมีความเหมือนกันของลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราในสกุล *Metarhizium* ส่วนตำแหน่ง RPB2 ไพรเมอร์ที่ออกแบบได้ คือ RPB2-META-F1 (5’ AAGTTCCGTGAGCTGCCTG 3’) และ RPB2-META-R1 (5’ TGGTTCCCTTTTGACCGTGA 3’) ซึ่งมีแนวโน้มจำเพาะต่อเชื้อรา *M. anisopliae* และทำการออกแบบไพร์เมอร์เพิ่มเติมจากตำแหน่ง $\beta$-tubulin โดยใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราในสกุล *Metarhizium* จากฐานข้อมูล พบว่าไพรเมอร์ที่ออกแบบได้ คือ BT-META-F1 (5’ TGGCAGACCATCTCTGG 3’) และ BT-META-R1 (5’ TGGTGCCAGGTTCAAGATC 3’) ซึ่งมีแนวโน้นจำเพาะต่อเชื้อราในสกุล *Metarhizium*

ตรวจสอบไพรเมอร์ที่ออกแบบได้กับตัวอย่างดีเอ็นเอของเชื้อรา *Metarhizium* ที่เก็บรวบรวมโดยห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง ส่วนผสมในปฏิกิริยา PCR (Master mix) ที่เหมาะสม คือการ

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ 4 ชนิดที่ออกแบบได้ ได้แก่ RPB2-META-F1 (5’ AAGTTCCGTGAGCTGCCTG 3’)/RPB2-META-R1 (5’ TGGTTCCCTTTTGACCGTGA 3’) หรือ BT-META-F1 (5’ TGGCAGACCATCTCTGG 3’)/BT-META-R1 (5’ TGGTGCCAGGTTCAAGATC 3’) อย่างละ 10 µM และเติมด้วย 2.5 mM $MgCl_2$, 0.2 mM dNTPs, 1x PCR buffer และ 1 unit *Taq* polymerase (Takara) ซึ่งทำปฏิกิริยาที่ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3นาที จำนวน 1 รอบ จากนั้นทำปฏิกิริยาแบบวนซ้ำที่ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ต่อด้วยที่ 54 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที (ตรวจสอบด้วยไพรเมอร์ RPB2-META-F1/RPB2-META-R1) หรือ 51.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที (ตรวจสอบด้วยไพรเมอร์ BT-META-F1/BT-META-R1) และที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ทั้งหมดจำนวน 35 รอบ และรอบสุดท้ายที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR โดยตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนของดีเอ็นเอ 1% agarose gel electrophoresis พบว่า ตัวอย่างเชื้อราที่ใช้ไพรเมอร์ BT-META-F1/BT-META-R1 ในการตรวจสอบพบชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ขนาด 256 คู่เบส (base pair) แสดงให้เห็นว่าเป็นเชื้อราในสกุล *Metarhizium* และตัวอย่างเชื้อราที่ใช้ไพรเมอร์ RPB2-META-F1/RPB2-META-R1 ในการตรวจสอบพบชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ขนาด 532 คู่เบส (base pair) แสดงให้เห็นว่าเป็นเชื้อรา *M. anisopliae* species complex และส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

ตรวจสอบด้วยไพรเมอร์จำเพาะที่ออกแบบได้ (multiplex PCR) โดยส่วนผสมในปฏิกิริยา PCR (Master mix) ที่เหมาะสม คือการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ 4 ชนิดที่ ได้แก่ RPB2-META-F1 (5’ AAGTTCCGTGAGCTGCCTG 3’)/RPB2-META-R1 (5’ TGGTTCCCTTTTGACCGTGA 3’) และ BT-META-F1 (5’ TGGCAGACCATCTCTGG 3’)/BT-META-R1 (5’ TGGTGCCAGGTTCAAGATC 3’) อย่างละ 10 µM และเติมด้วย 2.5 mM $MgCl_2$, 0.2 mM dNTPs, 1x PCR buffer และ 1 unit *Taq* polymerase (Takara) ซึ่งทำปฏิกิริยาที่ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที จำนวน 1 รอบ จากนั้นทำปฏิกิริยาแบบวนซ้ำที่ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ต่อด้วยที่ 54 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที และที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ทั้งหมดจำนวน 35 รอบ และรอบสุดท้ายที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR โดยตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนของดีเอ็นเอ 1% agarose gel electrophoresis พบชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 256 และ 532 คู่เบส (base pair) แสดงให้เห็นว่าเป็นเชื้อรา *M. anisopliae* species complex

นอกจากนี้ทำการทดสอบเพิ่มเติม โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะ (Species-specific multiplex PCR) ของ Mayerhofer *et al*. (2019) ซึ่งมีความจำเพาะต่อเชื้อรา *Metarhizium* แต่ละชนิด ใช้ไพรเมอร์จำนวน 4 คู่ ได้แก่ Ma-rIGS-1648-F/Ma-rIGS-1975-R, Mb-FG546-422-F/Mb-FG546-536-R, Mp-IGS2-240-F/Mp-IGS2-774-R และ Mr-rIGS-444-F/Mr-rIGS-1081-R พบว่า เชื้อรา *Metarhizium* ไอโซเลท DOA-M3, DOA-M6, DOA-M8, DOA-M14, DOA-M16, DOA-M35, DOA-M52, DOA-53, DOA-M59, DOA-M62, DOA-M63, DOA-M73, DOA-M75 และ DOA-M80 พบชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 328 คู่เบส (base pair) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อราดังกล่าวเป็น *M. anisopliae*

ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Mayerhofer *et al*. (2019) ได้ออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *M. anisopliae*, *M. brunneum*, *M. pingshaense* และ *M. robertsii* โดยใช้ความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ nuclear ribosomal intergenic spacer (rIGS), nuclear intergenic spacer regions MzFG546 และ MzIGS2 ซึ่งไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *M. anisopliae* คือ Ma-rIGS-1648-F (ACGGTCGCACACAAATC)/Ma-rIGS-1975-R (CAGCCTACCCGGTAC) ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 328 คู่เบส ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *M. brunneum* คือ Mb-FG546-422-F (TAGTCAGTCGTTGACGC)/Mb-FG546-536-R (TCCTGTGTCGACTGTGTCGA) ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 115 คู่เบส ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *M. pingshaense* คือ Mp-IGS2-240-F (ACGGCATGGACATGCCC)/ Mp-IGS2-774-R (GCCTCTCGTTACCTACGA) ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 535 คู่เบส ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อรา *M. robertsii* คือ Mr-rIGS-444-F (ATTACCAAGTCCAAAATACTGG)/ Mr-rIGS-1081-R (CATATACCCACCAACTACCC) ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 638 คู่เบส ได้ทำการทดสอบกับเชื้อรา *Metarhizium* จำนวน 68 สายพันธุ์ (12 สปีชีส์) และอีก 19 ตัวอย่างที่ยังไม่มีการระบุชนิด พบว่ามีประสิทธิภาพในการตรวจสอบชนิดของเชื้อรา *Metarhizium* ได้

สอดคล้องกับการศึกษาของ Schneider *et al*. (2011) ใช้ไพรเมอร์ Ma 1763 (CCAACTCCCAACCCCTGTGAAT)/ Ma 2097 (AAAACCAGCCTCGCCGAT) ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *Metarhizium* clade 1 ซึ่งได้แก่ *M. majus*, *M. guizhouense*, *M. pingshaense*, *M. anisopliae*, *M. robertsii* และ *M. brunneum* โดยให้แถบดีเอ็นเอขนาด 334–339 คู่เบส เพื่อตรวจหาเชื้อรา *Metarhizium* ในสภาพธรรมชาติ

**ขั้นตอนที่ 3 การตรวจสอบความถูกต้องชนิดของเชื้อรา *M. anisopliae* ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ**

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อรา *M. anisopliae* ที่ทดสอบด้วยไพรเมอร์จำเพาะที่ออกแบบได้ (RPB2-META-F1 (5’ AAGTTCCGTGAGCTGCCTG 3’)/RPB2-META-R1 (5’ TGGTTCCCTTTTGACCGTGA 3’)) และ BT-META-F1 (5’ TGGCAGACCATCTCTGG 3’)/ BT-META-R1 (5’ TGGTGCCAGGTTCAAGATC 3’) กับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูล GenBank จัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ (multiple alignment) ด้วยวิธี Clustal W โดยโปรแกรมชุดคอมพิวเตอร์ MEGA11 (Tamura *et al.,* 2021) และวิเคราะห์ข้อมูลของการจัดกลุ่ม พบว่า จัดกลุ่มอยู่ร่วมกับเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* species complex ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไพร์เมอร์จำเพาะที่ออกแบบได้ สามารถใช้ในการตรวจสอบเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* species complex ได้ โดยสามารถนำไปต่อยอด ประยุกต์ใช้เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของชนิดเชื้อรา *Metarhizium* ที่ทำการขอขึ้นทะเบียนวัตถุอันตรายกับกรมวิชาการเกษตร และเป็นประโยชน์ต่อหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในอนาคต

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอในตำแหน่ง ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 ของเชื้อรา *Metarhizium* จำนวน 30 ไอโซเลต พบว่าชิ้นส่วนดีเอ็นเอในตำแหน่ง ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 มีขนาดประมาณ 600, 600 และ 1,200 คู่เบส (base pair) เมื่อนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อรา *Metarhizium* มาเปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูล GenBank จัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ (multiple alignment) และวิเคราะห์ข้อมูลของการจัดกลุ่ม ด้วยโปรแกรม MrBayes v. 3.2.7a พบว่าเชื้อรา *Metarhizium* จัดกลุ่มอยู่ร่วมกับเชื้อรา *M. majus* จากฐานข้อมูล GenBank และจัดกลุ่มอยู่ร่วมกับเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* species complex

ออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *M. anisopliae* ด้วยโปรแกรม Primer3 พบว่าในตำแหน่ง β-tubulin ไพรเมอร์ที่ออกแบบได้ คือ BT-META-F1 (5'TGGCAGACCATCTCTGG 3') และ BT-META-R1 (5' TGGTGCCAGGTTCAAGATC 3') ซึ่งมีแนวโน้นจำเพาะต่อเชื้อราในสกุล *Metarhizium* และในตำแหน่ง RPB2 ไพรเมอร์ที่ออกแบบได้ คือ RPB2-META-F1 (5' AAGTTCCGTGAGCTGCCTG 3') และ RPB2-META-R1 (5' TGGTTCCCTTTTGACCGTGA 3') ซึ่งมีแนวโน้นจำเพาะต่อเชื้อรา *M. anisopliae*

เมื่อนำมาทดสอบกับดีเอ็นเอของเชื้อรา *Metarhizium* ที่เก็บรวบรวมโดยห้องปฏิบัติการเชื้อราสาเหตุโรคแมลง พบว่า ตัวอย่างเชื้อรา *M. anisopliae* species complex พบชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 256 และ 532 คู่เบส (base pair) และเมื่อทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ พบว่า จัดกลุ่มอยู่ร่วมกับเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* species complex ซึ่งเป็นการตรวจสอบย้อนกลับ

ผลงานวิจัยนี้ สามารถจำแนกชนิดของเชื้อรา *Metarhizium* ได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ และสามารถใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาใช้ในการออกแบบไพรเมอร์จำเพาะ เพื่อใช้ในการตรวจสอบชนิดของเชื้อรา *Metarhizium* ที่ทำการขอขึ้นทะเบียนวัตถุอันตรายกับกรมวิชาการเกษตร ที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในปัจจุบัน ให้มีความถูกต้องและรวดเร็วยิ่งขึ้น

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ และอุปกรณ์ในการปฏิบัติงาน ขอขอบคุณคณะทำงานกลุ่มวิจัยโรคพืชและกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักพืช ทุกท่านที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

จินตนา อันอาตม์งาม. 2562. เทคนิควิจัยเชื้อราสาเหตุโรคพืช. นครปฐม: ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. 164 หน้า.

Bischoff, J. F., S. A. Rehner and R. A. Humber. 2009. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. *Mycologia*. 101(4): 512-530.

Flora of British Fungi: Colour Identification Chart. 1969. Royal Botanic Garden of Edinburgh. One chart, triple-folded, with a total of 84 colors. Included are separate blocks for spore print color.

Kepler, R. M., R. A. Humber, J. F. Bischoff and S. A. Rehner. 2014. Clarification of generic and species boundaries for *Metarhizium* and related fungi through multigene phylogenetics. *Mycologia*. 106(4): 811-829.

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.

Kurtzman, C. P. and C. J. Robnett. 1997. Identification of clinically important ascomycetous yeasts based on nucleotide divergence in the 5′ end of the large-subunit (26S) ribosomal DNA gene. *J. Clin. Microbiol*. 35: 1216-1223.

Larkin, M.A., G. Blackshields, N.P. Brown, R. Chenna, P.A. McGettigan, H. McWilliam, F. Valentin, I.M. Wallace, A. Wilm, R. Lopez, J.D. Thompson, T.J. Gibson and D.G. Higgins. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*. 23(21): 2947-2948.

Lee, Y.M., Y.K. Choi and By.R. Min. 2000. PCR-RFLP and sequence analysis of the rDNA ITS region in the *Fusarium* spp. *J Microbiol*. 38: 66-73.

Liu, Y.J., S. Whelen and B.D. Hall. 1999. Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit. *Molecular Biology and Evolution*. 16: 1799-1808.

Mayerhofer, J., A. Lutz, F. Dennert, S.A. Rehner, R.M. Kepler, F. Widmer and J. Enkerli. 2019. A species-specific multiplexed PCR amplicon assay for distinguishing between *Metarhizium anisopliae*, *M. brunneum*, *M. pingshaense* and *M. robertsii*. *Journal of invertebrate pathology*. 161: 23-28.

Mongkolsamrit, S., A. Khonsanit, D. Thanakitpipattana, K. Tasanathai, W. Noisripoom, S. Lamlertthon, W. Himaman, J. Houbraken, R.A. Samson and J. Luangsa-Ard. 2020. Revisiting *Metarhizium* and the description of new species from Thailand. *Studies in Mycology*. 95(1): 171-251.

Mullis KB. 1990. The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Scientific American*. 262(4): 56–61.

O'Donnell, K., B.A. Sarver, M. Brandt, D.C. Chang, J. Noble-Wang, B.J. Park, D.A. Sutton, L. Benjamin, M. Lindsley, A. Padhye, D.M. Geiser and T.J. Ward. 2007. Phylogenetic diversity and microsphere array-based genotyping of human pathogenic Fusaria, including isolates from the multistate contact lens-associated U.S. keratitis outbreaks of 2005 and 2006. *Journal of Clinical Microbiology.* 45: 2235-2248.

Ronquist F, M. Teslenko, P. Van Der Mark, D.L. Ayres, A. Darling, S. Hohna, B. Larget, L. Liu, Marc A. Suchard and J.P. Huelsenbeck. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systems Biology*. 61: 539-542.

Schneider, S., S.A. Rehner, F. Widmer and J. Enkerli. 2011. A PCR-based tool for cultivation-independent detection and quantification of *Metarhizium* clade 1. *Journal of invertebrate pathol*ogy. 108(2): 106-114.

Stamatakis, A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*. 30(9): 1312-1313.

Tamura, K., G. Stecher and S. Kumar 2021. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular biology and evolution*. 38(7): 3022-3027.

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.

Zimand, G., L. Valinsky, Y. Elad, I. Chet and S. Manulis. 1994. Use of the RAPD procedure for the identification of *Trichoderma* strains. *Mycological Research*. 98(5): 531-534

**ตารางที่ 1** แหล่งที่มาและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Metarhizium*

| ไอโซเลท | แมลงอาศัย(Host)/ พืชอาหาร (Plant) | แหล่งที่มา | ลักษณะโคโลนี | ลักษณะ โคนิเดีย | ขนาดโคนิเดีย (µm) | กลุ่ม |
|---|---|---|---|---|---|---|
| DOA-M1 | แมลงดำหนาม | จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ | โคโลนีสีเขียวอ่อนผสมสีเหลือง เส้นใยสีขาวฟู ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.75x7.11 | I[1/] |
| DOA-M3 | ด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดนครปฐม | โคโลนีสีเขียวอ่อนผสมสีเหลือง เส้นใยสีขาวฟู ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 3.00x7.00 | I |
| DOA-M5 | หนอนด้วงแรดมะพร้าว | จังหวัดปทุมธานี | โคโลนีมีสีเขียวผสมสีเหลือง สร้างเป็นวงแหวนสร้างกลุ่มสปอร์สีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 3.06x12.39 | F |
| DOA-M6 | ด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดนครสวรรค์ | โคโลนีสีเขียวเข้มดำ สร้างเป็นวงแหวนชัดเจน เส้นใยฟูสีขาว พร้อมสร้างกลุ่มสปอร์สีส้ม ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 3.27x11.98 | D |
| DOA-M7 | หนอนด้วงแรดมะพร้าว | จังหวัดราชบุรี | โคโลนีสีเขียวเข้ม สร้างเป็นวงแหวนชัดเจน เส้นใยฟูสีขาว พร้อมสร้างกลุ่มสปอร์สีส้มขนาดใหญ่ ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.98x12.20 | G |
| DOA-M8 | หนอนแมลงนูนหลวง (กินรากสับปะรด) | จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ | โคโลนีมีสีเขียวผสมสีเหลือง สร้างเป็นวงแหวนสร้างกลุ่มสปอร์สีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.88x6.88 | F |
| DOA-M9 | หนอนแมลงนูนหลวง (กินรากสับปะรด) | จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ | โคโลนีมีสีเขียวผสมสีเหลือง สร้างเป็นวงแหวนสร้างกลุ่มสปอร์สีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.83x6.73 | F |
| DOA-M10 | หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดสุพรรณบุรี | โคโลนีสีเขียวเข้ม ผสมสีส้ม เส้นใยไม่ฟูผสมสีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.59x6.56 | A |
| DOA-M12 | หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดกาญจนบุรี | โคโลนีสีเขียวเข้ม ผสมสีส้ม เส้นใยไม่ฟูผสมสีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.66x7.09 | A |
| DOA-M14 | หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดกาญจนบุรี | โคโลนีมีสีเขียวผสมสีเหลือง สร้างเป็นวงแหวนสร้างกลุ่มสปอร์สีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.89x6.74 | F |
| DOA-M15 | หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดกาญจนบุรี | โคโลนีสีเขียวเข้ม ผสมสีส้ม เส้นใยไม่ฟูผสมสีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.89x6.99 | A |
| DOA-M16 | หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดกาญจนบุรี | โคโลนีสีเหลือง เส้นใยมีสีเขียวฟู ขอบไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.90x7.18 | B |
| DOA-M26 | หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดกาญจนบุรี | โคโลนีสีเขียวเข้มดำ สร้างเป็นวงแหวนชัดเจน เส้นใยฟูสีขาว พร้อมสร้างกลุ่มสปอร์สีส้ม ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 3.18x6.95 | D |
| DOA-M32 | หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดราชบุรี | โคโลนีสีเขียวเข้ม ผสมสีส้ม เส้นใยไม่ฟูผสมสีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.77x7.23 | A |

**ตารางที่ 1** แหล่งที่มาและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Metarhizium* (ต่อ)

| ไอโซเลท | แมลงอาศัย(Host) | แหล่งที่มา | ลักษณะโคโลนี | ลักษณะโคนิเดีย | ขนาดโคนิเดีย (µm) | กลุ่ม |
|---|---|---|---|---|---|---|
| DOA-M33 | หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดราชบุรี | โคโลนีสีเขียวเข้ม ผสมสีส้ม เส้นใยไม่ฟูผสมสีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.83x6.79 | A |
| DOA-M35 | หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดราชบุรี | โคโลนีสีเขียวอ่อน เส้นใยฟูและสร้างกลุ่มสปอร์สีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.80x7.13 | E |
| DOA-M37 | หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดราชบุรี | โคโลนีสีเขียวเข้มไม่เป็นระเบียบ เส้นใยสีขาวฟู สร้างกลุ่มสปอร์สีส้ม ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.76x7.02 | H |
| DOA-M39 | หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดราชบุรี | โคโลนีสร้างเป็นวงแหวนเป็นชั้น เส้นใยฟู พร้อมสร้างกลุ่มสปอร์ ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.78x6.40 | C |
| DOA-M42 | หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดราชบุรี | โคโลนีสีเขียวอ่อนผสมสีเหลือง เส้นใยสีขาวฟู ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.68x6.45 | I |
| DOA-M51 | หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดราชบุรี | โคโลนีสีเขียวเข้มดำ สร้างเป็นวงแหวนชัดเจน เส้นใยฟูสีขาว พร้อมสร้างกลุ่มสปอร์สีส้ม ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.81x7.05 | D |
| DOA-M52 | หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดราชบุรี | โคโลนีสีเขียวเข้มดำ สร้างเป็นวงแหวนชัดเจน เส้นใยฟูสีขาว พร้อมสร้างกลุ่มสปอร์สีส้ม ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.69x7.30 | D |
| DOA-M53 | หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดราชบุรี | โคโลนีสีเขียวเข้มดำ สร้างเป็นวงแหวนชัดเจน เส้นใยฟูสีขาว พร้อมสร้างกลุ่มสปอร์สีส้ม ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.83x7.15 | D |
| DOA-M54 | หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดราชบุรี | โคโลนีสีเขียวเข้ม ผสมสีส้ม เส้นใยไม่ฟูผสมสีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.81x6.91 | A |
| DOA-M56 | หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดราชบุรี | โคโลนีมีสีเขียวผสมสีเหลือง สร้างเป็นวงแหวนสร้างกลุ่มสปอร์สีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.51x6.85 | F |
| DOA-M59 | หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดราชบุรี | โคโลนีสีเขียวเข้มไม่เป็นระเบียบ เส้นใยสีขาวฟู สร้างกลุ่มสปอร์สีส้ม ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.87x7.39 | H |
| DOA-M63 | หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดราชบุรี | โคโลนีสีเขียวอ่อน เส้นใยฟูและสร้างกลุ่มสปอร์สีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.59x7.08 | E |
| DOA-M75 | หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดกาญจนบุรี | โคโลนีสีเขียวเข้มไม่เป็นระเบียบ เส้นใยสีขาวฟู สร้างกลุ่มสปอร์สีส้ม ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.54x7.41 | H |

**ตารางที่ 1** แหล่งที่มาและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Metarhizium* (ต่อ)

| ไอโซเลท | แมลงอาศัย(Host) | แหล่งที่มา | ลักษณะโคโลนี | ลักษณะโคนิเดีย | ขนาดโคนิเดีย (µm) | กลุ่ม |
|---|---|---|---|---|---|---|
| DOA-M80 | หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดกาญจนบุรี | โคโลนีสีเขียวเข้มไม่เป็นระเบียบ เส้นใยสีขาวฟู สร้างกลุ่มสปอร์สีส้ม ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 3.00x7.09 | H |
| DOA-M115 | หนอนด้วงหนวดยาวอ้อย | จังหวัดสุพรรณบุรี | โคโลนีสร้างเป็นวงแหวนเป็นชั้น เส้นใยฟู พร้อมสร้างกลุ่มสปอร์ ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 2.53x7.17 | C |
| DOA-M165 | หนอนด้วงแรดมะพร้าว | จังหวัดสมุทรสงคราม | โคโลนีสีเขียวเข้ม ผสมสีส้ม เส้นใยไม่ฟูผสมสีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ | cylindrical/green | 3.10x12.68 | A |

[1/] A = โคโลนีสีเขียวเข้ม ผสมสีส้ม เส้นใยไม่ฟูผสมสีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ

B = โคโลนีสีเหลือง เส้นใยมีสีเขียวฟู ขอบไม่เรียบ

C = โคโลนีสร้างเป็นวงแหวนเป็นชั้น เส้นใยฟู พร้อมสร้างกลุ่มสปอร์ ขอบโคโลนีไม่เรียบ

D = โคโลนีสีเขียวเข้มดำ สร้างเป็นวงแหวนชัดเจน เส้นใยฟูสีขาว พร้อมสร้างกลุ่มสปอร์สีส้ม ขอบโคโลนีไม่เรียบ

E = โคโลนีสีเขียวอ่อน เส้นใยฟูและสร้างกลุ่มสปอร์สีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ

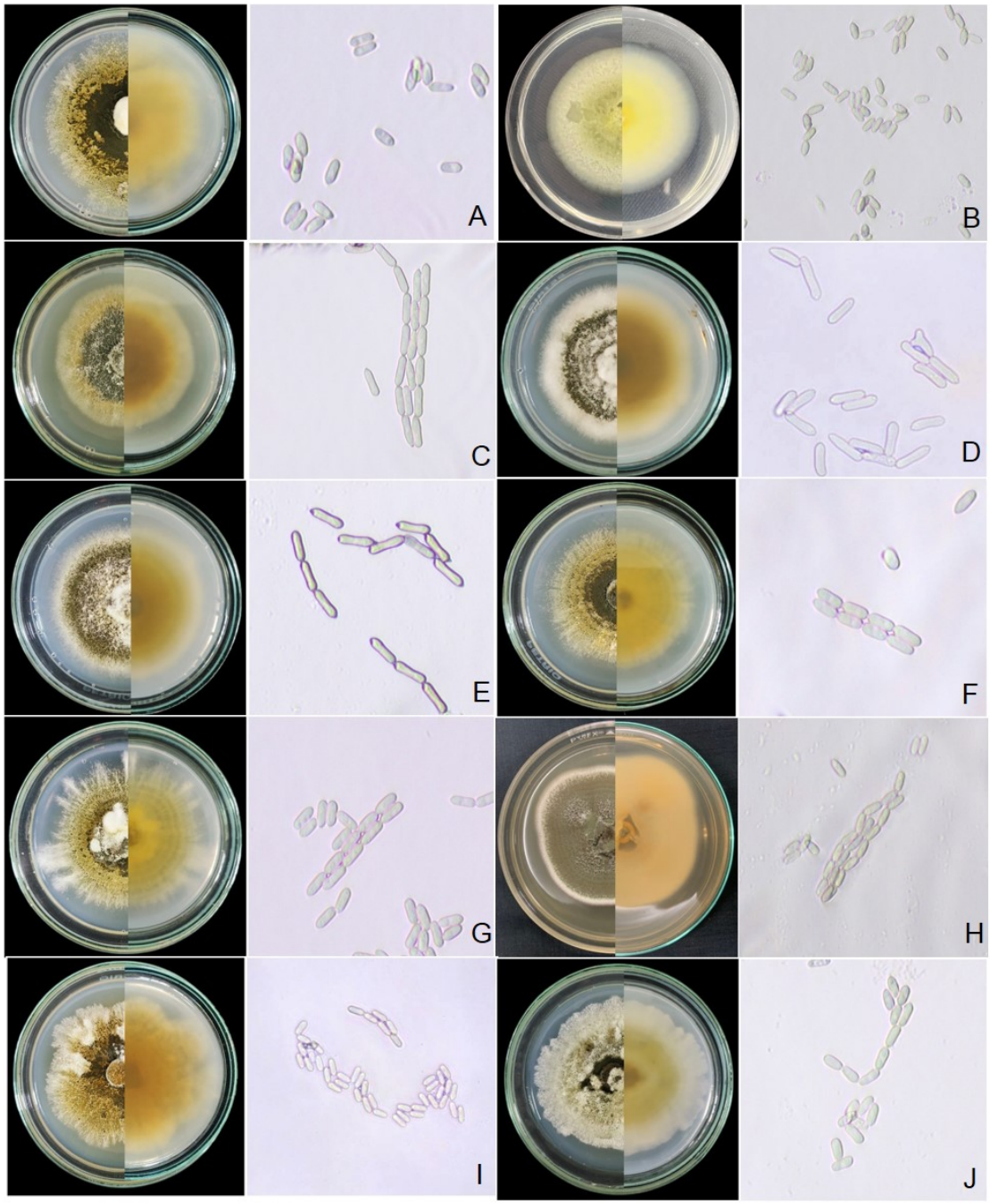
F = โคโลนีมีสีเขียวผสมสีเหลือง สร้างเป็นวงแหวนสร้างกลุ่มสปอร์สีขาว ขอบโคโลนีไม่เรียบ

G = โคโลนีสีเขียวเข้ม สร้างเป็นวงแหวนชัดเจน เส้นใยฟูสีขาว พร้อมสร้างกลุ่มสปอร์สีส้มขนาดใหญ่ ขอบโคโลนีไม่เรียบ

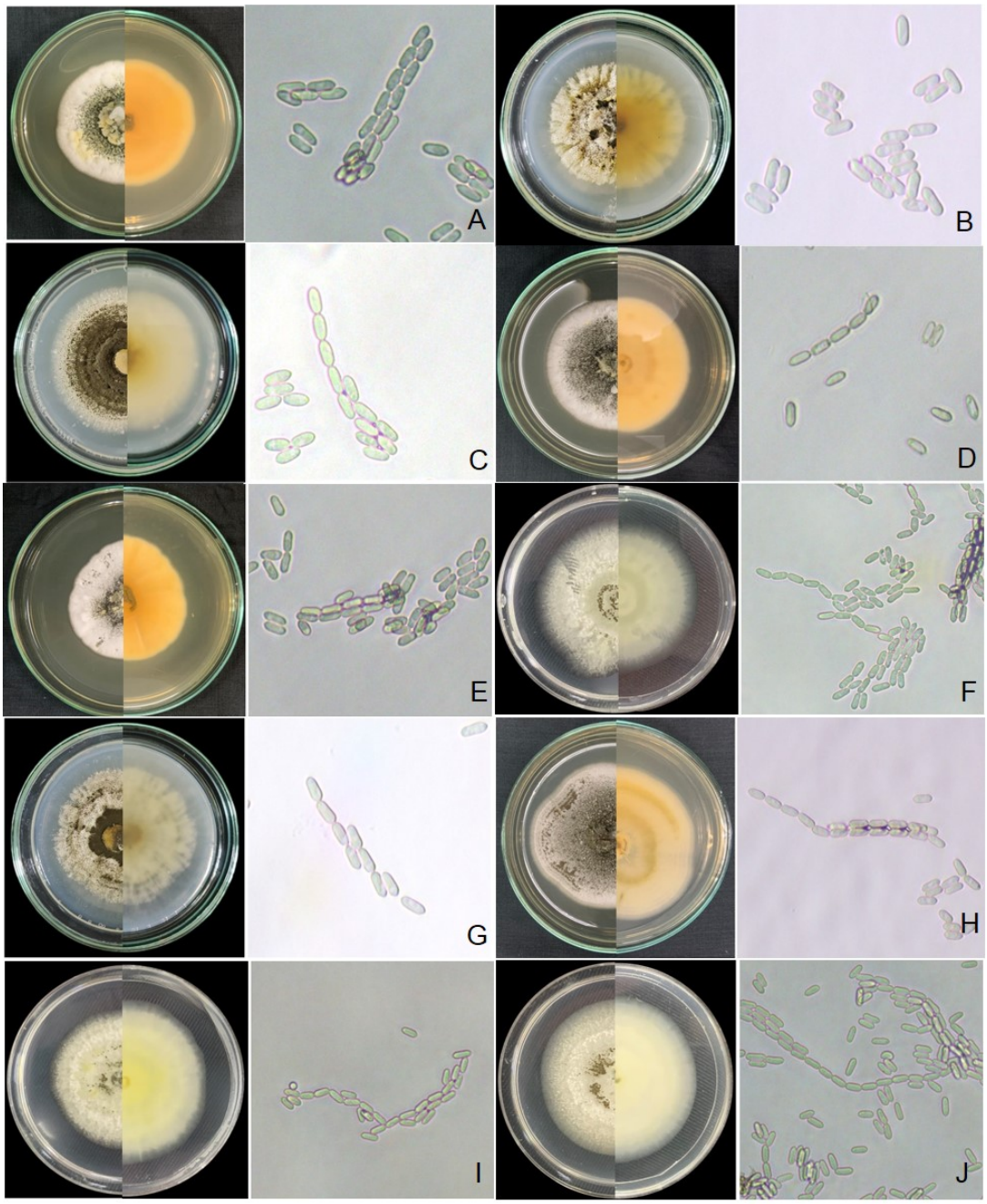
H = โคโลนีสีเขียวเข้มไม่เป็นระเบียบ เส้นใยสีขาวฟู สร้างกลุ่มสปอร์สีส้ม ขอบโคโลนีไม่เรียบ

I = โคโลนีสีเขียวอ่อนผสมสีเหลือง เส้นใยสีขาวฟู ขอบโคโลนีไม่เรียบ

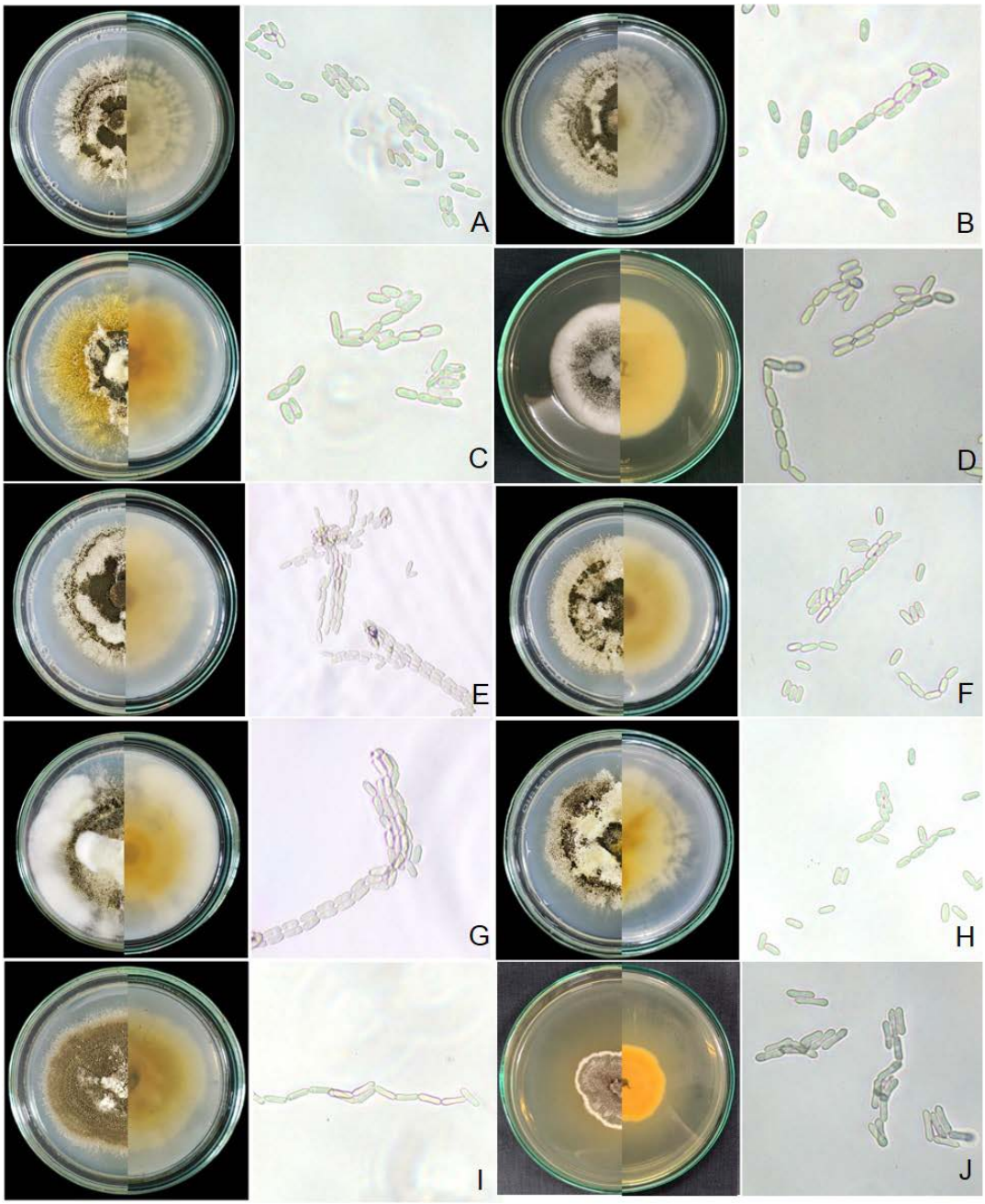
(อ้างอิงการจำแนกสีจาก Flora of British Fungi: Colour Identification Chart, 1969)



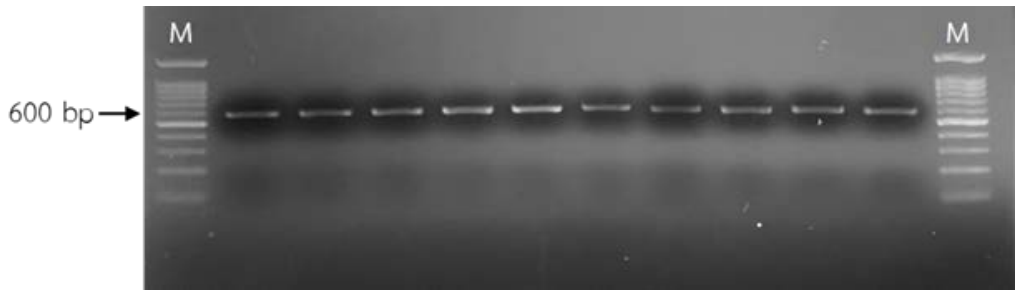

**ภาพที่ 1** ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโคโลนีเชื้อรา *Metarhizium* อายุ 14 วัน บนอาหาร PDA และลักษณะโคนิเดียเชื้อรา *Metarhizium* ที่กำลังขยาย 40x A: DOA-M1, B: DOA-M3, C: DOA-M5, D: DOA-M6, E: DOA-M7, F: DOA-M8, G: DOA-M9, H: DOA-10, I: DOA-M12 และ J: DOA-M14



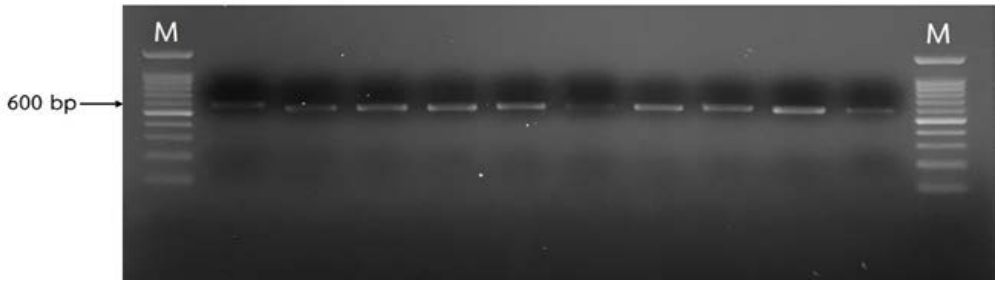

**ภาพที่ 2** ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโคโลนีเชื้อรา *Metarhizium* อายุ 14 วัน บนอาหาร PDA และลักษณะโคนิเดียเชื้อรา *Metarhizium* ที่กำลังขยาย 40x A: DOA-M15, B: DOA-M16, C: DOA-M26, D: DOA-M32, E: DOA-M33, F: DOA-M35, G: DOA-M37, H: DOA-39, I: DOA-M42 และ J: DOA-M51



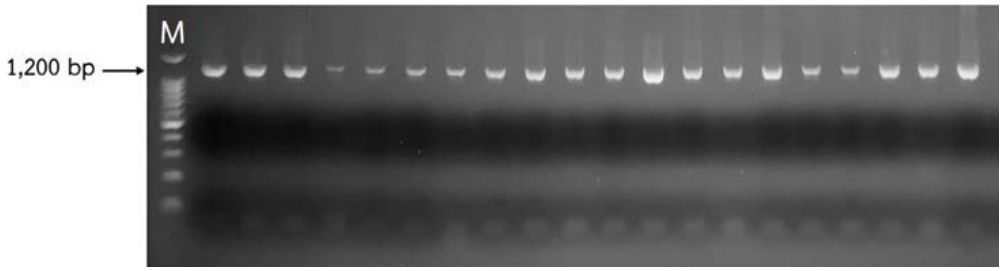

**ภาพที่ 3** ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโคโลนีเชื้อรา *Metarhizium* อายุ 14 วัน บนอาหาร PDA และลักษณะโคนิเดียเชื้อรา *Metarhizium* ที่กำลังขยาย 40x A: DOA-M52, B: DOA-M53, C: DOA-M54, D: DOA-M56, E: DOA-M59, F: DOA-M63, G: DOA-M75, H: DOA-80, I: DOA-M115 และ J: DOA-M165



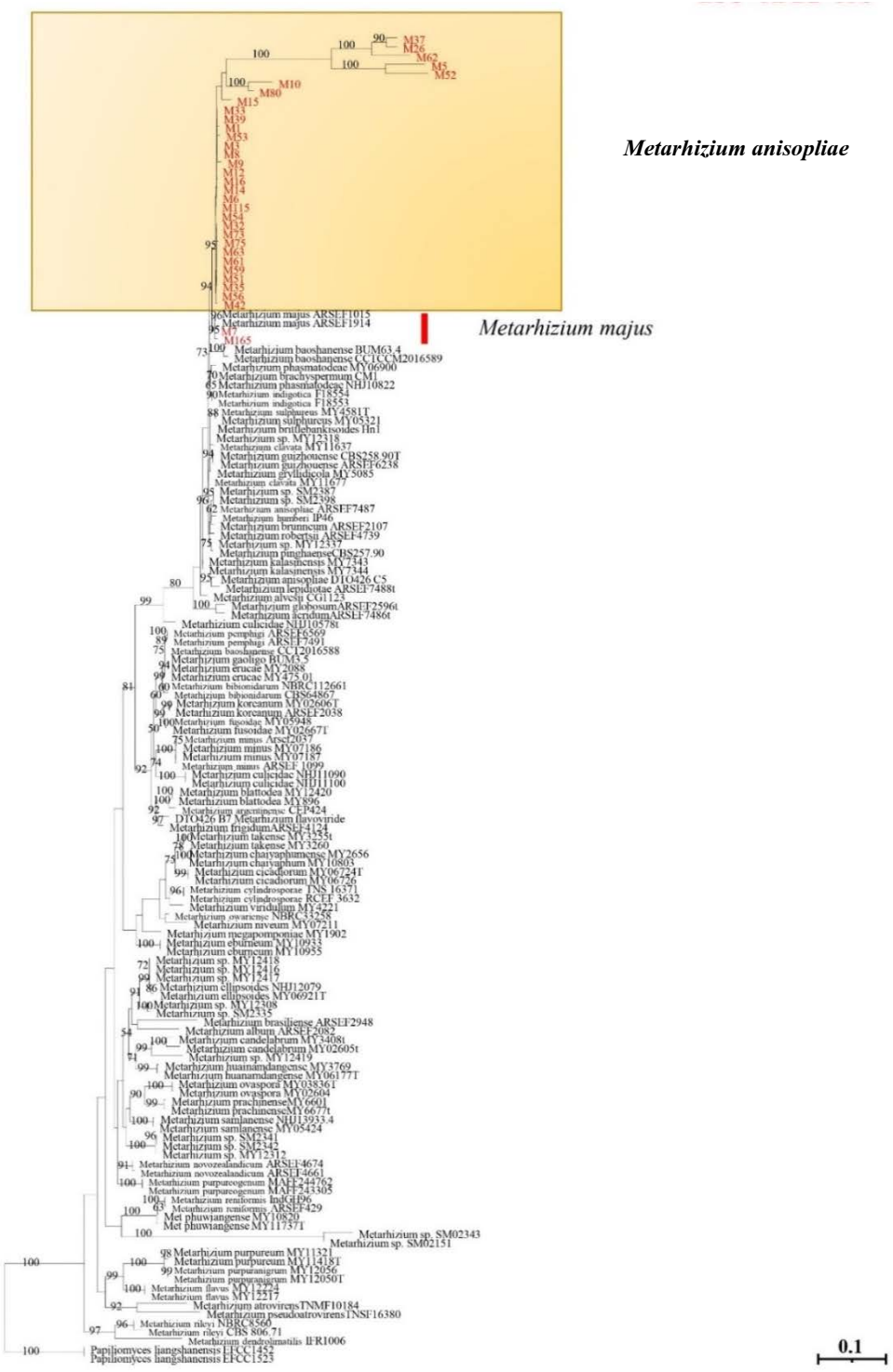

**ภาพที่ 4** การตรวจสอบชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ ITS (internal transcribed spacer) ribosomal DNA ของเชื้อรา *Metarhizium* มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาดประมาณ 600 คู่เบส (base pair)



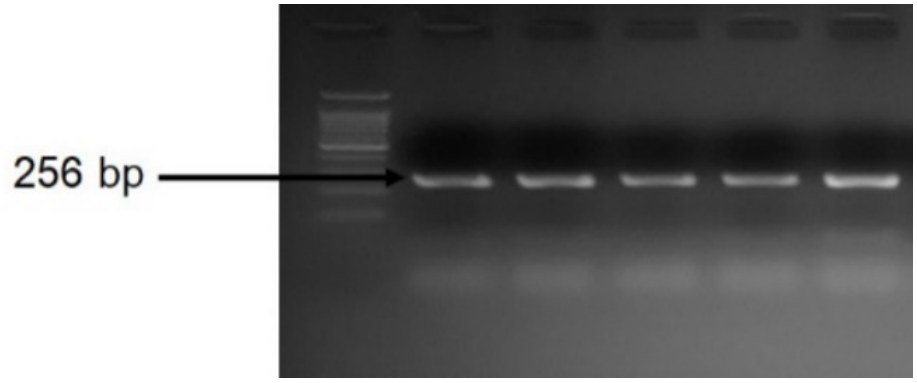

**ภาพที่ 5** การตรวจสอบชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ LSU (28S rDNA) ของเชื้อรา *Metarhizium* มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาดประมาณ 600 คู่เบส (base pair)



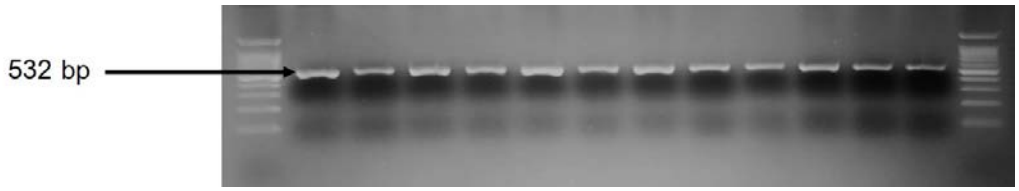

**ภาพที่ 6** การตรวจสอบชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ RPB2 (Second largest subunit of RNA polymerase II) ของเชื้อรา *Metarhizium* มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาดประมาณ 1,200 คู่เบส (base pair)



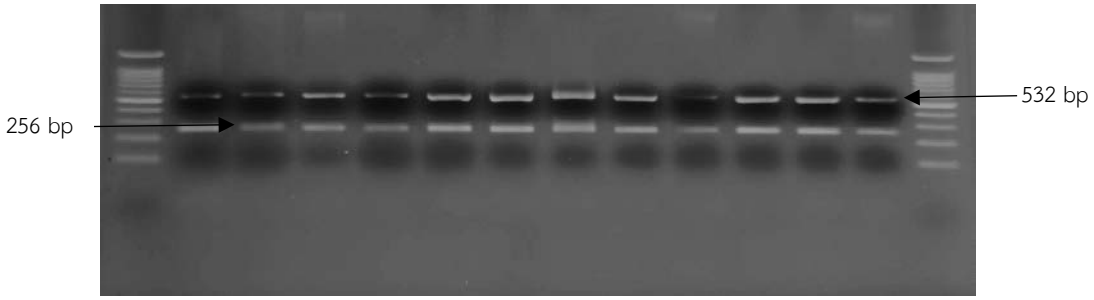

**ภาพที่ 7** Phylogenetic tree จากการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS, 28S rDNA (LSU) และ RPB2 ของเชื้อรา *Metarhizium* ด้วยวิธี Bayesian analysis



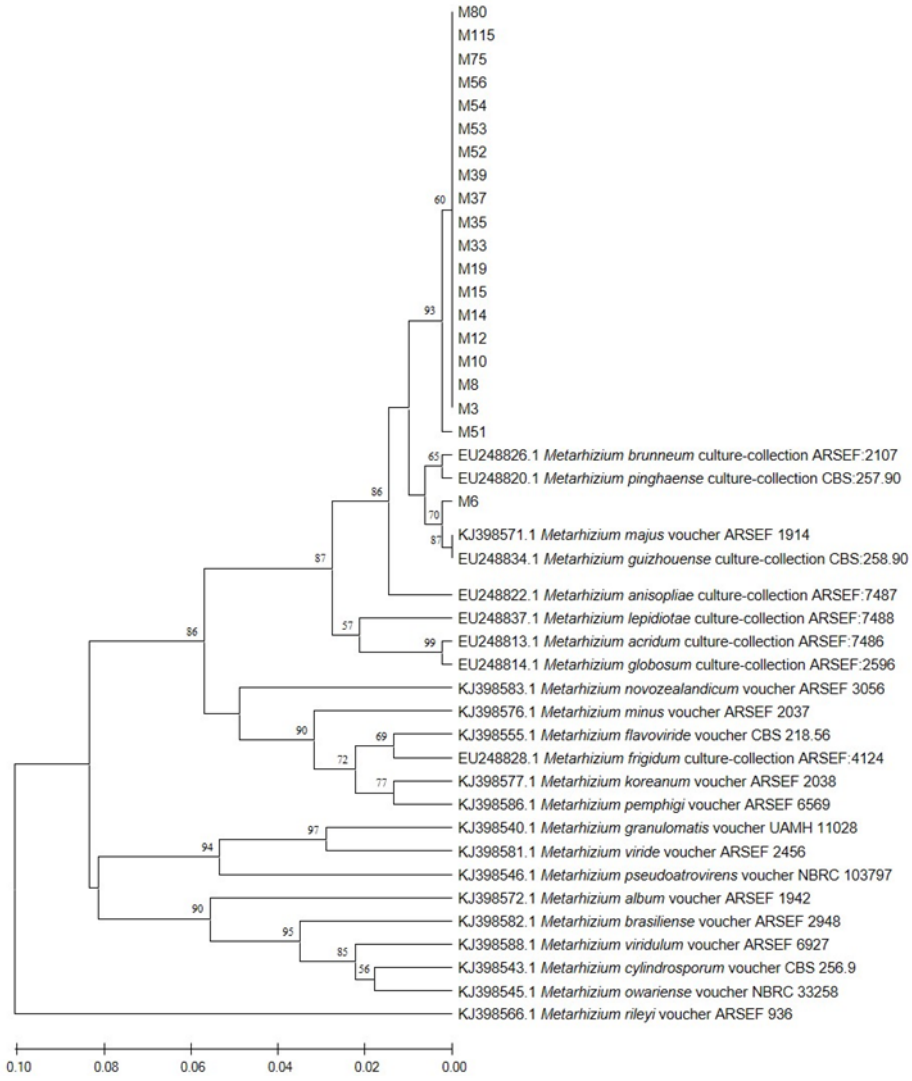

**ภาพที่ 8** เชื้อรา *Metarhizium* จากการตรวจสอบด้วยไพรเมอร์ BT-META-F1/BT-META-R1 มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาดประมาณ 256 คู่เบส (base pair)



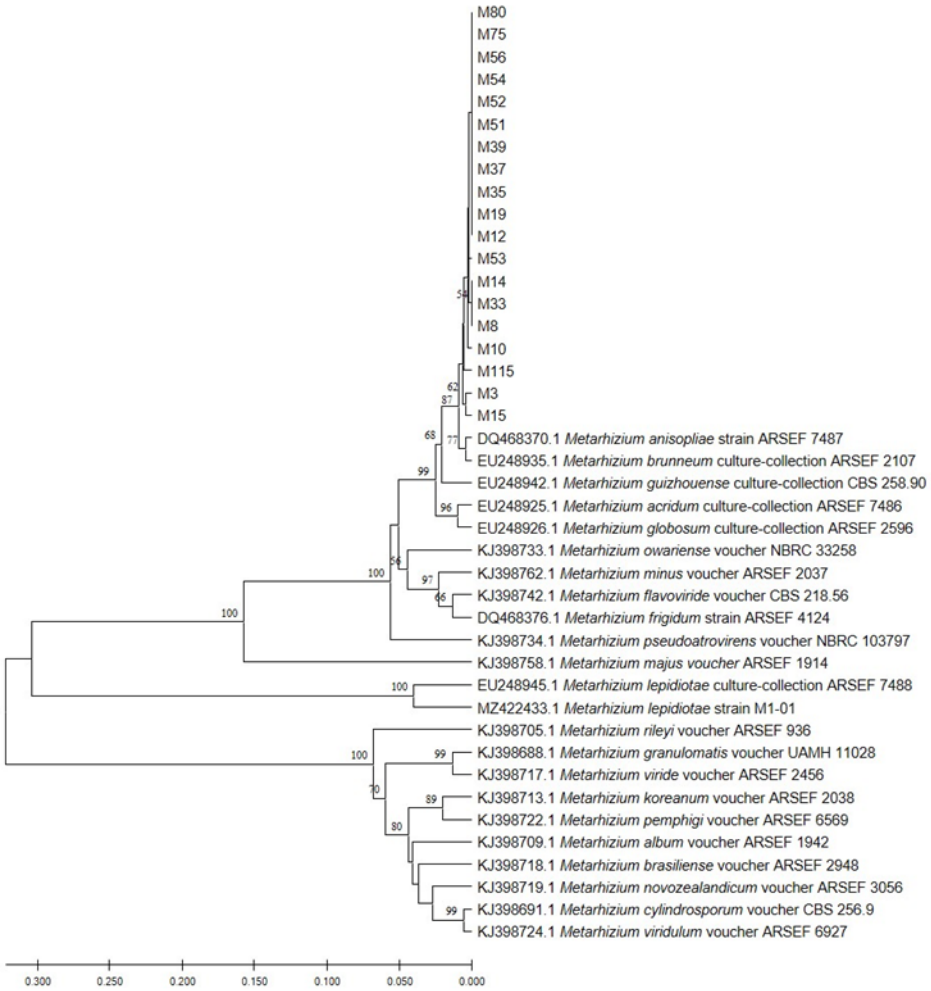

**ภาพที่ 9** เชื้อรา *Metarhizium* จากการตรวจสอบด้วยไพรเมอร์ RPB2-META-F1/RPB2-META-R1 มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาดประมาณ 532 คู่เบส (base pair)




**ภาพที่ 10** เชื้อรา *Metarhizium* จากการตรวจสอบด้วยไพรเมอร์ BT-META-F1/BT-META-R1 และ RPB2-META-F1/RPB2-META-R1 มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาดประมาณ 256 และ 532 คู่เบส (base pair)




**ภาพที่ 11** Phylogenetic tree จากการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ β-tubulin โดยใช้ไพรเมอร์ BT-META-F1/BT-META-R1 ของเชื้อรา *Metarhizium*




**ภาพที่ 12** Phylogenetic tree จากการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ RPB2 โดยใช้ ไพรเมอร์ RPB2-META-F1/RPB2-META-R1 ของเชื้อรา *Metarhizium*

# วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในผลมะละกอพันธุ์แขกดำเพื่อการส่งออก

# Research and Development of Modified Vapor Heat Treatment to Control the Oriental Fruit Fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) on Papaya "Khak Dam" Cultivar for Export

**มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ปวีณา บูชาเทียน ศิริพร คงทวี**
**พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์ ชัยณรัตน์ สนศิริ**
**กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

## Abstract

The goal of this study was to develop modified vapor heat treatment (MVHT) to disinfest of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in papaya (*Carica papaya* L.) of "Khak Dam" cultivar to meet the plant quarantine regulation without damaging fruit quality. Study of the biological, characteristic and cultivation area of papaya "Khak Dam" cultivar. The results showed that it has a short harvesting period which can be grown in many areas, especially Nakhon Pathom, Nakhon Ratchasima, Chanthaburi, Kamphaeng Phet, Si Sa Ket and Kalasin provinces, etc.

Study of fruit injury test, papayas were assessed for their fruit qualities after subjecting to MVHT by heating test fruits with hot air at 65-80 % RH from ambient temperature to a fruit center temperature of 43°C (dry pre-heating period), then heating with saturated hot air to 46, 47 and 48°C (wet heating period) with different hold times. Following heat treatment, test fruits were immediately air-cooled for 1 hour and stored in cool storage room at 12-13°C for 7 days. The results indicated that papaya fruits can tolerate MVHT at 46, 47 and 48°C for 0, 1 and 2 hours, respectively without injury by considering the change in fruit skin color from green to yellow, weight loss and sugar content. There was no statistical difference compared to untreated papaya.

รหัสการทดลอง FF65-55-05-65-00-01-65

MVHT was tested for its effectiveness to eliminate the oriental fruit fly (OFF), *B. dorsalis* first instar larvae as the most heat tolerant stage in papaya of "Khak Dam" cultivar. Mortality of *B. dorsalis* first instar larvae was evaluated at fruit temperature 46.5° C, 47° C for 0, 10 and 20 min. It was found that none of approximately 3,000 individuals of the first instar larvae treated survived after subjecting to MVHT of fruit center temperature 47° C for 0 min. Based on this experiment, we proposed a minimum of 20 min at fruit center temperature of 47°C to be evaluated further as a potential post-harvest quarantine treatment to disinfest papaya of eggs and larvae of the OFF prior to export.

Complete mortality of the OFF first instar larvae on papaya of "Khak Dam" cultivar was achieved, when the infested were exposed to MVHT. The treatment consists of heating papaya fruits with hot air at 50-80 % RH from ambient temperature to a fruit center temperature of 43°C (dry pre-heating period), then heating with saturated hot air to 47°C (wet heating period) with a 20-min hold at 47°C. In large-scale confirmatory tests of this treatment schedule, none of treated 37,483 first instar larvae survived.

Under commercial export simulation tests, the treatment had no effect on fruit quality. Based on these results, we proposed the use of MVHT at inner most fruit temperature 47°C for 20 min and relative humidity during dry pre-heating period between 50-80% RH as a plant quarantine treatment to disinfest of *B. dorsalis* before export to countries which prohibit the importation of papaya from Thailand due to fruit fly infestation.

**Keywords :** modified vapor heat treatment (MVHT), quarantine treatment, *Carica papaya*, fruit injury test, disinfestation test, *Bactrocera dorsalis*

**บทคัดย่อ**

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในผลมะละกอ (*Carica papaya* L.) พันธุ์แขกดำ ได้ตามมาตรฐานวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของมะละกอหลังอบไอน้ำ ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของมะละกอพันธุ์แขกดำเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานทดลอง จากการสืบค้นข้อมูลชีววิทยา ลักษณะประจำพันธุ์ และแหล่งเพาะปลูก พบว่ามะละกอมี

อายุการเก็บเกี่ยวสั้น และสามารถปลูกได้ในสภาพหลายพื้นที่ โดยเฉพาะจังหวัดนครปฐม นครราชสีมา จันทบุรี กำแพงเพชร ศรีสะเกษ และกาฬสินธุ์ ฯลฯ

ศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนที่มีผลกระทบต่อคุณภาพของมะละกอพันธุ์แขกดำหลังผ่านความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ โดยช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิผลมะละกอถึง 43 องศาเซลเซียส อากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์ 65-80 เปอร์เซ็นต์ อบมะละกอให้บริเวณตรงกึ่งกลางผลคงอยู่ที่ 46 47 และ 48 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง ลดอุณหภูมิผลมะละกอทันทีโดยวิธีเป่าด้วยลมนาน 1 ชั่วโมง เก็บมะละกอทดลองไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 12-13 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน พบว่ามะละกอที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 46 47 และ 48 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง มีการเปลี่ยนแปลงของสีผิวที่ผลจากสีเขียวเป็นสีเหลือง การสูญเสียน้ำหนัก และปริมาณน้ำตาล ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน

ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เบื้องต้น ในมะละกอพันธุ์แขกดำ โดยศึกษาอัตราการตายของแมลงที่อุณหภูมิผล 46.5, 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 10 และ 20 นาที พบว่า ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที มีประสิทธิภาพกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัยที่ 1 ซึ่งเป็นวัยที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุด ในมะละกอพันธุ์แขกดำ จำนวนไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ให้ตายทั้งหมด ตามมาตรฐานของวิธีการกำจัดศัตรูพืชกักกัน

ศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำ ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* จำนวนมาก ในมะละกอพันธุ์แขกดำ พบว่า หนอนวัยที่ 1 ในมะละกอพันธุ์แขกดำ ตายทั้งหมดเมื่อผ่านกระบวนการกำจัดแมลงด้วยความร้อนกรรมวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ซึ่งประกอบด้วยการหมุนเวียนอากาศร้อนความชื้นสัมพัทธ์ 50-80 เปอร์เซ็นต์ ให้ความร้อนผลมะละกอจนกระทั่งบริเวณกลางผลอุณหภูมิเพิ่มขึ้นถึง 43 องศาเซลเซียส หลังจากนั้น ปรับเปลี่ยนเป็นอากาศร้อนที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ความชื้นสัมพัทธ์ มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เพิ่มอุณหภูมิผลมะละกอสูงขึ้นไปอย่างช้า ๆ จนกระทั่งถึง 47 องศาเซลเซียส และคงอุณหภูมิผลไว้ที่ 47 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 20 นาที ลดอุณหภูมิผลมะละกอโดยเป่าด้วยลมนาน 1 ชั่วโมง ทันทีหลังจากสิ้นสุดกระบวนการ พบว่าสามารถกำจัดหนอนวัยที่ 1 จำนวนประมาณ 37,483 ตัว ในผลมะละกอตายทั้งหมด โดยคุณภาพผลมะละกอไม่เปลี่ยนแปลงไปจากปกติ ภายใต้สภาพจำลองการส่งออกทางเครื่องบินและทางเรือ ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานของวิธีการกำจัดศัตรูพืชกักกัน

**คำหลัก :** วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์, วิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช, มะละกอ, ศึกษาด้านความเสียหาย, ศึกษาด้านการกำจัดแมลง, แมลงวันทอง

## คำนำ

การผลิตมะละกอในเชิงพาณิชย์ในประเทศไทยกำลังขยายตัว เนื่องจากผู้บริโภคชาวต่างชาติได้นิยมบริโภคมะละกอจากไทยเพิ่มมากขึ้น มะละกอ *Carica papaya* L. เป็นหนึ่งในผลไม้ที่มีศักยภาพในการส่งออก เนื่องจากไทยจัดอยู่ในลำดับที่ 9 ของผู้ผลิตมะละกอทั่วโลก พันธุ์ที่นิยมปลูกเป็นการค้า ได้แก่ พันธุ์แขกนวล แขกดำ ฮอลแลนด์ เรดเลดี้ และปากช่อง โดยเฉพาะมะละกอพันธุ์แขกดำมีจุดเด่นที่บริโภคได้ทั้งผลดิบ และสุก เนื้อผลหนากว่ามะละกอพันธุ์อื่น ๆ ผลยาวรี ผลสุกมีรสหวาน มีเมล็ดน้อย ช่องว่างภายในผลแคบ และทนทานต่อโรค อย่างไรก็ดีมะละกอเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ซึ่งมีความสำคัญทางด้านกักกันพืช (CABI, 2015; Vargas *et al*., 2015) ภายใต้เงื่อนไขการส่งออกมะละกอไปจำหน่ายยังประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ประเทศไทยจำเป็นต้องหาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ที่มีประสิทธิภาพ โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ และได้มาตรฐานตามวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช

วิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชก่อนส่งออกมีหลายวิธี อาทิเช่น การใช้ความร้อน ความเย็น รมควัน และฉายรังสี ฯลฯ ประเทศไทยได้ประสบความสำเร็จในการวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน โดยใช้วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified, Vapor Heat Treatment, MVHT) เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* species complex และ *B. cucurbitae* ในมะม่วง 7 พันธุ์ (หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด พิมเสนแดง มหาชนก เขียวเสวย และโชคอนันต์) มังคุด ส้มโอพันธุ์ทองดี และส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง ได้อย่างมีประสิทธิภาพตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ (รัชฎาและคณะ, 2553; Intarakumheng *et al*., 2016; Lapasathukool *et al*., 2002; Unahawutti *et al*., 1991, 1999, 2006; Sonsiri *et al*., 2019).

วิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์นอกจากมีประสิทธิภาพกำจัดแมลงวันผลไม้แล้ว ยังไม่ก่อให้เกิดพิษตกค้างภายในผลไม้ ซึ่งมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค จึงผ่านการยอมรับอย่างกว้างขวางจากประเทศผู้นำเข้า ในปัจจุบันประเทศไทยมีการสร้างโรงงานกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อนระดับการค้าอย่างแพร่หลาย โดยใช้วิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์อบผลมะม่วง มังคุด และส้มโอ เพื่อการส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น เกาหลี และนิวซีแลนด์ (มลนิภา, 2562). จากผลงานวิจัยของ มลนิภา และคณะ (2555, 2556, 2558, 2564) ได้ศึกษายืนยันประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะละกอ พบว่าที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที สามารถกำจัดหนอนแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* วัยที่ 1 จำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ในผลมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ให้ตายทั้งหมด ซึ่งได้ตามมาตรฐานตามวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Srimartpirom *et al*., 2023)

จากผลงานวิจัยดังกล่าวสามารถนำไปต่อยอดและประยุกต์ใช้ในการอบไอน้ำมะละกอพันธุ์อื่น ๆ ที่มีศักยภาพสูงในการส่งออก ได้แก่ มะละกอพันธุ์แขกดำ ที่ยังคงเป็นที่ยอมรับของชาวต่างชาติ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเทคโนโลยีกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในมะละกอพันธุ์แขกดำ ที่มีประสิทธิภาพตรงตามมาตรฐานด้าน

กักกันพืช โดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ เพื่อใช้ในการเจรจาเปิดตลาดส่งออกผลไม้สดไปยังประเทศที่เข้มงวดด้านกักกันพืชได้มากขึ้น

## วิธีดำเนินการ

**อุปกรณ์**

1. มะละกอพันธุ์แขกดำ
2. ตู้อบไอน้ำกำจัดแมลงขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง 2 เครื่อง
3. ตู้ลดอุณหภูมิผลไม้
4. ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ 2 ห้อง
5. เครื่องอ่างน้ำร้อน
6. เครื่องวัดค่าความหวานของผลไม้
7. ห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก
8. ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก 4 ตู้
9. ห้องเย็นสำหรับเก็บผลไม้ที่ใช้ในการทดลอง
10. เครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์แบบต่อเนื่อง
11. แท่งวัดอุณหภูมิขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง
12. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่งสำหรับงานทดลอง
13. อุปกรณ์สำหรับตรวจสอบผลการทดลอง ได้แก่ พู่กัน ปากคีบ เคาท์เตอร์ จานทดลองขนาดเล็ก ถาดใส่ผลไม้ ถุงผ้าตาข่าย ถุงมือ มีดปอกผลไม้ ถุงขยะดำ และอื่นๆ

**วิธีการ**

**1. ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของมะละกอพันธุ์แขกดำเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานทดลอง**

โดยการสืบค้นข้อมูลชีววิทยา พื้นที่ปลูก และลักษณะประจำพันธุ์ของมะละกอจากแหล่งข้อมูลอ้างอิงภายในประเทศ อาทิเช่น กรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร และสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร เป็นต้น และภายนอกประเทศ อาทิเช่น เว็บไซต์ และวารสารนานาชาติที่เกี่ยวข้อง เป็นต้น

สำรวจสวนและคัดเลือกมะละกอที่ได้คุณภาพตามมาตรฐานส่งออก จากแหล่งปลูกมะละกอที่สำคัญ จากนั้นนำมะละกอกลับมายังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เก็บมะละกอไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้น เพื่อนำมาใช้ในงานทดลองขั้นตอนศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อน และขั้นตอนศึกษาด้านการกำจัดแมลงด้วยความร้อนต่อไป

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลชีววิทยา ลักษณะประจำพันธุ์ และพื้นที่ปลูกของมะละกอพันธุ์แขกดำเพื่อใช้ในการทดลอง

**2. ศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนและคุณภาพของผลมะละกอพันธุ์แขกดำจากวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์**

ดำเนินการโดยอบมะละกอพันธุ์แขกดำด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ซึ่งเป็นกรรมวิธีที่ให้ความร้อนกับผลมะละกอ อาศัยวิธีการอบไอน้ำ ร่วมกับวิธีการอบอากาศร้อน โดยช่วงแรกจะให้ความร้อนกับผลมะละกอด้วยวิธีอบอากาศร้อน อากาศร้อนที่หมุนเวียนผ่านผลมะละกอจะมีความชื้นสัมพัทธ์ 50-80 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิในผลมะละกอเพิ่มขึ้นถึง 43 องศาเซลเซียส แล้วจึงปรับเปลี่ยนเป็นวิธีการอบไอน้ำ อากาศร้อนจะอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ โดยมีความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงจาก อุดร และคณะ, 2549; Unahawutti *et al*., 2006) สำหรับการวัดอุณหภูมิผลมะละกอทดลองอาศัยการวัดจาก sensor fruit จำนวน 3 ผล อบมะละกอโดยให้อุณหภูมิภายในสุดผลอยู่ที่ 46 47 และ 48 องศาเซลเซียส และคงอุณหภูมิ นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ หลังจากอบมะละกอครบตามอุณหภูมิ และระยะเวลาที่กำหนดไว้นำมะละกอ ที่ผ่านความร้อนออกจากตู้อบไอน้ำ มาลดอุณหภูมิผลมะละกอทันทีโดยการเป่าด้วยพัดลมนาน 1 ชั่วโมง จากเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ หลังจากเสร็จสิ้นการให้ความร้อน นำมะละกอที่ผ่านความร้อนห่อผลด้วยตาข่ายโฟม และบรรจุลงในกล่องกระดาษลูกฟูกขนาด 28x58x14 เซนติเมตร จากนั้นเก็บมะละกอทดลองตามรายละเอียดใน (มลนิภา และคณะ 2555) แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 12-13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 85-95 เปอร์เซ็นต์ บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของมะละกอหลังผ่านความร้อนแล้วเปรียบเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน โดยใช้หลักเกณฑ์พิจารณาและดำเนินการในหัวข้อต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกภาพมะละกอก่อนและหลังทดลองในแต่ละกรรมวิธีเปรียบเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน

2. การสูญเสียน้ำหนัก (weight loss) ของผลมะละกอ โดยคำนวณเป็นร้อยละของน้ำหนักที่สูญเสียไปด้วยวิธีการบันทึกน้ำหนักมะละกอก่อนและหลังการทดลอง

3. ปริมาณน้ำตาล (brix value) ในการทดลองแต่ละครั้งคั้นน้ำจากเนื้อมะละกอที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล ปริมาณน้ำตาลในรูปปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) มีหน่วยเป็นค่าองศาบริกซ์ การวัดปริมาณน้ำตาลจากเนื้อมะละกอใช้เครื่อง digital refractometer

4. ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของสีเปลือก น้ำหนักที่สูญหาย และความหวาน หลังการอบไอน้ำ 7 วัน วิเคราะห์ผลทางสถิติ และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้วิธีการตรวจสอบแบบ t-test

**3. การเลี้ยงแมลงวันผลไม้จำนวนมากด้วยอาหารเทียมเพื่อเพิ่มปริมาณและเพื่อใช้ในการทดลอง**

แมลงวันผลไม้ที่ใช้ในทดลอง ได้มาจากแมลงวันผลไม้ที่เข้าทำลายผลมะม่วงในพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา โดยทำการรวบรวมและเลี้ยงจนเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย จากนั้นจะคัดแยกชนิดอย่างละเอียดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คัดแยกแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis*, *B. carambolae* และ *B. papayae* ออกจากกัน แล้วจึงนำแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยไปเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการและเพิ่มจำนวนให้มากขึ้น ใช้เทคนิคและวิธีการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ตามวิธีการของ Watanabe *et al*., (1973) และอุดร (2541) โดยใช้การเลี้ยงด้วยอาหารเทียม (artificial diet) ที่ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ ของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. บันทึกอัตราการฟักของไข่ (hatching rate)
2. บันทึกอัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate)
3. น้ำหนักของดักแด้
4. อัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio)

**4. ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้เบื้องต้นในผลมะละกอพันธุ์แขกดำ**

มะละกอทดลองมีผลขนาดกลาง การเตรียมมะละกอทดลองให้มีหนอนวัย 1 ภายในผล ตามวิธีการ มลนิภาและคณะ (2555, 2558) โดยใส่หนอนวัย 1 ในผล จำนวน 100 ตัว/ผล จากนั้นนำมะละกอทดลอง ใส่ตู้อบไอน้ำ อบมะละกอด้วยวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (ช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิผลก่อนถึง 43 องศาเซลเซียส อากาศร้อนที่หมุนเวียนผ่านมะละกอจะมีความชื้นสัมพัทธ์ 50-80 เปอร์เซ็นต์เมื่ออุณหภูมิผลถึง 43 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์จะถูกปรับให้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์) อบมะละกอจนอุณหภูมิภายในสุดผลถึง 46.5, 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 10 และ 20 นาที การวัดอุณหภูมิภายในสุดผลมะละกอ วัดจากเซ็นเซอร์วัดอุณหภูมิผล จำนวน 3 ผล ซึ่งวางในถาดบรรจุผลไม้ชั้นล่างสุด เมื่อเซ็นเซอร์วัดอุณหภูมิผล จำนวน 2 ผล ถึงอุณหภูมิและเวลาดังกล่าว นำมะละกอออกจากตู้อบไอน้ำ และลดอุณหภูมิผลมะละกอทันที โดยการเป่าด้วยลมนาน 1 ชั่วโมง ในตู้ลดอุณหภูมิผลไม้ (Sanshu shower cooling system: รุ่น SHS-12) บันทึกจำนวนแมลงรอดชีวิต หลังอบมะละกอ 5 วัน โดยคำนวณอัตราการตายที่แท้จริง (corrected mortality) ตามสูตรของ Abbott (Abbott, 1925) เพื่อเปรียบเทียบอัตราการตายของหนอนวัยที่ 1

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. ตรวจสอบค่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์จากกระดาษบันทึกอุณหภูมิและความชื้นของตู้อบไอน้ำ
2. บันทึกอัตราการตายของหนอนวัยที่ 1 (corrected mortality)

**5. ศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนมากในผลมะละกอพันธุ์แขกดำเพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช**

5.1 ดำเนินการทดลองเพื่อยืนยันประสิทธิภาพของกระบวนการอบไอน้ำที่จะเสนอเป็นวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช ซึ่งต้องมีประสิทธิภาพสามารถกำจัดหนอนแมลงวันผลไม้วัย 1 ในผลมะละกอพันธุ์แขกดำ จำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว (ดัดแปลงจากวิธีการของรัชฎา และคณะ, 2549) การเตรียมมะละกอให้มีแมลงสำหรับงานทดลองมี 2 วิธีการคือ:

1) Artificial Inoculation ใส่หนอนวัย 1 ในผลมะละกอ จำนวน 100 ตัวต่อผล แบ่งเป็นมะละกอทดลอง และมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน ทิ้งให้หนอนวัย 1 กินอยู่ในผลมะละกอเป็นเวลาไม่ต่ำกว่า 1 ชั่วโมงก่อนนำไปทดลองอบไอน้ำ

2) Forced Infestation เตรียมกรงแมลง (35.0 x 50.0 x 30.0 เซนติเมตร) ที่มีแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยที่สมบูรณ์พร้อมวางไข่ประมาณ 2,000 ตัว จำนวน 8 กรง ห่อมะละกอด้วยถุงพลาสติกให้แนบสนิทกับผิวมะละกอติดด้วยเทปกาวให้แน่น เจาะรูจำนวน 5 รู ลงบนด้านใดด้านหนึ่งของผลมะละกอด้วยเข็มปักแมลง ดังนั้นแมลงวันผลไม้จะถูกบังคับให้วางไข่ได้เฉพาะบริเวณรูที่เจาะไว้เท่านั้น ใส่มะละกอ จำนวน 10 ผล ต่อกรง โดยให้บริเวณที่เจาะรูอยู่ด้านบน ทิ้งให้แมลงวันวางไข่เป็นเวลา 30 นาที แบ่งเป็น Treatment และ Control เก็บมะละกอไว้ในห้องเก็บผลไม้อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จึงนำไปทำการทดลอง หลังจากนั้นนำมะละกอที่ได้ไปอบไอน้ำที่อุณหภูมิ ความชื้นและระยะเวลาตามที่ได้จากการทดลองในขั้นตอนที่ 4 ในสภาพที่ภายในห้องอบไอน้ำมีมะละกอในปริมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ (Half load) และ 100 เปอร์เซ็นต์ (Full load) ภายหลังอบไอน้ำลดอุณหภูมิด้วยการเป่าด้วยลม เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นเก็บมะละกอในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส ตรวจนับจำนวนหนอนที่รอดชีวิตในผลมะละกอภายหลังอบไอน้ำ 5 วัน

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. ตรวจสอบค่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์จากกระดาษบันทึกอุณหภูมิและความชื้นของตู้อบไอน้ำ

2. บันทึกอัตราการตายของหนอนวัยที่ 1 (corrected mortality)

<u>สถานที่ทำการทดลอง</u>

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5.2 ผลของวิธีการอบไอน้ำที่จะเสนอเป็นวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชต่อคุณภาพผลมะละกอพันธุ์แขกดำในสภาพจำลองการส่งออกทางเครื่องบินและทางเรือ การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่อมะละกอในสภาพจำลองการส่งออกทางเครื่องบินและทางเรือ แยกเป็นมะละกอที่ผ่านความร้อน (treatment) และมะละกอที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน นำมะละกอทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน วางมะละกอที่ผ่านความร้อนไว้ในกระบะชั้นล่างสุดใส่ในภาชนะบรรจุผลไม้แบบกระบะพลาสติกแข็งทนความร้อน

ขนาด 36x70x15 เซนติเมตร จำนวน 3 กระบะ ในแต่ละกระบะมีมะละกอทดลอง แยกเป็นมะละกอที่ผ่านความร้อน (treatment) ทางเครื่องบินและทางเรือ และใส่มะละกอที่ไม่ใช้ในการทดลอง (filler fruit) เฉลี่ยจำนวนเท่าๆ กัน ให้เต็มความจุของกระบะ ในกระบะบรรจุผลไม้อีก 9 กระบะ และนำไปวางซ้อนลงบนกระบะบรรจุมะละกอทดลอง ในสภาพที่ห้องบรรจุผลไม้ของเครื่องตู้อบความร้อนมีปริมาณมะละกอ 100 เปอร์เซ็นต์ ของความจุตู้ เพื่อประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิระยะเวลาและความชื้นตามการทดลองขั้นตอนที่ 4 เมื่อสิ้นสุดการให้ความร้อนลดอุณหภูมิมะละกอภายในตู้อบความร้อน โดยวิธีเป่าลมนาน 1 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน นำมะละกอทดลองทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน บรรจุใส่ในกล่องกระดาษ ด้านยาวทั้งสองข้างเจาะรู พร้อมทั้งปิดด้วยผ้าตาข่าย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน 1.6 มิลลิเมตร จำนวน 4 รู เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่ 13-15 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 85-95 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลานาน 7 และ14 วัน เพื่อจำลองสภาพการส่งออกมะละกอทางเครื่องบินและทางเรือ เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดนำมะละกอทั้งหมดที่ผ่านความร้อน และไม่ผ่านความร้อนมาประเมินความเสียหายจากความร้อน โดยใช้หลักเกณฑ์การพิจารณา ดังต่อไปนี้

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. สีผิว (skin color)
2. การสูญเสียน้ำหนัก (weight loss)
3. ความแน่นเนื้อ (firmness)
4. ปริมาณค่าของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Total solutions solid)

วิเคราะห์ผลทางสถิติ และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้วิธีการตรวจสอบแบบ t-test

**เวลาและสถานที่**

เวลา ระยะเวลาดำเนินงาน 3 ปี (ตุลาคม 2564 ถึง กันยายน 2567)

สถานที่ 1) สวนมะละกอพันธุ์แขกดำที่ได้คุณภาพมาตรฐาน ได้แก่ นครปฐม นครราชสีมา จันทบุรี กำแพงเพชร ศรีสะเกษ และกาฬสินธุ์ ฯลฯ

2.) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของมะละกอพันธุ์แขกดำเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานทดลอง**

จากการสืบค้นข้อมูลชีววิทยา ลักษณะประจำพันธุ์ และพื้นที่ปลูก ของมะละกอพันธุ์แขกดำ พบว่ามะละกอมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Carica papaya* L. วงศ์ Caricaceae ในปัจจุบันเกษตรกรนิยมปลูกมะละกอพันธุ์แขกดำกันมากเนื่องจากมีตลาดต่างประเทศรองรับ บริโภคได้ทั้งผลดิบและผลสุก ลักษณะเด่นของมะละกอพันธุ์แขกดำ มีทรงพุ่มเตี้ย แข็งแรง และมีใบหนากว่าพันธุ์อื่น ๆ ทำให้ทนทาน

ต่อโรค มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้น (ผลดิบเก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 3-4 เดือน ผลสุกเก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 5-6 เดือน หลังดอกบาน) (ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ สถาบันวิจัยพืชสวน. ม.ป.ป.) ผลมีลักษณะยาวทรงกระบอก ส่วนหัวและปลายผลมีขนาดเท่ากัน ผลดิบมีสีเขียวเข้ม เนื้อหนา ผลสุกมีสีส้มอมแดง เนื้อสีแดงเข้ม ช่องว่างภายในผลแคบ มีรสชาติหวาน เนื้อไม่เละเมื่อสุก มะละกอพันธุ์นี้สามารถปลูกได้ในสภาพหลายพื้นที่ ที่เป็นดินร่วนปนทรายที่มีการระบายน้ำดี ได้แก่ จังหวัดนครปฐม นครราชสีมา จันทบุรี กำแพงเพชร ศรีสะเกษ และกาฬสินธุ์ ฯลฯ **(Figure 1).**

**2. ศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนและคุณภาพของผลมะละกอพันธุ์แขกดำจากวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์**

ระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะละกอเพิ่มอุณหภูมิผลขึ้นถึง 46, 47 และ 48 องศาเซลเซียส ใช้เวลานาน เฉลี่ย 2:38, 2:48 และ 2:80 ชั่วโมง ตามลำดับ **(Table 1)** จากผลการทดลองพบว่ามะละกอผ่านความร้อนเป็นระยะเวลานานขึ้นมีแนวโน้มการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ดีมะละกอผ่านความร้อนมีการสูญเสียน้ำหนักที่ใกล้เคียงกันกับมะละกอไม่ผ่านความร้อนถึงแม้ว่าจะผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 46, 47 และ 48 องศาเซลเซียส เมื่อพิจารณาจากคุณภาพมะละกอหลังผ่านความร้อน จากผลการทดลองไม่พบอาการเสียหายจากความร้อนในผลมะละกอ โดยที่การเปลี่ยนแปลงของสีผิวที่ผลจากสีเขียวเป็นสีเหลือง การสูญเสียน้ำหนัก และปริมาณน้ำตาล ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน **(Table 2)** แสดงให้เห็นว่ามะละกอที่ผ่านความร้อนทุกอุณหภูมิทุกระยะเวลากำหนด และเก็บมะละกอหลังผ่านความร้อนไว้ที่อุณหภูมิ 12-13 องศาเซลเซียส สามารถลดความเสียหายของมะละกอจากความร้อนได้อย่างมีประสิทธิภาพ **(Figure 2-3)** ข้อมูลจากผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ มลนิภา และคณะ (2555) ทำให้ได้ทราบความเสียหายจากความร้อนต่อคุณภาพของมะละกอพันธุ์แขกดำเพื่อใช้ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงเบื้องต้น โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพผลมะละกอพันธุ์แขกดำต่อไป

**3. การเลี้ยงแมลงวันผลไม้จำนวนมากด้วยอาหารเทียมเพื่อเพิ่มปริมาณและเพื่อใช้ในการทดลอง**

จากการเลี้ยงและขยายพันธุ์แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ให้มีจำนวนมากด้วยอาหารเทียม (artificial diet) ในห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ควบคุมอุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 65-70 เปอร์เซ็นต์ ของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร โดยในการเลี้ยงแมลงแต่ละรุ่นมีการตรวจสอบอัตราการฟักไข่ (hatching rate) อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate) น้ำหนักของดักแด้ (pupa weight) และอัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio) เพื่อควบคุมคุณภาพของแมลงวันผลไม้ จากการเลี้ยงขยายพันธุ์แมลงพบว่าแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* มีความแข็งแรงตามมาตรฐานงานทดลองและสามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณได้มากกว่า 50,000 ตัว ซึ่งเพียงพอเพื่อใช้สำหรับงานทดลอง

**4. ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้เบื้องต้นในผลมะละกอพันธุ์แขกดำ**

**Table 3** แสดงระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะละกอให้อุณหภูมิผลคงอยู่ที่ 46.5, 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 10 และ 20 นาที ในการทดลองอบมะละกอจำนวน 4 ครั้ง โดยการอบมะละกอที่อุณหภูมิ 46.5 องศาเซลเซียส ใช้เวลานาน 2:28, 2:23, 2:26, 2:38 ชั่วโมง, ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที ใช้เวลานาน 2:51, 2:37, 2:46, 2:47 ชั่วโมง, ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ใช้เวลานาน 3:01, 2:47, 2:56, 2:57 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ใช้เวลานาน 3:11, 2:57, 3:06, 3:07 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยในช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิผลถึง 43 องศาเซลเซียส ซึ่งแมลงอยู่ภายใต้สภาพอากาศร้อนความชื้นสัมพัทธ์ 50 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลานานเฉลี่ย 1:50 ชั่วโมง ขณะที่ในช่วงเพิ่มอุณหภูมิจาก 43 ถึง 47 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์สูงมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลานานเฉลี่ย 0:78 ชั่วโมง **(Table 4)** ผลการทดลองจำนวน 4 ครั้ง แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิผลมะละกอถึงอุณหภูมิที่กำหนดใช้เวลาใกล้เคียงกันมาก

อัตราการตายของหนอนวัยที่ 1 ในมะละกอที่อุณหภูมิ 46.5, 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 10 และ 20 นาที เฉลี่ย 98.89, 100, 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงใน **Table 5** ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศร้อนในช่วงเพิ่มอุณหภูมิผลมะละกอถึง 43 องศาเซลเซียส มีผลกระทบต่อการตายของแมลงโดยตรง ถ้าความชื้นสัมพัทธ์ในช่วงดังกล่าวนี้เพิ่มสูงขึ้น อัตราการตายของแมลงจะเพิ่มขึ้น (มลนิภา และคณะ, 2558) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของอุดร และคณะ (2549) การอบมะละกอภายใต้ความชื้นสัมพัทธ์ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับความชื้นสัมพัทธ์ต่ำสุดที่มีผลกระทบต่อคุณภาพของมะละกอค่อนข้างน้อย แต่เป็นสภาพที่เอื้ออำนวยต่อการรอดชีวิตของแมลง ผลการทดลองพบว่าอุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที มีประสิทธิภาพกำจัดหนอนวันที่ 1 ในมะละกอพันธุ์แขกดำ จำนวนไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ให้ตายทั้งหมด ตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกัน **(Figure 4-6).**

**5. ศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนมากในผลมะละกอพันธุ์แขกดำเพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช**

ระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะละกอให้อุณหภูมิภายในสุดผลคงอยู่ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 20 นาที ดังแสดงใน **Table 5** การอบมะละกอในสภาพที่ภายในห้องอบไอน้ำมีมะละกอในปริมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ (Half load) ของความจุตู้ **(Figure 7)** คิดเป็นน้ำหนักมะละกอทั้งหมด ประมาณ 48 กก./ลบ.ม. ระยะเวลาที่ใช้ในการเพิ่มอุณหภูมิผลถึง 47 องศาเซลเซียส เฉลี่ย 3:12 ชั่วโมง โดยในช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิถึง 43 องศาเซลเซียส ใช้เวลานาน เฉลี่ย 1:86 ชั่วโมง และช่วงหลังจากอุณหภูมิ 43 ถึง 47 องศาเซลเซียส ใช้เวลานาน เฉลี่ย 0:97 ชั่วโมง ดังแสดงใน **Table 6** การอบมะละกอในสภาพที่ภายในห้องอบไอน้ำมีมะละกอในปริมาณ 100 เปอร์เซ็นต์ (Full load) ของความจุตู้ **(Figure 8)** คิดเป็นน้ำหนักมะละกอทั้งหมด ประมาณ 98 กก./ลบ.ม. ระยะเวลาที่ใช้ในการเพิ่มอุณหภูมิผลถึง 47 องศาเซลเซียส เฉลี่ย 3:28 ชั่วโมง โดยในช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิถึง 43 องศาเซลเซียส ใช้เวลานาน เฉลี่ย 2:11 ชั่วโมง และช่วงหลังจากอุณหภูมิ 43 ถึง 47 องศาเซลเซียส ใช้เวลานาน เฉลี่ย 1:17 ชั่วโมง ดังแสดงใน **Table 7**

ศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* จำนวนมากในผลมะละกอ เพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช ที่อุณหภูมิภายในสุดผลคงอยู่ที่ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที สามารถกำจัดหนอนวัยที่ 1 ในผลมะละกอพันธุ์แขกดำ จำนวนประมาณ 37,483 ตัว ตายทั้งหมด **Table 8** ตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกัน และการประเมินความเสียหายของผลมะละกอที่ผ่านความร้อนด้วยกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ไม่แตกต่างกันจากมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อนภายใต้สภาพจำลองการส่งออกทางเครื่องบินและทางเรือ

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

**1. ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของมะละกอพันธุ์แขกดำเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานทดลอง**

มะละกอมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Carica papaya* L. วงศ์ Caricaceae มะละกอพันธุ์แขกดำบริโภคได้ทั้งผลดิบและผลสุก ลักษณะเด่นของมะละกอพันธุ์แขกดำ มีทรงพุ่มเตี้ย แข็งแรง และมีใบหนากว่าพันธุ์อื่น ๆ ทำให้ทนทานต่อโรค มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้น ผลดิบมีสีเขียวเข้ม เนื้อหนา ผลสุกมีสีส้มอมแดง เนื้อสีแดงเข้ม ช่องว่างภายในผลแคบ มีรสชาติหวาน เนื้อไม่เละเมื่อสุก มะละกอพันธุ์นี้สามารถปลูกได้ในสภาพหลายพื้นที่ ที่เป็นดินร่วนปนทรายที่มีการระบายน้ำดี ได้แก่ จังหวัดนครปฐม นครราชสีมา จันทบุรี กำแพงเพชร ศรีสะเกษ และกาฬสินธุ์ ฯลฯ

**2. ศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนและคุณภาพของผลมะละกอพันธุ์แขกดำจากวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์**

ได้ทดลองอบมะละกอด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ โดยคงอุณหภูมิผลมะละกอที่ 46, 47 และ 48 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานานแตกต่างกัน เพื่อกำหนดอุณหภูมิและระยะเวลาซึ่งไม่ทำให้มะละกอเกิดความเสียหายจากความร้อน ผลการทดลองพบว่ามะละกอสามารถทนทานต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 46, 47 และ 48 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 2:38, 2:48 และ 2:80 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยคุณภาพไม่แตกต่างจากมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน

**3. การเลี้ยงแมลงวันผลไม้จำนวนมากด้วยอาหารเทียมเพื่อเพิ่มปริมาณและเพื่อใช้ในการทดลอง**

การเลี้ยงและขยายพันธุ์แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ให้มีจำนวนมากด้วยอาหารเทียม (artificial diet) ในห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ควบคุมอุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 65-70 เปอร์เซ็นต์ โดยมีการควบคุมคุณภาพของแมลงวันผลไม้ พบว่าแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* มีความแข็งแรงตามมาตรฐานงานทดลอง และสามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณได้มากกว่า 50,000 ตัว

**4. ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้เบื้องต้นในผลมะละกอพันธุ์แขกดำ**

ได้ศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัยที่ 1 ในผลมะละกอด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ พบว่าที่อุณหภูมิผล 47 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที

สามารถกำจัดหนอนวัยที่ 1 ในผลมะละกอ จำนวนไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ให้ตายทั้งหมด กระบวนการกำจัดแมลงดังกล่าวนี้มีความเป็นไปได้สูงที่จะได้รับการยอมรับเป็นวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช เพื่อกำจัดไข่และหนอนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะละกอก่อนส่งออก

**5. ศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนมากในผลมะละกอพันธุ์แขกดำเพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช**

การประเมินประสิทธิภาพการกำจัดแมลงของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิผล 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัยที่ 1 ในผลมะละกอ และความเสียหายต่อคุณภาพของผลมะละกอ พบว่า สามารถกำจัดหนอนวัยที่ 1 จำนวนปนะมาณ 37,483 ตัว ตายทั้งหมด โดยคุณภาพของผลมะละกอที่ผ่านความร้อนไม่แตกต่างจากมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อนภายใต้สภาพจำลองการส่งออกทางเครื่องบินและทางเรือ

## คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้จะสำเร็จลุล่วงด้วยดีไม่ได้ หากขาดความช่วยเหลือจากบุคลากรของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช ในการเตรียมอุปกรณ์ รวมถึงการเช็คผลการทดลอง คณะผู้วิจัยขอขอบคุณบุคลากรของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช มา ณ ที่นี้

## เอกสารอ้างอิง

จริงแท้ ศิริพานิช. 2552. มะละกอไทย สถานภาพด้านสายพันธุ์ ระบบการผลิต และการตลาด. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. กรุงเทพฯ. 136 หน้า.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชัยณรัตน์ สนศิริ สลักจิต พานคำ รัชฎา อินทรกำแหง และอุดร อุณหวุฒิ. 2555. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อนในผลมะละกอเพื่อการส่งออก. เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาศัตรูพืชหมดปัญหาเมื่ออารักขาถูกวิธี. 7-9 สิงหาคม 2555.ณ โรงแรมเฟลิกซ์ ริเวอร์แควรีสอร์ท จ. กาญจนบุรี. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร: กรุงเทพฯ.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชัยณรัตน์ สนศิริ สลักจิต พานคำ รัชฎา อินทรกำแหง และอุดร อุณหวุฒิ. 2556. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อนในผลมะละกอเพื่อการส่งออก. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : https://www.doa.go.th/research/showthread.php?tid=1272&pid=1290#pid1290 (31 มีนาคม 2568).

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ วลัยกร รัตนเดชากุล สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ ชุติมา อ้อมกิ่ง และอุดร อุณหวุฒิ. 2558. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อนในผลมะละกอเพื่อการส่งออก. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล :https://www.doa.go.th/plan/wp-content/uploads/2021/04/2185.4 (31 มีนาคม 2568).

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2562. การป้องกันกำจัดแมลงในผลมะม่วงเพื่อการส่งออกด้วยวิธีการอบไอน้ำและฉายรังสี. โครงการจัดการถ่ายทอดความรู้การผลิตมะม่วงเพื่อการส่งออก 15 ก.พ. 2562 ณ สหกรณ์ชมรมชาวสวนมะม่วง อำเภอพนมสารคาม จังหวัดฉะเชิงเทรา.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ ปวีณา บูชาเทียน พุฒิพงษ์ เพ็งฤกษ์ พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์ ศิริพร คงทวี. 2564. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะละกอเพื่อการส่งออก. รายงานประจำปี 2564 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

รัชฎา อินทรกำแหง สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชุติมา อ้อมกิ่ง จารุวรรณ จันทราและอุดร อุณหวุฒิ. 2553. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในมะม่วงพันธุ์มหาชนก โชคอนันต์ และเขียวเสวยเพื่อการส่งออก. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล :http://www.doa.go.th/research/attachment.php?aid=781 (25 กรกฎาคม 2567).

ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ, สถาบันวิจัยพืชสวน. ม.ป.ป. มะละกอพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : https://www.doa.go.th/hort/?page_id=54073 (31 มีนาคม 2568).

อุดร อุณหวุฒิ, สลักจิต พานคำ, ชัยณรัตน์ สนศิริ, มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์, ชุติมา อ้อมกิ่ง, จารุวรรณ จันทรา และรัชฎา อินทรกำแหง. 2549. การวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในส้มโอเพื่อส่งออก. ผลงานวิจัยเพื่อพัฒนาเป็นผลงานวิจัยดีเด่น ประจำปี 2549 กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.หน้า 125-143.

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.

CAB International (CABI). 2015. Invasive Species Compendium *Bactrocera dorsalis*. Available. http://www.cabi.org /isc/datasheet/17685. (February 14, 2025).

Intarakumheng Rachada, Saluckjit Phankum, Chainarat Sonsiri, Monipa Srimartpirom, Chutima Ormking and Udorn Unahawutti. 2013. Evalution of modified vapor heat treatment as quarantine treatment for Khiaosawoey and Chokanan mangoes infested with oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae). A report Submitted to The Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF) for market access of Khiaosawoey and Chokanan mangoes from Japan to Thailand October 2013. 139p.

Lapasathukool, C., S. Phankum, U. Unahawutti and S. Charnnarongkul. 2002. Heat tolerance of immature stages of 4 tephritid fruit fly species in Thailand. An additional report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries ( MAFF) for approval of a quarantine treatment on Thai

mangosteen to be exported to Japan. Plant Quarant. Sub-Div., Agr. Regulat. Div., Dept. of Agri., Bangkok. 39 p.

Songpol, S. 2011. Current study of papaya production in Thailand. 70 Pages. *In* : The International Symposium on Papaya. Dec. 19-22, 2011. Chiangmai.

Sonsiri, C., M. Srimartpirom, C. Ormking, S. Phankum, W. Rattandechakul, P. Phangrerk, P. Jinalite and P. Buchatian. 2019. Evaluation of modified vapor heat treatment as quarantine treatment for " Khao Nam Phueng" pummelo Infested with oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF) for approval of a quarantine treatment on Thai mangoes to be exported to Japan, Plant Quarantine Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Bangkok. 70 p.

Srimartpirom, M., C. Rakkrai, S. Phankum, R. Intarakamhang, C. Sonsiri, P. Buchatian, P. Phanglerk, P. Jinnalite, S. Khongthawie, U. Unahawutti, P. A. Follett. 2023. Vapor heat treatment for quarantine control of the oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) in papaya fruit from Thailand. Journal of Asia-Pacific Entomology, 26 (2).

Thaipong, K., S. Srimart, K. Iamjud, P. Sangwanankul and S. Wasee. 2011. Collection evaluation and selections of papaya varieties in Thailand. 70 Pages. *In* : The International Symposium on Papaya. Dec. 19-22, 2011. Chiangmai.

Unahawutti, U., M. Poomthong, R. Intarakumheng, W. Worawisitthumrong, C. Lapasathukool, E. Smitasiri, P. Srisook and C. Ratanawaraha. 1991. Vapor heat as plant quarantine treatment of 'Nang Klarngwan', 'Nam Dorkmai', 'Rad' and 'Pimsen Daeng' mangoes infested with fruit flies (Diptera: Tephritidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on Thai mangoes to be exported to Japan. Tech. Plant Quarant. Sub-Div., Agr. Regulat. Div., Dept. of Agr., Bangkok. 342 p.

Unahawutti, U., S. Phankum, P. Ongthonglang and C. Chettanachitara. 1999. Heated-air quarantine treatment for mangosteen infested with oriental fruit fly (Diptera: Tephitidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on

Thai mangosteen to be exported to Japan. Tech. Plant Quarant. Sub-Div., Agr. Regulat. Div., Dept. of Agri., Bangkok. 630 p.

Unahawutti, U., S. Phankum, M. Srimartpirom, C. Ormking, C. Sonsiri, J. Chantra and R. Intarakumheng. 2006. Heated-air quarantine treatment for pummelo infested with fruit flies (Diptera: Tephitidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on Thai pummelo to be exported to Japan. Tech. Plant Quarant. Sub-Div., Agr. Regulat. Div., Dept. of Agri., Bangkok. 143 p.

Vargas, R.I., Pinero and L. Leblanc. 2015. An overview of pest species of *Bactrocera fruit flies* (Diptera: Tephritidae) and the integration of biopesticides with other biological approach for their management with a focus on the pacific region. Journal of Insects 6: 297-318. doi: 10.3390/insects6020297

Watanabe, N., F. Ichinohe and M. Sonda. 1973. Improvement of corn flour medium for larval culture of oriental fruit fly. Res. Bull. Plant Prot. Japan. 11: 57-58.

White, I. M. and M. M. Elson-Harris. 1992. Fruit flies of economic significance: Their identification and bionomics. CAB International, Wallingford, UK. 601 p.

**Table 1** Time for center of "Khak Dam" papaya to attain 46, 47 and 48°C for various holding times during modified vapor heat treatment in preliminary fruit injury test

| Fruit temp (°C). | Rep | Sensor fruit weight (g) | Loading (kg./cum.) | Time for fruit center to reach 46°C | Time for fruit center to reach 47°C | Time for fruit center to reach 48°C |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 46°C | 1 | 825.20 | 13 | 2:37 | | |
| | | 827.17 | | | | |
| | | 830.24 | | | | |
| | 2 | 820.18 | 13 | 2:40 | | |
| | | 822.45 | | | | |
| | | 830.00 | | | | |
| 47°C | 1 | 826.00 | 13 | | 2:45 | |
| | | 832.20 | | | | |
| | | 835.00 | | | | |
| | 2 | 820.12 | 13 | | 2:52 | |
| | | 822.57 | | | | |
| | | 824.32 | | | | |
| 48°C | 1 | 830.40 | 13 | | | 2:74 |
| | | 832.12 | | | | |
| | | 835.00 | | | | |
| | 2 | 832.10 | 13 | | | 2:87 |
| | | 840.48 | | | | |
| | | 847.25 | | | | |

[1] Time for center of 3 sensor fruits to attain target temperatures.

**Table 2** Quality of "Khak Dam" papaya treated with modified vapor heat treatment 65-80% RH at 46, 47, and 48° C center temperature under preliminary fruit injury test and 7 days storage at 12-13 °C.

| Fruit temp (°C). | Item[1] | |
|---|---|---|
| | Weight losss (%)[2] | Total soluble solid (°Brix)[2] |
| Control | 6.25 ± 0.31 a | 10.40 ± 0.28 a |
| 46°C | 6.88 ± 1.24 a | 10.57 ± 0.32 a |
| 47°C | 7.04 ± 1.23 a | 10.62 ± 0.23 a |
| 48°C | 7.44 ± 1.53 a | 10.70 ± 0.20 a |

significantly different. (P-value ≤0.05).

[3/]Means in column followed by the same letters were not statistically.

[1/]Combined data of 2 replications.

[2/] Values were averaged from 10 fruits for control; 6 fruits for each treatment.

**Table 3** Time for center of "Khak Dam" papaya to attain target temperature for Various holding times during modified vapor heat treatment in preliminary disinfestation test

| Rep | Load factor (kg/cum) | Sensor fruit weight (g) | | | Temperature Time (min.)[1/] | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 46.5 ° C | 47.0 ° C | 47.0 ° C+10 m. | 47.0 ° C+20 m. |
| 1 | 13 | 764.50 | 767.52 | 778.37 | 2:28 | 2:51 | 3:01 | 3:11 |
| 2 | 13 | 755.00 | 760.12 | 762.10 | 2:23 | 2:37 | 2:47 | 2:57 |
| 3 | 13 | 735.30 | 748.35 | 765.20 | 2:26 | 2:46 | 2:56 | 3:06 |
| 4 | 13 | 760.12 | 765.20 | 770.15 | 2:38 | 2:47 | 2:57 | 3:07 |

[1/]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

**Table 4** Time for center of "Khak Dam" papaya to attain 43.0 and 47.0 °C during modified vapor heat treatment in preliminary disinfestation test

| Rep | Time for fruit center to reach 43.0 °C (h)[1/] | Time for fruit center to reach 47.0 °C (h)[1/] | Time form 43.0 to 47.0 °C (h)[1/] |
|---|---|---|---|
| 1 | 1:51 | 2:51 | 1:00 |
| 2 | 1:43 | 2:37 | 0:57 |
| 3 | 1:50 | 2:46 | 1:01 |
| 4 | 1:57 | 2:47 | 0:55 |
| **Average** | **1:50** | **2:45** | **0:78** |

[1/]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature

**Table 5** Mortality of first instar larvae of *Bactrocera dorsalis* on "Khak Dam" papaya treated by modified vapor heat treatment with different final temperatures and hold times

| Treatment[1] | Number treated | Number dead | Mortality[2] (%) |
|---|---|---|---|
| Control | 3,000 | 590 | 0.00 |
| 46.5 °C | 1,500 | 1,470 | 98.89 |
| 47 °C + 0:0 min | 1,500 | 1,500 | 100.00 |
| 47 °C + 0:10 min. | 1,500 | 1,500 | 100.00 |
| 47 °C + 0:20 min. | 1,500 | 1,500 | 100.00 |

[1/]Each VHT replicate consisted of three fruits, each infested with 100 individuals/fruit and each control replicate consisted of three fruits, each infested with 100 individuals/fruit.

[2/] Corrected mortality using Abbott Formula totaling 1,500 individuals in each VHT treatment and total of 3,000 individuals in the controls.

**Table 6** Time for center of "Khak Dam" papaya to attain 47.0 °C for 20 minutes during modified vapor heat treatment during large scale disinfestation test

| Rep | Sensor fruit weight (g) | | | Time (h.)[1] |
|---|---|---|---|---|
| | Half load: 48 kgs/cum. | | | |
| 1 | 1,087.00 | 1,089.00 | 1,090.00 | 3:25 |
| 2 | 1,082.25 | 1,088.70 | 1,087.00 | 3:42 |
| 3 | 1,077.98 | 1,096.05 | 1,097.64 | 3:30 |
| | Full load: 98 kgs/cum. | | | |
| 1 | 798.56 | 815.00 | 859.33 | 4:15 |
| 2 | 1,087.98 | 1,096.05 | 1,097.64 | 3:45 |
| 3 | 1,062.52 | 1,077.81 | 1,078.00 | 3:26 |

[1/]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

**Table 7** Time for center of "Khak Dam" papaya to attain 43.0 and 47.0 °C during modified vapor heat treatment during large scale disinfestation test

| Rep | Time for fruit center to reach 43.0 °C (h)[1] | Time for fruit center to reach 47.0 °C (h)[1] | Time form 43.0 to 47.0 °C (h)[1] |
|---|---|---|---|
| | | Half load: 48 kgs/cum. | |
| 1 | 2:06 | 3:05 | 0:59 |
| 2 | 2:01 | 3:22 | 1:13 |
| 3 | 1:51 | 3:10 | 1:19 |
| Average | 1.86 | 3:12 | 0:97 |
| | | Full load: 98 kgs/cum. | |
| 1 | 2:22 | 3:55 | 1:33 |
| 2 | 2:10 | 3:25 | 1:15 |
| 3 | 2:02 | 3:06 | 1:04 |
| Average | 2:11 | 3:28 | 1:17 |

[1]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

**Table 8** Large scale confirmatory tests: mortality of first instar larvae of *B. dorsalis* on "Khak Dam" papaya treated with the proposed VHT quarantine treatment schedule at 47° C for 20 min

| Rep | Infestation method | No. test fruits | | No. alive individuals in control | Estimated treated population | No. survivors |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Control | Treatment | | | |
| | | Half load: 48 Kg/cum. | | | | |
| 1 | Larval inoculation | 6 | 18 | 558 | 1,664 | 0 |
| | Forced infestation | 2 | 6 | 1653 | 4,957 | 0 |
| 2 | Larval inoculation | 6 | 18 | 552 | 1,647 | 0 |
| | Forced infestation | 2 | 6 | 1402 | 4,208 | 0 |
| 3 | Larval inoculation | 6 | 18 | 548 | 1,650 | 0 |
| | Forced infestation | 2 | 6 | 1376 | 4,128 | 0 |
| | **Sub-total** | **24** | **72** | **6,089** | **18,254** | **0** |
| | | **Full load: 98 Kg/cum.** | | | | |
| 1 | Larval inoculation | 6 | 18 | 564 | 1,702 | 0 |
| | Forced infestation | 2 | 6 | 1620 | 4,825 | 0 |
| 2 | Larval inoculation | 6 | 18 | 558 | 1,682 | 0 |
| | Forced infestation | 2 | 6 | 1470 | 4,423 | 0 |
| 3 | Larval inoculation | 6 | 18 | 535 | 1,625 | 0 |
| | Forced infestation | 2 | 6 | 1644 | 4,972 | 0 |
| | **Sub-total** | **24** | **72** | **6,391** | **19,229** | **0** |
| **Total** | | **48** | **144** | **12,480** | **37,483** | **0** |

[1]Average time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

**Figure 1** Biological and characteristics of papaya “Khak Dam” cultivar.
(ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ สถาบันวิจัยพืชสวน, ม.ป.ป.)
แหล่งข้อมูล : https://www.doa.go.th/hort/?page_id=54073

**Figure 2** Test fruits were placed in to treatment chamber under fruit injury test at desired target fruit center temperatures

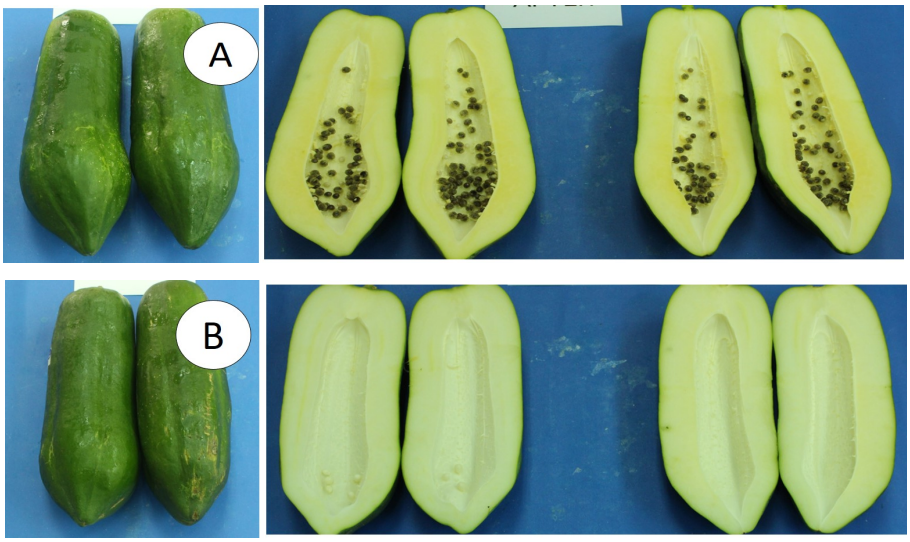



**Figure 3** The external and internal appearance of "Khak Dam" papaya was similar between (A) control, and (B) treated fruit after heating to 48°C for 2 h, followed by storage at 12-13°C for 7 days.

**Figure 4** Ripe papaya fruits were artificially infested by using "Beneath the PeelMethod" (Srimartpirom *et al*., 2023)

**Figure 5** Monitoring of fruit center temperature inside the VHT chamber was done by inserted sensor probe to the center of papaya fruit (left) and test fruits were subjected to MVHT to determine preliminary disinfestation of "Khak Dam" papaya at desired target fruit center temperatures (right)

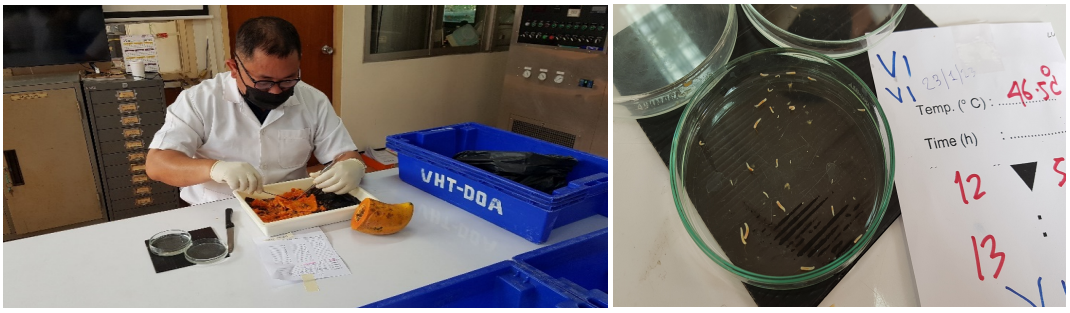



**Figure 6** Mortality rate was determined by dissecting test fruits at 5 days post treatment

**Figure 7** Three additional containers containing filler fruits were added in to treatment chamber to make a half load condition

**Figure 8** Nine additional containers containing filler fruits were added in to Treatment chamber to make a full load condition

# วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในผลมะละกอพันธุ์แขกนวลเพื่อการส่งออก

# Research and Development of Modified Vapor Heat Treatment to Control the Oriental Fruit Fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) on Papaya "Khak Nuan" Cultivar for Export

**มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ปวีณา บูชาเทียน ศิริพร คงทวี**
**พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์ ชัยณรัตน์ สนศิริ**
**กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

## Abstract

The goal of this study was to develop modified vapor heat treatment (MVHT) to disinfest of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in papaya (*Carica papaya* L.) of "Khak Nuan" cultivar to meet the plant quarantine regulation without damaging fruit quality. Study of the biological, characteristic and cultivation area of papaya "Khak Nuan" cultivar. The results showed that it has a short harvesting period which can be grown in many areas, especially Nakhon Pathom, Nakhon Ratchasima, Chanthaburi, Kamphaeng Phet, Si Sa Ket and Kalasin provinces, etc.

Study of fruit injury test, papayas were assessed for their fruit qualities after subjecting to MVHT by heating test fruits with hot air at 65-80 % RH from ambient temperature to a fruit center temperature of 43°C (dry pre-heating period), then heating with saturated hot air to 46 and 47°C (wet heating period) with different hold times. Following heat treatment, test fruits were immediately air-cooled for 1 hour and stored in cool storage room at 10°C for 7 days. The results indicated that papaya fruits can tolerate MVHT at 46 and 47°C for 0, 1 and 2 hours, respectively without injury by considering the change in fruit skin color from green to yellow, weight loss and sugar content. There was no statistical difference compared to untreated papaya.

รหัสการทดลอง FF65-55-05-65-00-02-65

MVHT was tested for its effectiveness to eliminate the oriental fruit fly (OFF), *B. dorsalis* first instar larvae as the most heat tolerant stage in papaya of "Khak Nuan" cultivar. Mortality of *B. dorsalis* first instar larvae was evaluated at fruit temperature 46.5° C, 47° C for 0, 10 and 20 min. It was found that none of approximately 3,000 individuals of the first instar larvae treated survived after subjecting to MVHT of fruit center temperature 47° C for 10 min. Based on this experiment, we proposed a minimum of 20 min at fruit center temperature of 47°C to be evaluated further as a potential post-harvest quarantine treatment to disinfest papaya of eggs and larvae of the OFF prior to export.

Complete mortality of the OFF first instar larvae on papaya of "Khak Nuan" cultivar was achieved, when the infested were exposed to MVHT. The treatment consists of heating papaya fruits with hot air at 50-80 % RH from ambient temperature to a fruit center temperature of 43°C (dry pre-heating period), then heating with saturated hot air to 47°C (wet heating period) with a 20-min hold at 47°C. In large-scale confirmatory tests of this treatment schedule, none of treated 34,802 first instar larvae survived.

Under commercial export simulation tests, the treatment had no effect on fruit quality. Based on these results, we proposed the use of MVHT at inner most fruit temperature 47°C for 20 min and relative humidity during dry pre-heating period between 50-80% RH as a plant quarantine treatment to disinfest of *B. dorsalis* before export to countries which prohibit the importation of papaya from Thailand due to fruit fly infestation.

**Keywords :** modified vapor heat treatment (MVHT), quarantine treatment, *Carica papaya*, fruit injury test, disinfestation test, *Bactrocera dorsalis*.

**บทคัดย่อ**

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในผลมะละกอ (*Carica papaya* L.) พันธุ์แขกนวล ได้ตามมาตรฐานวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของมะละกอหลังอบไอน้ำ ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของมะละกอพันธุ์แขกนวลเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานทดลอง จากการสืบค้นข้อมูลชีววิทยา ลักษณะประจำพันธุ์ และแหล่งเพาะปลูก พบว่ามะละกอมี

อายุการเก็บเกี่ยวสั้น และสามารถปลูกได้ในสภาพหลายพื้นที่ โดยเฉพาะจังหวัดนครปฐม นครราชสีมา จันทบุรี กำแพงเพชร ศรีสะเกษ และกาฬสินธุ์ ฯลฯ

ศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนที่มีผลกระทบต่อคุณภาพของมะละกอพันธุ์แขกนวล หลังผ่านความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ โดยช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิผลมะละกอถึง 43 องศาเซลเซียส อากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์ 65-80 เปอร์เซ็นต์ อบมะละกอให้บริเวณตรงกึ่งกลางผลคงอยู่ที่ 46 และ 47 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง ลดอุณหภูมิผลมะละกอทันทีโดยวิธีเป่าด้วยลมนาน 1 ชั่วโมง เก็บมะละกอทดลองไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน พบว่ามะละกอที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 46 และ 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง มีการเปลี่ยนแปลงของสีผิวที่ผลจากสีเขียวเป็นสีเหลือง การสูญเสียน้ำหนัก และปริมาณน้ำตาล ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน

ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เบื้องต้น ในมะละกอพันธุ์แขกนวล โดยศึกษาอัตราการตายของแมลงที่อุณหภูมิผล 46.5, 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 10 และ 20 นาที พบว่า ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที มีประสิทธิภาพกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัยที่ 1 ซึ่งเป็นวัยที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุด ในมะละกอพันธุ์แขกนวล จำนวนไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ให้ตายทั้งหมด ตามมาตรฐานของวิธีการกำจัดศัตรูพืชกักกัน

ศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำ ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* จำนวนมาก ในมะละกอพันธุ์แขกนวล พบว่า หนอนวัยที่ 1 ในมะละกอพันธุ์แขกนวล ตายทั้งหมดเมื่อผ่านกระบวนการกำจัดแมลงด้วยความร้อนกรรมวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ซึ่งประกอบด้วยการหมุนเวียนอากาศร้อนความชื้นสัมพัทธ์ 50-80 เปอร์เซ็นต์ ให้ความร้อนผลมะละกอจนกระทั่งบริเวณกลางผลอุณหภูมิเพิ่มขึ้นถึง 43 องศาเซลเซียส หลังจากนั้น ปรับเปลี่ยนเป็นอากาศร้อนที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ความชื้นสัมพัทธ์ มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เพิ่มอุณหภูมิผลมะละกอสูงขึ้นไปอย่างช้า ๆ จนกระทั่งถึง 47 องศาเซลเซียส และคงอุณหภูมิผลไว้ที่ 47 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 20 นาที ลดอุณหภูมิผลมะละกอโดยเป่าด้วยลมนาน 1 ชั่วโมง ทันทีหลังจากสิ้นสุดกระบวนการ พบว่าสามารถกำจัดหนอนวัยที่ 1 จำนวนประมาณ 34,802 ตัว ในผลมะละกอตายทั้งหมด โดยคุณภาพผลมะละกอไม่เปลี่ยนแปลงไปจากปกติ ภายใต้สภาพจำลองการส่งออกทางเครื่องบินและทางเรือ ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานของวิธีการกำจัดศัตรูพืชกักกัน

**คำหลัก :** วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์, วิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช, มะละกอ, ศึกษาด้านความเสียหาย, ศึกษาด้านการกำจัดแมลง, แมลงวันทอง

## คำนำ

การผลิตมะละกอในเชิงพาณิชย์ในประเทศไทยกำลังขยายตัว เนื่องจากผู้บริโภคชาวต่างชาติได้นิยมบริโภคมะละกอจากไทยเพิ่มมากขึ้น มะละกอ *Carica papaya* L. เป็นหนึ่งในผลไม้ที่มีศักยภาพในการส่งออก เนื่องจากไทยจัดอยู่ในลำดับที่ 9 ของผู้ผลิตมะละกอทั่วโลก พันธุ์ที่นิยมปลูกเป็นการค้า ได้แก่ พันธุ์แขกนวล แขกดำ ฮอลแลนด์ เรดเลดี้ และปากช่อง โดยเฉพาะมะละกอพันธุ์แขกนวล เป็นมะละกอสายพันธุ์ผลดิบ และทนทานต่อโรค ในปัจจุบันมะละกอพันธุ์นี้เป็นที่ต้องการของผู้บริโภคชาวยุโรป มีจุดเด่นที่มีผลเนื้อแน่น และกรอบ เหมาะสำหรับนำไปทำส้มตำ อย่างไรก็ดี มะละกอเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ซึ่งมีความสำคัญทางด้านกักกันพืช (CABI, 2015; Vargas *et al*., 2015) ภายใต้เงื่อนไขการส่งออกมะละกอไปจำหน่ายยังประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ประเทศไทยจำเป็นต้องหาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ที่มีประสิทธิภาพ โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ และได้มาตรฐานตามวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช

วิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชก่อนส่งออกมีหลายวิธี อาทิเช่น การใช้ความร้อน ความเย็น รมควัน และฉายรังสี ฯลฯ ประเทศไทยได้ประสบความสำเร็จในการวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน โดยใช้วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified, Vapor Heat Treatment, MVHT) เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* species complex และ *B. cucurbitae* ในมะม่วง 7 พันธุ์ (หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด พิมเสนแดง มหาชนก เขียวเสวย และโชคอนันต์) มังคุด ส้มโอพันธุ์ทองดี และส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง ได้อย่างมีประสิทธิภาพตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ (รัชฎาและคณะ, 2553; Intarakumheng *et al*., 2016; Lapasathukool *et al*., 2002; Unahawutti *et al*., 1991, 1999, 2006; Sonsiri *et al*., 2019).

วิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์นอกจากมีประสิทธิภาพกำจัดแมลงวันผลไม้แล้ว ยังไม่ก่อให้เกิดพิษตกค้างภายในผลไม้ ซึ่งมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค จึงผ่านการยอมรับอย่างกว้างขวางจากประเทศผู้นำเข้า ในปัจจุบันประเทศไทยมีการสร้างโรงงานกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อนระดับการค้าอย่างแพร่หลาย โดยใช้วิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์อบผลมะม่วง มังคุด และส้มโอ เพื่อการส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น เกาหลี และนิวซีแลนด์ (มลนิภา, 2562). จากผลงานวิจัยของ มลนิภา และคณะ (2555, 2556, 2558, 2564) ได้ศึกษายืนยันประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะละกอ พบว่าที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที สามารถกำจัดหนอนแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* วัยที่ 1 จำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ในผลมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ให้ตายทั้งหมด ซึ่งได้ตามมาตรฐานตามวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Srimartpirom *et al*., 2023)

จากผลงานวิจัยดังกล่าวสามารถนำไปต่อยอดและประยุกต์ใช้ในการอบไอน้ำมะละกอพันธุ์อื่น ๆ ที่มีศักยภาพสูงในการส่งออก ได้แก่ มะละกอพันธุ์แขกนวล ที่ยังคงเป็นที่ยอมรับของชาวต่างชาติ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเทคโนโลยีกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในมะละกอพันธุ์แขกนวล ที่มีประสิทธิภาพตรงตามมาตรฐานด้าน

กักกันพืช โดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ เพื่อใช้ในการเจรจาเปิดตลาดส่งออกผลไม้สดไปยังประเทศที่เข้มงวดด้านกักกันพืชได้มากขึ้น

## วิธีดำเนินการ

**อุปกรณ์**

1. มะละกอพันธุ์แขกนวล
2. ตู้อบไอน้ำกำจัดแมลงขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง 2 เครื่อง
3. ตู้ลดอุณหภูมิผลไม้
4. ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ 2 ห้อง
5. เครื่องอ่างน้ำร้อน
6. เครื่องวัดค่าความหวานของผลไม้
7. ห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก
8. ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก 4 ตู้
9. ห้องเย็นสำหรับเก็บผลไม้ที่ใช้ในการทดลอง
10. เครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์แบบต่อเนื่อง
11. แท่งวัดอุณหภูมิขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง
12. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่งสำหรับงานทดลอง
13. อุปกรณ์สำหรับตรวจสอบผลการทดลอง ได้แก่ พู่กัน ปากคีบ เคาท์เตอร์ จานทดลองขนาดเล็ก ถาดใส่ผลไม้ ถุงผ้าตาข่าย ถุงมือ มีดปอกผลไม้ ถุงขยะดำ และอื่นๆ

**วิธีการ**

**1. ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของมะละกอพันธุ์แขกนวลเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานทดลอง**

โดยการสืบค้นข้อมูลชีววิทยา พื้นที่ปลูก และลักษณะประจำพันธุ์ของมะละกอจากแหล่งข้อมูลอ้างอิงภายในประเทศ อาทิเช่น กรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร และสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร เป็นต้น และภายนอกประเทศ อาทิเช่น เว็บไซต์ และวารสารนานาชาติที่เกี่ยวข้อง เป็นต้น

สำรวจสวนและคัดเลือกมะละกอที่ได้คุณภาพตามมาตรฐานส่งออก จากแหล่งปลูกมะละกอที่สำคัญ จากนั้นนำมะละกอกลับมายังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เก็บมะละกอไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้น เพื่อนำมาใช้ในงานทดลองขั้นตอนศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อน และขั้นตอนศึกษาด้านการกำจัดแมลงด้วยความร้อนต่อไป

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

บันทึกข้อมูลชีววิทยา ลักษณะประจำพันธุ์ และพื้นที่ปลูกของมะละกอพันธุ์แขกนวลเพื่อใช้ในการทดลอง

**2. ศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนและคุณภาพของผลมะละกอพันธุ์แขกนวลจากวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์**

ดำเนินการโดยอบมะละกอพันธุ์แขกนวลด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ซึ่งเป็นกรรมวิธีที่ให้ความร้อนกับผลมะละกอ อาศัยวิธีการอบไอน้ำ ร่วมกับวิธีการอบอากาศร้อน โดยช่วงแรกจะให้ความร้อนกับผลมะละกอด้วยวิธีอบอากาศร้อน อากาศร้อนที่หมุนเวียนผ่านผลมะละกอจะมีความชื้นสัมพัทธ์ 50-80 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิในผลมะละกอเพิ่มขึ้นถึง 43 องศาเซลเซียสแล้วจึงปรับเปลี่ยนเป็นวิธีการอบไอน้ำ อากาศร้อนจะอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ โดยมีความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงจาก อุดร และคณะ, 2549; Unahawutti *et al*., 2006) สำหรับการวัดอุณหภูมิผลมะละกอทดลองอาศัยการวัดจาก sensor fruit จำนวน 3 ผล อบมะละกอโดยให้อุณหภูมิภายในสุดผลอยู่ที่ 46 และ 47 องศาเซลเซียส และคงอุณหภูมิ นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ หลังจากอบมะละกอครบตามอุณหภูมิ และระยะเวลาที่กำหนดไว้นำมะละกอ ที่ผ่านความร้อนออกจากตู้อบไอน้ำ มาลดอุณหภูมิผลมะละกอทันทีโดยการเป่าด้วยพัดลม นาน 1 ชั่วโมง จากเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ หลังจากเสร็จสิ้นการให้ความร้อน นำมะละกอที่ผ่านความร้อนห่อผลด้วยตาข่ายโฟม และบรรจุลงในกล่องกระดาษลูกฟูกขนาด 28x58x14 เซนติเมตร จากนั้นเก็บมะละกอทดลองตามรายละเอียดใน (มลนิภา และคณะ 2555) แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 85-95 เปอร์เซ็นต์ บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของมะละกอหลังผ่านความร้อนแล้วเปรียบเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน โดยใช้หลักเกณฑ์พิจารณาและดำเนินการในหัวข้อต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. บันทึกภาพมะละกอก่อนและหลังทดลองในแต่ละกรรมวิธีเปรียบเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน

2. การสูญเสียน้ำหนัก (weight loss) ของผลมะละกอ โดยคำนวณเป็นร้อยละของน้ำหนักที่สูญเสียไปด้วยวิธีการบันทึกน้ำหนักมะละกอก่อนและหลังการทดลอง

3. ปริมาณน้ำตาล (brix value) ในการทดลองแต่ละครั้งคั้นน้ำจากเนื้อมะละกอที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล ปริมาณน้ำตาลในรูปปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) มีหน่วยเป็นค่าองศาบริกซ์ การวัดปริมาณน้ำตาลจากเนื้อมะละกอใช้เครื่อง digital refractometer

4. ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของสีเปลือก น้ำหนักที่สูญหาย และความหวาน หลังการอบไอน้ำ 7 วัน วิเคราะห์ผลทางสถิติ และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้วิธีการตรวจสอบแบบ t-test

**3. การเลี้ยงแมลงวันผลไม้จำนวนมากด้วยอาหารเทียมเพื่อเพิ่มปริมาณและเพื่อใช้ในการทดลอง**

แมลงวันผลไม้ที่ใช้ในทดลอง ได้มาจากแมลงวันผลไม้ที่เข้าทำลายผลมะม่วงในพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา โดยทำการรวบรวมและเลี้ยงจนเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย จากนั้นจะคัดแยก

ชนิดอย่างละเอียดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คัดแยกแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis*, *B. carambolae* และ *B. papayae* ออกจากกัน แล้วจึงนำแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยไปเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการและเพิ่มจำนวนให้มากขึ้น ใช้เทคนิคและวิธีการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ตามวิธีการของ Watanabe *et al*., (1973) และอุดร (2541) โดยใช้การเลี้ยงด้วยอาหารเทียม (artificial diet) ที่ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ ของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกอัตราการฟักของไข่ (hatching rate)
2. บันทึกอัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate)
3. น้ำหนักของดักแด้
4. อัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio)

**4. ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้เบื้องต้นในผลมะละกอพันธุ์แขกนวล**

มะละกอทดลองมีผลขนาดกลาง การเตรียมมะละกอทดลองให้มีหนอนวัย 1 ภายในผล ตามวิธีการ มลนิภาและคณะ (2555, 2558) โดยใส่หนอนวัย 1 ในผล จำนวน 100 ตัว/ผล จากนั้นนำมะละกอทดลอง ใส่ตู้อบไอน้ำ อบมะละกอด้วยวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (ช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิผลก่อนถึง 43 องศาเซลเซียส อากาศร้อนที่หมุนเวียนผ่านมะละกอจะมีความชื้นสัมพัทธ์ 50-80 เปอร์เซ็นต์เมื่ออุณหภูมิผลถึง 43 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์จะถูกปรับให้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์) อบมะละกอจนอุณหภูมิภายในสุดผลถึง 46.5, 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 10 และ 20 นาที การวัดอุณหภูมิภายในสุดผลมะละกอ วัดจากเซ็นเซอร์วัดอุณหภูมิผล จำนวน 3 ผล ซึ่งวางในถาดบรรจุผลไม้ชั้นล่างสุด เมื่อเซ็นเซอร์วัดอุณหภูมิผล จำนวน 2 ผล ถึงอุณหภูมิและเวลาดังกล่าว นำมะละกอออกจากตู้อบไอน้ำ และลดอุณหภูมิผลมะละกอทันที โดยการเป่าด้วยลมนาน 1 ชั่วโมง ในตู้ลดอุณหภูมิผลไม้ (Sanshu shower cooling system: รุ่น SHS-12) บันทึกจำนวนแมลงรอดชีวิต หลังอบมะละกอ 5 วัน โดยคำนวณอัตราการตายที่แท้จริง (corrected mortality) ตามสูตรของ Abbott (Abbott, 1925) เพื่อเปรียบเทียบอัตราการตายของหนอนวัยที่ 1

การบันทึกข้อมูล

1. ตรวจสอบค่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์จากกระดาษบันทึกอุณหภูมิและความชื้นของตู้อบไอน้ำ
2. บันทึกอัตราการตายของหนอนวัยที่ 1 (corrected mortality)

**5. ศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนมากในผลมะละกอพันธุ์แขกนวลเพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช**

5.1 ดำเนินการทดลองเพื่อยืนยันประสิทธิภาพของกระบวนการอบไอน้ำที่จะเสนอเป็นวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช ซึ่งต้องมีประสิทธิภาพสามารถกำจัดหนอนแมลงวันผลไม้วัย 1 ในผลมะละกอ

พันธุ์แขกนวล จำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว (ดัดแปลงจากวิธีการของรัชฎา และคณะ, 2549) การเตรียมมะละกอให้มีแมลงสำหรับงานทดลองมี 2 วิธีการคือ:

1) Artificial Inoculation ใส่หนอนวัย 1 ในผลมะละกอ จำนวน 100 ตัวต่อผล แบ่งเป็นมะละกอทดลอง และมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน ทิ้งให้หนอนวัย 1 กินอยู่ในผลมะละกอเป็นเวลาไม่ต่ำกว่า 1 ชั่วโมงก่อนนำไปทดลองอบไอน้ำ

2) Forced Infestation เตรียมกรงแมลง (35.0 x 50.0 x 30.0 เซนติเมตร) ที่มีแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยที่สมบูรณ์พร้อมวางไข่ประมาณ 2,000 ตัว จำนวน 8 กรง ห่อมะละกอด้วยถุงพลาสติกให้แนบสนิทกับผิวมะละกอติดด้วยเทปกาวให้แน่น เจาะรูจำนวน 5 รู ลงบนด้านใดด้านหนึ่งของผลมะละกอด้วยเข็มปักแมลง ดังนั้นแมลงวันผลไม้จะถูกบังคับให้วางไข่ได้เฉพาะบริเวณรูที่เจาะไว้เท่านั้น ใส่มะละกอ จำนวน 10 ผล ต่อกรง โดยให้บริเวณที่เจาะรูอยู่ด้านบน ทิ้งให้แมลงวันวางไข่เป็นเวลา 30 นาที แบ่งเป็น Treatment และ Control เก็บมะละกอไว้ในห้องเก็บผลไม้อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จึงนำไปทำการทดลอง หลังจากนั้นนำมะละกอที่ได้ไปอบไอน้ำที่อุณหภูมิ ความชื้นและระยะเวลาตามที่ได้จากการทดลองในขั้นตอนที่ 4 ในสภาพที่ภายในห้องอบไอน้ำมีมะละกอในปริมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ (Half load) และ 100 เปอร์เซ็นต์ (Full load) ภายหลังอบไอน้ำลดอุณหภูมิด้วยการเป่าด้วยลม เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นเก็บมะละกอในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส ตรวจนับจำนวนหนอนที่รอดชีวิตในผลมะละกอภายหลังอบไอน้ำ 5 วัน

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. ตรวจสอบค่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์จากกระดาษบันทึกอุณหภูมิและความชื้นของตู้อบไอน้ำ

2. บันทึกอัตราการตายของหนอนวัยที่ 1 (corrected mortality)

<u>สถานที่ทำการทดลอง</u>

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5.2 ผลของวิธีการอบไอน้ำที่จะเสนอเป็นวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชต่อคุณภาพผลมะละกอพันธุ์แขกนวลในสภาพจำลองการส่งออกมะม่วงทางเครื่องบินและทางเรือ การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่อมะละกอในสภาพจำลองการส่งออกทางเครื่องบินและทางเรือ แยกเป็นมะละกอที่ผ่านความร้อน (treatment) และมะละกอที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน นำมะละกอทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน วางมะละกอที่ผ่านความร้อนไว้ในกระบะชั้นล่างสุดใส่ในภาชนะบรรจุผลไม้แบบกระบะพลาสติกแข็งทนความร้อน ขนาด 36x70x15 เซนติเมตร จำนวน 3 กระบะ ในแต่ละกระบะมีมะละกอทดลอง แยกเป็นมะละกอที่ผ่านความร้อน (treatment) ทางเครื่องบินและทางเรือ และใส่มะละกอที่ไม่ใช้ในการทดลอง (filler fruit) เฉลี่ยจำนวนเท่าๆ กัน ให้เต็มความจุของกระบะ ในกระบะบรรจุผลไม้อีก 9 กระบะ และนำไปวางซ้อนลงบนกระบะบรรจุมะละกอทดลอง ในสภาพที่ห้องบรรจุผลไม้ของเครื่องตู้อบความร้อนมี

ปริมาณมะละกอ 100 เปอร์เซ็นต์ ของความจุตู้ เพื่อประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิระยะเวลาและความชื้นตามการทดลองขั้นตอนที่ 4 เมื่อสิ้นสุดการให้ความร้อนลดอุณหภูมิมะละกอภายในตู้อบความร้อน โดยวิธีเป่าลมนาน 1 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน นำมะละกอทดลองทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน บรรจุใส่ในกล่องกระดาษ ด้านยาวทั้งสองข้างเจาะรู พร้อมทั้งปิดด้วยผ้าตาข่าย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน 1.6 มิลลิเมตร จำนวน 4 รู เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่ 10-13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 85-95 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลานาน 7 และ14 วัน เพื่อจำลองสภาพการส่งออกมะละกอทางเครื่องบินและทางเรือ เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดนำมะละกอทั้งหมดที่ผ่านความร้อน และไม่ผ่านความร้อนมาประเมินความเสียหายจากความร้อน โดยใช้หลักเกณฑ์การพิจารณา ดังต่อไปนี้

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. สีผิว (skin color)
2. การสูญเสียน้ำหนัก (weight loss)
3. ปริมาณค่าของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Total solutions solid)

วิเคราะห์ผลทางสถิติ และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้วิธีการตรวจสอบแบบ t-test

**เวลาและสถานที่**

เวลา ระยะเวลาดำเนินงาน 3 ปี (ตุลาคม 2564 ถึง กันยายน 2567)

สถานที่ สถานที่ทำการทดลอง 1) สวนมะละกอพันธุ์แขกนวลที่ได้คุณภาพมาตรฐาน ได้แก่ นครปฐม นครราชสีมา จันทบุรี กำแพงเพชร ศรีสะเกษ และกาฬสินธุ์ ฯลฯ 2.) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของมะละกอพันธุ์แขกนวลเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานทดลอง**

จากการสืบค้นข้อมูลชีววิทยา ลักษณะประจำพันธุ์ และพื้นที่ปลูก ของมะละกอพันธุ์แขกนวล พบว่ามะละกอมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Carica papaya* L. วงศ์ Caricaceae ในปัจจุบันเกษตรกรนิยมปลูกมะละกอพันธุ์แขกนวล กันมากเนื่องจากมีตลาดต่างประเทศรองรับ มะละกอพันธุ์แขกนวล เป็นมะละกอสายพันธุ์ผลดิบ และทนทานต่อโรค มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้น สามารถปลูกได้ในสภาพหลายพื้นที่ โดยเฉพาะจังหวัดนครปฐม นครราชสีมา จันทบุรี กำแพงเพชร ศรีสะเกษ และกาฬสินธุ์ ฯลฯ มะละกอพันธุ์นี้เป็นที่ต้องการของผู้บริโภคชาวยุโรป มีจุดเด่นที่มีผลเนื้อแน่น และกรอบ เหมาะสำหรับนำไปทำส้มตำ **(Figure 1).**

**2. ศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนและคุณภาพของผลมะละกอพันธุ์แขกนวลจากวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์**

ระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะละกอเพิ่มอุณหภูมิผลขึ้นถึง 46 และ 47 องศาเซลเซียส ใช้เวลานาน เฉลี่ย 2:41 และ 2:90 ชั่วโมง ตามลำดับ **(Table 1)** จากผลการทดลองพบว่ามะละกอผ่านความร้อนเป็นระยะเวลานานขึ้นมีแนวโน้มการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ดี มะละกอผ่านความร้อนมีการสูญเสียน้ำหนักที่ใกล้เคียงกันกับมะละกอไม่ผ่านความร้อนถึงแม้ว่าจะผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 46 และ 47 องศาเซลเซียส เมื่อพิจารณาจากคุณภาพมะละกอหลังผ่านความร้อน จากผลการทดลองไม่พบอาการเสียหายจากความร้อนในผลมะละกอ โดยที่การเปลี่ยนแปลงของสีผิวที่ผลจากสีเขียวเป็นสีเหลือง การสูญเสียน้ำหนัก และปริมาณน้ำตาล ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน **(Table 2)** แสดงให้เห็นว่ามะละกอที่ผ่านความร้อนทุกอุณหภูมิ ทุกระยะเวลากำหนด และเก็บมะละกอหลังผ่านความร้อนไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส สามารถลดความเสียหายของมะละกอจากความร้อนได้อย่างมีประสิทธิภาพ ข้อมูลจากผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ มลนิภา และคณะ (2555) ทำให้ได้ทราบความเสียหายจากความร้อนต่อคุณภาพของมะละกอพันธุ์แขกนวลเพื่อใช้ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงเบื้องต้น โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพผลมะละกอพันธุ์แขกนวลต่อไป

**3. การเลี้ยงแมลงวันผลไม้จำนวนมากด้วยอาหารเทียมเพื่อเพิ่มปริมาณและเพื่อใช้ในการทดลอง**

จากการเลี้ยงและขยายพันธุ์แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ให้มีจำนวนมากด้วยอาหารเทียม (artificial diet) ในห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ควบคุมอุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 65-70 เปอร์เซ็นต์ ของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร โดยในการเลี้ยงแมลงแต่ละรุ่นมีการตรวจสอบอัตราการฟักไข่ (hatching rate) อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate) น้ำหนักของดักแด้ (pupa weight) และอัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio) เพื่อควบคุมคุณภาพของแมลงวันผลไม้ จากการเลี้ยงขยายพันธุ์แมลงพบว่าแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* มีความแข็งแรงตามมาตรฐานงานทดลองและสามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณได้มากกว่า 50,000 ตัว ซึ่งเพียงพอเพื่อใช้สำหรับงานทดลอง

**4. ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้เบื้องต้นในผลมะละกอพันธุ์แขกนวล**

**Table 3** แสดงระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะละกอให้อุณหภูมิผลคงอยู่ที่ 46.5, 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 10 และ 20 นาที ในการทดลองอบมะละกอจำนวน 4 ครั้ง โดยการอบมะละกอที่อุณหภูมิ 46.5 องศาเซลเซียส ใช้เวลานาน 2:46, 3:04, 2:46, 2:31 ชั่วโมง, ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที ใช้เวลานาน 3:01, 3:35, 3:01, 2:42 ชั่วโมง, ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ใช้เวลานาน 3:11, 3:45, 3:11, 2:52 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ใช้เวลานาน 3:21, 3:55, 3:21, 3:02 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยในช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิผลถึง 43 องศาเซลเซียส ซึ่งแมลงอยู่ภายใต้สภาพอากาศร้อนความชื้นสัมพัทธ์ 50 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลานานเฉลี่ย 1:90 ชั่วโมง ขณะที่ในช่วงเพิ่มอุณหภูมิจาก 43 ถึง 47 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์สูงมากกว่า 90

เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลานานเฉลี่ย 0:98 ชั่วโมง **(Table 4)** ผลการทดลองจำนวน 4 ครั้ง แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิผลมะละกอถึงอุณหภูมิที่กำหนดใช้เวลาใกล้เคียงกันมาก

อัตราการตายของหนอนวัยที่ 1 ในมะละกอที่อุณหภูมิ 46.5, 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 10 และ 20 นาที เฉลี่ย 92.36, 99.87, 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงใน **Table 5** ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศร้อนในช่วงเพิ่มอุณหภูมิผลมะละกอถึง 43 องศาเซลเซียส มีผลกระทบต่อการตายของแมลงโดยตรง ถ้าความชื้นสัมพัทธ์ในช่วงดังกล่าวนี้เพิ่มสูงขึ้น อัตราการตายของแมลงจะเพิ่มขึ้น (มลนิภา และคณะ, 2558) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของอุดร และคณะ (2549) การอบมะละกอภายใต้ความชื้นสัมพัทธ์ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับความชื้นสัมพัทธ์ต่ำสุดที่มีผลกระทบต่อคุณภาพของมะละกอค่อนข้างน้อย แต่เป็นสภาพที่เอื้ออำนวยต่อการรอดชีวิตของแมลง ผลการทดลองพบว่าอุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที มีประสิทธิภาพกำจัดหนอนวันที่ 1 ในมะละกอพันธุ์แขกนวล จำนวนไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ให้ตายทั้งหมด ตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกัน **(Figure 2-5).**

**5. ศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนมากในผลมะละกอพันธุ์แขกนวลเพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช**

ระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะละกอให้อุณหภูมิภายในสุดผลคงอยู่ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 20 นาที ดังแสดงใน **Table 6** การอบมะละกอในสภาพที่ภายในห้องอบไอน้ำมีมะละกอในปริมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ (Half load) ของความจุตู้ **(Figure 6)** คิดเป็นน้ำหนักมะละกอทั้งหมด ประมาณ 48 กก./ลบ.ม. ระยะเวลาที่ใช้ในการเพิ่มอุณหภูมิผลถึง 47 องศาเซลเซียส เฉลี่ย 2:94 ชั่วโมง โดยในช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิถึง 43 องศาเซลเซียส ใช้เวลานาน เฉลี่ย 1:92 ชั่วโมง และช่วงหลังจากอุณหภูมิ 43 ถึง 47 องศาเซลเซียส ใช้เวลานาน เฉลี่ย 0:56 ชั่วโมง ดังแสดงใน **Table 6** การอบมะละกอในสภาพที่ภายในห้องอบไอน้ำมีมะละกอในปริมาณ 100 เปอร์เซ็นต์ (Full load) ของความจุตู้ **(Figure 7)** คิดเป็นน้ำหนักมะละกอทั้งหมด ประมาณ 98 กก./ลบ.ม. ระยะเวลาที่ใช้ในการเพิ่มอุณหภูมิผลถึง 47 องศาเซลเซียส เฉลี่ย 3:70 ชั่วโมง โดยในช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิถึง 43 องศาเซลเซียส ใช้เวลานาน เฉลี่ย 2:53 ชั่วโมง และช่วงหลังจากอุณหภูมิ 43 ถึง 47 องศาเซลเซียส ใช้เวลานาน เฉลี่ย 0:83 ชั่วโมง ดังแสดงใน **Table 7**

ศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* จำนวนมากในผลมะละกอ เพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช ที่อุณหภูมิภายในสุดผลคงอยู่ที่ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที สามารถกำจัดหนอนวัยที่ 1 ในผลมะละกอพันธุ์แขกนวล จำนวนประมาณ 34,802 ตัว ตายทั้งหมด **Table 8** ตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกัน และการประเมินความเสียหายของผลมะละกอที่ผ่านความร้อนด้วยกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ไม่แตกต่างกันจากมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อนภายใต้สภาพจำลองการส่งออกทางเครื่องบินและทางเรือ

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

**1. ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของมะละกอพันธุ์แขกนวลเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานทดลอง**

มะละกอมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Carica papaya* L. วงศ์ Caricaceae มะละกอพันธุ์แขกนวลเป็นมะละกอสายพันธุ์ผลดิบ และทนทานต่อโรค มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้น สามารถปลูกได้ในสภาพหลายพื้นที่ โดยเฉพาะจังหวัดนครปฐม นครราชสีมา จันทบุรี กำแพงเพชร ศรีสะเกษ และกาฬสินธุ์ ฯลฯ

**2. ศึกษาด้านความเสียหายจากความร้อนและคุณภาพของผลมะละกอพันธุ์แขกนวลจากวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์**

ได้ทดลองอบมะละกอด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ โดยคงอุณหภูมิผลมะละกอที่ 46 และ 47 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานานแตกต่างกัน เพื่อกำหนดอุณหภูมิและระยะเวลาซึ่งไม่ทำให้มะละกอเกิดความเสียหายจากความร้อน ผลการทดลองพบว่ามะละกอสามารถทนทานต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 46 และ 47 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 2:41 และ 2:90 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยคุณภาพไม่แตกต่างจากมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อน

**3. การเลี้ยงแมลงวันผลไม้จำนวนมากด้วยอาหารเทียมเพื่อเพิ่มปริมาณและเพื่อใช้ในการทดลอง**

การเลี้ยงและขยายพันธุ์แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ให้มีจำนวนมากด้วยอาหารเทียม (artificial diet) ในห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ควบคุมอุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 65-70 เปอร์เซ็นต์ โดยมีการควบคุมคุณภาพของแมลงวันผลไม้ พบว่าแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* มีความแข็งแรงตามมาตรฐานงานทดลอง และสามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณได้มากกว่า 50,000 ตัว

**4. ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้เบื้องต้นในผลมะละกอพันธุ์แขกนวล**

ได้ศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัยที่ 1 ในผลมะละกอด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ พบว่าที่อุณหภูมิผล 47 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที สามารถกำจัดหนอนวัยที่ 1 ในผลมะละกอ จำนวนไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ให้ตายทั้งหมด กระบวนการกำจัดแมลงดังกล่าวนี้มีความเป็นไปได้สูงที่จะได้รับการยอมรับเป็นวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช เพื่อกำจัดไข่และหนอนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะละกอก่อนส่งออก

**5. ศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนมากในผลมะละกอพันธุ์แขกนวลเพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช**

การประเมินประสิทธิภาพการกำจัดแมลงของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิผล 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัยที่ 1 ในผลมะละกอ และความเสียหายต่อคุณภาพของผลมะละกอ พบว่า สามารถกำจัดหนอนวัยที่ 1 จำนวนปนะมาณ 34,802 ตัว ตายทั้งหมด โดยคุณภาพของผลมะละกอที่ผ่านความร้อนไม่แตกต่างจากมะละกอที่ไม่ผ่านความร้อนภายใต้สภาพจำลองการส่งออกทางเครื่องบินและทางเรือ

**คำขอบคุณ**

งานวิจัยนี้จะสำเร็จลุล่วงด้วยดีไม่ได้ หากขาดความช่วยเหลือจากบุคลากรของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช ในการเตรียมอุปกรณ์ รวมถึงการเช็คผลการทดลอง คณะผู้วิจัยขอขอบคุณบุคลากรของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช มา ณ ที่นี้

**เอกสารอ้างอิง**

จริงแท้ ศิริพานิช. 2552. มะละกอไทย สถานภาพด้านสายพันธุ์ ระบบการผลิต และการตลาด. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. กรุงเทพฯ. 136 หน้า.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชัยณรัตน์ สนศิริ สลักจิต พานคำ รัชฎา อินทรกำแหง และอุดร อุณหวุฒิ. 2555. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อนในผลมะละกอเพื่อการส่งออก. เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาศัตรูพืชหมดปัญหาเมื่ออารักขาถูกวิธี. 7-9 สิงหาคม 2555.ณ โรงแรมเฟลิกซ์ ริเวอร์แควรีสอร์ท จ. กาญจนบุรี. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร: กรุงเทพฯ.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชัยณรัตน์ สนศิริ สลักจิต พานคำ รัชฎา อินทรกำแหง และอุดร อุณหวุฒิ. 2556. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อนในผลมะละกอเพื่อการส่งออก. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : https://www.doa.go.th/research/showthread.php?tid=1272&pid=1290#pid1290 (31 มีนาคม 2568).

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ วลัยกร รัตนเดชากุล สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ ชุติมา อ้อมกิ่ง และอุดร อุณหวุฒิ. 2558. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อนในผลมะละกอเพื่อการส่งออก. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล :https://www.doa.go.th/plan/wp-content/uploads/2021/04/2185.4 (31 มีนาคม 2568).

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2562. การป้องกันกำจัดแมลงในผลมะม่วงเพื่อการส่งออกด้วยวิธีการอบไอน้ำและฉายรังสี. โครงการจัดการถ่ายทอดความรู้การผลิตมะม่วงเพื่อการส่งออก 15 ก.พ. 2562 ณ สหกรณ์ชมรมชาวสวนมะม่วง อำเภอพนมสารคาม จังหวัดฉะเชิงเทรา.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ ปวีณา บูชาเทียน พุฒิพงษ์ เพ็งฤกษ์ พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์ ศิริพร คงทวี. 2564. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะละกอเพื่อการส่งออก. รายงานประจำปี 2564 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

รัชฎา อินทรกำแหง สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชุติมา อ้อมกิ่ง จารุวรรณ จันทรา และอุดร อุณหวุฒิ. 2553. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในมะม่วงพันธุ์มหาชนก โชคอนันต์ และเขียวเสวยเพื่อการส่งออก. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล :http://www.doa.go.th/research/attachment.php?aid=781 (25 กรกฎาคม 2567).

ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ, สถาบันวิจัยพืชสวน. ม.ป.ป. มะละกอพันธุ์แขกดำศรีสะเกษ. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : https://www.doa.go.th/hort/?page_id=54073 (31 มีนาคม 2568).

อุดร อุณหวุฒิ, สลักจิต พานคำ, ชัยณรัตน์ สนศิริ, มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์, ชุติมา อ้อมกิ่ง, จารุวรรณ จันทรา และรัชฎา อินทรกำแหง. 2549. การวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในส้มโอเพื่อส่งออก. ผลงานวิจัยเพื่อพัฒนาเป็นผลงานวิจัยดีเด่น ประจำปี 2549 กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.หน้า 125-143.

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.

CAB International (CABI). 2015. Invasive Species Compendium *Bactrocera dorsalis*. Available. http://www.cabi.org /isc/datasheet/17685. (February 14, 2025).

Intarakumheng Rachada, Saluckjit Phankum, Chainarat Sonsiri, Monipa Srimartpirom, Chutima Ormking and Udorn Unahawutti. 2013. Evalution of modified vapor heat treatment as quarantine treatment for Khiaosawoey and Chokanan mangoes infested with oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae). A report Submitted to The Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF) for market access of Khiaosawoey and Chokanan mangoes from Japan to Thailand October 2013. 139p.

Lapasathukool, C., S. Phankum, U. Unahawutti and S. Charnnarongkul. 2002. Heat tolerance of immature stages of 4 tephritid fruit fly species in Thailand. An additional report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries ( MAFF) for approval of a quarantine treatment on Thai mangosteen to be exported to Japan. Plant Quarant. Sub-Div., Agr. Regulat. Div., Dept. of Agri., Bangkok. 39 p.

Songpol, S. 2011. Current study of papaya production in Thailand. 70 Pages. *In* : The International Symposium on Papaya. Dec. 19-22, 2011. Chiangmai.

Sonsiri, C., M. Srimartpirom, C. Ormking, S. Phankum, W. Rattandechakul, P. Phangrerk, P. Jinalite and P. Buchatian. 2019. Evaluation of modified vapor heat treatment as quarantine treatment for “ Khao Nam Phueng” pummelo Infested with oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries ( MAFF) for approval of a quarantine treatment on Thai mangoes to be exported to Japan, Plant Quarantine Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Bangkok. 70 p.

Srimartpirom, M., C. Rakkrai, S. Phankum, R. Intarakamhang, C. Sonsiri, P. Buchatian, P. Phanglerk, P. Jinnalite, S. Khongthawie, U. Unahawutti, P. A. Follett. 2023. Vapor heat treatment for quarantine control of the oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) in papaya fruit from Thailand. Journal of Asia-Pacific Entomology, 26 (2).

Thaipong, K., S. Srimart, K. Iamjud, P. Sangwanankul and S. Wasee. 2011. Collection evaluation and selections of papaya varieties in Thailand. 70 Pages. *In* : The International Symposium on Papaya. Dec. 19-22, 2011. Chiangmai.

Unahawutti, U. , M. Poomthong, R. Intarakumheng, W. Worawisitthumrong, C. Lapasathukool, E. Smitasiri, P. Srisook and C. Ratanawaraha. 1991. Vapor heat as plant quarantine treatment of 'Nang Klarngwan', 'Nam Dorkmai', 'Rad' and 'Pimsen Daeng' mangoes infested with fruit flies (Diptera: Tephritidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on Thai mangoes to be exported to Japan. Tech. Plant Quarant. Sub-Div., Agr. Regulat. Div., Dept. of Agr., Bangkok. 342 p.

Unahawutti, U., S. Phankum, P. Ongthonglang and C. Chettanachitara. 1999. Heated-air quarantine treatment for mangosteen infested with oriental fruit fly (Diptera: Tephitidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on Thai mangosteen to be exported to Japan. Tech. Plant Quarant. Sub-Div., Agr. Regulat. Div., Dept. of Agri., Bangkok. 630 p.

Unahawutti, U., S. Phankum, M. Srimartpirom, C. Ormking, C. Sonsiri, J. Chantra and R. Intarakumheng. 2006. Heated-air quarantine treatment for pummelo infested with fruit flies (Diptera: Tephitidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on Thai pummelo to be exported to Japan. Tech. Plant Quarant. Sub-Div., Agr. Regulat. Div., Dept. of Agri., Bangkok. 143 p.

Vargas, R.I., Pinero and L. Leblanc. 2015. An overview of pest species of *Bactrocera fruit flies* (Diptera: Tephritidae) and the integration of biopesticides with other biological approach for their management with a focus on the pacific region. Journal of Insects 6: 297-318. doi: 10.3390/insects6020297

Watanabe, N., F. Ichinohe and M. Sonda. 1973. Improvement of corn flour medium for larval culture of oriental fruit fly. Res. Bull. Plant Prot. Japan. 11: 57-58.

White, I. M. and M. M. Elson-Harris. 1992. Fruit flies of economic significance: Their identification and bionomics. CAB International, Wallingford, UK. 601 p.

**Table 1** Time for center of "Khak Nuan" papaya to attain 46 and 47°C for various holding times during modified vapor heat treatment in preliminary fruit injury test

| Fruit temp (°C). | Rep | Sensor fruit weight (g) | Loading (kg./cum.) | Time for fruit center to reach 46°C | Time for fruit center to reach 47°C |
|---|---|---|---|---|---|
| 46°C | 1 | 1,055.12 | 15 | 2:38 | |
| | | 1060.00 | | | |
| | | 1,062.20 | | | |
| | 2 | 1,058.00 | 15 | 2:45 | |
| | | 1060.62 | | | |
| | | 1,063.00 | | | |
| 47°C | 1 | 1,055.00 | 15 | | 2:80 |
| | | 1,057.14 | | | |
| | | 1,060.00 | | | |
| | 2 | 1,058.37 | 15 | | 3:00 |
| | | 1,060.21 | | | |
| | | 1,062.00 | | | |

[1] Time for center of 3 sensor fruits to attain target temperatures.

**Table 2** Quality of "Khak Nuan" papaya treated with modified vapor heat treatment 65-80% RH at 46 and 47°C center temperature under preliminary fruit injury test and 7 days storage at 10 °C

| Fruit temp (°C). | Item[1] | |
|---|---|---|
| | Weight losss (%)[2] | Total soluble solid (°Brix)[2] |
| Control | 6.47 ± 0.25 a | 12.00 ± 0.21 a |
| 46°C | 6.70 ± 1.20 a | 11.74 ± 0.32 a |
| 47°C | 6.85 ± 1.23 a | 11.80 ± 0.20 a |

significantly different. (P-value ≤0.05).

[3]Means in column followed by the same letters were not statistically.

[1]Combined data of 2 replications.

[2] Values were averaged from 10 fruits for control; 6 fruits for each treatment.

**Table 3** Time for center of "Khak Nuan" papaya to attain target temperature for Various holding times during modified vapor heat treatment in preliminary disinfestation test

| Rep | Load factor (kg/cum) | Sensor fruit weight (g) | | | Temperature Time (min.)[1/] | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 46.5 ° C | 47.0 ° C | 47.0 ° C+10 m. | 47.0 ° C+20 m. |
| 1 | 15 | 1,068.96 | 1,073.72 | 1,079.78 | 2:46 | 3:01 | 3:11 | 3:21 |
| 2 | 15 | 1,075.51 | 1,080.38 | 1,085.46 | 3:04 | 3:35 | 3:45 | 3:55 |
| 3 | 15 | 1,070.20 | 1,075.15 | 1,078.83 | 2:46 | 3:01 | 3:11 | 3:21 |
| 4 | 15 | 1,063.15 | 1,068.24 | 1,072.00 | 2:31 | 2:42 | 2:52 | 3:02 |

[1]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

**Table 4** Time for center of "Khak Nuan" papaya to attain 43.0 and 47.0 °C during modified vapor heat treatment in preliminary disinfestation test

| Rep | Time for fruit center to reach 43.0 °C (h)[1/] | Time for fruit center to reach 47.0 °C (h)[1/] | Time form 43.0 to 47.0 °C (h)[1/] |
|---|---|---|---|
| 1 | 2:01 | 3:01 | 1:00 |
| 2 | 2:10 | 3:35 | 1:25 |
| 3 | 1:49 | 2:42 | 0:53 |
| 4 | 2:03 | 2:16 | 1:16 |
| **Average** | **1:90** | **2:73** | **0:98** |

[1]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature

**Table 5** Mortality of first instar larvae of *Bactrocera dorsalis* on "Khak Nuan" papaya treated by modified vapor heat treatment with different final temperatures and hold times

| Treatment[1] | Number treated | Number dead | Mortality[2] (%) |
|---|---|---|---|
| Control | 3,000 | 587 | 0.00 |
| 46.5 °C | 1,500 | 1,450 | 92.36 |
| 47 °C + 0:0 min | 1,500 | 1,499 | 99.87 |
| 47 °C + 0:10 min. | 1,500 | 1,500 | 100.00 |
| 47 °C + 0:20 min. | 1,500 | 1,500 | 100.00 |

[1]Each VHT replicate consisted of three fruits, each infested with 100 individuals/fruit and each control replicate consisted of three fruits, each infested with 100 individuals/fruit.

[2] Corrected mortality using Abbott Formula totaling 1,500 individuals in each VHT treatment and total of 3,000 individuals in the controls.

**Table 6** Time for center of "Khak Nuan" papaya to attain 47.0 °C for 20 minutes during modified vapor heat treatment during large scale disinfestation test

| Rep | Sensor fruit weight (g) | | | Time (h.)[1] |
|---|---|---|---|---|
| Half load: 48 kgs/cum. | | | | |
| 1 | 1,317.00 | 1,320.45 | 1,325.00 | 3:45 |
| 2 | 1,250.50 | 1,275.00 | 1,280.10 | 3:15 |
| 3 | 1,300.10 | 1,310.20 | 1,320.00 | 3:25 |
| Full load: 98 kgs/cum. | | | | |
| 1 | 2,250.55 | 2,283.90 | 2,425.00 | 4:07 |
| 2 | 2,292.50 | 2,367.00 | 2,763.50 | 4:06 |
| 3 | 2,159.50 | 2,554.50 | 2,717.50 | 4:35 |

[1]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

**Table 7** Time for center of "Khak Nuan" papaya to attain 43.0 and 47.0 °C during modified vapor heat treatment during large scale disinfestation test

| Rep | Time for fruit center to reach 43.0 °C (h)[1] | Time for fruit center to reach 47.0 °C (h)[1] | Time form 43.0 to 47.0 °C (h)[1] |
|---|---|---|---|
| Half load: 48 kgs/cum. | | | |
| 1 | 2:20 | 3:25 | 1:05 |
| 2 | 1:55 | 2:53 | 0:58 |
| 3 | 2:00 | 3:05 | 1:05 |
| Average | 1.92 | 2:94 | 0:56 |
| Full load: 98 kgs/cum. | | | |
| 1 | 2:32 | 3:47 | 1:15 |
| 2 | 2:38 | 3:46 | 1:08 |
| 3 | 2:49 | 4:15 | 1:26 |
| Average | 2:53 | 3:70 | 0:83 |

[1]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

**Table 8** Large scale confirmatory tests: mortality of first instar larvae of *B. dorsalis* on "Khak Nuan" papaya treated with the proposed VHT quarantine treatment schedule at 47° C for 20 min

| Rep | Infestation method | No. test fruits | | No. alive individuals in control | Estimated treated population | No. survivors |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Control | Treatment | | | |
| | | Half load: 48 Kg/cum. | | | | |
| 1 | Larval inoculation | 6 | 18 | 554 | 1,450 | 0 |
| | Forced infestation | 2 | 6 | 1,600 | 4,256 | 0 |
| 2 | Larval inoculation | 6 | 18 | 542 | 1,525 | 0 |
| | Forced infestation | 2 | 6 | 1,258 | 4,241 | 0 |
| 3 | Larval inoculation | 6 | 18 | 537 | 1,521 | 0 |
| | Forced infestation | 2 | 6 | 1,285 | 4,327 | 0 |
| | **Sub-total** | **24** | **72** | **5,776** | **15,799** | **0** |
| | | Full load: 98 Kg/cum. | | | | |
| 1 | Larval inoculation | 6 | 18 | 560 | 1,600 | 0 |
| | Forced infestation | 2 | 6 | 1,610 | 4,758 | 0 |
| 2 | Larval inoculation | 6 | 18 | 552 | 1,621 | 0 |
| | Forced infestation | 2 | 6 | 1,468 | 4,415 | 0 |
| 3 | Larval inoculation | 6 | 18 | 534 | 1,632 | 0 |
| | Forced infestation | 2 | 6 | 1,640 | 4,977 | 0 |
| | **Sub-total** | **24** | **72** | **6,364** | **19,003** | **0** |
| **Total** | | **48** | **144** | **12,140** | **34,802** | **0** |

[1]Average time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

**Figure 1** Biological and characteristics of papaya “Khak Nuan” cultivar.
(ศูนย์สิรินธรเพื่อการพัฒนาอย่างยั่งยืน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2563)

**Figure 2** The external and internal appearance of “Khak Nuan” papaya was similar between (A) control, and (B) treated fruit after heating to 47°C for 2 h, followed by storage at 10°C for 7 days

**Figure 3** First instar larvae of *Bactrocera dorsalis* were counted under the microscope prepare to inoculation in to the ripe papaya fruits before treatment

**Figure 4** Monitoring of fruit center temperature inside the VHT chamber was done by inserted sensor probe to the center of papaya fruit and test fruits were subjected to MVHT to determine preliminary disinfestation of "Khak Nuan"papaya at desired target fruit center temperatures

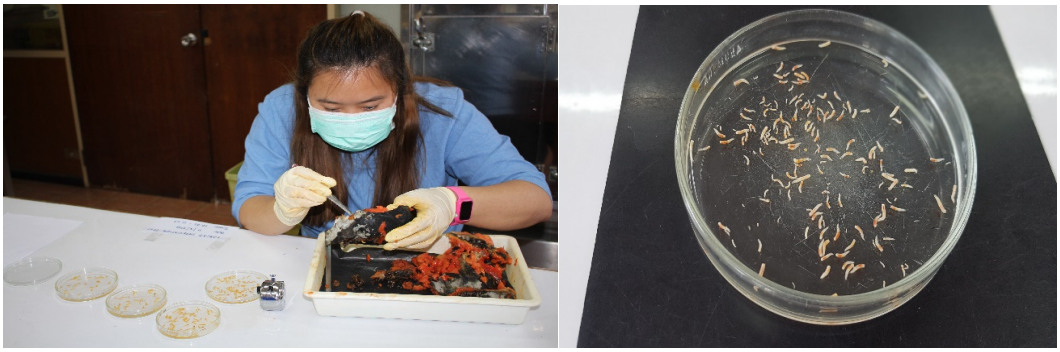


**Figure 5** Mortality rate was determined by dissecting test fruits at 5 days post treatment

**Figure 6** Three additional containers containing filler fruits were added in toTreatment chamber to make a half load condition

**Figure 7** Nine additional containers containing filler fruits were added in to Treatment chamber to make a full load condition

# วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในมะม่วงมันเดือนเก้าเพื่อการส่งออก

# Research and Development of Heated Air Quarantine Treatment for Mango (Man Duen Kaw) Variety Control Fruit Flies for Export

**ชัยณรัตน์ สนศิริ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์**
**ปวีณา บูชาเทียน ศิริพร คงทวี**
**กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

## Abstract

Currently, the vapor heat treatment schedule at 47 ° C for 0:20 minutes was accepted as a quarantine treatment to disinfest all stages of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* species complex in 7 mango cultivars; Nang Klangwan, Namdokmai, Rad, Pimsean Daeng, Mahachanok, Khiaosawoey and Chokanan form Thailand to Japan. To extend more variety of mango for Japan, the experiment was carried out to determine the heat tolerance of the first instar larvae of *B. dorsalis* (Hendel), the most tolerance stage to Modified Vapor Heat Treatment (MVHT) between Man Duen Kaw and Namdokmai mango. The comparative heat tolerance of first instar larvae was to treat infested both mango cultivars with MVHT at 45, 46, 46.5 ° C for 0:00, minutes and 47 ° C for 0:00, 0:05 and 0:10 minutes respectively. The preliminary disinfestation test was to treat infested Man Duen Kaw with MVHT at 45, 46, 46.5 ° C for 0:00, minutes and 47 ° C for 0:00, 0:05, 0:10, 0:15 and 0:20 minutes respectively. The intermediate disinfestation test, infested with Man Duen Kaw was subjected to MVHT at 47 ° C for 0:00, 0:05, 0:10, 0:15 and 0:20 minutes respectively. MVHT was done by heating infested fruits with hot air from ambient temperature to 43 ° C with 50-80 % RH (dry pre-heating period) then the fruits were gradually warmed up to 47 ° C with saturated water vapor, and subsequently maintained the fruit target temperature for the desired duration holding time.

รหัสการทดลอง FF 65-55-05-65-00-03-65

The results showed that oriental fruit fly first instar larvae infested in Man Duen Kaw mango was more tolerance to MVHT than infested in Namdokmai mango. MVHT of fruit temperature 47 ° C for 0:10 minutes was sufficient to completely kill all the oriental fruit fly first instar larvae in mango fruits. Intermediate disinfestation test, completely kill the oriental fruit fly first instar larvae in mango fruits at temperature 47 ° C for 0:10 minutes. Large scale disinfestation test, complete mortality of the first instar larvae of the oriental fruit fly on fruits was achieved, when the infested fruits were heated with hot air at 50-80 % RH from ambient. In large scale efficacy test of this treatment schedule, none of the treated 37,104 first instar larvae survived.

The thermal injury was determined in Man Duen Kaw mango. Fruits were treated with MVHT until fruit center temperature 47 and 48.5 ° C then fruits were maintained at these temperatures or greater for 0, 1 and 2 h. The thermal injury found disease infection and spongy tissue after treat at 48.5 ° C for 2 h. The commercial export simulation test was determined in Man Duen Kaw mango to assess the effect of proposed quarantine treatment schedule on fruit quality of mango under simulated condition of air and sea shipments. Fruits were treated with MVHT until fruit center temperature 47 ° C for 20 minutes. The commercial export simulation test kept under air and sea shipment simulation tests showed no difference in fruit quality from untreated fruits.

Based on the experiment results, we proposed the MVHT at 47 ° C for 0:20 minutes access as a quarantine treatment for Man Duen Kaw mango before export to Japan.

**Keywords :** *Bactrocera dorsalis*, Man Duen Kaw Mango Modified vapor heat treatment (MVHT)

**บทคัดย่อ**

มะม่วงมีปัญหาในการส่งออกเนื่องจากเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ซึ่งเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางด้านกักกันพืชหลายประเทศออกมาตรการด้านสุขอนามัยพืชห้ามนำเข้าผลไม้จากประเทศไทย ดังนั้นหากมีการศึกษาวิจัยเพื่อพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงศัตรูพืชที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้แล้วจะทำให้ประเทศไทยสามารถขยายตลาดของมะม่วงให้กว้างขวางมากยิ่งขึ้น การศึกษาวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้าเพื่อการส่งออก จากการสืบค้นข้อมูล พบว่า มะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้ามีผลขนาดใหญ่ ผลยาว 5-20 เซนติเมตร และกว้าง 4-8 เซนติเมตร ผลดิบมีรสชาดเปรี้ยว ผลแก่จัดมีรสชาดเปรี้ยวมันอมหวาน ผลสุกมีรสชาดหวาน แต่ไม่หวานจัดจะมีรสเปรี้ยวและมันผสมรวมอยู่

ด้วยกัน เป็นมะม่วงกลิ่นแรง เนื้อละเอียด น้ำหนักต่อผลประมาณ 250-500 กรัม สามารถรับประทานได้ทั้งมะม่วงดิบและมะม่วงสุก การเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์เพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้สามารถเพาะเลี้ยงแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ได้มากกว่า 50,000 ตัว การปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิ พบว่า แท่งวัดอุณหภูมิทั้งหมดสามารถคงอุณหภูมิที่ 47 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 99.9-100 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงในช่วงเวลานาน 20 นาที การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้าและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ อบมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5 และ10 นาที พบว่า แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้ามีความทนทานต่อความร้อนมากกว่าหนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ มีอัตราการตายเฉลี่ย 99.61 และ99.72 เปอร์เซ็นต์ โดยหนอนวัย 1 ตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ในผลมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า อบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ 20 นาที พบว่าแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 มีอัตราการตายเฉลี่ย 64.19, 78.09, 91.90, 98.57, 100, 100, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 5 นาทีขึ้นไป สามารถกำจัดหนอนวัย 1 ในผลมะม่วงตายทั้งหมด การศึกษาประเมินประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า อบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที พบว่าแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 มีอัตราการตาย เฉลี่ย 99.86, 99.86, 100, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10 นาทีขึ้นไป สามารถกำจัดหนอนวัย 1 ในผลมะม่วงได้จำนวนประมาณ 7,225 ตัว ตายทั้งหมด การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้าเพื่อประเมินความเสียหายต่อคุณภาพผลมะม่วง อบมะม่วงที่อุณหภูมิ 47 และ48.5 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ2 ชั่วโมง เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน พบว่า การสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน โดยมะม่วงที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 48.5 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จะพบอาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ เมื่อผ่านความร้อนที่อุณหภูมิสูงและคงความร้อนไว้เป็นเวลานาน

การศึกษายืนยันประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า เพื่อประเมินประสิทธิภาพของกระบวนการอบไอน้ำในผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที โดยวิธีการใส่หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง และวิธีการให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลมะม่วง พบว่ามะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อนจำนวน 100 และ80 ผล มีแมลงรอดชีวิต จำนวน 7,352 และ5,016 ตัว มะม่วงที่ผ่านความร้อนจำนวน 300 และ240 ผล ไม่พบแมลงรอดชีวิต ผลการประเมินประสิทธิภาพกระบวนการกำจัด

แมลงวันผลไม้ดังกล่าวสามารถกำจัดหนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ได้จำนวนประมาณ 37,104 ตัว ในผลมะม่วงตายทั้งหมด การศึกษาความเสียหายต่อคุณภาพผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า เพื่อประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำในสภาพจำลองการส่งออกมะม่วงทางเครื่องบินและทางเรือ โดยทำการอบมะม่วงที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้นเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 7 และ14 วัน พบว่า การสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ปริมาณกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที โดยคุณภาพความหวานของมะม่วงไม่เปลี่ยนแปลง

**คำหลัก** : แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis*, มะม่วงมันเดือนเก้า วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT)

## คำนำ

ปัญหาการกักกันพืชระหว่างประเทศนับวันจะยุ่งยากและสลับซับซ้อนเพิ่มขึ้น เนื่องจากการขยายตัวทางการค้าระหว่างประเทศอย่างรวดเร็ว การนำเข้าและส่งออกผักและผลไม้มีความเสี่ยงสูงที่แมลงศัตรูพืชร้ายแรงด้านกักกันพืชจะแพร่ระบาดจากประเทศหนึ่งไปยังอีกประเทศหนึ่งโดยเฉพาะอย่างยิ่งแมลงวันผลไม้ การวิจัยและพัฒนาวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (plant quarantine treatment) เพื่อใช้สำหรับกำจัดแมลงในผักและผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งต่องานกักกันพืชระหว่างประเทศ เพราะช่วยให้สามารถส่งผักและผลไม้ออกจากแหล่งแพร่ระบาดของแมลงวันผลไม้ได้ โดยปราศจากความเสี่ยงที่ศัตรูพืชร้ายแรงจะเล็ดลอดติดไปกับสินค้า (อุดร, 2541) การขยายตลาดของมะม่วงจะทำให้เกษตรกรสามารถมีช่องทางในการจำหน่ายได้กว้างขวางมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับนโยบายของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ในการช่วยเหลือเกษตรกรที่ได้รับผลกระทบโดยส่งเสริมและผลักดันให้มีการส่งออกมะม่วงเพิ่มมากขึ้น

สินค้าเกษตรที่สำคัญของประเทศไทยหลายชนิดไม่สามารถส่งออกไปจำหน่ายยังประเทศที่เข้มงวดทางด้านกักกันพืช เนื่องจากประเทศไทยเป็นแหล่งแพร่ระบาดของโรคและศัตรูพืชที่สำคัญทางด้านกักกันพืช ประเทศไทยมีแมลงวันผลไม้หลายชนิดแพร่ระบาด แต่ที่มีความสำคัญทางด้านกักกันพืชมี 2 ชนิด ได้แก่ แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* และแมลงวันแตง *B. cucurbitae* ซึ่งมีความสำคัญทางด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ (White and Elson-Harris, 1992; Iwaizumi, 2004) ประเทศไทยปลูกมะม่วงได้หลากหลายพันธุ์ โดยแต่ละพันธุ์มีคุณสมบัติที่แตกต่างกันไปถึงแม้การส่งออกจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นทุกปี การส่งเสริมมะม่วงพันธุ์ใหม่ ๆ เพื่อการส่งออกจัดเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะสามารถเพิ่มปริมาณและมูลค่าของการส่งออก และสามารถเปิดตลาดส่งออกมะม่วงไปต่างประเทศให้ได้มากยิ่งขึ้น มะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้ามีผลขนาดใหญ่ ผลยาว 5-20 เซนติเมตร และกว้าง 4-8 เซนติเมตร ผลดิบมีรสชาดเปรี้ยว ผลแก่จัดมีรสชาดเปรี้ยวมันอมหวาน ผลสุกมีรสชาดหวานแต่ไม่หวานจัดจะมีรสเปรี้ยวและมันผสมรวมอยู่ด้วยกัน เป็นมะม่วงกลิ่นแรง เนื้อละเอียด น้ำหนักต่อ

ผลประมาณ 250-500 กรัม เป็นมะม่วงอีกพันธุ์หนึ่งที่กำลังได้รับความนิยมเป็นอย่างมากในประเทศไทยและต่างประเทศ สามารถรับประทานได้ทั้งมะม่วงดิบและมะม่วงสุก จึงเหมาะสมที่จะส่งเสริมและผลักดันให้มีการส่งออกมากขึ้น (เทคโนโลยีชาวบ้าน, 2562) มะม่วงเป็นสินค้าเกษตรที่สำคัญชนิดหนึ่ง มะม่วงเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ที่มีความสำคัญทางด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ ได้แก่ แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ด้วยเหตุนี้มะม่วงจากประเทศไทยจึงถูกห้ามนำเข้าประเทศญี่ปุ่นภายใต้เงื่อนไขข้อกำหนดของกฎหมายทางด้านกักกันพืช ซึ่งจะถูกยกเลิกไปหากประเทศไทยสามารถพัฒนาวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ได้มาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช เพื่อใช้สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงก่อนการส่งออก แต่อย่างไรก็ดีการส่งออกมะม่วงไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศประเทศไทยจำเป็นต้องยึดหลักการตามข้อตกลงว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพื ช (agreement on the application of sanitary and phytosanitary measures: SPS agreement) เนื่องมาจากประเทศไทยได้จัดทำข้อตกลงเขตการค้าเสรี (free trade area, FTA) กับหลายประเทศ โดยเฉพาะประเทศที่มีความเข้มงวดทางด้านกักกันพืช อาทิเช่น ประเทศญี่ปุ่น สาธารณรัฐเกาหลี สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ และไต้หวัน เป็นต้น มะม่วงเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* species complex ซึ่งแมลงวันผลไม้ชนิดนี้จัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางด้านกักกันพืช (White and Elson-Harris, 1992; CABI, 2014) แมลงวันผลไม้เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญของผลไม้หลายชนิด พบระบาดอยู่ทั่วโลก ทั้งในเขตหนาว เขตอบอุ่น และเขตร้อน (Shimizu *et al*., 2007; Jennifer and Gillett-Kaufman, 2012) รวมทั้งประเทศไทย (มนตรี, 2544; CABI, 2014) ในพื้นที่ภาคกลางและภาคเหนือ แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* มีพืชอาหารจำนวนมากถึง 123 ชนิด โดยเฉพาะผลไม้เปลือกบางหรืออ่อนนุ่มจะถูกทำลายได้ง่าย การเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้เกิดจากตัวเต็มวัยเพศเมียจะใช้อวัยวะวางไข่ (ovipositor) แทงลงใต้ผิวของผลไม้เพื่อวางไข่ เมื่อไข่ฟักเป็นตัวหนอนจะชอนไช กัดกินเนื้อภายในผลไม้ทำให้เน่าเสีย ซึ่งการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้สามารถเข้าทำลายได้ตั้งแต่อยู่ในแปลงปลูก (กรมวิชาการเกษตร, 2562; Thomas, 2004; Jennifer and Gillett-Kaufman, 2012) การทำลายอาจรุนแรงมากถึง 100 เปอร์เซ็นต์ หากไม่มีการป้องกันกำจัด ตามข้อตกลงของการอนุญาตการนำเข้าพืชผักและผลไม้ของประเทศญี่ปุ่น ประเทศไทยจำเป็นต้องดำเนินการตามมาตรฐานขั้นตอนการยกเลิกห้ามการนำเข้าสิ่งต้องห้ามที่เป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ (standard procedure for lifting import ban of prohibited host plants of fruit flies) ของกระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่น (ministry of agriculture, forestry and fisheries, MAFF) โดยมีขั้นตอนที่สำคัญคือกำหนดให้การขออนุญาตการนำเข้าสิ่งต้องห้ามที่เป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ต้องยื่นเสนอแผนการศึกษาวิจัยการกำจัดแมลงวันผลไม้ก่อนการส่งออกให้กับ MAFF พิจารณาตรวจสอบและให้ความเห็นชอบก่อน การวิจัยและพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงวันผลไม้ต้องเป็นไปตามขั้นตอนที่กำหนดและมีประสิทธิภาพสูง ซึ่งได้มาตรฐานตามวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (MAFF, 2010; Miyazaki, 2010)

ในปี พ.ศ. 2529 กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ประสบความสำเร็จในการวิจัยพัฒนาวิธีการอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT) ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ จำนวน 2 ชนิด คือ oriental fruit fly, *B. dorsalis* และmelon fly, *B. cucurbitae* ในผลมะม่วงพันธุ์หนังกลางวัน (Unahawutti *et al*., 1986) ต่อมาได้มีการวิจัยพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อนกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (modified vapor heat treatment, MVHT) ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที มีประสิทธิภาพสูงสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง (*Mangifera indica* Linn.) ครอบคลุมถึง 4 พันธุ์ คือ พันธุ์หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลมะม่วง (Unahawutt *et al*., 1991) หลังจากนั้นได้ทำการวิจัยพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อนโดยใช้วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก เขียวเสวย และโชคอนันต์ ซึ่งในปี พ.ศ. 2549 และ 2559 กระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่นได้อนุญาตให้มีการนำเข้ามะม่วงเพิ่มเติมอีก 3 พันธุ์ ดังกล่าว (Intarakumheng *et al*., 2006; Intarakumheng *et al*., 2013) ในปี พ.ศ. 2545 ประสบความสำเร็จในการวิจัยพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์มีประสิทธิภาพสูงสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมังคุด (*Garcinia mangostana* Linn.) ที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 58 นาที สามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในกลุ่ม *B. dorsalis* species complex จำนวน 4 ชนิด คือ *B. carambolae*, *B. dorsalis*, *B. papayae*, และ*B. pyrifoliae* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Unahawutt *et al*., 1999) ต่อมาได้ศึกษาวิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์มีประสิทธิภาพสูงสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในในกลุ่ม *B. dorsalis* species complex จำนวน 4 ชนิด ในผลส้มโอ (*Citrus maxima* (Burman) Merr.) พันธุ์ทองดีได้เป็นผลสำเร็จ ที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที (อุดร และคณะ 2549) และได้ส่งรายงานผลการศึกษาวิจัยวิธีการกำจัดแมลงวันผลไม้ดังกล่าวให้กับกระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่นพิจารณา ซึ่งในช่วงต้นปี พ.ศ. 2555 กระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่นได้อนุญาตให้มีการนำเข้าส้มโอพันธุ์ทองดีจากประเทศไทยเข้าไปจำหน่ายในประเทศญี่ปุ่นได้อีกหนึ่งชนิด (Unahawutti *et al*.,2006) นอกจากนี้ยังประสบความสำเร็จในการศึกษาวิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์มีประสิทธิภาพสูงสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมังคุด จำนวน 3 ชนิด คือ *B. dorsalis*, *B. carambolae* และ *B. papayae* (ชัยณรัตน์ และคณะ 2562; 2563) และได้ส่งรายงานผลการศึกษาวิจัยให้กับทางสำนักงานกักกันและตรวจสอบสุขอนามัยพืชและสัตว์ไต้หวัน (bureau of animal and plant inspection and quarantine, BAPHIQ) พิจารณา โดยเมื่อวันที่ 12 กรกฎาคม 2562 สำนักงานกักกันและตรวจสอบสุขอนามัยพืชและสัตว์ไต้หวันอนุญาตให้นำเข้าผลมังคุดสดจากประเทศไทยเข้าไปจำหน่ายในประเทศไต้หวันได้ ซึ่งทำให้ประเทศไทยประสบผลสำเร็จสามารถส่งออกมังคุดไปไต้หวันได้เป็นครั้งแรกในรอบ 16 ปี (Sonsiri *et al*., 2015) ในปัจจุบันประเทศไทยได้มีการสร้างโรงงานอบไอน้ำเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อนขนาดใหญ่ระดับการค้ากันอย่างแพร่หลาย โดยใช้กรรมวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) ในการอบมะม่วง มังคุด และส้มโอ เพื่อการส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น สาธารณรัฐเกาหลี นิวซีแลนด์ และ

ไต้หวัน โดยยึดหลักการตามเงื่อนไขและข้อกำหนดของแต่ละประเทศ (มลนิภา, 2550; 2552; 2554; 2555; Srimartpirom, 2010)

การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการใช้วิธีการอบไอน้ำเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ได้มีการศึกษาวิจัยกันอย่างแพร่หลายในต่างประเทศ เพราะสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้หลายชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังปลอดภัยจากสารพิษตกค้างภายในผลจึงผ่านการยอมรับได้โดยง่ายจากประเทศผู้นำเข้ามะม่วงเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีศักยภาพสูงในการส่งออกแต่มะม่วงเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องดำเนินการวิจัยและพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อนกรรมวิธีอบไอน้ำ ตามขั้นตอนที่มีประสิทธิภาพและได้มาตรฐานตามวิธีการกำจัดศัตรูพืชทางด้านกักกันพืช

## วิธีดำเนินการ

**อุปกรณ์**

1. แมลงที่ใช้ในการทดลอง
   - แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis*
2. พืชที่ใช้ในการทดลอง
   - ผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า *M. indica*
3. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- ตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็ก “Sanshu” vapor heat treatment system (differential pressure type) รุ่น EHK-1000D และEHK-1000D, Sanshu Sangyo Co., Ltd.,Kagoshima, Japan
- เครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ “Sanshu” shower cooling system (differential pressure type) รุ่น SHS-12, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan
- เครื่องอ่างน้ำร้อน (water bath; Yamato, model: DK-43)
- ปรอทวัดความร้อนมาตรฐาน (standard thermometer)
- กล้องจุลทรรศน์ (microscope) และมีดผ่าตัด (scapel)
- เครื่องใช้ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการต่างๆ เช่น จานทดลอง (petri dish) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร กระบะพลาสติก และอุปกรณ์อื่นๆ เช่น ปิเปต (pipettes) หลอดทดลอง (test tube) บีกเกอร์ (beaker) หลอดหยด (dropper) ปากคีบ (forceps) ผ้ามัสลิน กระดาษกรองสีดำ พู่กัน หนังยาง มีด และผ้าขาวบาง

**วิธีการ**

**1. สืบค้นฐานข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะประจำพันธุ์ชีววิทยาของมะม่วงมันเดือนเก้า เพื่อใช้ในการทดลอง**

โดยการสืบค้นข้อมูลทางเว็บไซต์ของกรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร และจากแหล่งข้อมูลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องต่าง ๆ ทั้งในประเทศและต่างประเทศ ซึ่งได้จัดหาและคัดเลือกมะม่วง

พันธุ์มันเดือนเก้า **(Figure 1)** เพื่อนำมาใช้ในการทดลองในขั้นตอนของการกำจัดแมลงด้วยความร้อน และขั้นตอนของการประเมินความเสียหายต่อความร้อน จากอำเภอหนองเสือ และอำเภอลาดหลุมแก้ว จังหวัดปทุมธานี ใช้ผลมะม่วงน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล (มะม่วงขนาดกลาง) นำมาเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้น ของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช เพื่อรักษาคุณภาพของมะม่วงมันเดือนเก้า และนำมาใช้ในขั้นตอนของการทดลองต่อไป

โดยน้ำหนักผลของมะม่วงมันเดือนเก้าที่ใช้ในการทดลอง แบ่งน้ำหนักได้ดังนี้

| Size | | Weight (g) |
|---|---|---|
| Super small | (SS) | < 200 |
| Small | (S) | 200-300 |
| Medium | (M) | 300-400 |
| Large | (L) | 400-500 |
| Extra large | (XL) | > 500 |

**2. แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ที่ใช้ในการทดลอง**

2.1 แหล่งที่มาของแมลงวันผลไม้

แมลงวันผลไม้ที่ใช้ในการทดลองได้มาจากแมลงวันผลไม้ที่เข้าทำลายผลมะเฟือง ในพื้นที่อำเภอกาญจนดิษฐ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี อำเภอหัวไทร จังหวัดนครศรีธรรมราช และอำเภอควนขนุน จังหวัดพัทลุง โดยทำการรวบรวมและเลี้ยงจนเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย จากนั้นจะคัดแยกชนิดอย่างละเอียดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คัดแยกเอาเฉพาะแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* แล้วจึงนำแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยไปเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการและเพิ่มจำนวนให้มากขึ้นโดยใช้การเลี้ยงด้วยอาหารเทียม (artificial diet) ที่ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ ของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2.2 เทคนิคและวิธีการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์แมลงวันผลไม้

แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ที่ใช้ในการทดลองทั้งหมดใช้เทคนิคและวิธีการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ตามวิธีการของ Watanabe *et al*., (1973) และอุดร (2541)

**สภาพห้องเลี้ยงแมลง**: ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้เป็นห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ ความชื้นและแสงสว่าง **(Figure 2)** ห้องเลี้ยงแมลงมีขนาด 3.5x4.6x2.3 เมตร อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65±5 เปอร์เซ็นต์ แสงสว่างภายในห้องได้จากหลอดไฟฟลูโอเรสเซนส์ (fluorescent lights) จำนวน 20 หลอด ติดตั้งบนเพดานห้องเลี้ยงแมลง มีระยะรอบของความมืดและสว่าง (light-dark cycle) เป็น 12:12 ชั่วโมง ไฟจะสว่างในช่วงเวลา 6:00-18:00 นาฬิกา ภายในห้องเลี้ยงแมลงติดหลอดไฟขนาด 15 วัตต์ จำนวน 1 หลอด ให้แสงสลัว (dim light) เป็นเวลานาน 15 นาที ก่อนและหลังที่ไฟในห้องเลี้ยงแมลงจะสว่างเพื่อช่วยกระตุ้นให้แมลงวันผลไม้ผสมพันธุ์

**ตัวเต็มวัย**: เลี้ยงแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยกรงใหญ่ จำนวนประมาณ 20,000 ตัว/กรง และกรงเล็กจำนวนประมาณ 2,000 ตัว/กรง กรงเลี้ยงแมลงมีขนาด 65.5x69.0x77.0 เซนติเมตร และ35x50x35 เซนติเมตร ทำด้วยมุ้งลวดตาข่ายอลูมิเนียมขนาด 16 เมช ภายในกรงมีจานพลาสติกบรรจุอาหารสำหรับตัวเต็มวัย ซึ่งประกอบด้วยส่วนผสมโดยน้ำหนักดังนี้ น้ำตาล 10 ส่วน เอ็นไซม์โปรตีนไฮโดรไลเซส (enzymatic protein hydrolysate; Amber series 100) 1 ส่วน และยีสต์เอ็กเทรค (yeast extract) 1 ส่วน การให้น้ำจะใช้ขวดพลาสติกทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.0 เซนติเมตร สูง 7.5 เซนติเมตร ฝาขวดเจาะรูขนาด 1 มิลลิเมตร จำนวน 3 รู วิธีให้น้ำจะคว่ำขวดน้ำลงบนกระดาษกรองซึ่งวางอยู่บนหลังกรงเลี้ยงแมลง หลังจากเลี้ยงแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยครบ 6 สัปดาห์ แมลงที่เหลือในกรงทั้งหมดจะถูกนำไปทำลายและทำความสะอาดกรงเลี้ยงแมลง เพื่อเตรียมไว้สำหรับใส่แมลงในรุ่นต่อไป ในระหว่างการทดลองจะต้องมีแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยอายุต่าง ๆ กันเพื่อเตรียมไว้ใช้ในการทดลอง กรงใหญ่ไม่น้อยกว่า 5 กรง และกรงเล็กไม่น้อยกว่า 10 กรง

**วิธีการเก็บไข่**: เก็บไข่แมลงวันผลไม้เมื่อตัวเต็มวัยมีอายุประมาณ 15 วัน โดยใช้กระบอกพลาสติก ขนาด 7x17 เซนติเมตร ด้านข้างเจาะรูขนาด 0.4 มิลลิเมตร ประมาณ 80-100 รู **(Figure 3)** เพื่อให้แมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยเพศเมียแทงอวัยวะวางไข่ผ่านรูจากด้านข้างเข้าไปวางไข่ภายในกระบอกพลาสติกในการเก็บไข่แต่ละครั้งจะใส่น้ำส้มประมาณ 30 มิลลิลิตร ไว้ในกระบอกเก็บไข่เพื่อกระตุ้นให้แมลงมาวางไข่ในขณะเดียวกันยังจะให้ความชื้นภายในกระบอกพลาสติกป้องกันไม่ให้ไข่ของแมลงแห้งและแตก รวบรวมไข่แมลงด้วยวิธีเติมน้ำสะอาดในกระบอกพลาสติกเก็บไข่แล้วเขย่าเบา ๆ เพื่อให้ไข่ที่ติดอยู่ด้านข้างภายในกระบอกหลุด ใช้ผ้ามัสลินขนาด 150 เมช แยกไข่ออกจากน้ำส้ม รวบรวมไข่ทั้งหมดที่ได้ใส่ในน้ำกลั่นเก็บไว้ในถ้วยแก้ว (beaker) ขนาด 200 มิลลิเมตร หลังจากนั้นนำไข่ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารเทียมพร้อมทั้งตรวจหาอัตราการฟักไข่ด้วยวิธีสุ่มไข่จำนวน 100 ฟอง วางไข่ให้กระจายเป็นแถวยาวบนกระดาษกรองสีดำที่ชุ่มน้ำเก็บไว้ในจานแก้ว (petri-dish) ตรวจนับจำนวนไข่ที่ฟักเป็นตัวหนอน 2 วัน

**ระยะหนอน:** เลี้ยงหนอนแมลงวันผลไม้ด้วยอาหารเทียมบนสูตรข้าวโพดป่น อาหารเทียมสำหรับระยะหนอนประกอบด้วยส่วนผสมดังนี้ข้าวโพดบด 50 กรัม กระดาษชำระ 3 กรัม น้ำกลั่น 85 มิลลิเมตร น้ำตาล 5 กรัม brewer's yeast 5 กรัม butyl p-hydroxybenzoate 0.15 กรัม HCl (conc.) 0.2 มิลลิเมตร นำอาหารเทียมประมาณ 900 กรัม ใส่ในถาดพลาสติกขนาด 23x32x5 เซนติเมตร ตัดกระดาษชำระขนาด 5.5x11.0 เซนติเมตร จำนวน 2 ชิ้น วางไว้บนอาหารเทียม ใช้หลอดดูดขนาด 1 มิลลิเมตร ตวงไข่จำนวน 0.4 มิลลิเมตร แล้วนำไปวางบนกระดาษชำระ เกลี่ยไข่ด้วยพู่กันให้กระจายทั่ว ๆ กันบนกระดาษชำระ ด้วยวิธีการนี้จะช่วยให้หนอนไม่แก่งแย่งอาหารกันเมื่อฟักออกจากไข่ ปิดถาดอาหารเทียมด้วยถาดเปล่าอีกหนึ่งใบ เพื่อให้ภายในมีความชื้น ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นมากสำหรับไข่จะฟักออกเป็นหนอน นำถาดอาหารเก็บไว้ในห้องเลี้ยงแมลงจนกระทั่งหนอนเจริญเติบโตเต็มที่

**ระยะดักแด้:** หนอนแมลงวันผลไม้เจริญเติบโตเต็มที่พร้อมที่จะเข้าดักแด้ภายใน 6 วัน เปิดฝาครอบถาดอาหารเทียม และย้ายไปวางไว้ในภาชนะสำหรับให้แมลงเข้าดักแด้ ซึ่งเป็นกระบะพลาสติก ขนาด 43x74x23 เซนติเมตร ภายในบรรจุขี้เลื่อย ขนาด 20 เมช พรมน้ำให้ชื้นพอประมาณสำหรับให้หนอนเข้าดักแด้ หนอนวัย 3 ที่เจริญเติบโตเต็มที่พร้อมจะเข้าดักแด้จะดีดตัวออกจากอาหารเทียมและเข้าดักแด้ในขี้เลื่อย ก่อนที่ดักแด้จะออกเป็นตัวเต็มวัยประมาณ 2 วัน ใช้ตระแกรงขนาด 20 เมช ร่อนแยกเอาดักแด้ออกจากขี้เลื่อย คัดดักแด้ที่ไม่สมบูรณ์หรือตายทิ้งให้หมด นำดักแด้ที่สมบูรณ์จำนวนประมาณ 20,000 และ2,000 ดักแด้ ใส่ในถาดพลาสติก ขนาด 23x32x5 เซนติเมตร แล้วนำไปวางไว้ในกรงเลี้ยงแมลงที่เตรียมไว้รอให้ออกเป็นตัวเต็มวัย

**การควบคุมคุณภาพแมลง:** แมลงวันผลไม้ซึ่งเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการจะต้องมีความแข็งแรง เพื่อที่ข้อมูลจากผลการศึกษาวิจัยจะได้ถูกต้องและเป็นที่ยอมรับ ดังนั้นจึงต้องมีการตรวจสอบคุณภาพของแมลงเป็นประจำ โดยในการเลี้ยงแมลงแต่ละรุ่นจะตรวจสอบอัตราการฟักไข่ (hatching rate) อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate) น้ำหนักของดักแด้ และอัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio)

**3. วิธีเตรียมแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 สำหรับใช้ในการทดลอง**

มะม่วงที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ มะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า ผลมะม่วงมีขนาดกลางน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล โดยตรวจสภาพความผิดปกติของผลมะม่วง ซึ่งมะม่วงทุกผลจะต้องไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือรอยแตกบนผลมะม่วง การเตรียมผลมะม่วงในขั้นตอนของการกำจัดแมลงด้วยความร้อน จะต้องทำความสะอาดผลมะม่วงและคัดขนาดตามน้ำหนัก โดยมะม่วงที่ใช้ในการทดลองจะต้องสุก ซึ่งการเตรียมผลมะม่วงให้สุกนั้นมีวิธีการทำโดยวางมะม่วงในตะกร้าพลาสติก บ่มมะม่วงโดยใช้แคลเซียมคาร์ไบด์ (CaC2) เพื่อเป็นการกระตุ้นการสุกของผลมะม่วง ปิดตะกร้าด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ หลังจากนั้นประมาณ 2-3 วัน มะม่วงที่ใช้ในการทดลองจะสุกเต็มที่ จากนั้นนำมะม่วงที่สุกไปเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิประมาณ 10-15 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนำไปใช้ในการทดลอง

<u>3.1 การเตรียมแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1</u>

เก็บไข่จากแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยซึ่งเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการตามวิธีการข้างต้น รวบรวมไข่ที่ได้วางไว้บนผ้าที่ชุ่มน้ำ เก็บไว้ในกล่องพลาสติกขนาด 12x18x4.5 เซนติเมตร แล้วนำไปไว้ในห้องเลี้ยงแมลงเป็นเวลา 2 วัน เมื่อไข่ฟักออกเป็นหนอนวัย 1 ใช้ตะแกรงขนาด 80 เมช ร่อนแยกหนอนวัย 1 ออกจากเปลือกไข่ ย้ายหนอนวัย 1 ใส่ในน้ำกลั่น เก็บไว้ในถ้วยแก้ว (beaker) ขนาด 200 มิลลิลิตร ใช้หลอดดูดสารละลาย (dropper) ขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดหนอนวัย 1 นำไปใส่ไว้ในจานแก้ว (petri-dish) ขนาด 10x2 เซนติเมตร พร้อมทั้งนับหนอนภายใต้กล้องจุลทรรศน์

<u>3.2 การเตรียมมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้าให้มีแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 อยู่ภายในผล</u>

เก็บไข่จากแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ตัวเต็มวัยซึ่งเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการตามวิธีการข้างต้น รวบรวมไข่ที่ได้วางไว้บนผ้าที่ชุ่มน้ำ เก็บไว้ในกล่องพลาสติกขนาด 12x18x4.5 เซนติเมตร แล้วนำไปไว้

ในห้องเลี้ยงแมลงเป็นเวลา 2 วัน เมื่อไข่ฟักออกเป็นหนอนวัย 1 ใช้ตะแกรงขนาด 80 เมซ ร่อนแยกหนอนวัย 1 ออกจากเปลือกไข่ ย้ายหนอนวัย 1 ใส่ในน้ำกลั่น เก็บไว้ในถ้วยแก้ว (beaker) ขนาด 200 มิลลิลิตร ใช้หลอดดูดสารละลาย (dropper) ขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดหนอนวัย 1 นำไปใส่ไว้ในจานแก้ว (petri-dish) ขนาด 10x2 เซนติเมตร พร้อมทั้งนับหนอนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ **(Figure 4)** ใช้พู่กันเขี่ยหนอนวัย 1 ให้รวมกันเป็นกลุ่ม ๆ ละ 100 ตัว ในการทดลองใช้มะม่วงขนาดกลางน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล ใช้มีดผ่าตัด (scapel) เจาะเข้าไปภายในเนื้อมะม่วงให้ลึกประมาณ 2 มิลลิเมตร กรีดเป็นรอยแผลสี่เหลี่ยม 3 ด้าน ขนาด 2x3 เซนติเมตร เจาะรูขนาด 2 มิลลิเมตร ตรงกลางรอยแผลสี่เหลี่ยมจำนวน 1 รู **(Figure 5)** ลอกเปลือกมะม่วงให้แยกออกจากเนื้อตรงบริเวณรอยแผล แล้วใช้มีดผ่าตัดกรีดเนื้อมะม่วงให้เป็นรอยแผล เพื่อช่วยให้หนอนวัย 1 ชอนไชเข้าไปในผลมะม่วงได้ง่ายขึ้น ใส่หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง จำนวน 100 ตัว/ผล ตรงบริเวณที่กรีดเนื้อมะม่วงให้เป็นรอยแผล ปิดด้วยเทปกาว เพื่อป้องกันไม่ให้หนอนวัย 1 เล็ดลอดออกจากผล **(Figure 6)** เสร็จแล้วปล่อยไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง ให้หนอนชอนไชลึกเข้าไปภายในผลมะม่วงก่อนแล้วจึงนำมะม่วงเข้าเครื่องตู้อบความร้อน

**4. รูปแบบของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า**

ในการทดลองทั้งหมดใช้เครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็กสำหรับทดลอง จำนวน 2 เครื่อง **(Figure 7)** ใช้มะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) น้ำหนัก 350±25 กรัม/ผล จำนวน 3 ผล วางไว้ในกระบะชั้นล่างสุด ซึ่งใช้เป็นตัวแทนแสดงอุณหภูมิของมะม่วงทั้งหมดภายในเครื่องตู้อบความร้อน เมื่อมะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ จำนวน 3 ผล มีอุณหภูมิคงอยู่ที่ 47 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาตามที่กำหนด แสดงว่าขณะนั้นมะม่วงทดลองทั้งหมดในเครื่องตู้อบความร้อนมีอุณหภูมิอยู่ในระดับเดียวกันกับมะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ

การอบมะม่วงด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (modified vapor heat treatment, MVHT) เป็นกรรมวิธีที่ให้ความร้อนกับมะม่วงโดยอาศัยวิธีอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT) ร่วมกับวิธีอบอากาศร้อน (hot air treatment, HAT) โดยช่วงแรกจะให้ความร้อนกับมะม่วงด้วยวิธีอบอากาศร้อน (HAT) อากาศร้อนที่หมุนเวียนภายในตู้อบความร้อนผ่านมะม่วงจะมีความชื้นสัมพัทธ์ระหว่าง 50-80 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิในผลมะม่วงเพิ่มขึ้นถึง 43 องศาเซลเซียส แล้วจึงปรับเปลี่ยนเป็นวิธีอบไอน้ำ (VHT) ซึ่งอากาศร้อนจะอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ (saturated condition) ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงถึง 47 องศาเซลเซียส และคงไว้ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ2 ชั่งโมง (เซ็นเซอร์กำหนดอุณหภูมิผลมะม่วง (sensor fruit) จะต้องอ่านค่าได้ 47 องศาเซลเซียส ทั้ง 3 เส้น) ขณะอบมะม่วงทำการบันทึกอุณหภูมิ ความชื้น และระยะเวลาในการอบมะม่วง จากเครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้น (hybrid recorder) ของเครื่องตู้อบความร้อนตามค่าที่กำหนดไว้ (อุดร, 2541; อุดร และคณะ, 2549; Unahawutti *et al*., 2006)

ซึ่งแบบแผนของการเพิ่มอุณหภูมิภายในเครื่องตู้อบความร้อน (pattern MVHT test for mango) ที่ใช้ในการทดลองในผลมะม่วงนี้ทั้งหมดใช้แผนวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ดังนี้

| Pattern MVHT test for mango | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Temperature (°C) | 30.0 | 30.0 | 35.0 | 40.0 | 45.0 | 48.0 | 48.0 |
| Time (h) | 0:00 | 0:05 | 0:10 | 0:10 | 0:10 | 0:10 | 5:00 |
| Humidity RH (%) | 51.0 | 51.0 | 95.0 | 95.0 | | | |
| Time (h) | 0:00 | 5:00 | 0:10 | 5:00 | | | |

**5. เครื่องตู้อบความร้อนและการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิ**

ดำเนินการด้วยเครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็กสำหรับทดลอง จำนวน 2 เครื่อง ก่อนที่จะเริ่มทำการทดลอง แท่งวัดอุณหภูมิที่ติดตั้งภายในเครื่องตู้อบความร้อนทั้งหมดจะต้องนำมาตรวจสอบความเที่ยงตรง และปรับค่าความคลาดเคลื่อนอุณหภูมิที่วัดได้ของแท่งวัดอุณหภูมิแต่ละแท่ง (calibration sensor) โดยตรวจสอบเปรียบเทียบกับปรอทวัดความร้อนมาตรฐาน (standard thermometer) ซึ่งมีวิธีการดังนี้ จุ่มแท่งวัดอุณหภูมิทั้งหมดรวมทั้งปรอทวัดความร้อนมาตรฐานลงในเครื่องอ่างน้ำร้อน (water bath; Yamato, model: DK-43) **(Figure 8)** ตั้งค่าเครื่องอ่างน้ำร้อนให้มีอุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เมื่อน้ำร้อนและมีอุณหภูมิคงที่จึงเริ่มการบันทึกอุณหภูมิเป็นระยะเวลานาน 20 นาที

ปรอทวัดความร้อนมาตรฐานจะแสดงค่าอุณหภูมิจริงของน้ำในเครื่องอ่างน้ำร้อน อ่านค่าอุณหภูมิของแท่งวัดอุณหภูมิแต่ละแท่งจากเครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้น (hybrid recorder; Chino, model: LE series และFTH, model: FLE-073504E) ที่อ่านค่าได้ทุก 5 นาที **(Figure 9)** เครื่องตู้อบความร้อนจะติดตั้งอุปกรณ์พิเศษ คือชุดปรับค่าความต้านทานกระแสไฟฟ้า (correction resistance unit) ซึ่งเป็นอุปกรณ์สำหรับปรับค่าอุณหภูมิที่แท่งวัดความร้อนอ่านได้ให้เท่ากับค่าอุณหภูมิที่อ่านได้จากปรอทวัดความร้อนมาตรฐาน การทดสอบความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิจะเสร็จสิ้นเมื่อแท่งวัดอุณหภูมิทั้งหมดแสดงค่าอุณหภูมิที่ 47 องศาเซลเซียส โดยมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงเป็นระยะเวลานานติดต่อกันในช่วงเวลา 20 นาที

**6. แบบแผนการเพิ่มอุณหภูมิในเครื่องตู้อบความร้อน**

แบบแผนของการเพิ่มอุณหภูมิในเครื่องตู้อบความร้อนที่ใช้ในการทดลองการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงนี้ทั้งหมดใช้แผนการอบไอน้ำดังนี้ เริ่มต้นการเพิ่มอุณหภูมิจากอุณหภูมิห้อง โดยช่วงแรกจะให้ความร้อนด้วยวิธีอบอากาศร้อน อากาศร้อนที่หมุนเวียนภายในตู้อบความร้อนจะมีความชื้นสัมพัทธ์ระหว่าง 50-80 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิภายในตู้เพิ่มขึ้นถึงระดับหนึ่งและอุณหภูมิภายในผลมะม่วงมีอุณหภูมิที่ 43 องศาเซลเซียส จึงปรับเปลี่ยนการให้ความร้อนเป็นวิธีอบไอน้ำ อากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำโดยความชื้นสัมพัทธ์ภายใน

เครื่องต้อบความร้อนต้องมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ จนถึงอุณหภูมิภายในผลมะม่วงได้ 47 องศาเซลเซียส ตามระยะเวลาที่กำหนดตลอดเวลาที่ทำการอบไอน้ำ

6.1 ขั้นตอนการกำจัดแมลงด้วยความร้อน

1. อุณหภูมิสูงสุดของอากาศภายในห้องบรรจุผลไม้ = 48 องศาเซลเซียส
2. อุณหภูมิภายในสุดผลมะม่วง = 47 องศาเซลเซียส
3. ระดับความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ
   ก่อนอุณหภูมิผล 43 องศาเซลเซียส = 51 เปอร์เซ็นต์ RH %
   หลังอุณหภูมิผล 43 องศาเซลเซียส = 95 เปอร์เซ็นต์ RH %
4. วิธีการควบคุมการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิอากาศภายในห้องบรรจุผลไม้ = อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นแต่ละระดับในช่วงเวลากำหนด (stepped temp. MVHT)
5. วิธีการลดอุณหภูมิผลมะม่วง = ลดอุณหภูมิด้วยน้ำ นาน 1 ชั่วโมง
6. การตรวจสอบการตายของแมลงวันผลไม้ = 5 วัน หลังจากผ่านความร้อน

ในการทดลองใช้มะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) น้ำหนัก 350±25 กรัม/ผล จำนวน 3 ผล วางไว้ในกระบะชั้นล่างสุด **(Figure 10)** ซึ่งใช้เป็นตัวแทนแสดงอุณหภูมิของมะม่วงทั้งหมดภายในเครื่องต้อบความร้อน เมื่อมะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ จำนวน 2 ผล มีอุณหภูมิคงอยู่ที่ 47 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาตามที่กำหนด แสดงว่าขณะนั้นมะม่วงทดลองทั้งหมดในเครื่องต้อบความร้อนมีอุณหภูมิอยู่ในระดับเดียวกันกับมะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ

6.2 ขั้นตอนการประเมินความเสียหายต่อความร้อน

1. อุณหภูมิสูงสุดของอากาศภายในห้องบรรจุผลไม้ = 48 และ49.5 องศาเซลเซียส
2. อุณหภูมิภายในสุดผลมะม่วง = 47 และ48.5 องศาเซลเซียส
3. ระดับความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ
   ก่อนอุณหภูมิผล 43 องศาเซลเซียส = 65 เปอร์เซ็นต์ RH %
   หลังอุณหภูมิผล 43 องศาเซลเซียส = 95 เปอร์เซ็นต์ RH %
4. วิธีการควบคุมการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิอากาศภายในห้องบรรจุผลไม้ = อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นแต่ละระดับในช่วงเวลากำหนด (stepped temp. MVHT)
5. วิธีการลดอุณหภูมิผลมะม่วง = ลดอุณหภูมิด้วยลม นาน 1 ชั่วโมง
6. การประเมินความเสียหายต่อความร้อน = 7 วัน และ14 วัน หลังจากผ่านความร้อน

ในการทดลองใช้มะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) น้ำหนัก 350±25 กรัม/ผล จำนวน 3 ผล วางไว้ในกระบะชั้นล่างสุด ซึ่งใช้เป็นตัวแทนแสดงอุณหภูมิของมะม่วงทั้งหมดภายในเครื่องต้อบความร้อน เมื่อมะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ จำนวน 3 ผล มีอุณหภูมิคงอยู่ที่ 47 และ

48.5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาตามที่กำหนด แสดงว่าขณะนั้นมะม่วงทดลองทั้งหมดในเครื่องตู้อบความร้อนมีอุณหภูมิอยู่ในระดับเดียวกันกับมะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ

**7. การจัดการกับมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้าหลังจากการอบไอน้ำ**

ในขั้นตอนการกำจัดแมลงด้วยความร้อน แยกเก็บมะม่วงทดลองที่ผ่านความร้อน (treatment) และไม่ผ่านความร้อน (control) แต่ละระยะเวลาใส่ในถุงผ้าปิดปากถุง และวางไว้ในกระบะพลาสติกขนาด 36x54x15 เซนติเมตร คลุมด้วยผ้าปิดกระบะ **(Figure 11)** หลังจากนั้นนำมะม่วงเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-80 เปอร์เซ็นต์ ตรวจนับจำนวนหนอนแมลงวันผลไม้ที่รอดชีวิตในมะม่วงแต่ละผล หลังจากผ่านความร้อนเป็นเวลานาน 5 วัน **(Figure 12)** โดยบันทึกจำนวนหนอนที่รอดชีวิตทั้งหมดในมะม่วงทดลองที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่กำหนดนำข้อมูลไปคำนวณหาอัตราการตายที่แท้จริง (corrected mortality) โดยอาศัยสูตรของ Abbott (Abbott, 1925)

**8. การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้าและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์**

การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ ดำเนินการทดลองด้วยเครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็ก จำนวน 2 เครื่อง ใช้มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เป็นตัวเปรียบเทียบพันธุ์กับมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า โดยใช้หนอนวัย 1 เพื่อเป็นตัวแทนของแมลงในการเตรียมมะม่วงให้มีแมลงวันผลไม้อยู่ภายในผล (artificial infestation method) จากรายงานของอุดร และคณะ (2529; 2536) และUnahawutti *et al*. (1986; 1991) ได้ศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* และ *B. cucurbitae* ในผลมะม่วงหนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง เพื่อกำหนดระยะการเจริญเติบโตที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุด อบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้ในระยะไข่ และหนอนวัย 1 เพื่อเปรียบเทียบอัตราการตายของแมลงทั้งสองระยะการเจริญเติบโต โดยอบมะม่วงให้อุณหภูมิภายในผลมะม่วงเพิ่มขึ้นถึง 43, 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ46.5 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จากผลการทดลอง พบว่าระยะไข่ตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที ส่วนหนอนวัย 1 ที่อุณหภูมิ 46.5 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ยังคงรอดชีวิต จากผลการทดลองแสดงว่า หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงมีความทนทานต่อความร้อนมากที่สุด โดยที่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้แสดงลักษณะความต้านทานต่อความร้อนแตกต่างกันเมื่ออยู่ในมะม่วงหนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง โดยที่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้อยู่ในมะม่วงพิมเสนแดงจะมีความสามารถต้านทานต่อความร้อนได้ดีกว่าเมื่ออยู่ในมะม่วงหนังกลางวัน น้ำดอกไม้ และแรด เนื่องจากมะม่วงต่างพันธุ์กันมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด ทั้งลักษณะรูปร่างภายนอก เปลือก สี เนื้อ กลิ่น และรสชาด อาจทำให้หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงมีโอกาสรอดชีวิตได้ไม่เท่ากัน

มะม่วงที่ใช้ในการทดลองมีน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล (มะม่วงขนาดกลาง) ใช้มะม่วงทั้งหมดจำนวน 270 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อนวางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของ

แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว ในถาดบรรจุผลไม้ จำนวน 10 ผล/ถาด ซึ่งในถาดเดียวกันนั้นแยกเป็นมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า จำนวน 5 ผล และมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ จำนวน 5 ผล **(Figure13)** อบมะม่วงในเครื่องตู้อบความร้อนเดียวกัน โดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.1 อบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5 และ10 นาที แต่ละระยะเวลาที่กำหนดมีมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 180 ผล และมีมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อนจำนวน 90 ผล ทำการทดลอง 3 ครั้ง

**9. การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า**

การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง มะม่วงที่ใช้ในการทดลองมีน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล (มะม่วงขนาดกลาง) ใช้มะม่วงทั้งหมดจำนวน 165 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน วางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว จำนวน 5 ผล/ถาด **(Figure14)** อบมะม่วงโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.1 อบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ 20 นาที แต่ละระยะเวลาที่กำหนดมีมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 120 ผล และมีมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อนจำนวน 45 ผล ทำการทดลอง 3 ครั้ง

**10. การศึกษาประเมินประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า**

การศึกษาประเมินประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง มะม่วงที่ใช้ในการทดลองมีน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล (มะม่วงขนาดกลาง) ใช้มะม่วงทั้งหมดจำนวน 140 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน **(Figure15)** วางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว จำนวน 10 ผล/ถาด อบมะม่วงโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.1 อบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที แต่ละระยะเวลาที่กำหนดมีมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 100 ผล และมีมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อนจำนวน 40 ผล ทำการทดลอง 2 ครั้ง

**11. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า**

ในขั้นตอนการประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำต่อมะม่วง ตรวจสภาพความผิดปกติของผลมะม่วง ซึ่งมะม่วงทุกผลจะต้องไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือรอยแตก มะม่วงที่ใช้ในการทดลองมีน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล (มะม่วงขนาดกลาง) ใช้มะม่วงทั้งหมดจำนวน 160 ผล แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 120 ผล และมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 40 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน อบ

มะม่วงโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.2 อบมะม่วงภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้อุณหภูมิภายในสุดผลของมะม่วงเพิ่มขึ้นจนถึง 47 และ48.5 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลไว้ที่อุณหภูมิ 47 และ48.5 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ2 ชั่วโมง เมื่อสิ้นสุดการให้ความร้อน ลดอุณหภูมิมะม่วงทันทีโดยวิธีเป่าด้วยลม นาน 1 ชั่วโมง ด้วยเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ **(Figure 16)** เปรียบเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน นำมะม่วงทดลองทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อนบรรจุใส่ในกล่องกระดาษขนาด 35x50x12 เซนติเมตร **(Figure 17)** ด้านยาวทั้งสองข้างเจาะรู พร้อมทั้งปิดด้วยผ้าตาข่ายขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน 1.6 มิลลิเมตร จำนวน 4 รู เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน **(Figure 18)** เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดนำมะม่วงทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อนมาประเมินความเสียหายจากความร้อน โดยใช้หลักเกณฑ์พิจารณาและดำเนินการในหัวข้อต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

1. การสูญเสียน้ำหนัก (weight loss) ศึกษาการสูญเสียน้ำหนักของมะม่วงโดยคำนวณเป็นร้อยละของน้ำหนักที่สูญเสียไปด้วยวิธีการบันทึกน้ำหนักมะม่วงก่อนการทดลอง และในวันที่ตรวจผลการทดลองชั่งน้ำหนักผลมะม่วงอีกครั้งหนึ่ง

2. ปริมาณน้ำตาล (brix value) ในการทดลองแต่ละครั้งคั้นน้ำจากเนื้อมะม่วงที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล ซึ่งปริมาณน้ำตาลในรูปปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) มีหน่วยเป็นค่าองศาบริกซ์ การวัดปริมาณน้ำตาลจากเนื้อมะม่วงใช้เครื่อง digital refractometer (รุ่น DBX-30, atago Co., Ltd., Tokyo, Japan) **(Figure 19)**

3. ปริมาณกรด (acidity value) ในการทดลองแต่ละครั้ง คั้นน้ำจากเนื้อมะม่วงที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรด ซึ่งปริมาณกรดในรูปปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ การวัดปริมาณกรดจากเนื้อมะม่วงใช้เครื่อง digital acilyzer (รุ่น 5 006P) **(Figure 20)**

4. อาการเกิดโรคของผลมะม่วง (disease infection) สังเกตอาการเกิดโรคของผลมะม่วงที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน โดยสังเกตจากลักษณะรูปร่างภายนอกและภายในของผลมะม่วง ได้แก่ เปลือก สี เนื้อ และกลิ่นของผลมะม่วง

5. อาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ (spongy tissue) ทำการผ่าผลมะม่วงที่ผ่านความร้อนทั้งหมดเพื่อดูลักษณะอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำภายในผลมะม่วง

นำข้อมูลการสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ปริมาณกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ วิเคราะห์ผลทางสถิติ และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธีการตรวจสอบแบบ t-test

**12. การศึกษายืนยันประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า**

การศึกษายืนยันประสิทธิภาพของวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง โดยการประเมินประสิทธิภาพการกำจัดแมลงมีขั้นตอนและวิธีการดำเนินการดังต่อไปนี้ การทดลองนี้ใช้รูปแบบการทำลายของแมลงวันผลไม้ 2 รูปแบบ คือ ใช้วิธีการใส่หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง (artificial infestation method) และใช้วิธีการให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลมะม่วง (forced infestation method) แต่ละวิธีมีรายละเอียดดังนี้

**1. รูปแบบการทำลายโดยวิธีการใส่หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง** (artificial infestation method) ทำเช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 10 ใช้มะม่วงทดลอง จำนวน 400 ผล แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 300 ผล และมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 100 ผล นำมะม่วงทั้งหมดเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิโดยมีอุณหภูมิประมาณ 25-27 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำมะม่วงไปใช้ในการทดลอง

**2. รูปแบบการทำลายโดยวิธีการให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลมะม่วง** (forced infestation method) ห่อผลมะม่วงด้วยถุงพลาสติกใสให้แนบสนิทกับผิวมะม่วง ปิดด้วยเทปกาวให้แน่น และเจาะรูด้วยเข็มขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร ลงบนผลมะม่วงด้านใดด้านหนึ่ง จำนวน 5 รู/ผล ให้ทะลุเปลือกไปถึงเนื้อ **(Figure 21)** เพื่อบังคับให้แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ตัวเต็มวัยเพศเมียแทงอวัยวะวางไข่เข้าไปวางไข่ในผลมะม่วงผ่านรูที่เจาะไว้ ใช้มะม่วงทดลอง จำนวน 320 ผล แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 240 ผล และมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 80 ผล นำผลมะม่วงไปวางไว้ในกรงเลี้ยงแมลงขนาดเล็กที่มีแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยจำนวนประมาณ 2,000 ตัว โดยให้บริเวณที่เจาะรูอยู่ด้านบน **(Figure 22)** ใช้ระยะเวลาในการให้แมลงวางไข่นาน 25 นาที นำมะม่วงทั้งหมดเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ โดยมีอุณหภูมิประมาณ 25-27 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำมะม่วงไปใช้ในการทดลอง

ทำการอบมะม่วงในสภาพของตู้อบความร้อนมีปริมาณมะม่วงน้ำหนัก 87.00-177.50 กิโลกรัม/ลูกบาศก์เมตร (half load and full load) แบ่งมะม่วงที่มีแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 ที่อยู่ภายในผล ทั้ง 2 วิธี ออกเป็น 4 ส่วน เลือกมะม่วงทดลองที่ได้จากวิธีการใส่หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง และวิธีการให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลมะม่วง 1 ส่วน จำนวน 25 และ20 ผล เก็บไว้สำหรับใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน มะม่วงส่วนนี้จะใช้สำหรับการประมาณจำนวนแมลงทั้งหมดในมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) เนื่องจากว่าจำนวนแมลงที่มีชีวิตในมะม่วงที่ผ่านความร้อนนั้นไม่สามารถที่จะทำการตรวจสอบได้โดยตรง สำหรับมะม่วงอีก 3 ส่วน แบ่งจำนวนเท่า ๆ กัน ใส่ในภาชนะบรรจุผลไม้แบบกระบะพลาสติกแข็งทนความร้อนขนาด 36x70x15 เซนติเมตร กระบะเดียวกัน จำนวน 3 กระบะ ในแต่ละกระบะมีมะม่วงทดลองโดยวิธีการใส่หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง จำนวน 25 ผล/กระบะ และวิธีการให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลมะม่วง จำนวน 20 ผล/กระบะ **(Figure 23)** และใส่มะม่วงที่ไม่ใช้ในการทดลอง (filler fruit) **(Figure 24)** เฉลี่ยจำนวนเท่า ๆ กัน ในกระบะบรรจุผลไม้อีก 3 และ 9 กระบะ และนำไปวางซ้อนลงบนกระบะซึ่งบรรจุมะม่วงทดลองในสภาพที่ห้องบรรจุผลไม้ของเครื่องตู้อบความร้อนมีปริมาณมะม่วง 50 และ100

เปอร์เซ็นต์ (half load and full load) ของความจุตู้ **(Figure 25)** นำมะม่วงเข้าเครื่องตู้อบความร้อนเพื่อประเมินประสิทธิภาพของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 โดยให้มีแมลงทดลองจำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว ตายทั้งหมด

**13. การศึกษาความเสียหายต่อคุณภาพผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า**

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่อมะม่วงในสภาพจำลองการส่งออกมะม่วงทางเครื่องบินและทางเรือ โดยตรวจสภาพความผิดปกติของผลมะม่วง ซึ่งมะม่วงทุกผลจะต้องไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงหรือรอยแตก แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 120 ผล และมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 40 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อนวางมะม่วงที่ผ่านความร้อนไว้ในกระบะชั้นล่างสุดใส่ในภาชนะบรรจุผลไม้แบบกระบะพลาสติกแข็งทนความร้อนขนาด 36x70x15 เซนติเมตร จำนวน 3 กระบะ ในแต่ละกระบะมีมะม่วงทดลอง จำนวน 20 ผล/กระบะ **(Figure 26)** แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) ทางเครื่องบิน จำนวน 30 ผล และทางเรือ จำนวน 30 ผล และใส่มะม่วงที่ไม่ใช้ในการทดลอง (filler fruit) เฉลี่ยจำนวนเท่า ๆ กัน ให้เต็มความจุของกระบะ ในกระบะบรรจุผลไม้อีก 9 กระบะ และนำไปวางซ้อนลงบนกระบะซึ่งบรรจุมะม่วงทดลองในสภาพที่ห้องบรรจุผลไม้ของเครื่องตู้อบความร้อนมีปริมาณมะม่วง 100 เปอร์เซ็นต์ ของความจุตู้ **(Figure 27)** เพื่อประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที อบมะม่วงโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.2 โดยช่วงแรกจะให้ความร้อนด้วยวิธีอบอากาศร้อน อากาศร้อนที่หมุนเวียนภายในตู้อบความร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์ระหว่าง 50-80 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิภายในตู้เพิ่มขึ้นถึงระดับหนึ่งและอุณหภูมิภายในผลมะม่วงมีอุณหภูมิที่ 43 องศาเซลเซียส จึงปรับเปลี่ยนการให้ความร้อนเป็นวิธีอบไอน้ำอากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุดการให้ความร้อนลดอุณหภูมิมะม่วงภายในตู้อบความร้อน โดยวิธีเป่าด้วยลม นาน 1 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน นำมะม่วงทดลองทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน บรรจุใส่ในกล่องกระดาษขนาด 35x50x12 เซนติเมตร ด้านยาวทั้งสองข้างเจาะรูพร้อมทั้งปิดด้วยผ้าตาข่าย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน 1.6 มิลลิเมตร จำนวน 4 รู เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่ 15 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 7 และ14 วัน เพื่อจำลองสภาพการส่งออกมะม่วงทางเครื่องบินและทางเรือ เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดนำมะม่วงทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อนมาประเมินความเสียหายจากความร้อน โดยใช้หลักเกณฑ์การพิจารณาและดำเนินการให้เป็นไปตามข้อ 11 ทำการทดลอง 2 ครั้ง

**เวลาและสถานที่**

เวลา ระยะเวลาดำเนินงาน 3 ปี (ตุลาคม 2564 ถึง กันยายน 2567)

สถานที่ ที่ห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. สืบค้นฐานข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะประจำพันธุ์ชีววิทยาของมะม่วงมันเดือนเก้าเพื่อใช้ในการทดลอง**

มะม่วงมันเดือนเก้ามีชื่อวิทยาศาสตร์ และลักษณะทางพฤกษศาสตร์เหมือนกับมะม่วงทั่วไป เป็นไม้ยืนต้นมีลำต้นสูงประมาณ 10-20 เมตร แตกกิ่งก้านสาขาเยอะ ใบเป็นใบเดี่ยว สีเขียว ขอบใบเรียบ ดอกออกเป็นช่อที่ปลายยอด เกสรสีแดง มีผลขนาดใหญ่ ผลยาว 5-20 เซนติเมตร และกว้าง 4-8 เซนติเมตร ผลดิบมีรสชาดเปรี้ยว ผลแก่จัดมีรสชาดเปรี้ยวมันอมหวาน ผลสุกมีรสชาดหวาน แต่ไม่หวานจัดจะมีรสเปรี้ยวและมันผสมรวมอยู่ด้วยกัน เป็นมะม่วงกลิ่นแรง เนื้อละเอียด น้ำหนักต่อผลประมาณ 250-500 กรัม สามารถรับประทานได้ทั้งมะม่วงดิบและมะม่วงสุก แหล่งปลูกมะม่วงมันเดือนเก้าสำคัญอยู่ในพื้นที่อำเภอหนองเสือ และอำเภอลาดหลุมแก้ว จังหวัดปทุมธานี

**2. การเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในการทดลอง**

การเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ในห้องปฏิบัติเพื่อใช้ในการทดลอง ภายในห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ที่ควบคุมอุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 65-70 เปอร์เซ็นต์ โดยในการเลี้ยงแมลงแต่ละรุ่นจะตรวจสอบอัตราการฟักไข่ (hatching rate) อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate) น้ำหนักของดักแด้ (pupa weight) และอัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio) จากการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ พบว่า แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* มีความแข็งแรงตามมาตรฐานงานทดลองและสามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณได้มากกว่า 50,000 ตัว ซึ่งเพียงพอเพื่อใช้สำหรับงานทดลองการกำจัดแมลงด้วยความร้อนในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงมันเดือนเก้าด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์

**3. เครื่องตู้อบความร้อนและการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิ**

จากการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิตรวจสอบเปรียบเทียบกับปรอทวัดความร้อนมาตรฐาน โดยจุ่มแท่งวัดอุณหภูมิทั้งหมดรวมทั้งปรอทวัดความร้อนมาตรฐานลงในเครื่องอ่างน้ำร้อน ตั้งค่าเครื่องอ่างน้ำร้อนให้มีอุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เมื่อน้ำร้อนและมีอุณหภูมิคงที่จึงเริ่มการบันทึกอุณหภูมิ จากการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิ พบว่า แท่งวัดอุณหภูมิทั้งหมดสามารถคงอุณหภูมิที่ 47 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 99.9-100 เปอร์เซ็นต์ จากเครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้น (hybrid recorder) ที่อ่านค่าได้ทุก 5 นาที ซึ่งระยะเวลา อุณหภูมิ และความชื้นในการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิที่ 47 องศาเซลเซียส ได้แสดงไว้ใน **(Table 1 and 2)** โดยมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงเป็นระยะเวลานานติดต่อกันในช่วงเวลานาน 20 นาที

**4. การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้าและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์**

การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ ดำเนินการทดลองด้วยเครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็ก จำนวน 2 เครื่อง ใช้มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เป็นตัวเปรียบเทียบพันธุ์กับมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า โดยใช้หนอนวัย 1 เพื่อเป็นตัวแทนของแมลงในการเตรียมมะม่วงให้มีแมลงวันผลไม้อยู่ภายในผล (artificial infestation method) มะม่วงที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด จำนวน 270 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อนวางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว ในถาดบรรจุผลไม้ จำนวน 10 ผล/ถาด ซึ่งในถาดเดียวกันนั้นแยกเป็นมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า จำนวน 5 ผล และมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ จำนวน 5 ผล อบมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ในเครื่องตู้อบความร้อนเดียวกัน โดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.1 ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5 และ10 นาที รวมทั้งน้ำหนักมะม่วงกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ใน **(Table 3 and 4)** จากการทดลอง 3 ครั้ง พบว่าแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้ามีความทนทานต่อความร้อนมากกว่าหนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ โดยมีอัตราการตายเฉลี่ย 99.61 และ99.72 เปอร์เซ็นต์ **(Table 5 and 6)** โดยหนอนวัย 1 ตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ในผลมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์

**5. การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า**

การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง ใช้มะม่วงทั้งหมดจำนวน 165 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน วางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว จำนวน 5 ผล/ถาด อบมะม่วงโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.1 โดยระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที รวมทั้งน้ำหนักมะม่วงกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ใน **(Table 7 and 8)** จากการทดลอง 3 ครั้ง พบว่ามะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อนจำนวน 45 ผล มีแมลงวันผลไม้รอดชีวิต จำนวน 3,189 ตัว แสดงว่าในมะม่วงจำนวน 120 ผล ซึ่งผ่านความร้อนแต่ละระยะเวลาที่กำหนดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 รอดชีวิต จำนวน 700 ตัว ที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที โดยมีอัตราการตายของหนอนวัย 1 เฉลี่ย 64.19, 78.09, 91.90, 98.57, 100, 100, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ **(Table 9)** แสดงว่าที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 5 นาทีขึ้นไป สามารถกำจัดหนอนวัย 1 ในผลมะม่วงตายทั้งหมด

**6. การศึกษาประเมินประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า**

การศึกษาประเมินประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง อบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 เพื่อกำหนดกระบวนการอบไอน้ำที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในผลมะม่วงให้ตายทั้งหมด ใช้มะม่วงทั้งหมดจำนวน 140 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน วางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว จำนวน 10 ผล/ถาด อบมะม่วงโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.1 อบมะม่วงภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้อุณหภูมิภายในสุดผลมะม่วงเพิ่มขึ้นจนถึง 47 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลไว้ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงรวมทั้งน้ำหนักมะม่วงกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ใน **(Table 10 and 11)** จากการทดลอง 2 ครั้ง พบว่า มะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 40 ผล มีแมลงวันผลไม้รอดชีวิต จำนวน 2,890 ตัว แสดงว่าในมะม่วงจำนวน 100 ผล ซึ่งผ่านความร้อนแต่ละระยะเวลาที่กำหนดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 รอดชีวิต จำนวน 2 ตัว ที่อุณหภูมิผล 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที โดยมีอัตราการตายของหนอนวัย 1 เฉลี่ย 99.86, 99.86, 100, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ **(Table 12)**

จากการทดลองจึงประมาณการได้ว่ามะม่วงซึ่งผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส แต่ละระยะเวลาที่กำหนดจะมีหนอนที่รอดชีวิตได้จำนวนไม่น้อยกว่าประมาณ 7,225 ตัว ผลการตรวจนับจำนวนแมลงในผลมะม่วงจากการทดลองปรากฏว่าหนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงตายทั้งหมดเมื่อคงความร้อนที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เป็นเวลานานตั้งแต่ 10 นาทีขึ้นไป กระบวนการกำจัดแมลงดังกล่าวนี้มีความเป็นไปได้สูงที่จะมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงได้ตามข้อกำหนดของวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช ดังนั้นควรจะได้มีการทดสอบการศึกษายืนยันกระบวนการกำจัดแมลงดังกล่าวข้างต้น เพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชสำหรับกำจัดระยะไข่ และหนอนวัยต่าง ๆ ของแมลงวันผลไม้ในมะม่วงก่อนการส่งออก

**7. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า**

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำต่อมะม่วง ตรวจสภาพความผิดปกติของผลมะม่วง ซึ่งมะม่วงทุกผลจะต้องไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือรอยแตก แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 120 ผล และมะม่วงใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 40 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน อบมะม่วงด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) โดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วง ภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้อุณหภูมิภายในผลมะม่วงเพิ่มขึ้นจนถึง 47 และ48.5 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลไว้ที่อุณหภูมิ 47 และ48.5 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ2 ชั่วโมง ระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงรวมทั้งน้ำหนักมะม่วงกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ใน **(Table 13 and 14)** เมื่อสิ้นสุดการให้

ความร้อนลดอุณหภูมิผลมะม่วงโดยวิธีเป่าด้วยลมนาน 1 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน นำมะม่วงทดลองทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน บรรจุใส่ในกล่องกระดาษขนาด 35x50x12 เซนติเมตร ด้านยาวทั้งสองข้างเจาะรูพร้อมทั้งปิดด้วยผ้าตาข่าย จำนวน 4 รู เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดนำมะม่วงทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อนมาประเมินความเสียหายจากความร้อน จากการทดลองพบว่าการสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 47 และ48.5 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ2 ชั่วโมง หลังจากเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน โดยคุณภาพความหวานของมะม่วงไม่เปลี่ยนแปลง **(Table 15, 16, 17, 18 and 19)** โดยมะม่วงที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 48.5 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จะพบอาการเกิดโรคของผลมะม่วง (disease infection) **(Figure 28)** และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ (spongy tissue) **(Figure 29)** เมื่อผ่านความร้อนที่อุณหภูมิสูงและคงความร้อนไว้เป็นเวลานาน

**8. การศึกษายืนยันประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงมันเดือนเก้า**

เตรียมมะม่วงทดลองให้มีแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 อยู่ภายในผล ศึกษา 2 วิธีการ คือ 1. วิธีการใส่หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง (artificial infestation method) และ2. วิธีการให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลมะม่วง (forced infestation method) นำมะม่วงเข้าเครื่องตู้อบความร้อนเพื่อประเมินประสิทธิภาพของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ในการกำจัดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 จำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว ให้ตายทั้งหมด เพื่อการยอมรับเป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที รวมทั้งน้ำหนักมะม่วงกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ใน **(Table 20 and 21)** จากการทดลองพบว่า มะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อนจำนวน 100 และ80 ผล มีแมลงรอดชีวิตจำนวน จำนวน 7,352 และ5,016 ตัว ซึ่งมะม่วงที่ผ่านความร้อน จำนวน 300 และ240 ผล ไม่พบแมลงรอดชีวิต โดยสามารถกำจัดหนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ได้ประมาณ 37,104 ตัว ในผลมะม่วงตายทั้งหมด **(Table 22)**

ซึ่งวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ โดยช่วงแรกจะให้ความร้อนด้วยวิธีอบอากาศร้อน อากาศร้อนที่หมุนเวียนภายในตู้อบความร้อนมีจะความชื้นสัมพัทธ์ระหว่าง 50-80 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิภายในตู้เพิ่มขึ้นถึงระดับหนึ่ง และอุณหภูมิภายในผลมะม่วงมีอุณหภูมิที่ 43 องศาเซลเซียส จึงปรับเปลี่ยนการให้ความร้อนเป็นวิธีอบไอน้ำ อากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ (saturated condition) ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ กระบวนการอบมะม่วงดังกล่าวนี้มีประสิทธิภาพสูงได้ระดับมาตรฐานที่ยอมรับเป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช เพื่อใช้กำจัดแมลงวันผลไม้ระยะไข่และหนอนวัยต่าง ๆ ในมะม่วงก่อนการส่งออก

เพราะสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 ได้ตามมาตรฐานข้อกำหนดของประเทศญี่ปุ่นที่ระบุไว้ว่าวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชจะต้องกำจัดแมลงจำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว ตายทั้งหมด

**9. การศึกษาความเสียหายต่อคุณภาพผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า**

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่อมะม่วงในสภาพจำลองการส่งออกมะม่วงทางเครื่องบินและทางเรือ อบมะม่วงโดยช่วงแรกจะให้ความร้อนด้วยวิธีอบอากาศร้อน อากาศร้อนที่หมุนเวียนภายในตู้อบความร้อนจะมีความชื้นสัมพัทธ์ระหว่าง 50-80 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิภายในตู้เพิ่มขึ้นถึงระดับหนึ่งและอุณหภูมิภายในผลมะม่วงมีอุณหภูมิที่ 43 องศาเซลเซียส จึงปรับเปลี่ยนการให้ความร้อนเป็นวิธีอบไอน้ำ อากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เพื่อประเมินการสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน เมื่อเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 7 และ14 วัน ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที รวมทั้งน้ำหนักมะม่วงกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ใน **(Table 23)** จากการทดลองพบว่า สูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ **(Table 24 and 25)** เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที โดยคุณภาพความหวานของมะม่วงไม่เปลี่ยนแปลง

ผลไม้เกิดความเสียหายได้ทุก ๆ ขั้นตอนทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับผลไม้ที่ต้องผ่านวิธีการกำจัดศัตรูพืชก่อนการส่งออก เพื่อให้เป็นไปตามเงื่อนไขด้านกักกันพืชวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชนั้นจะต้องมีประสิทธิภาพในการกำจัดศัตรูพืชและไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ ถ้าหากทำให้คุณภาพของผลไม้เสียไปแล้วถือว่าวิธีการนั้นไม่มีประสิทธิภาพอย่างแท้จริง ดังนั้นวิธีการใดก็ตามที่ใช้สำหรับกำจัดแมลงศัตรูพืชในผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวควรจะมีผลทำให้ผลไม้เกิดความเสียหายน้อยที่สุด ความเสียหายของผลไม้จากวิธีการกำจัดศัตรูพืชหลังการเก็บเกี่ยวนั้นแสดงออกโดยสูญเสียคุณสมบัติด้านการตลาดหลายรูปแบบ ได้แก่ สีผล อายุการเก็บรักษา รูปลักษณ์ภายนอก การสุก รดชาด กลิ่น และความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุของโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยว (Goodwin and Jamikorn, 1952; McDonald and William, 1994) การที่คุณสมบัติดังกล่าวข้างต้นลดลงหรือผิดไปจากปกติจะมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

**1. สืบค้นฐานข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะประจำพันธุ์ชีววิทยาของมะม่วงมันเดือนเก้าเพื่อใช้ในการทดลอง**

มะม่วงมันเดือนเก้า เป็นไม้ยืนต้นสูง 10-20 เมตร แตกกิ่งก้านสาขาเยอะ ใบเป็นใบเดี่ยว สีเขียว ขอบใบเรียบ ดอกออกเป็นช่อที่ปลายยอด เกสรสีแดง มีผลขนาดใหญ่ ผลยาว 5-20 เซนติเมตร

และกว้าง 4-8 เซนติเมตร ผลดิบมีรสชาดเปรี้ยว ผลแก่จัดมีรสชาดเปรี้ยวมันอมหวาน ผลสุกมีรสชาดหวาน แต่ไม่หวานจัดจะมีรสเปรี้ยวและมันผสมรวมอยู่ด้วยกัน เป็นมะม่วงกลิ่นแรง เนื้อละเอียด น้ำหนักต่อผลประมาณ 250-500 กรัม สามารถรับประทานได้ทั้งมะม่วงดิบและมะม่วงสุก แหล่งปลูกมะม่วงมันเดือนเก้าสำคัญอยู่ในพื้นที่อำเภอหนองเสือ และอำเภอลาดหลุมแก้ว จังหวัดปทุมธานี

**2. การเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในการทดลอง**

การเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ในห้องปฏิบัติการ ภายในห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ที่ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น ในการเลี้ยงแมลงแต่ละรุ่นจะตรวจสอบอัตราการฟักไข่ อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย น้ำหนักของดักแด้ และอัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย จากการเพาะเลี้ยงและเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ พบว่า แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* มีความแข็งแรงตามมาตรฐานงานทดลองและสามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณได้มากกว่า 50,000 ตัว ซึ่งเพียงพอสำหรับใช้ในการทดลอง

**3. เครื่องตู้อบความร้อนและการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิ**

จากการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิตรวจสอบเปรียบเทียบกับปรอทวัดความร้อนมาตรฐาน โดยจุ่มแท่งวัดอุณหภูมิทั้งหมดรวมทั้งปรอทวัดความร้อนมาตรฐานลงในเครื่องอ่างน้ำร้อน ตั้งค่าเครื่องอ่างน้ำร้อนให้มีอุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เมื่อน้ำร้อนและมีอุณหภูมิคงที่จึงเริ่มการบันทึกอุณหภูมิ จากการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิ พบว่าแท่งวัดอุณหภูมิทั้งหมดสามารถคงอุณหภูมิที่ 47 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 99.9-100 เปอร์เซ็นต์ จากเครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้น (hybrid recorder) ที่อ่านค่าได้ทุก 5 นาที โดยมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงเป็นระยะเวลานานติดต่อกันในช่วงเวลานาน 20 นาที ซึ่งได้มาตรฐานงานทดลองของเครื่องตู้อบความร้อนในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง

**4. การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้าและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์**

การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ ใช้มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เป็นตัวเปรียบเทียบพันธุ์กับมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า อบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 จากการทดลองพบว่า แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้ามีความทนทานต่อความร้อนมากกว่าหนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ โดยมีอัตราการตายเฉลี่ย 99.61 และ99.72 เปอร์เซ็นต์ โดยหนอนวัย 1 ตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 47.0 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ในผลมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์

**5. การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า**

การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง อบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 จากการทดลองพบว่า มะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 45 ผล มีแมลงวันผลไม้รอดชีวิต จำนวน 3,189 ตัว แสดงว่า

ในมะม่วงจำนวน 120 ผล ซึ่งผ่านความร้อนแต่ละระยะเวลาที่กำหนดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 รอดชีวิต จำนวน 700 ตัว ที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที โดยมีอัตราการตายของหนอนวัย 1 เฉลี่ย 64.19, 78.09, 91.90, 98.57, 100, 100, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงว่าที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 5 นาทีขึ้นไป สามารถกำจัดหนอนวัย 1 ในผลมะม่วงตายทั้งหมด

**6. การศึกษาประเมินประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า**

การศึกษาประเมินประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง อบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 เพื่อกำหนดกระบวนการอบไอน้ำที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในผลมะม่วงให้ตายทั้งหมด จากการทดลองพบว่า มะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 40 ผล มีแมลงวันผลไม้รอดชีวิต จำนวน 2,890 ตัว แสดงว่าในมะม่วงจำนวน 100 ผล ซึ่งผ่านความร้อนแต่ละระยะเวลาที่กำหนดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 รอดชีวิต จำนวน 2 ตัว ที่อุณหภูมิผล 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที โดยมีอัตราการตายของหนอนวัย 1 เฉลี่ย 99.86, 99.86, 100, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

วิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนซึ่งใช้เป็นวิธีการกำจัดแมลงศัตรูพืชด้านกักกันพืชสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลไม้ก่อนการส่งออกไปต่างประเทศ การกำจัดแมลงโดยให้ความร้อนกับผลไม้ทำให้อุณหภูมิผลไม้เพิ่มขึ้นถึงอุณหภูมิระหว่าง 40-50 องศาเซลเซียส สามารถกำจัดระยะไข่ และระยะหนอนวัยต่าง ๆ ของแมลงวันผลไม้ในผลไม้ให้ตายทั้งหมด การทำให้ผลไม้ร้อนอุณหภูมิสูงขึ้นอาจจะเป็นการให้ความร้อนโดยตรงกับผลไม้ โดยอาศัยอากาศหรือน้ำเป็นสื่อนำความร้อน ความร้อนจากอากาศจะถ่ายเทไปที่เปลือกของผลไม้ และจากเปลือกจึงจะถ่ายเทเข้าไปยังเนื้อถึงบริเวณที่อยู่ภายในสุดผล จากการทดลองแสดงว่าการอบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที สามารถกำจัดหนอนวัย 1 ในผลมะม่วงจำนวนไม่น้อยกว่าประมาณ 7,225 ตัว ตายทั้งหมด กระบวนการกำจัดแมลงดังกล่าวนี้มีความเป็นไปได้สูงที่จะมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงได้ตามข้อกำหนดของวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช

**7. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า**

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำต่อมะม่วง อบมะม่วงโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้อุณหภูมิภายในผลของมะม่วงเพิ่มขึ้นถึง 47 และ48.5 องศาเซลเซียส และคงความร้อนไว้ที่อุณหภูมิ 47 และ48.5 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ2 ชั่วโมง จากการทดลองพบว่า การสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำไม่มีความแตกต่างกันจากมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 47 และ48.5 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ2 ชั่วโมง หลังจากเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน โดยคุณภาพความหวานของมะม่วงไม่เปลี่ยนแปลง

ซึ่งมะม่วงที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 48.5 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จะพบอาการเกิดโรคของผลมะม่วง (disease infection) และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ (spongy tissue) เมื่อผ่านความร้อนที่อุณหภูมิสูงและคงความร้อนไว้เป็นเวลานาน

**8. การศึกษายืนยันประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงมันเดือนเก้า**

การประเมินประสิทธิภาพของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 จำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว ให้ตายทั้งหมด เพื่อการยอมรับเป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช โดยวิธีการใส่หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง และวิธีการให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลมะม่วง จากการทดลองพบว่า มะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 100 และ80 ผล มีแมลงรอดชีวิต จำนวน 7,352 และ5,016 ตัว มะม่วงที่ผ่านความร้อน จำนวน 300 และ240 ผล ไม่พบแมลงรอดชีวิต โดยสามารถกำจัดหนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ได้จำนวนประมาณ 37,104 ตัว ในผลมะม่วงตายทั้งหมด

ซึ่งวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ โดยช่วงแรกจะให้ความร้อนด้วยวิธีอบอากาศร้อน อากาศร้อนที่หมุนเวียนภายในตู้อบความร้อนจะมีความชื้นสัมพัทธ์ระหว่าง 50-80 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิภายในตู้เพิ่มขึ้นถึงระดับหนึ่งและอุณหภูมิภายในผลมะม่วงมีอุณหภูมิที่ 43 องศาเซลเซียส จึงปรับเปลี่ยนการให้ความร้อนเป็นวิธีอบไอน้ำ อากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ (saturated condition) ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ กระบวนการอบมะม่วงดังกล่าวนี้มีประสิทธิภาพสูงได้ระดับมาตรฐานที่ยอมรับเป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช เพื่อใช้กำจัดแมลงวันผลไม้ในระยะไข่ และหนอนวัยต่าง ๆ ในมะม่วงก่อนการส่งออก

**9. การศึกษาความเสียหายต่อคุณภาพผลมะม่วงมันเดือนเก้า**

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่อมะม่วงในสภาพจำลองการส่งออกมะม่วงทางเครื่องบินและทางเรือ อบมะม่วงที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ซึ่งการสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน เมื่อเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 7 และ14 วัน พบว่า การสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที โดยคุณภาพความหวานของมะม่วงไม่เปลี่ยนแปลง

ผลไม้เกิดความเสียหายได้ทุก ๆ ขั้นตอนทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวโดยเฉพาะอย่างยิ่งกับผลไม้ที่ต้องผ่านวิธีการกำจัดศัตรูพืชก่อนการส่งออกเพื่อให้เป็นไปตามเงื่อนไขด้านกักกันพืช วิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชนั้นจะต้องมีประสิทธิภาพในการกำจัดศัตรูพืชและไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ ถ้าหากทำให้คุณภาพของผลไม้เสียไปแล้วถือว่าวิธีการนั้นไม่มีประสิทธิภาพอย่าง

แท้จริง ดังนั้นวิธีการใดก็ตามที่ใช้สำหรับกำจัดแมลงศัตรูพืชในผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวควรจะมีผลทำให้ผลไม้เกิดความเสียหายน้อยที่สุด ความเสียหายของผลไม้จากวิธีการกำจัดศัตรูพืชหลังการเก็บเกี่ยวนั้นแสดงออกโดยสูญเสียคุณสมบัติด้านการตลาดหลายรูปแบบ ได้แก่ สีผล อายุการเก็บรักษา รูปลักษณ์ภายนอก การสุก รดชาด กลิ่น และความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุของโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยว การที่คุณสมบัติดังกล่าวข้างต้นลดลงหรือผิดไปจากปกติจะมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค

**คำขอบคุณ**

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงก่อนการส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น ซึ่งได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากกองทุนสนับสนุนงานวิจัยด้านการเกษตร ขอขอบพระคุณท่านผู้เชี่ยวชาญด้านกักกันพืชและที่ปรึกษากรมวิชาการเกษตร คุณอุดร อุณหวุฒิ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกันทุกท่านที่มีส่วนช่วยในการเตรียมการทดลองรวมถึงตรวจผลการทดลอง

**เอกสารอ้างอิง**

กรมวิชาการเกษตร. 2562. แมลงวันผลไม้และการป้องกันกำจัด. [ออนไลน์] [อ้างถึง 26 กรกฎาคม 2563] แหล่งข้อมูล: http://www.doa.go.th/pibai/pibai/n12/v_10_nov/rai.html.

ชัยณรัตน์ สนศิริ สลักจิต พานคำ ชลธิชา รักใคร่ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ พุฒิพงษ์ เพ็งฤกษ์ และพงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์. 2562. การศึกษายืนยันประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงด้วยความร้อนเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera carambolae* (Diptera: Tephritidae) ในมังคุดก่อนการส่งออกไปประเทศไต้หวัน. การประชุมวิชาการของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ประจำปี 2562. 10-12 มิถุนายน 2562. ณ. รอยัลฮิลส์ กอล์ฟ รีสอร์ท แอนด์ สปา จ. นครนายก. เอกสารการประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 29 หน้า.

ชัยณรัตน์ สนศิริ สลักจิต พานคำ ชลธิชา รักใคร่ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ พุฒิพงษ์ เพ็งฤกษ์ และพงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์. 2563. การกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) (Diptera: Tephritidae) ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ เพื่อเปิดตลาดมังคุดไปไต้หวัน. การประชุมวิชาการของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ประจำปี 2563. 17-18 กันยายน 2563. ณ. อาคารเฉลิมพระเกียรติ สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. เอกสารการประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 15 หน้า.

เทคโนโลยีชาวบ้าน. 2562. มะม่วงมันเดือนเก้า ไม้ผลทำเงิน ขายดีติดตลาด. [ออนไลน์] [อ้างถึง 23 มกราคม 2563] แหล่งข้อมูล: http://www.technologychaban.com.

มนตรี จิระสุรัตน์. 2544. แมลงวันผลไม้ที่สำคัญของประเทศไทยและการแพร่กระจาย. แมลงวันผลไม้ในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกองกีฏวิทยาและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 6 หน้า.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2550. โรงงานอบไอน้ำเพื่อการส่งออก. คู่มืออารักขาพืช 13 (1): 2.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2552. การกำจัดแมลงในผลไม้เพื่อการส่งออกด้วยวิธีการอบไอน้ำ. หน้า. 43-46. *ใน*: เทคโนโลยีการผลิตและการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองนอกฤดูเพื่อการส่งออก. โดยภารกิจโครงการและประสานงานวิจัย, สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. กรุงเทพฯ.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2552. ขั้นตอนการอบไอน้ำมะม่วงและมังคุดสดจากประเทศไทยเพื่อการส่งออกไปญี่ปุ่น. *ใน*: การประชุมเชิงปฏิบัติการเรื่องเทคโนโลยีการผลิตและการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองเพื่อการส่งออก. 30 มิถุนายน-1 กรกฎาคม 2552. ณ. โรงแรมท็อปแลนด์พลาซ่า จ. พิษณุโลก. (เอกสารแจกในที่ประชุม)

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2554. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อนในส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งเพื่อการส่งออก. หน้า. 43-46. *ใน*: การประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืช 28-30 มิถุนายน 2554. ณ. โรงแรมทวาราวดี จ. ปราจีนบุรี. เอกสารการประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2555. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันทองด้วยความร้อนในผลมะละกอเพื่อการส่งออก. เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาศัตรูพืชหมดปัญหาเมื่ออารักขาถูกวิธี. 7-9 สิงหาคม 2555. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 100 หน้า.

อุดร อุณหวุฒิ จำลอง เจตนะจิตร มานะ พุ่มทอง พวงผกา คมสัน อวยชัย สมิตะสิริ จำลอง ลภาสาธุกุล วลัยกร วรวิศิษฏ์ธำรง และรัชฎา อินทรกำแหง. 2529. การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำเพื่อกำจัดแมลงวันทองและแมลงวันแตงในผลมะม่วงพันธุ์หนังกลางวัน. ว. วิชาการ กษ. 4: 43-66.

อุดร อุณหวุฒิ มานะ พุ่มทอง รัชฎา อินทรกำแหง วลัยกร วรวิศิษฏ์ธำรง และประเทือง ศรีสุข. 2536. การศึกษาความต้านทานต่อความร้อนของแมลงวันทองวัยที่ 1 ในมะม่วงหนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง. ว. วิชาการ กษ. 11: 133-147.

อุดร อุณหวุฒิ. 2541. การกำจัดแมลงวันผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว. ฝ่ายกักกันพืช, กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 129 หน้า.

อุดร อุณหวุฒิ สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชุติมา อ้อมกิ่ง จารุวรรณ จันทรา และรัชฎา อินทรกำแหง. 2549. การวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในส้มโอเพื่อส่งออก. ผลงานวิจัยเพื่อพัฒนาเป็นผลงานวิจัยดีเด่นประจำปี 2549, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. หน้า. 125-143.

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.

CABI. 2014. Invasive Species Compendium. *Bactrocera dorsalis* http://www.cabi.org /isc/datasheet/17685. (26 July 2014).

Goodwin, T.W. and M. Jamikorn. 1952. Biosynthesis of carotenes in ripening tomatoes Nature. 170: 104-105.

Intarakumheng, R., U. Unahawutti, S. Phankum, C. Sonsiri, M. Srimartpirom, C. Ormking and J. Chantra. 2006. Thermal tolerance of the first instar larvae of oriental fruit fly to modified vapor heat treatment in Mahachanok and Nang Klarngwan mangoes. A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF) for approval of a quarantine treatment on Mahachanok mango to be exported from Thailand to Japan. Plant Quarantine Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture. Bangkok 38 p.

Intarakumheng, R., S. Phankum, C. Sonsiri, M. Srimartpirom, C. Ormking and U. Unahawutti. 2013. Evaluation of modified vapor heat treatment as quarantine treatment for Khiaosawoey and Chokanan mangoes infested with oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF) for market access of Khiaosawoey and Chokanan mangoes from Thailand to Japan. Plant Quarantine Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture. Bangkok. 139 p.

Iwaizumi, R. 2004. Species and host record of the *Bactrocera dorsalis* complex (Diptera: Tephritidae) detected by the plant quarantine of Japan. Applied Entomology and Zoology 39 (2): 327-333.

Jennifer, L. and G. Kaufman. 2012. Featured Greatures. University of Florida http://www.entnemdept.ufl.edu/creatures/fruit/tropical/oriental_fruit_fly.htm (26 July 2014).

MAFF (Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries). 2010. Summary of proposed Revisions to the Enforcement Ordinance of the Plant Protection Law and Concerned Public Notice Retrieved February1, 2012 from http://www.members. wto.org/crnattachments/2010/sps/JPN/10_4194_00_e.pdf

McDonald, R.E. and W.R. Miller. 1994. Quality and condition maintenance. *In*: J.L. Sharp and G.Y. Hallman (eds.), Quarantine treatment for pests of food plant. Westview Press, Inc., Boulder, Cololado, USA. pp. 249-277.

Miyazaki, I. 2010. How to prepare the technical report on vapor heat disinfestations test. *In*: Report of the thermal treatment for the disinfestations of fruit flies. Naha Plant Protection Station, Ministry of Agriculture Forestry and Fisheries, Okinawa International Centre. Japan International Cooperation Agency, Japan. 30 p.

Shimizu, Y., T. Kohama, T. Uesato, T. Matsuyama and M. Yamagishi. 2007. Invasion of solanum fruit fly *Bactrocera latifrons* (Diptera: Tephritidae) to Yonaguni Island, Okinawa Prefecture, Japan. Appl. Entomol. Zool. 42 (2): 269-275.

Sonsiri, C., W. Rattanadechakul, S. Phankum, M. Srimartpirom and C. Ormking. 2015. Modified Vapor Heat Treatment for Mangosteen Infested with *Bactrocera dorsalis*, *B. carambolae* and *B. papayae* (Diptera: Tephritidae) for Export. A research submitted to Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine (BAPHIQ) Council of Agriculture, Executive Yuan Taipei City Taiwan, R.O.C. Plant Quarantine Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture. Bangkok. 26 p.

Srimartpirom, M. 2010. The final report of thermal treatment for the disinfestations of fruit flies from Thailand. p 95. *In*: Report of the thermal treatment for the disinfestations of fruit flies. Naha Plant Protection Station, Ministry of Agriculture Forestry and Fisheries, Okinawa International Centre. Japan International Cooperation Agency, Japan. 100 p.

Thomas, D. B. 2004. Hot peppers as a host for the Mexican fruit fly *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). Florida Entomologist 87 (4): 603-608.

Unahawutti, U., C. Chettanachitara, M. Poomthong, P. Konson, E. Smitasiri, C. Lapasathukool, W. Worawisitthumrong and R. Intarakumheng. 1986. Vapor heat treatment for 'Nang Klarngwun' mango, *Mangifera indica* Linn., infested with eggs and larvae of the oriental fruit fly, *Dacus dorsalis* Hendel and the melon fly, *Dacus cucurbitae* Coquillett (Diptera: Tephritidae). Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture. Bangkok. 108 p.

Unahawutti, U., M. Poomthong, R. Intarakumheng, W. Worawisitthumrong, C. Lapasathukool, E. Smitasiri, P. Srisoon and C. Ratanawaraha. 1991. Vapor heat as plant quarantine treatment of 'Nang Klarngwan', 'Nam Dorkmai', 'Rad' and 'Pimsen Daeng' mangoes infested with fruit flies (Diptera: Tephritidae). Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture. Bangkok. 342 p.

Unahawutti, U., S. Phankum, P. Ongthonglang and C. Chettanachitara. 1999. Heated-air quarantine treatment for mangosteen infested with oriental fruit fly (Diptera: Tephitidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on Thai mangosteen to be exported to Japan. Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture. Bangkok. 630 p.

Unahawutti, U., S. Phankum, M. Srimartpirom, C. Ormking, C. Sonsiri, J. Chantra, and R. Intarakumheng. 2006. Heated-air quarantine treatment for pummelo infested with oriental fruit fly (Diptera: Tephitidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on Thai pummelo to be exported to Japan. Plant Quarantine Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture. Bangkok. 135 p.

Watanabe, N., F. Ichinohe and M. Sonda. 1973. Improvement of corn flour medium for larval culture of oriental fruit fly. Res. Bull. Plant Prot. Japan. 11: 57-58.

White, I. M. and M. M. Elson-Harris. 1992. Fruit flies of economic significance: Their identification and bionomics. CAB International, Wallingford, UK. 601 p.

**Table 1** Calibration factor obtained from each sensor of the vapor heat treatment system (VHT chamber no.1)

| Date/Time | Number of sensor[1/] | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 7/3/2022 | 1 | 2 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
| 12:10 | 47.0 | 99.9 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 |
| 12:15 | 47.0 | 100.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 |
| 12:20 | 47.0 | 100.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 |
| 12:25 | 47.0 | 100.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 |
| 12:30 | 47.0 | 100.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 |

[1/]The test was conducted by dipping all sensors into constant temperature water bath at 47.0 °C for 0:20 minutes.

**Table 2** Calibration factor obtained from each sensor of the vapor heat treatment System (VHT chamber no.2)

| Date/Time | Number of sensor[1/] | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 7/3/2022 | 1 | 2 | 4 | 5 | 6 | 8 | 9 | 10 |
| 11:00 | 47.0 | 100.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 |
| 11:05 | 47.0 | 100.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 |
| 11:10 | 47.0 | 100.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 |
| 11:15 | 47.0 | 100.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 |
| 11:20 | 47.0 | 100.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 |

[1/]The test was conducted by dipping all sensors into constant temperature water bath at 47.0 °C for 0:20 minutes.

**Table 3** Time for center of mango to attain 45.0, 46.0, 46.5 and 47.0 °C for various holding times during modified vapor heat treatment in comparative heat tolerance test

| Rep. | Load factor (kg/cum) | Sensor fruit weight (g) | | | Time (min.)[1/] | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 0:00 | 0:00 | 0:00 | 0:00 | 0:05 | 0:10 |
| 1 | 21.58 | 336.78 | 337.07 | 337.71 | 2:10 | 2:19 | 2:25 | 2:34 | 2:39 | 2:44 |
| 2 | 21.77 | 342.83 | 344.72 | 347.27 | 2:14 | 2:23 | 2:30 | 2:42 | 2:47 | 2:52 |
| 3 | 21.32 | 347.60 | 347.98 | 355.25 | 2:12 | 2:21 | 2:28 | 2:37 | 2:42 | 2:47 |

[1/]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

**Table 4** Time for center of mango to attain 43.0, 45.0, 46.0, 46.5 and 47.0 °C during modified vapor heat treatment in comparative heat tolerance test

| Rep. | Time for fruit center to reach 43.0 °C (h)[1/] | Time for fruit center to reach 45.0, 46.0, 46.5, 47.0 °C (h)[1/] | | | | Time form 43.0 to 45.0, 46.0, 46.5, 47.0 °C (h)[1/] | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1:53 | 2:10 | 2:19 | 2:25 | 2:34 | 0:17 | 0:26 | 0:32 | 0:41 |
| 2 | 1:58 | 2:14 | 2:23 | 2:30 | 2:42 | 0:16 | 0:25 | 0:32 | 0:44 |
| 3 | 1:56 | 2:12 | 2:21 | 2:28 | 2:37 | 0:16 | 0:25 | 0:32 | 0:41 |
| **Average** | **1:56** | **2:12** | **2:21** | **2:28** | **2:38** | **0:16** | **0:25** | **0:32** | **0:42** |

[1/]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

**Table 5** Mortality[1/] of first instar of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in mango (Man Duen Kaw) treated with modified vapor heat treatment in comparative heat tolerance test

| Treatment[2/] | Number of treated (larvae) | Number of alive (larvae) | Number of dead (larvae) | Corrected mortality (%)[3/] |
|---|---|---|---|---|
| Control | 4,500 | 3,139 | 1,361 | 0 |
| 45.0 ° C | 1,500 | 810 | 690 | 22.63 |
| 46.0 ° C | 1,500 | 576 | 924 | 54.44 |
| 46.5 ° C | 1,500 | 138 | 1,362 | 86.75 |
| 47.0 ° C | 1,500 | 8 | 1,492 | 99.22 |
| 47.0 ° C + 0:05 min. | 1,500 | 4 | 1,496 | 99.61 |
| 47.0 ° C + 0:10 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |

[1/]Combined data of 3 replicates.

[2/]Treatment: 5 fruits infested with 100 individuals/fruit.

Control: 15 fruits infested with 100 individuals/fruit.

[3/]Mortality is corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925)

**Table 6.** Mortality[1/] of first instar of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in mango (Nam Dok Mai) treated with modified vapor heat treatment in comparative heat tolerance test

| Treatment[2/] | Number of treated (larvae) | Number of alive (larvae) | Number of dead (larvae) | Corrected mortality (%)[3/] |
|---|---|---|---|---|
| Control | 4,500 | 3,248 | 1,252 | 0 |
| 45.0 ° C | 1,500 | 403 | 1,097 | 50.84 |
| 46.0 ° C | 1,500 | 341 | 1,159 | 68.56 |
| 46.5 ° C | 1,500 | 62 | 1,438 | 94.26 |
| 47.0 ° C | 1,500 | 10 | 1,490 | 97.22 |
| 47.0 ° C + 0:05 min. | 1,500 | 1 | 1,499 | 99.72 |
| 47.0 ° C + 0:10 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |

[1/]Combined data of 3 replicates.

[2/]Treatment: 5 fruits infested with 100 individuals/fruit.

Control: 15 fruits infested with 100 individuals/fruit.

[3/]Mortality is corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925).

**Table 7** Time for center of mango to attain 45.0, 46.0, 46.5 and 47.0 °C for variousholding times during modified vapor heat treatment in preliminary disinfestation test

| Rep. | Load factor (kg/cum) | Sensor fruit weight (g) | | | Time (min.)[1/] | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 0:00 | 0:00 | 0:00 | 0:00 | 0:05 | 0:10 | 0:15 | 0:20 |
| 1 | 13.54 | 354.91 | 355.27 | 355.1 | 2:17 | 2:26 | 2:32 | 2:43 | 2:48 | 2:53 | 2:58 | 3:05 |
| 2 | 14.12 | 355.62 | 355.75 | 358.18 | 2:13 | 2:22 | 2:30 | 2:41 | 2:46 | 2:51 | 2:56 | 3:05 |
| 3 | 13.55 | 363.75 | 364.10 | 367.23 | 2:19 | 2:30 | 2:38 | 2:48 | 2:53 | 2:58 | 3:05 | 3:10 |

[1/]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

**Table 8** Time for center of mango to attain 43.0, 45.0, 46.0, 46.5 and 47.0 °C during modified vapor heat treatment in preliminary disinfestation test

| Rep. | Time for fruit center to reach 43.0 °C (h)[1/] | Time for fruit center to reach 45.0, 46.0, 46.5, 47.0 °C (h)[1/] | | | | Time form 43.0 to 45.0, 46.0, 46.5, 47.0 °C (h)[1/] | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2:00 | 2:17 | 2:26 | 2:32 | 2:43 | 0:17 | 0:26 | 0:32 | 0:43 |
| 2 | 1:56 | 2:13 | 2:22 | 2:30 | 2:41 | 0:17 | 0:26 | 0:34 | 0:45 |
| 3 | 2:00 | 2:19 | 2:30 | 2:38 | 2:48 | 0:19 | 0:30 | 0:38 | 0:48 |
| **Average** | **1:58** | **2:16** | **2:26** | **2:33** | **2:44** | **0:18** | **0:27** | **0:35** | **0:45** |

[1/]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

**Table 9** Mortality[1/] of first instar of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in mango (Man Duen Kaw) treated with modified vapor heat treatment in preliminary disinfestation test

| Treatment[2/] | Number of treated (larvae) | Number of alive (larvae) | Number of dead (larvae) | Corrected mortality (%)[3/] |
|---|---|---|---|---|
| Control | 4,500 | 3,189 | 1,311 | 0 |
| 45.0 ° C | 1,500 | 379 | 1,121 | 64.19 |
| 46.0 ° C | 1,500 | 231 | 1,269 | 78.09 |
| 46.5 ° C | 1,500 | 85 | 1,415 | 91.90 |
| 47.0 ° C | 1,500 | 5 | 1,495 | 98.57 |
| 47.0 ° C + 0:05 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |
| 47.0 ° C + 0:10 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |
| 47.0 ° C + 0:15 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |
| 47.0 ° C + 0:20 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |

[1/]Combined data of 3 replicates.

[2/]Treatment: 5 fruits infested with 100 individuals/fruit.

Control: 15 fruits infested with 100 individuals/fruit.

[3/]Mortality is corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925)

**Table 10** Time for center of mango to attain 47.0 ° C for various holding times during modified vapor heat treatment in intermediate disinfestation test

| Rep. | Load factor (kg/cum) | Sensor fruit weight (g) | | | Time (min.)[1/] | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 0:00 | 0:05 | 0:10 | 0:15 | 0:20 |
| 1 | 17.25 | 371.22 | 372.17 | 372.28 | 2:06 | 2:11 | 2:16 | 2:21 | 2:26 |
| 2 | 17.24 | 372.06 | 372.25 | 374.90 | 2:08 | 2:13 | 2:18 | 2:23 | 2:28 |

[1/]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

**Table 11** Time for center of mango to attain 43.0 and 47.0 ° C during modified vapor heat treatment in intermediate disinfestation test

| Rep. | Time for fruit center to reach 43.0 ° C (h)[1/] | Time for fruit center to reach 47.0 ° C (h)[1/] | Time form 43.0 to 47.0 ° C (h)[1/] |
|---|---|---|---|
| 1 | 1:20 | 2:06 | 0:46 |
| 2 | 1:22 | 2:08 | 0:46 |
| **Average** | **1:21** | **2:07** | **0:46** |

[1/]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

**Table 12** Mortality[1/] of first instar of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in mango (Man Duen Kaw) treated with modified vapor heat treatent in intermediate disinfestation test

| Treatment[2/] | Number of treated (larvae) | Number of alive (larvae) | Number of dead (larvae) | Corrected mortality (%)[3/] |
|---|---|---|---|---|
| Control | 4,000 | 2,890 | 1,110 | 0 |
| 47.0 ° C + 0:00 min. | 2,000 | 1 | 1,999 | 99.86 |
| 47.0 ° C + 0:05 min. | 2,000 | 1 | 1,999 | 99.86 |
| 47.0 ° C + 0:10 min. | 2,000 | 0 | 2,000 | 100 |
| 47.0 ° C + 0:15 min. | 2,000 | 0 | 2,000 | 100 |
| 47.0 ° C + 0:20 min. | 2,000 | 0 | 2,000 | 100 |

[1/]Combined data of 2 replicates.

[2/]Treatment: 10 fruits infested with 100 individuals/fruit.

Control: 20 fruits infested with 100 individuals/fruit.

[3/]Mortality is corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925).

**Table 13** Time for center of mango to attain 47.0 and 48.5 ° C for various holding times during modified vapor heat treatment in fruit injury test

| Temp. | Load factor (kg/cum.) | Rep. | Sensor fruit weight (g) | | | Time (h)[1/] 0:00 | 1:00 | 2:00 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 47.0 ° C | 10.39 | 1 | 356.24 | 356.78 | 358.12 | 2:21 | 3:21 | 4:21 |
| | 10.41 | 2 | 354.11 | 356.48 | 356.67 | 2:25 | 3:25 | 4:25 |
| 48.5 ° C | 10.22 | 1 | 361.14 | 361.69 | 361.87 | 2:21 | 3:21 | 4:21 |
| | 10.10 | 2 | 359.59 | 359.67 | 359.71 | 2:22 | 3:22 | 4:22 |

[1/]Time for center of only 3 sensor fruits to attain target temperature.

**Table 14** Time for center of mango to attain 43.0, 47.0 and 48.5 ° C during modified vapor heat treatment in fruit injury test

| Temp. | Rep. | Time for fruit center to reach 43.0 ° C (h)[1/] | Time for fruit center to reach 47.0, 48.5 ° C (h)[1/] | Time form 43.0 to 47.0, 48.5 ° C (h)[1/] |
|---|---|---|---|---|
| 47.0 ° C | 1 | 1:25 | 2:21 | 0:56 |
| | 2 | 1:29 | 2:25 | 0:56 |
| 48.5 ° C | 1 | 1:20 | 2:21 | 1:01 |
| | 2 | 1:22 | 2:22 | 1:00 |
| | **Average** | **1:24** | **2:22** | **0:58** |

[1/]Time for center of only 3 sensor fruits to attain target temperature.

**Table 15** Weight loss (%) of mango treated with modified vapor heat treatment center temperature 47.0 and 48.5 °C for various holding times and 7 days chamber at 15 °C

| Rep. | Treatment[1/] | Weight loss (%)[ns] | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 0:00 h | 1:00 h | 2:00 h |
| 1 | 47.0 °C | 5.06 | 4.87 | 5.03 |
| | Control | 5.01 | | |
| | t-test 47.0 °C vs Control | | | |
| | 48.5 °C | 4.94 | 5.14 | 5.14 |
| | Control | 4.98 | | |
| | t-test 48.5 °C vs Control | | | |
| 2 | 47.0 °C | 4.97 | 4.77 | 5.20 |
| | Control | 4.90 | | |
| | t-test 47.0 °C vs Control | | | |
| | 48.5 °C | 5.22 | 5.23 | 4.99 |
| | Control | 5.29 | | |
| | t-test 48.5 °C vs Control | | | |

[1/] Treatment: mean of 10 fruits, Control: mean of 10 fruits.

[ns] Non difference was statistically significant by t-test.

* The difference was statistically significant by t-test.

**Table 16** Total soluble solid ($^0$Brix) of mango treated with modified vapor heattreatment center temperature 47.0 and 48.5 °C for various holding times and 7 days chamber at 15 °C

| Rep. | Treatment[1/] | Brix value (Brix)[ns] | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 0:00 h | 1:00 h | 2:00 h |
| 1 | 47.0 °C | 13.98 | 12.40 | 13.42 |
| | Control | 14.15 | | |
| | t-test 47.0 °C vs Control | | | |
| | 48.5 °C | 16.08 | 14.13 | 10.45 |
| | Control | 14.49 | | |
| | t-test 48.5 °C vs Control | | | |
| 2 | 47.0 °C | 13.39 | 15.60 | 13.64 |
| | Control | 14.45 | | |
| | t-test 47.0 °C vs Control | | | |
| | 48.5 °C | 14.96 | 15.37 | 11.37 |
| | Control | 15.39 | | |
| | t-test 48.5 °C vs Control | | | |

[1/] Treatment: mean of 10 fruits, Control: mean of 10 fruits.

[ns] Non difference was statistically significant by t-test.

* The difference was statistically significant by t-test.

**Table 17** Acidity (%) of mango treated with modified vapor heat treatment center temperature 47.0 and 48.5 °C for various holding times and 7 days chamber at 15 °C.

| Rep. | Treatment[1/] | Acidity (%)[ns] | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 0:00 h | 1:00 h | 2:00 h |
| 1 | 47.0 °C | 0.15 | 0.38 | 0.24 |
| | Control | 0.15 | | |
| | t-test 47.0 °C vs Control | | | |
| | 48.5 °C | 0.62 | 0.26 | 0.21 |
| | Control | 0.33 | | |
| | t-test 48.5 °C vs Control | | | |
| 2 | 47.0 °C | 0.20 | 0.26 | 0.14 |
| | Control | 0.24 | | |
| | t-test 47.0 °C vs Control | | | |
| | 48.5 °C | 0.24 | 0.19 | 0.11 |
| | Control | 0.14 | | |
| | t-test 48.5 °C vs Control | | | |

[1/] Treatment: mean of 10 fruits, Control: mean of 10 fruits.

[ns] Non difference was statistically significant by t-test.

* The difference was statistically significant by t-test.

**Table 18** The occurrence of disease infection (%) of mango treated with modified vapor heat treatment center temperature 47.0 and 48.5 °C for various holding times and 7 days chamber at 15 °C

| Rep. | Treatment[1/] | Disease infection (%)[ns] | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 0:00 h | 1:00 h | 2:00 h |
| 1 | 47.0 °C | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | Control | 0.00 | | |
| | t-test 47.0 °C vs Control | | | |
| | 48.5 °C | 0.00 | 0.00 | 0.10 |
| | Control | 0.00 | | |
| | t-test 48.5 °C vs Control | | | |
| 2 | 47.0 °C | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | Control | 0.00 | | |
| | t-test 47.0 °C vs Control | | | |
| | 48.5 °C | 0.00 | 0.00 | 0.10 |
| | Control | 0.00 | | |
| | t-test 48.5 °C vs Control | | | |

[1/]Treatment: mean of 10 fruits, Control: mean of 10 fruits.

[ns]Non difference was statistically significant by t-test.

*The difference was statistically significant by t-test.

**Table 19** The occurrence of spongy tissue (%) of mango treated with modified vapor heat treatment center temperature 47.0 and 48.5 °C for various holding times and 7 days chamber at 15 °C

| Rep. | Treatment[1/] | Spongy tissue (%)[ns] | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 0:00 h | 1:00 h | 2:00 h |
| 1 | 47.0 °C | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | Control | 0.00 | | |
| | t-test 47.0 °C vs Control | | | |
| | 48.5 °C | 0.00 | 0.00 | 0.10 |
| | Control | 0.00 | | |
| | t-test 48.5 °C vs Control | | | |
| 2 | 47.0 °C | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | Control | 0.00 | | |
| | t-test 47.0 °C vs Control | | | |
| | 48.5 °C | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | Control | 0.00 | | |
| | t-test 48.5 °C vs Control | | | |

[1/] Treatment: mean of 10 fruits, Control: mean of 10 fruits.

[ns] Non difference was statistically significant by t-test.

* The difference was statistically significant by t-test.

**Table 20** Time for center of mango to attain 47.0 °C for 0:20 minutes during modified vapor heat treatment in large scale disinfestation test

| Rep. | Loading (kg/cum.) | Sensor fruit weight (g) | | | Time (h)[1/] | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 0:00 | 0:20 |
| **Half load: 87.00-87.50 kg/cum.** | | | | | | |
| 1 | 87.00 | 358.83 | 359.23 | 361.95 | 2:24 | 2:44 |
| 2 | 87.50 | 352.20 | 352.42 | 352.82 | 2:25 | 2:45 |
| **Full load: 177.00-177.50 kg/cum.** | | | | | | |
| 1 | 177.50 | 362.02 | 363.65 | 365.38 | 2:52 | 3:12 |
| 2 | 177.00 | 368.33 | 369.10 | 375.00 | 3:01 | 3:21 |

[1/]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

**Table 21** Time for center of mango to attain 43.0 and 47.0 °C during modified vapor heat treatment in large scale disinfestation test

| Rep. | Time for fruit center to reach 43.0 °C (h)[1/] | Time for fruit center to reach 47.0 °C (h)[1/] | Time form 43.0 to 47.0 °C (h)[1/] |
|---|---|---|---|
| **Half load: 87.00-87.50 kg/cum.** | | | |
| 1 | 1:35 | 2:24 | 0:49 |
| 2 | 1:35 | 2:25 | 0:50 |
| **Average** | **1:35** | **2:24** | **0:49** |
| **Full load: 177.00-177.50 kg/cum.** | | | |
| 1 | 1:57 | 2:52 | 0:55 |
| 2 | 2:06 | 3:01 | 0:55 |
| **Average** | **2:01** | **3:00** | **0:55** |

[1/]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

**Table 22** Survival[1/] of first instar of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in mango (Man Duen Kaw) treated with modified vapor heat treatment at 47.0 ° C for 0:20 minutes in large scale disinfestation test

| Rep. | Infestation method | No. test fruit | | No. alive individual in control (larvae) | Estimated treated population (larvae) | No. survivors |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Control | Treatment[2/] | | | |
| | | **Half load: 87.00-87.50 kg/cum.** | | | | |
| 1 | Larval inoculation | 25 | 75 | 2,001 | 6,003 | 0 |
| | Forced infestation | 20 | 60 | 917 | 2,751 | 0 |
| 2 | Larval inoculation | 25 | 75 | 1,709 | 5,127 | 0 |
| | Forced infestation | 20 | 60 | 1,726 | 5,178 | 0 |
| | **Sub-total** | **90** | **270** | **6,353** | **19,059** | **0** |
| | | **Full load: 177.00-177.50 kg/cum.** | | | | |
| 1 | Larval inoculation | 25 | 75 | 1,820 | 5,460 | 0 |
| | Forced infestation | 20 | 60 | 996 | 2,988 | 0 |
| 2 | Larval inoculation | 25 | 75 | 1,822 | 5,466 | 0 |
| | Forced infestation | 20 | 60 | 1,377 | 4,131 | 0 |
| | **Sub-total** | **90** | **270** | **6,015** | **18,045** | **0** |
| | **Total** | **180** | **540** | **1236** | **37104** | **0** |

[1/]Combined data of 4 replicates.

[2/]Treatment: 300 fruits (Larval inoculation) infested with 100 individuals/fruit.
Control: 100 fruits (Larval inoculation) infested with 100 individuals/fruit.
Treatment: 240 fruits (Forced infestation).
Control: 80 fruits (Forced infestation).

**Table 23** Time for center of mango to attain 43.0 and 47.0 °C for 0:20 minutes during modified vapor heat treatment in commercial export simulation test

| Method of transportation | Rep. | Loading (kg/cum.) | Sensor fruit weight (g) | Time for fruit center to reach 43.0 °C (h)[1/] | Time for fruit center to reach 47.0 °C (h)[1/] | Time for fruit center to reach 47.0 °C 0:20 (h)[1/] |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Air shipment | 1 | 176.00 | 360.85 | 2:15 | 3:22 | 3:42 |
| Sea shipment | | | 361.03 | | | |
| | | | 361.21 | | | |
| Air shipment | 2 | 176.10 | 359.55 | 1:50 | 2:55 | 3:15 |
| Sea shipment | | | 360.13 | | | |
| | | | 361.19 | | | |

[1/]Time for center of only 3 sensor fruits to attain target temperature.

**Table 24** Air transportation: Quality of mango fruits treated with proposed heat quarantine treatment at center temperature 47.0 °C for 0:20 minutes and 7 days chamber at 15 °C

| Rep. | Item [ns] | | Control[1/] | Treatment[1/] |
|---|---|---|---|---|
| 1 | Weight loss | % | 5.87 | 6.47 |
| | TSS | [0] Brix | 14.63 | 15.35 |
| | Acidity | % | 0.20 | 0.13 |
| | Disease infection[2/] | Present | 0.10 | 0.10 |
| | Spongy tissue[2/] | Present | 0/10 | 0/30 |
| | Smell[2/] | Unusual | 0/10 | 0/30 |
| | Taste[2/] | Unusual | 0/10 | 0/30 |
| 2 | Weight loss | % | 6.53 | 6.51 |
| | TSS | [0] Brix | 13.04 | 13.18 |
| | Acidity | % | 0.28 | 0.17 |
| | Disease symptom[2/] | Present | 0.10 | 0.10 |
| | Spongy tissue[2/] | Present | 0/10 | 0/30 |
| | Smell[2/] | Unusual | 0/10 | 0/30 |
| | Taste[2/] | Unusual | 0/10 | 0/30 |

[1/]Control = mean of 10 fruits, Treatment = mean of 30 fruits.

[2/]Fruits exhibited symptom/Total number of fruits observed.

[ns] Non difference was statistically significant by t-test.

**Table 25** Sea transportation: Quality of mango fruits treated with proposed heat quarantine treatment at center temperature 47.0 °C for 0:20 minutes and 14 days chamber at 15 °C

| Rep. | Item [ns] | | Control[1/] | Treatment[1/] |
|---|---|---|---|---|
| 1 | Weight loss | % | 11.18 | 11.88 |
| | TSS | $^0$ Brix | 14.19 | 13.63 |
| | Acidity | % | 0.13 | 0.19 |
| | Disease symptom[2/] | Present | 0.10 | 0.10 |
| | Spongy tissue[2/] | Present | 0/10 | 0/30 |
| | Smell[2/] | Unusual | 0/10 | 0/30 |
| | Taste[2/] | Unusual | 0/10 | 0/30 |
| 2 | Weight loss | % | 12.54 | 12.06 |
| | TSS | $^0$ Brix | 15.73 | 14.12 |
| | Acidity | % | 0.15 | 0.17 |
| | Disease symptom[2/] | Present | 0.30 | 0.30 |
| | Spongy tissue[2/] | Present | 0/10 | 0/30 |
| | Smell[2/] | Unusual | 0/10 | 0/30 |
| | Taste[2/] | Unusual | 0/10 | 0/30 |

[1/]Control = mean of 10 fruits, Treatment = mean of 30 fruits.

[2/]Fruits exhibited symptom/Total number of fruits observed.

[ns] Non difference was statistically significant by t-test.

**Figure 1** Test mango fruit Man Duen Kaw variety

**Figure 2** Fruit fly mass rearing room

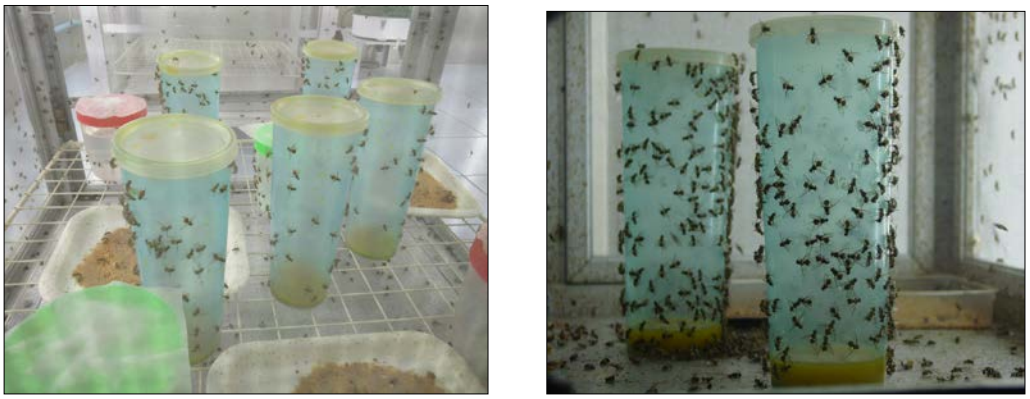


**Figure 3**. Fruit fly eggs

**Figure 4** Count fruit fly first instar larva under stereo microscope

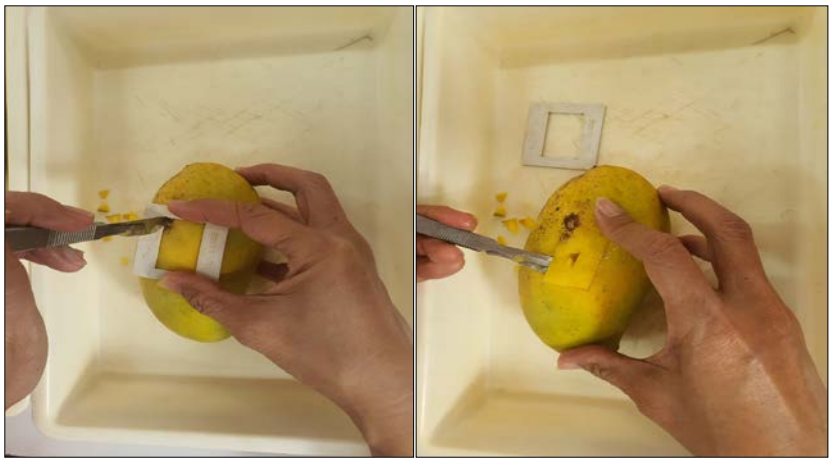


**Figure 5** A rectangular flab was made on one size of each fruit and one small hole also was punched on each rectangular cut

**Figure 6** First instar larvae were transferred into test fruits by using camel's hair brush

**Figure 7** Sanshu vapor heat treatment system (differential pressure type) model: EHK-1000D

**Figure 8** Calibration sensor of resistance thermometers

**Figure 9** Recorder in the vapor heat treatment system

**Figure 10.** Place monitoring of fruit temperature (fruit sensor).

**Figure 11.** Control and test fruits infested with fruit fly first instar were held in room at 25-27 ° C after heat treatment.

**Figure 12** Test fruits infested with fruit fly first instar were observed at each given treatment temperature and holding time

**Figure 13.** Susceptibility disinfestation test.

**Figure 14** Preliminary disinfestation test

**Figure 15** Intermediate disinfestation test

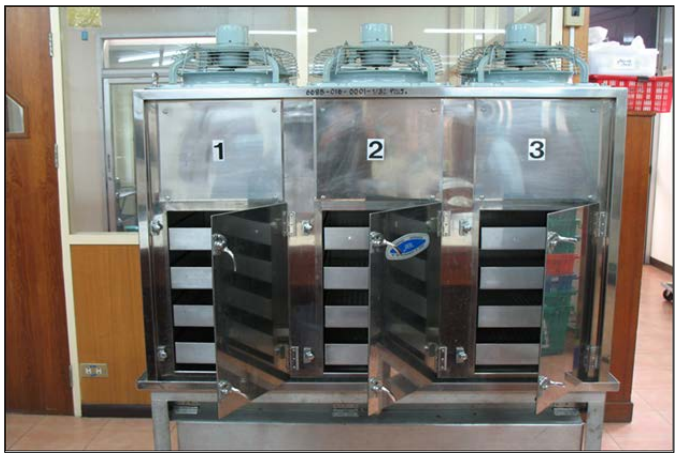



**Figure 16** Showing cooling system (differential pressure type) model: SHS-12

**Figure 17** Control and treated fruits keep in box

**Figure 18** Control and treated fruits in chamber at 15 °C after heat treatment

**Figure 19** The measurement of total soluble solid (TSS) by using 'atago' digital refractometer (model: DBX-30)

**Figure 20** The measurement of acidity by using acilizer (model: 5 006P)

**21** Forced infestation method five punctures were made on the fruit surface by inserting pin (0.5 mm. diameter)

**Figure 22** Forced infestation method test fruits were individually exposed to gravid females for oviposition

**Figure 23** Artificial and Forced infestation method

**Figure 24** Filler fruits

**Figure 25** Half load and Full load in chamber (capacity 50 and 100 %)

**Figure 26** Commercial export simulation test

**Figure 27** Filler fruits

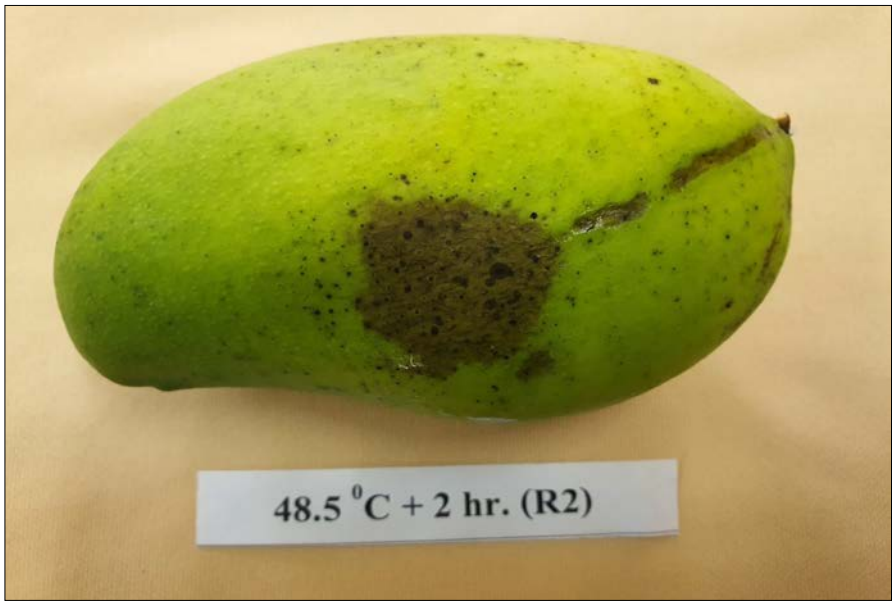



**Figure 28** Disease infection found in mango fruit of MVHT treated fruits at 48.5 ° C for 2 h after 7 days in chamber at 15 ° C.

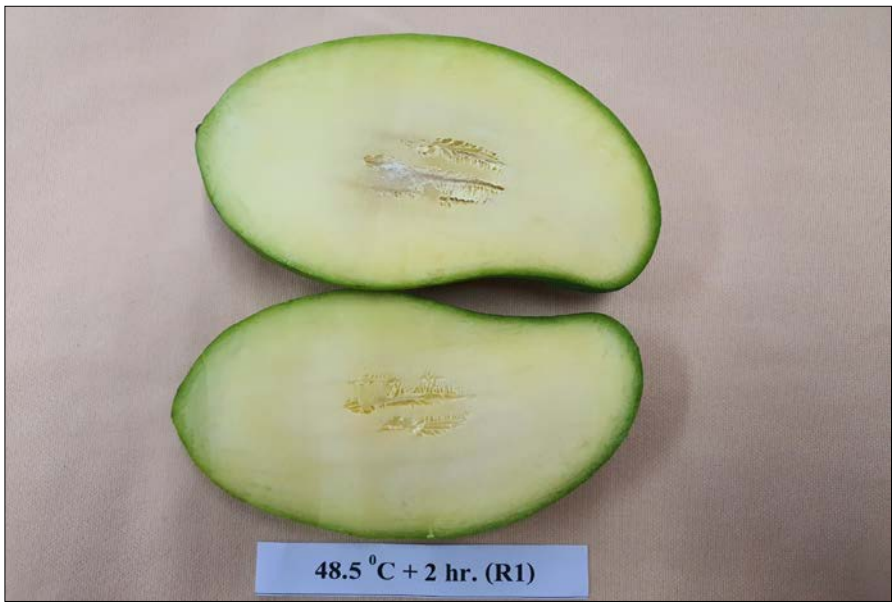



**Figure 29** Spongy tissue found in mango fruit of MVHT treated fruits at 48.5 ° C for 2 h after 7 days in chamber at 15 ° C.

# วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในมะม่วงน้ำดอกไม้มัน เพื่อการส่งออก

# Research and Development of Heated Air Quarantine Treatment for Mango (Nam Dok Mai Mun) Variety Control Fruit Flies for Export

**พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์ ชัยณรัตน์ สนศิริ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์**
**ปวีณา บูชาเทียน ศิริพร คงทวี**
**กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

## Abstract

The experiment was carried out to determine the heat tolerance of the first instar larvae of *Bactrocera dorsalis* (Hendel), the most tolerance stage to Modified Vapor Heat Treatment (MVHT) between Nam Dok Mai Mun and Namdokmai mango. The comparative heat tolerance of first instar larvae was to treat infested both mango cultivars with MVHT at 45, 46, 46.5 ° C for 0:00, minutes and 47 ° C for 0:00, 0:05 and 0:10 minutes respectively. The preliminary disinfestation test was to treat infested Nam Dok Mai Mun with MVHT at 45, 46, 46.5 ° C for 0:00, minutes and 47 ° C for 0:00, 0:05, 0:10, 0:15 and 0:20 minutes respectively. The intermediate disinfestation test, infested with was subjected to MVHT at 47 ° C for 0:00, 0:05, 0:10, 0:15 and 0:20 minutes respectively. MVHT was done by heating infested fruits with hot air from ambient temperature to 43 ° C with 50-80 % RH (dry pre-heating period) then the fruits were gradually warmed up to 47 ° C with saturated water vapor, and subsequently maintained the fruit target temperature for the desired duration holding time.

The results showed that oriental fruit fly first instar larvae infested in Nam Dok Mai Mun mango was more tolerance to MVHT than infested in Namdokmai mango. MVHT of fruit temperature 47 ° C for 10 minutes was sufficient to completely kill all the oriental fruit fly first instar larvae in mango fruits. Intermediate disinfestation test, completely kill the oriental fruit fly first instar larvae in mango fruits at temperature 47 ° C for 0:10 minutes.

**Keywords :** *Bactrocera dorsalis*, Nam Dok Mai Mun Modified vapor heat treatment (MVHT)

รหัสการทดลอง FF65-55-05-65-00-04-65

## บทคัดย่อ

การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ อบมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5 และ10 นาที พบว่า แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันมีความทนทานต่อความร้อนมากกว่าหนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ มีอัตราการตายเฉลี่ย 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ โดยหนอนวัย 1 ตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ในผลมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน อบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที พบว่าแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 มีอัตราการตายเฉลี่ย 64.20,86.40,89.73,96.10, และ 100 100 ตามลำดับ แสดงว่าที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 5 นาทีขึ้นไป สามารถกำจัดหนอนวัย 1 ในผลมะม่วงตายทั้งหมด การศึกษาประเมินประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน อบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที พบว่าแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 มีอัตราการตาย 97.05, 98.82, และ 100 และ 100 และ100 เฉลี่ย แสดงว่าที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10 นาทีขึ้นไป สามารถกำจัดหนอนวัย 1 ในผลมะม่วงได้จำนวนประมาณ 7,200 ตัว ตายทั้งหมด


**คำสำคัญ :** แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis*, มะม่วงน้ำดอกไม้มัน วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT)

## คำนำ

ปัญหาการกักกันพืชระหว่างประเทศนับวันจะยุ่งยากและสลับซับซ้อนเพิ่มขึ้น เนื่องจากการขยายตัวทางการค้าระหว่างประเทศอย่างรวดเร็ว การนำเข้าและส่งออกผักและผลไม้มีความเสี่ยงสูงที่แมลงศัตรูพืชร้ายแรงด้านกักกันพืชจะแพร่ระบาดจากประเทศหนึ่งไปยังอีกประเทศหนึ่งโดยเฉพาะอย่างยิ่งแมลงวันผลไม้ การวิจัยและพัฒนาวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (plant quarantine treatment) เพื่อใช้สำหรับกำจัดแมลงในผักและผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งต่องานกักกันพืชระหว่างประเทศ เพราะช่วยให้สามารถส่งผักและผลไม้ออกจากแหล่งแพร่ระบาดของแมลงวันผลไม้ได้ โดยปราศจากความเสี่ยงที่ศัตรูพืชร้ายแรงจะเล็ดลอดติดไปกับสินค้า (อุดร, 2541) การขยายตลาดของมะม่วงจะทำให้เกษตรกรสามารถมีช่องทางในการจำหน่ายได้กว้างขวางมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับนโยบายของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ในการช่วยเหลือเกษตรกรที่ได้รับผลกระทบโดยส่งเสริมและผลักดันให้มีการส่งออกมะม่วงเพิ่มมากขึ้น

สินค้าเกษตรที่สำคัญของประเทศไทยหลายชนิดไม่สามารถส่งออกไปจำหน่ายยังประเทศที่เข้มงวดทางด้านกักกันพืช เนื่องจากประเทศไทยเป็นแหล่งแพร่ระบาดของโรคและศัตรูพืชที่สำคัญ

ทางด้านกักกันพืช ประเทศไทยมีแมลงวันผลไม้หลายชนิดแพร่ระบาด แต่ที่มีความสำคัญทางด้านกักกันพืชมี 2 ชนิด ได้แก่ แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* และแมลงวันแตง *B. cucurbitae* ซึ่งมีความสำคัญทางด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ (White and Elson-Harris, 1992; Iwaizumi, 2004) ประเทศไทยปลูกมะม่วงได้หลากหลายพันธุ์ โดยแต่ละพันธุ์มีคุณสมบัติที่แตกต่างกันไปถึงแม้การส่งออกจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นทุกปี การส่งเสริมมะม่วงพันธุ์ใหม่ ๆ เพื่อการส่งออกจัดเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะสามารถเพิ่มปริมาณและมูลค่าของการส่งออก และสามารถเปิดตลาดส่งออกมะม่วงไปต่างประเทศให้ได้มากยิ่งขึ้น มะม่วงเป็นสินค้าเกษตรที่สำคัญชนิดหนึ่ง มะม่วงเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ที่มีความสำคัญทางด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ ได้แก่ แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ด้วยเหตุนี้มะม่วงจากประเทศไทยจึงถูกห้ามนำเข้าประเทศญี่ปุ่นภายใต้เงื่อนไขข้อกำหนดของกฎหมายทางด้านกักกันพืช ซึ่งจะถูกยกเลิกไปหากประเทศไทยสามารถพัฒนาวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ได้มาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช เพื่อใช้สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงก่อนการส่งออก แต่อย่างไรก็ดีการส่งออกมะม่วงไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศ ประเทศไทยจำเป็นต้องยึดหลักการตามข้อตกลงว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช(agreement on the application of sanitary and phytosanitary measures: SPS agreement) เนื่องมาจากประเทศไทยได้จัดทำข้อตกลงเขตการค้าเสรี (free trade area, FTA) กับหลายประเทศ โดยเฉพาะประเทศที่มีความเข้มงวดทางด้านกักกันพืช อาทิเช่น ประเทศญี่ปุ่น สาธารณรัฐเกาหลี สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ และไต้หวัน เป็นต้น มะม่วงเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* species complex ซึ่งแมลงวันผลไม้ชนิดนี้จัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางด้านกักกันพืช (White and Elson-Harris, 1992; CABI, 2014) แมลงวันผลไม้เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญของผลไม้หลายชนิด พบระบาดอยู่ทั่วโลก ทั้งในเขตหนาว เขตอบอุ่น และเขตร้อน (Shimizu *et al*., 2007; Jennifer and Gillett-Kaufman, 2012) รวมทั้งประเทศไทย (มนตรี, 2544; CABI, 2014) ในพื้นที่ภาคกลางและภาคเหนือแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* มีพืชอาหารจำนวนมากถึง 123 ชนิด โดยเฉพาะผลไม้เปลือกบางหรืออ่อนนุ่มจะถูกทำลายได้ง่าย การเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้เกิดจากตัวเต็มวัยเพศเมียจะใช้อวัยวะวางไข่ (ovipositor) แทงลงใต้ผิวของผลไม้เพื่อวางไข่ เมื่อไข่ฟักเป็นตัวหนอนจะชอนไช กัดกินเนื้อภายในผลไม้ทำให้เน่าเสีย ซึ่งการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้สามารถเข้าทำลายได้ตั้งแต่อยู่ในแปลงปลูก (กรมวิชาการเกษตร, 2562; Thomas, 2004; Jennifer and Gillett-Kaufman, 2012) การทำลายอาจรุนแรงมากถึง 100 เปอร์เซ็นต์ หากไม่มีการป้องกันกำจัด ตามข้อตกลงของการอนุญาตการนำเข้าพืชผักและผลไม้ของประเทศญี่ปุ่น ประเทศไทยจำเป็นต้องดำเนินการตามมาตรฐานขั้นตอนการยกเลิกห้ามการนำเข้าสิ่งต้องห้ามที่เป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ (standard procedure for lifting import ban of prohibited host plants of fruit flies) ของกระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่น (ministry of agriculture, forestry and fisheries, MAFF) โดยมีขั้นตอนที่สำคัญคือกำหนดให้การขออนุญาตการนำเข้าสิ่งต้องห้ามที่เป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ต้องยื่นเสนอแผนการศึกษาวิจัยการกำจัดแมลงวันผลไม้ก่อนการส่งออกให้กับ MAFF พิจารณาตรวจสอบและให้ความเห็นชอบก่อน การ

วิจัยและพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงวันผลไม้ต้องเป็นไปตามขั้นตอนที่กำหนดและมีประสิทธิภาพสูง ซึ่งได้มาตรฐานตามวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (MAFF, 2010; Miyazaki, 2010)

เกิดจากการกลายพันธุ์ จากการปลูกมะม่วงเขียวเสวยด้วยเมล็ด โดย คุณลุงขาว น้อยรักษา เกษตรกรชาวบางบอน กรุงเทพฯ พบว่า มีลักษณะพิเศษกว่าต้นอื่น คือสามารถกินได้ทั้งสุกและดิบ ซึ่งผลดิบมีรสชาติมันคล้ายเขียวเสวย ผลสุกมีรสชาติหวานเหมือนมะม่วงเขียวเสวยและยังมีเมล็ดลีบ จึงตั้งชื่อว่า มะม่วงน้ำดอกไม้มันต่อมา ปี 2538 จึงนำมะม่วงน้ำดอกไม้มัน ไปขึ้นทะเบียนเพื่อขอรับรองพันธุ์พืช ณ กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ใช้เวลา 5 ปี กรมวิชาการเกษตรจึงรับรองพันธุ์พืช โดยใช้ชื่อใหม่ว่า “ขาวนิยม” ตามชื่อของลุงขาว และนิยม แสดงถึงมะม่วงพันธุ์นี้ได้รับความนิยมของผู้ได้ลิ้มชิมรส และเพื่อเป็นอนุสรณ์แด่ คุณลุงขาว น้อยรักษา ผู้ให้กำเนิดมะม่วงสายพันธุ์นี

ในปี พ.ศ. 2529 กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ประสบความสำเร็จในการวิจัยพัฒนาวิธีการอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT) ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ จำนวน 2 ชนิด คือ oriental fruit fly, *B. dorsalis* และmelon fly, *B. cucurbitae* ในผลมะม่วงพันธุ์หนังกลางวัน (Unahawutti *et al*., 1986) ต่อมาได้มีการวิจัยพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อนกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (modified vapor heat treatment, MVHT) ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที มีประสิทธิภาพสูงสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง (*Mangifera indica* Linn.) ครอบคลุมถึง 4 พันธุ์ คือ พันธุ์หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลมะม่วง (Unahawutt *et al*., 1991) หลังจากนั้นได้ทำการวิจัยพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อนโดยใช้วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก เขียวเสวย และโชคอนันต์ ซึ่งในปี พ.ศ. 2549 และ2559 กระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่นได้อนุญาตให้มีการนำเข้ามะม่วงเพิ่มเติมอีก 3 พันธุ์ ดังกล่าว (Intarakumheng *et al*., 2006; Intarakumheng *et al*., 2013) ในปี พ.ศ. 2545 ประสบความสำเร็จในการวิจัยพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์มีประสิทธิภาพสูงสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมังคุด (*Garcinia mangostana* Linn.) ที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 58 นาที สามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในกลุ่ม *B. dorsalis* species complex จำนวน 4 ชนิด คือ *B. carambolae*, *B. dorsalis*, *B. papayae*, และ*B. pyrifoliae* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Unahawutt *et al*., 1999) ต่อมาได้ศึกษาวิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์มีประสิทธิภาพสูงสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในในกลุ่ม *B. dorsalis* species complex จำนวน 4 ชนิด ในผลส้มโอ (*Citrus maxima* (Burman) Merr.) พันธุ์ทองดีได้เป็นผลสำเร็จ ที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที (อุดร และคณะ 2549) และได้ส่งรายงานผลการศึกษาวิจัยวิธีการกำจัดแมลงวันผลไม้ดังกล่าวให้กับกระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่นพิจารณา ซึ่งในช่วงต้นปี พ.ศ. 2555 กระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่นได้อนุญาตให้มีการนำเข้าส้มโอพันธุ์ทองดีจากประเทศไทยเข้าไปจำหน่ายในประเทศญี่ปุ่นได้อีกหนึ่งชนิด (Unahawutti *et al*.,2006) นอกจากนี้ยัง

ประสบความสำเร็จในการศึกษาวิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์มีประสิทธิภาพสูงสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมังคุด จำนวน 3 ชนิด คือ *B. dorsalis*, *B. carambolae* และ *B. papayae* (ชัยณรัตน์ และคณะ 2562; 2563) และได้ส่งรายงานผลการศึกษาวิจัยให้กับทางสำนักงานกักกันและตรวจสอบสุขอนามัยพืชและสัตว์ไต้หวัน (bureau of animal and plant inspection and quarantine, BAPHIQ) พิจารณา โดยเมื่อวันที่ 12 กรกฎาคม 2562 สำนักงานกักกันและตรวจสอบสุขอนามัยพืชและสัตว์ไต้หวัน อนุญาตให้นำเข้าผลมังคุดสดจากประเทศไทยเข้าไปจำหน่ายในประเทศไต้หวันได้ ซึ่งทำให้ประเทศไทยประสบผลสำเร็จสามารถส่งออกมังคุดไปไต้หวันได้เป็นครั้งแรกในรอบ 16 ปี (Sonsiri *et al.*, 2015) ในปัจจุบันประเทศไทยได้มีการสร้างโรงงานอบไอน้ำเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อนขนาดใหญ่ระดับการค้ากันอย่างแพร่หลาย โดยใช้กรรมวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) ในการอบมะม่วง มังคุด และส้มโอ เพื่อการส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น สาธารณรัฐเกาหลี นิวซีแลนด์ และไต้หวัน โดยยึดหลักการตามเงื่อนไขและข้อกำหนดของแต่ละประเทศ (มลนิภา, 2550; 2552; 2554; 2555; Srimartpirom, 2010)

การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการใช้วิธีการอบไอน้ำเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ได้มีการศึกษาวิจัยกันอย่างแพร่หลายในต่างประเทศ เพราะสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้หลายชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังปลอดภัยจากสารพิษตกค้างภายในผลจึงผ่านการยอมรับได้โดยง่ายจากประเทศผู้นำเข้า มะม่วงเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีศักยภาพสูงในการส่งออกแต่มะม่วงเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องดำเนินการวิจัยและพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อนกรรมวิธีอบไอน้ำ ตามขั้นตอนที่มีประสิทธิภาพและได้มาตรฐานตามวิธีการกำจัดศัตรูพืชทางด้านกักกันพืช

## วิธีดำเนินการ

**อุปกรณ์**

1. แมลงที่ใช้ในการทดลอง
   - แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis*
2. พืชที่ใช้ในการทดลอง
   - ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน
3. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง
   - ตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็ก
     “Sanshu” vapor heat treatment system (differential pressure type)
     รุ่น EHK-1000D และEHK-1000D, Sanshu Sangyo Co., Ltd.,Kagoshima, Japan
   - เครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ “Sanshu” shower cooling system
     (differential pressure type) รุ่น SHS-12, Sanshu Sangyo Co., Ltd.,Kagoshima, Japan
   - เครื่องอ่างน้ำร้อน (water bath; Yamato, model: DK-43)
   - ปรอทวัดความร้อนมาตรฐาน (standard thermometer)

- กล้องจุลทรรศน์ (microscope) และมีดผ่าตัด (scapel)
- เครื่องใช้ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการต่างๆ เช่น จานทดลอง (petri dish) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร กระบะพลาสติก และอุปกรณ์อื่นๆ เช่น ปิเปต (pipettes) หลอดทดลอง (test tube) บีกเกอร์ (beaker) หลอดหยด (dropper) ปากคีบ (forceps) ผ้ามัสลิน กระดาษกรองสีดำ พู่กัน หนังยาง มีด และผ้าขาวบาง

**วิธีการ**

**1. สืบค้นฐานข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะประจำพันธุ์ชีววิทยาของมะม่วงน้ำดอกไม้มัน เพื่อใช้ในการทดลอง**

โดยการสืบค้นข้อมูลทางเว็บไซต์ของกรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร และจากแหล่งข้อมูลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องต่าง ๆ ทั้งในประเทศและต่างประเทศ ซึ่งได้จัดหาและคัดเลือกมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน เพื่อนำมาใช้ในการทดลองในขั้นตอนของการกำจัดแมลงด้วยความร้อนและขั้นตอนของการประเมินความเสียหายต่อความร้อน จากอำเภอหนองเสือ และอำเภอลาดหลุมแก้ว จังหวัดปทุมธานี ราชบุรี ใช้ผลมะม่วงน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล (มะม่วงขนาดกลาง) นำมาเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้น ของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช เพื่อรักษาคุณภาพของมะม่วงมันเดือนเก้า และนำมาใช้ในขั้นตอนของการทดลองต่อไป

โดยน้ำหนักผลของมะม่วงน้ำดอกไม้มันที่ใช้ในการทดลอง แบ่งน้ำหนักได้ดังนี้

| Size | | Weight (g) |
|---|---|---|
| Super small | (SS) | < 200 |
| Small | (S) | 200-300 |
| Medium | (M) | 300-400 |
| Large | (L) | 400-500 |
| Extra large | (XL) | > 500 |

**2. แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ที่ใช้ในการทดลอง**

**2.1 แหล่งที่มาของแมลงวันผลไม้**

แมลงวันผลไม้ที่ใช้ในการทดลองได้มาจากแมลงวันผลไม้ที่เข้าทำลายผลมะเฟือง ในพื้นที่อำเภอกาญจนดิษฐ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี อำเภอหัวไทร จังหวัดนครศรีธรรมราช และอำเภอควนขนุน จังหวัดพัทลุง โดยทำการรวบรวมและเลี้ยงจนเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย จากนั้นจะคัดแยกชนิดอย่างละเอียดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คัดแยกเอาเฉพาะแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* แล้วจึงนำแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยไปเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการและเพิ่มจำนวนให้มากขึ้นโดยใช้การเลี้ยงด้วยอาหารเทียม (artificial diet) ที่ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ ของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

**2.2 เทคนิคและวิธีการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์แมลงวันผลไม้**

แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ที่ใช้ในการทดลองทั้งหมดใช้เทคนิคและวิธีการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ตามวิธีการของ Watanabe *et al*., (1973) และอุดร (2541)

**สภาพห้องเลี้ยงแมลง**: ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้เป็นห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ ความชื้นและแสงสว่าง **(Figure 2)** ห้องเลี้ยงแมลงมีขนาด 3.5x4.6x2.3 เมตร อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65±5 เปอร์เซ็นต์ แสงสว่างภายในห้องได้จากหลอดไฟฟลูโอเรสเซนส์ (fluorescent lights) จำนวน 20 หลอด ติดตั้งบนเพดานห้องเลี้ยงแมลง มีระยะรอบของความมืดและสว่าง (light-dark cycle) เป็น 12:12 ชั่วโมง ไฟจะสว่างในช่วงเวลา 6:00-18:00 นาฬิกา ภายในห้องเลี้ยงแมลงติดหลอดไฟขนาด 15 วัตต์ จำนวน 1 หลอด ให้แสงสลัว (dim light) เป็นเวลานาน 15 นาที ก่อนและหลังที่ไฟในห้องเลี้ยงแมลงจะสว่างเพื่อช่วยกระตุ้นให้แมลงวันผลไม้ผสมพันธุ์

**ตัวเต็มวัย**: เลี้ยงแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยกรงใหญ่ จำนวนประมาณ 20,000 ตัว/กรง และกรงเล็กจำนวนประมาณ 2,000 ตัว/กรง กรงเลี้ยงแมลงมีขนาด 65.5x69.0x77.0 เซนติเมตร และ35x50x35 เซนติเมตร ทำด้วยมุ้งลวดตาข่ายอลูมิเนียมขนาด 16 เมช ภายในกรงมีจานพลาสติกบรรจุอาหารสำหรับตัวเต็มวัย ซึ่งประกอบด้วยส่วนผสมโดยน้ำหนักดังนี้ น้ำตาล 10 ส่วน เอ็นไซม์โปรตีนไฮโดรไลเซส (enzymatic protein hydrolysate; Amber series 100) 1 ส่วน และยีสต์เอ็กเทรค (yeast extract) 1 ส่วน การให้น้ำจะใช้ขวดพลาสติกทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.0 เซนติเมตร สูง 7.5 เซนติเมตร ฝาขวดเจาะรูขนาด 1 มิลลิเมตร จำนวน 3 รู วิธีให้น้ำจะคว่ำขวดน้ำลงบนกระดาษกรองซึ่งวางอยู่บนหลังกรงเลี้ยงแมลง หลังจากเลี้ยงแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยครบ 6 สัปดาห์ แมลงที่เหลือในกรงทั้งหมดจะถูกนำไปทำลายและทำความสะอาดกรงเลี้ยงแมลง เพื่อเตรียมไว้สำหรับใส่แมลงในรุ่นต่อไป ในระหว่างการทดลองจะต้องมีแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยอายุต่าง ๆ กันเพื่อเตรียมไว้ใช้ในการทดลอง กรงใหญ่ไม่น้อยกว่า 5 กรง และกรงเล็กไม่น้อยกว่า 10 กรง

**วิธีการเก็บไข่**: เก็บไข่แมลงวันผลไม้เมื่อตัวเต็มวัยมีอายุประมาณ 15 วัน โดยใช้กระบอกพลาสติก ขนาด 7x17 เซนติเมตร ด้านข้างเจาะรูขนาด 0.4 มิลลิเมตร ประมาณ 80-100 รู เพื่อให้แมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยเพศเมียแทงอวัยวะวางไข่ผ่านรูจากด้านข้างเข้าไปวางไข่ภายในกระบอกพลาสติกในการเก็บไข่แต่ละครั้งจะใส่น้ำส้มประมาณ 30 มิลลิลิตร ไว้ในกระบอกเก็บไข่เพื่อกระตุ้นให้แมลงมาวางไข่ในขณะเดียวกันยังจะให้ความชื้นภายในกระบอกพลาสติกป้องกันไม่ให้ไข่ของแมลงแห้งและแตก รวบรวมไข่แมลงด้วยวิธีเติมน้ำสะอาดในกระบอกพลาสติกเก็บไข่แล้วเขย่าเบา ๆ เพื่อให้ไข่ที่ติดอยู่ด้านข้างภายในกระบอกหลุด ใช้ผ้ามัสลินขนาด 150 เมช แยกไข่ออกจากน้ำส้ม รวบรวมไข่ทั้งหมดที่ได้ใส่ในน้ำกลั่นเก็บไว้ในถ้วยแก้ว (beaker) ขนาด 200 มิลลิเมตร หลังจากนั้นนำไข่ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารเทียมพร้อมทั้งตรวจหาอัตราการฟักไข่ด้วยวิธีสุ่มไข่จำนวน 100 ฟอง วางไข่ให้กระจายเป็นแถวยาวบนกระดาษกรองสีดำที่ชุ่มน้ำเก็บไว้ในจานแก้ว (petri-dish) ตรวจนับจำนวนไข่ที่ฟักเป็นตัวหนอน 2 วัน

**ระยะหนอน:** เลี้ยงหนอนแมลงวันผลไม้ด้วยอาหารเทียมบนสูตรข้าวโพดป่น อาหารเทียมสำหรับระยะหนอนประกอบด้วยส่วนผสมดังนี้ข้าวโพดบด 50 กรัม กระดาษชำระ 3 กรัม น้ำกลั่น 85 มิลลิเมตร

น้ำตาล 5 กรัม brewer's yeast 5 กรัม butyl p-hydroxybenzoate 0.15 กรัม HCl (conc.) 0.2 มิลลิเมตร นำอาหารเทียมประมาณ 900 กรัม ใส่ในถาดพลาสติกขนาด 23x32x5 เซนติเมตร ตัดกระดาษชำระขนาด 5.5x11.0 เซนติเมตร จำนวน 2 ชิ้น วางไว้บนอาหารเทียม ใช้หลอดดูดขนาด 1 มิลลิเมตร ตวงไข่จำนวน 0.4 มิลลิเมตร แล้วนำไปวางบนกระดาษชำระ เกลี่ยไข่ด้วยพู่กันให้กระจายทั่ว ๆ กันบนกระดาษชำระ ด้วยวิธีการนี้จะช่วยให้หนอนไม่แก่งแย่งอาหารกันเมื่อฟักออกจากไข่ ปิดถาดอาหารเทียมด้วยถาดเปล่าอีกหนึ่งใบ เพื่อให้ภายในมีความชื้น ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นมากสำหรับไข่จะฟักออกเป็นหนอน นำถาดอาหารเก็บไว้ในห้องเลี้ยงแมลงจนกระทั่งหนอนเจริญเติบโตเต็มที่

**ระยะดักแด้:** หนอนแมลงวันผลไม้เจริญเติบโตเต็มที่พร้อมที่จะเข้าดักแด้ภายใน 6 วัน เปิดฝาครอบถาดอาหารเทียม และย้ายไปวางไว้ในภาชนะสำหรับให้แมลงเข้าดักแด้ ซึ่งเป็นกระบะพลาสติกขนาด 43x74x23 เซนติเมตร ภายในบรรจุขี้เลื่อย ขนาด 20 เมช พรมน้ำให้ชื้นพอประมาณสำหรับให้หนอนเข้าดักแด้ หนอนวัย 3 ที่เจริญเติบโตเต็มที่พร้อมจะเข้าดักแด้จะดีดตัวออกจากอาหารเทียมและเข้าดักแด้ในขี้เลื่อย ก่อนที่ดักแด้จะออกเป็นตัวเต็มวัยประมาณ 2 วัน ใช้ตระแกรงขนาด 20 เมช ร่อนแยกเอาดักแด้ออกจากขี้เลื่อย คัดดักแด้ที่ไม่สมบูรณ์หรือตายทิ้งให้หมด นำดักแด้ที่สมบูรณ์จำนวนประมาณ 20,000 และ2,000 ดักแด้ ใส่ในถาดพลาสติก ขนาด 23x32x5 เซนติเมตร แล้วนำไปวางไว้ในกรงเลี้ยงแมลงที่เตรียมไว้รอให้ออกเป็นตัวเต็มวัย

**การควบคุมคุณภาพแมลง:** แมลงวันผลไม้ซึ่งเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการจะต้องมีความแข็งแรง เพื่อที่ข้อมูลจากผลการศึกษาวิจัยจะได้ถูกต้องและเป็นที่ยอมรับ ดังนั้นจึงต้องมีการตรวจสอบคุณภาพของแมลงเป็นประจำ โดยในการเลี้ยงแมลงแต่ละรุ่นจะตรวจสอบอัตราการฟักไข่ (hatching rate) อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate) น้ำหนักของดักแด้ และอัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio)

**3. วิธีเตรียมแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 สำหรับใช้ในการทดลอง**

มะม่วงที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน ผลมะม่วงมีขนาดกลางน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล โดยตรวจสภาพความผิดปกติของผลมะม่วง ซึ่งมะม่วงทุกผลจะต้องไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือรอยแตกบนผลมะม่วง การเตรียมผลมะม่วงในขั้นตอนของการกำจัดแมลงด้วยความร้อน จะต้องทำความสะอาดผลมะม่วงและคัดขนาดตามน้ำหนัก โดยมะม่วงที่ใช้ในการทดลองจะต้องสุก ซึ่งการเตรียมผลมะม่วงให้สุกนั้นมีวิธีการทำโดยวางมะม่วงในตะกร้าพลาสติกบ่มมะม่วงโดยใช้แคลเซียมคาร์ไบด์ (CaC2) เพื่อเป็นการกระตุ้นการสุกของผลมะม่วง ปิดตะกร้าด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ หลังจากนั้นประมาณ 2-3 วัน มะม่วงที่ใช้ในการทดลองจะสุกเต็มที่ จากนั้นนำมะม่วงที่สุกไปเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิประมาณ 10-15 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนำไปใช้ในการทดลอง

**3.1 การเตรียมแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1**

เก็บไข่จากแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยซึ่งเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการตามวิธีการข้างต้น รวบรวมไข่ที่ได้วางไว้บนผ้าที่ชุ่มน้ำ เก็บไว้ในกล่องพลาสติกขนาด 12x18x4.5 เซนติเมตร แล้วนำไปไว้ในห้องเลี้ยง

แมลงเป็นเวลา 2 วัน เมื่อไข่ฟักออกเป็นหนอนวัย 1 ใช้ตะแกรงขนาด 80 เมซ ร่อนแยกหนอนวัย 1 ออกจากเปลือกไข่ ย้ายหนอนวัย 1 ใส่ในน้ำกลั่น เก็บไว้ในถ้วยแก้ว (beaker) ขนาด 200 มิลลิลิตร ใช้หลอดดูดสารละลาย (dropper) ขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดหนอนวัย 1 นำไปใส่ไว้ในจานแก้ว (petri-dish) ขนาด 10x2 เซนติเมตร พร้อมทั้งนับหนอนภายใต้กล้องจุลทรรศน์

**3.2 การเตรียมมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันให้มีแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 อยู่ภายในผล**

เก็บไข่จากแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ตัวเต็มวัยซึ่งเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการตามวิธีการข้างต้น รวบรวมไข่ที่ได้วางไว้บนผ้าที่ชุ่มน้ำ เก็บไว้ในกล่องพลาสติกขนาด 12x18x4.5 เซนติเมตร แล้วนำไปไว้ในห้องเลี้ยงแมลงเป็นเวลา 2 วัน เมื่อไข่ฟักออกเป็นหนอนวัย 1 ใช้ตะแกรงขนาด 80 เมซ ร่อนแยกหนอนวัย 1 ออกจากเปลือกไข่ ย้ายหนอนวัย 1 ใส่ในน้ำกลั่น เก็บไว้ในถ้วยแก้ว (beaker) ขนาด 200 มิลลิลิตร ใช้หลอดดูดสารละลาย (dropper) ขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดหนอนวัย 1 นำไปใส่ไว้ในจานแก้ว (petri-dish) ขนาด 10x2 เซนติเมตร พร้อมทั้งนับหนอนภายใต้กล้อง ใช้พู่กันเขี่ยหนอนวัย 1 ให้รวมกันเป็นกลุ่ม ๆ ละ 100 ตัว ในการทดลองใช้มะม่วงขนาดกลางน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล ใช้มีดผ่าตัด (scapel) เจาะเข้าไปภายในเนื้อมะม่วงให้ลึกประมาณ 2 มิลลิเมตร กรีดเป็นรอยแผลสี่เหลี่ยม 3 ด้าน ขนาด 2x3 เซนติเมตร เจาะรูขนาด 2 มิลลิเมตร ตรงกลางรอยแผลสี่เหลี่ยม จำนวน 1 รู ลอกเปลือกมะม่วงให้แยกออกจากเนื้อตรงบริเวณรอยแผล แล้วใช้มีดผ่าตัดกรีดเนื้อมะม่วงให้เป็นรอยแผลเพื่อช่วยให้หนอนวัย 1 ชอนไชเข้าไปในผลมะม่วงได้ง่ายขึ้น ใส่หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง จำนวน 100 ตัว/ผล ตรงบริเวณที่กรีดเนื้อมะม่วงให้เป็นรอยแผล ปิดด้วยเทปกาวเพื่อป้องกันไม่ให้หนอนวัย 1 เล็ดลอดออกจากผล เสร็จแล้วปล่อยไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง ให้หนอนชอนไชลึกเข้าไปภายในผลมะม่วงก่อนแล้วจึงนำมะม่วงเข้าเครื่องตู้อบความร้อน

**4. รูปแบบของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน**

ในการทดลองทั้งหมดใช้เครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็กสำหรับทดลอง จำนวน 2 เครื่อง **(Figure 7)** ใช้มะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) น้ำหนัก 350±25 กรัม/ผล จำนวน 3 ผล วางไว้ในกระบะชั้นล่างสุด ซึ่งใช้เป็นตัวแทนแสดงอุณหภูมิของมะม่วงทั้งหมดภายในเครื่องตู้อบความร้อน เมื่อมะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ จำนวน 3 ผล มีอุณหภูมิคงอยู่ที่ 47 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาตามที่กำหนด แสดงว่าขณะนั้นมะม่วงทดลองทั้งหมดในเครื่องตู้อบความร้อนมีอุณหภูมิอยู่ในระดับเดียวกันกับมะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ

การอบมะม่วงด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (modified vapor heat treatment, MVHT) เป็นกรรมวิธีที่ให้ความร้อนกับมะม่วงโดยอาศัยวิธีอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT) ร่วมกับวิธีอบอากาศร้อน (hot air treatment, HAT) โดยช่วงแรกจะให้ความร้อนกับมะม่วงด้วยวิธีอบอากาศร้อน (HAT) อากาศร้อนที่หมุนเวียนภายในตู้อบความร้อนผ่านมะม่วงจะมีความชื้นสัมพัทธ์ระหว่าง 50-80 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิในผลมะม่วงเพิ่มขึ้นถึง 43 องศาเซลเซียส แล้วจึงปรับเปลี่ยนเป็นวิธีอบไอน้ำ (VHT) ซึ่งอากาศร้อนจะอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ (saturated condition) ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วง

ถึง 47 องศาเซลเซียส และคงไว้ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ2 ชั่งโมง (เซ็นเซอร์กำหนดอุณหภูมิผลมะม่วง (sensor fruit) จะต้องอ่านค่าได้ 47 องศาเซลเซียส ทั้ง 3 เส้น) ขณะอบมะม่วงทำการบันทึกอุณหภูมิ ความชื้น และระยะเวลาในการอบมะม่วง จากเครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้น (hybrid recorder) ของเครื่องตู้อบความร้อนตามค่าที่กำหนดไว้ (อุดร, 2541; อุดร และคณะ, 2549; Unahawutti *et al*., 2006)

ซึ่งแบบแผนของการเพิ่มอุณหภูมิภายในเครื่องตู้อบความร้อน (pattern MVHT test for mango) ที่ใช้ในการทดลองในผลมะม่วงนี้ทั้งหมดใช้แผนวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ดังนี้

| Pattern MVHT test for mango | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Temperature (°C) | 30.0 | 30.0 | 35.0 | 40.0 | 45.0 | 48.0 | 48.0 |
| Time (h) | 0:00 | 0:05 | 0:10 | 0:10 | 0:10 | 0:10 | 5:00 |
| Humidity RH (%) | 51.0 | 51.0 | 95.0 | 95.0 | | | |
| Time (h) | 0:00 | 5:00 | 0:10 | 5:00 | | | |

**5. เครื่องตู้อบความร้อนและการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิ**

ดำเนินการด้วยเครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็กสำหรับทดลอง จำนวน 2 เครื่อง ก่อนที่จะเริ่มทำการทดลอง แท่งวัดอุณหภูมิที่ติดตั้งภายในเครื่องตู้อบความร้อนทั้งหมดจะต้องนำมาตรวจสอบความเที่ยงตรง และปรับค่าความคลาดเคลื่อนอุณหภูมิที่วัดได้ของแท่งวัดอุณหภูมิแต่ละแท่ง (calibration sensor) โดยตรวจสอบเปรียบเทียบกับปรอทวัดความร้อนมาตรฐาน (standard thermometer) ซึ่งมีวิธีการดังนี้ จุ่มแท่งวัดอุณหภูมิทั้งหมดรวมทั้งปรอทวัดความร้อนมาตรฐานลงในเครื่องอ่างน้ำร้อน (water bath; Yamato, model: DK-43) ตั้งค่าเครื่องอ่างน้ำร้อนให้มีอุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เมื่อน้ำร้อนและมีอุณหภูมิคงที่จึงเริ่มการบันทึกอุณหภูมิเป็นระยะเวลานาน 20 นาที

ปรอทวัดความร้อนมาตรฐานจะแสดงค่าอุณหภูมิจริงของน้ำในเครื่องอ่างน้ำร้อน อ่านค่าอุณหภูมิของแท่งวัดอุณหภูมิแต่ละแท่งจากเครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้น (hybrid recorder; Chino, model: LE series และFTH, model: FLE-073504E) ที่อ่านค่าได้ทุก 5 นาที เครื่องตู้อบความร้อนจะติดตั้งอุปกรณ์พิเศษ คือชุดปรับค่าความต้านทานกระแสไฟฟ้า (correction resistance unit) ซึ่งเป็นอุปกรณ์สำหรับปรับค่าอุณหภูมิที่แท่งวัดความร้อนอ่านได้ให้เท่ากับค่าอุณหภูมิที่อ่านได้จากปรอทวัดความร้อนมาตรฐาน การทดสอบความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิจะเสร็จสิ้นเมื่อแท่งวัดอุณหภูมิทั้งหมดแสดงค่าอุณหภูมิที่ 47 องศาเซลเซียส โดยมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงเป็นระยะเวลานานติดต่อกันในช่วงเวลา 20 นาที

**6. แบบแผนการเพิ่มอุณหภูมิในเครื่องตู้อบความร้อน**

แบบแผนของการเพิ่มอุณหภูมิในเครื่องตู้อบความร้อนที่ใช้ในการทดลองการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงนี้ทั้งหมดใช้แผนการอบไอน้ำดังนี้ เริ่มต้นการเพิ่มอุณหภูมิจากอุณหภูมิห้อง โดยช่วงแรกจะให้ความร้อนด้วยวิธีอบอากาศร้อน อากาศร้อนที่หมุนเวียนภายในตู้อบความร้อนจะมี

ความชื้นสัมพัทธ์ระหว่าง 50-80 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิภายในตู้เพิ่มขึ้นถึงระดับหนึ่งและอุณหภูมิภายในผลมะม่วงมีอุณหภูมิที่ 43 องศาเซลเซียส จึงปรับเปลี่ยนการให้ความร้อนเป็นวิธีอบไอน้ำ อากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำโดยความชื้นสัมพัทธ์ภายในเครื่องต้อบความร้อนต้องมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ จนถึงอุณหภูมิภายในผลมะม่วงได้ 47 องศาเซลเซียส ตามระยะเวลาที่กำหนดตลอดเวลาที่ทำการอบไอน้ำ

**6.1 ขั้นตอนการกำจัดแมลงด้วยความร้อน**

1. อุณหภูมิสูงสุดของอากาศภายในห้องบรรจุผลไม้ = 48 องศาเซลเซียส
2. อุณหภูมิภายในสุดผลมะม่วง = 47 องศาเซลเซียส
3. ระดับความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ
   ก่อนอุณหภูมิผล 43 องศาเซลเซียส = 51 เปอร์เซ็นต์ RH %
   หลังอุณหภูมิผล 43 องศาเซลเซียส = 95 เปอร์เซ็นต์ RH %
4. วิธีการควบคุมการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิอากาศภายในห้องบรรจุผลไม้ = อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นแต่ละระดับในช่วงเวลากำหนด (stepped temp. MVHT)
5. วิธีการลดอุณหภูมิผลมะม่วง = ลดอุณหภูมิด้วยน้ำ นาน 1 ชั่วโมง
6. การตรวจสอบการตายของแมลงวันผลไม้ = 5 วัน หลังจากผ่านความร้อน

ในการทดลองใช้มะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) น้ำหนัก 350±25 กรัม/ผล จำนวน 3 ผล วางไว้ในกระบะชั้นล่างสุด ซึ่งใช้เป็นตัวแทนแสดงอุณหภูมิของมะม่วงทั้งหมดภายในเครื่องต้อบความร้อน เมื่อมะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ จำนวน 2 ผล มีอุณหภูมิคงอยู่ที่ 47 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาตามที่กำหนด แสดงว่าขณะนั้นมะม่วงทดลองทั้งหมดในเครื่องต้อบความร้อนมีอุณหภูมิอยู่ในระดับเดียวกันกับมะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ

**6.2 ขั้นตอนการประเมินความเสียหายต่อความร้อน**

1. อุณหภูมิสูงสุดของอากาศภายในห้องบรรจุผลไม้ = 48 และ49.5 องศาเซลเซียส
2. อุณหภูมิภายในสุดผลมะม่วง = 47 และ48.5 องศาเซลเซียส
3. ระดับความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ
   ก่อนอุณหภูมิผล 43 องศาเซลเซียส = 65 เปอร์เซ็นต์ RH %
   หลังอุณหภูมิผล 43 องศาเซลเซียส = 95 เปอร์เซ็นต์ RH %
4. วิธีการควบคุมการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิอากาศภายในห้องบรรจุผลไม้ = อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นแต่ละระดับในช่วงเวลากำหนด (stepped temp. MVHT)
5. วิธีการลดอุณหภูมิผลมะม่วง = ลดอุณหภูมิด้วยลม นาน 1 ชั่วโมง
6. การประเมินความเสียหายต่อความร้อน = 7 วัน และ14 วัน หลังจากผ่านความร้อน

ในการทดลองใช้มะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) น้ำหนัก 350±25 กรัม/ผล จำนวน 3 ผล วางไว้ในกระบะชั้นล่างสุด ซึ่งใช้เป็นตัวแทนแสดงอุณหภูมิของมะม่วงทั้งหมดภายในเครื่องตู้อบความร้อน เมื่อมะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ จำนวน 3 ผล มีอุณหภูมิคงอยู่ที่ 47 และ 48.5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาตามที่กำหนด แสดงว่าขณะนั้นมะม่วงทดลองทั้งหมดในเครื่องตู้อบความร้อนมีอุณหภูมิอยู่ในระดับเดียวกันกับมะม่วงที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ

**7. การจัดการกับมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันหลังจากการอบไอน้ำ**

ในขั้นตอนการกำจัดแมลงด้วยความร้อน แยกเก็บมะม่วงทดลองที่ผ่านความร้อน (treatment) และไม่ผ่านความร้อน (control) แต่ละระยะเวลาใส่ในถุงผ้าปิดปากถุง และวางไว้ในกระบะพลาสติกขนาด 36x54x15 เซนติเมตร คลุมด้วยผ้าปิดกระบะ หลังจากนั้นนำมะม่วงเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-80 เปอร์เซ็นต์ ตรวจนับจำนวนหนอนแมลงวันผลไม้ที่รอดชีวิตในมะม่วงแต่ละผล หลังจากผ่านความร้อนเป็นเวลานาน 5 วัน **(Figure 12)** โดยบันทึกจำนวนหนอนที่รอดชีวิตทั้งหมดในมะม่วงทดลองที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่กำหนดนำข้อมูลไปคำนวณหาอัตราการตายที่แท้จริง (corrected mortality) โดยอาศัยสูตรของ Abbott (Abbott, 1925)

**8. การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์**

การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ ดำเนินการทดลองด้วยเครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็ก จำนวน 2 เครื่อง ใช้มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เป็นตัวเปรียบเทียบพันธุ์กับมะม่วงน้ำดอกไม้มัน โดยใช้หนอนวัย 1 เพื่อเป็นตัวแทนของแมลงในการเตรียมมะม่วงให้มีแมลงวันผลไม้อยู่ภายในผล (artificial infestation method) จากรายงานของอุดร และคณะ (2529; 2536) และUnahawutti *et al*. (1986; 1991) ได้ศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* และ *B. cucurbitae* ในผลมะม่วงหนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง เพื่อกำหนดระยะการเจริญเติบโตที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุด อบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้ในระยะไข่ และหนอนวัย 1 เพื่อเปรียบเทียบอัตราการตายของแมลงทั้งสองระยะการเจริญเติบโต โดยอบมะม่วงให้อุณหภูมิภายในผลมะม่วงเพิ่มขึ้นถึง 43, 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ46.5 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จากผลการทดลอง พบว่าระยะไข่ตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที ส่วนหนอนวัย 1 ที่อุณหภูมิ 46.5 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ยังคงรอดชีวิต จากผลการทดลองแสดงว่า หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงมีความทนทานต่อความร้อนมากที่สุด โดยที่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้แสดงลักษณะความต้านทานต่อความร้อนแตกต่างกันเมื่ออยู่ในมะม่วงหนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง โดยที่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้อยู่ในมะม่วงพิมเสนแดงจะมีความสามารถต้านทานต่อความร้อนได้ดีกว่าเมื่ออยู่ในมะม่วงหนังกลางวัน น้ำดอกไม้ และแรด เนื่องจากมะม่วงต่าง

พันธุ์กันมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด ทั้งลักษณะรูปร่างภายนอก เปลือก สี เนื้อ กลิ่น และรสชาด อาจทำให้หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงมีโอกาสรอดชีวิตได้ไม่เท่ากัน

มะม่วงที่ใช้ในการทดลองมีน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล (มะม่วงขนาดกลาง) ใช้มะม่วงทั้งหมดจำนวน 270 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อนวางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว ในถาดบรรจุผลไม้ จำนวน 10 ผล/ถาด ซึ่งในถาดเดียวกันนั้นแยกเป็นมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน จำนวน 5 ผล และมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ จำนวน 5 ผล อบมะม่วงในเครื่องตู้อบความร้อนเดียวกัน โดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ 6.1 อบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5 และ10 นาที แต่ละระยะเวลาที่กำหนดมีมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 180 ผล และมีมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อนจำนวน 90 ผล ทำการทดลอง 3 ครั้ง

**9. การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน**

การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง มะม่วงที่ใช้ในการทดลองมีน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล (มะม่วงขนาดกลาง) ใช้มะม่วงทั้งหมดจำนวน 165 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน วางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว จำนวน 5 ผล/ถาด อบมะม่วงโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.1 อบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที แต่ละระยะเวลาที่กำหนดมีมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 120 ผล และมีมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อนจำนวน 45 ผล ทำการทดลอง 3 ครั้ง

**10. การศึกษาประเมินประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน**

การศึกษาประเมินประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง มะม่วงที่ใช้ในการทดลองมีน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล (มะม่วงขนาดกลาง) ใช้มะม่วงทั้งหมดจำนวน 140 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน วางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว จำนวน 10 ผล/ถาด อบมะม่วงโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.1 อบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที แต่ละระยะเวลาที่กำหนดมีมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 100 ผล และมีมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อนจำนวน 40 ผล ทำการทดลอง 2 ครั้ง

**11. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน**

ในขั้นตอนการประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำต่อมะม่วง ตรวจสภาพความผิดปกติของผลมะม่วง ซึ่งมะม่วงทุกผลจะต้องไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือรอยแตก

มะม่วงที่ใช้ในการทดลองมีน้ำหนัก 300-400 กรัม/ผล (มะม่วงขนาดกลาง) ใช้มะม่วงทั้งหมดจำนวน 160 ผล แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 120 ผล และมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 40 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อนอบมะม่วงโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.2 อบมะม่วงภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้อุณหภูมิภายในสุดผลของมะม่วงเพิ่มขึ้นจนถึง 47 และ48.5 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลไว้ที่อุณหภูมิ 47 และ48.5 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ2 ชั่วโมง เมื่อสิ้นสุดการให้ความร้อนลดอุณหภูมิมะม่วงทันทีโดยวิธีเป่าด้วยลม นาน 1 ชั่วโมง ด้วยเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้เปรียบเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน นำมะม่วงทดลองทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อนบรรจุใส่ในกล่องกระดาษขนาด 35x50x12 เซนติเมตร ด้านยาวทั้งสองข้างเจาะรู พร้อมทั้งปิดด้วยผ้าตาข่ายขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน 1.6 มิลลิเมตร จำนวน 4 รู เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดนำมะม่วงทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อนมาประเมินความเสียหายจากความร้อน โดยใช้หลักเกณฑ์พิจารณาและดำเนินการในหัวข้อต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

1. การสูญเสียน้ำหนัก (weight loss) ศึกษาการสูญเสียน้ำหนักของมะม่วงโดยคำนวณเป็นร้อยละของน้ำหนักที่สูญเสียไปด้วยวิธีการบันทึกน้ำหนักมะม่วงก่อนการทดลอง และในวันที่ตรวจผลการทดลองชั่งน้ำหนักผลมะม่วงอีกครั้งหนึ่ง

2. ปริมาณน้ำตาล (brix value) ในการทดลองแต่ละครั้งคั้นน้ำจากเนื้อมะม่วงที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล ซึ่งปริมาณน้ำตาลในรูปปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) มีหน่วยเป็นค่าองศาบริกซ์ การวัดปริมาณน้ำตาลจากเนื้อมะม่วงใช้เครื่อง digital refractometer (รุ่น DBX-30, atago Co., Ltd., Tokyo, Japan)

3. ปริมาณกรด (acidity value) ในการทดลองแต่ละครั้ง คั้นน้ำจากเนื้อมะม่วงที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรด ซึ่งปริมาณกรดในรูปปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ การวัดปริมาณกรดจากเนื้อมะม่วงใช้เครื่อง digital acilyzer (รุ่น 5 006P)

4. อาการเกิดโรคของผลมะม่วง (disease infection) สังเกตอาการเกิดโรคของผลมะม่วงที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน โดยสังเกตจากลักษณะรูปร่างภายนอกและภายในของผลมะม่วง ได้แก่ เปลือก สี เนื้อ และกลิ่นของผลมะม่วง

5. อาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ (spongy tissue) ทำการผ่าผลมะม่วงที่ผ่านความร้อนทั้งหมดเพื่อดูลักษณะอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำภายในผลมะม่วง

นำข้อมูลการสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ปริมาณกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ วิเคราะห์ผลทางสถิติ และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธีการตรวจสอบแบบ t-test

**12. การศึกษายืนยันประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน**

การศึกษายืนยันประสิทธิภาพของวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง โดยการประเมินประสิทธิภาพการกำจัดแมลงมีขั้นตอนและวิธีการดำเนินการดังต่อไปนี้ การทดลองนี้ใช้รูปแบบการทำลายของแมลงวันผลไม้ 2 รูปแบบ คือ ใช้วิธีการใส่หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง (artificial infestation method) และใช้วิธีการให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลมะม่วง (forced infestation method) แต่ละวิธีมีรายละเอียดดังนี้

**1. รูปแบบการทำลายโดยวิธีการใส่หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง** (artificial infestation method) ทำเช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 10 ใช้มะม่วงทดลอง จำนวน 400 ผล แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 300 ผล และมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 100 ผล นำมะม่วงทั้งหมดเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิโดยมีอุณหภูมิประมาณ 25-27 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำมะม่วงไปใช้ในการทดลอง

**2. รูปแบบการทำลายโดยวิธีการให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลมะม่วง** (forced infestation method) ห่อผลมะม่วงด้วยถุงพลาสติกใสให้แนบสนิทกับผิวมะม่วง ปิดด้วยเทปกาวให้แน่น และเจาะรูด้วยเข็มขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร ลงบนผลมะม่วงด้านใดด้านหนึ่ง จำนวน 5 รู/ผล ให้ทะลุเปลือกไปถึงเนื้อ เพื่อบังคับให้แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ตัวเต็มวัยเพศเมียแทงอวัยวะวางไข่เข้าไปวางไข่ในผลมะม่วงผ่านรูที่เจาะไว้ ใช้มะม่วงทดลอง จำนวน 320 ผล แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 240 ผล และมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 80 ผล นำผลมะม่วงไปวางไว้ในกรงเลี้ยงแมลงขนาดเล็กที่มีแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยจำนวนประมาณ 2,000 ตัว โดยให้บริเวณที่เจาะรูอยู่ด้านบน**)** ใช้ระยะเวลาในการให้แมลงวางไข่นาน 25 นาที นำมะม่วงทั้งหมดเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ โดยมีอุณหภูมิประมาณ 25-27 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำมะม่วงไปใช้ในการทดลอง

ทำการอบมะม่วงในสภาพของตู้อบความร้อนมีปริมาณมะม่วงน้ำหนัก 87.00-177.50 กิโลกรัม/ลูกบาศก์เมตร (half load and full load) แบ่งมะม่วงที่มีแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 ที่อยู่ภายในผล ทั้ง 2 วิธี ออกเป็น 4 ส่วน เลือกมะม่วงทดลองที่ได้จากวิธีการใส่หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง และวิธีการให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลมะม่วง 1 ส่วน จำนวน 25 และ20 ผล เก็บไว้สำหรับใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน มะม่วงส่วนนี้จะใช้สำหรับการประมาณจำนวนแมลงทั้งหมดในมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) เนื่องจากว่าจำนวนแมลงที่มีชีวิตในมะม่วงที่ผ่านความร้อนนั้นไม่สามารถที่จะทำการตรวจสอบได้โดยตรง สำหรับมะม่วงอีก 3 ส่วน แบ่งจำนวนเท่า ๆ กัน ใส่ในภาชนะบรรจุผลไม้แบบกระบะพลาสติกแข็งทนความร้อนขนาด 36x70x15 เซนติเมตร กระบะเดียวกัน จำนวน 3 กระบะ ในแต่ละกระบะมีมะม่วงทดลองโดยวิธีการใส่หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง จำนวน 25 ผล/กระบะ และวิธีการให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลมะม่วง จำนวน 20 ผล/กระบะ และใส่มะม่วงที่ไม่ใช้ในการทดลอง (filler fruit) เฉลี่ยจำนวนเท่า ๆ กัน ใน

กระบะบรรจุผลไม้อีก 3 และ 9 กระบะ และนำไปวางซ้อนลงบนกระบะซึ่งบรรจุมะม่วงทดลองในสภาพที่ห้องบรรจุผลไม้ของเครื่องตู้อบความร้อนมีปริมาณมะม่วง 50 และ100 เปอร์เซ็นต์ (half load and full load) ของความจุตู้ **(Figure 25)** นำมะม่วงเข้าเครื่องตู้อบความร้อนเพื่อประเมินประสิทธิภาพของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 โดยให้มีแมลงทดลองจำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว ตายทั้งหมด

**13. การศึกษาความเสียหายต่อคุณภาพผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน**

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่อมะม่วงในสภาพจำลองการส่งออกมะม่วงทางเครื่องบินและทางเรือ โดยตรวจสภาพความผิดปกติของผลมะม่วง ซึ่งมะม่วงทุกผลจะต้องไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงหรือรอยแตก แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 120 ผล และมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 40 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อนวางมะม่วงที่ผ่านความร้อนไว้ในกระบะชั้นล่างสุดใส่ในภาชนะบรรจุผลไม้แบบกระบะพลาสติกแข็งทนความร้อนขนาด 36x70x15 เซนติเมตร จำนวน 3 กระบะ ในแต่ละกระบะมีมะม่วงทดลอง จำนวน 20 ผล/กระบะ แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) ทางเครื่องบิน จำนวน 30 ผล และทางเรือ จำนวน 30 ผล และใส่มะม่วงที่ไม่ใช้ในการทดลอง (filler fruit) เฉลี่ยจำนวนเท่า ๆ กัน ให้เต็มความจุของกระบะ ในกระบะบรรจุผลไม้อีก 9 กระบะ และนำไปวางซ้อนลงบนกระบะซึ่งบรรจุมะม่วงทดลองในสภาพที่ห้องบรรจุผลไม้ของเครื่องตู้อบความร้อนมีปริมาณมะม่วง 100 เปอร์เซ็นต์ ของความจุตู้ เพื่อประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที อบมะม่วงโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.2 โดยช่วงแรกจะให้ความร้อนด้วยวิธีอบอากาศร้อน อากาศร้อนที่หมุนเวียนภายในตู้อบความร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์ระหว่าง 50-80 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิภายในตู้เพิ่มขึ้นถึงระดับหนึ่งและอุณหภูมิภายในผลมะม่วงมีอุณหภูมิที่ 43 องศาเซลเซียส จึงปรับเปลี่ยนการให้ความร้อนเป็นวิธีอบไอน้ำ อากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุดการให้ความร้อนลดอุณหภูมิมะม่วงภายในตู้อบความร้อน โดยวิธีเป่าด้วยลม นาน 1 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน นำมะม่วงทดลองทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน บรรจุใส่ในกล่องกระดาษขนาด 35x50x12 เซนติเมตร ด้านยาวทั้งสองข้างเจาะรูพร้อมทั้งปิดด้วยผ้าตาข่ายขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน 1.6 มิลลิเมตร จำนวน 4 รู เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่ 15 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 7 และ14 วัน เพื่อจำลองสภาพการส่งออกมะม่วงทางเครื่องบินและทางเรือ เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดนำมะม่วงทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อนมาประเมินความเสียหายจากความร้อน โดยใช้หลักเกณฑ์การพิจารณาและดำเนินการให้เป็นไปตามข้อ 11 ทำการทดลอง 2 ครั้ง

**เวลาและสถานที่**

เวลา ระยะเวลาดำเนินงาน 3 ปี (ตุลาคม 2564 ถึง กันยายน 2567)

สถานที่ ที่ห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. สืบค้นฐานข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะประจำพันธุ์ชีววิทยาของมะม่วงน้ำดอกไม้มันเพื่อใช้ในการทดลอง**

เกิดจากการกลายพันธุ์ จากการปลูกมะม่วงเขียวเสวยด้วยเมล็ด โดย คุณลุงขาว น้อยรักษา เกษตรกรชาวบางบอน กรุงเทพฯ พบว่า มีลักษณะพิเศษกว่าต้นอื่น คือสามารถกินได้ทั้งสุกและดิบ ซึ่งผลดิบมีรสชาติมันคล้ายเขียวเสวย ผลสุกมีรสชาติหวานเหมือนมะม่วงเขียวเสวยและยังมีเมล็ดลีบ จึงตั้งชื่อว่า มะม่วงน้ำดอกไม้มันต่อมา ปี 2538 จึงนำมะม่วงน้ำดอกไม้มัน ไปขึ้นทะเบียนเพื่อขอรับรองพันธุ์พืช ณ กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ใช้เวลา 5 ปี กรมวิชาการเกษตร จึงรับรองพันธุ์พืช โดยใช้ชื่อใหม่ว่า “ขาวนิยม” ตามชื่อของลุงขาว และนิยม แสดงถึงมะม่วงพันธุ์นี้ได้รับความนิยมของผู้ได้ลิ้มชิมรส และเพื่อเป็นอนุสรณ์แด่ คุณลุงขาว น้อยรักษา ผู้ให้กำเนิดมะม่วงสายพันธุ์นี้

**2. การเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในการทดลอง**

การเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ในห้องปฏิบัติเพื่อใช้ในการทดลอง ภายในห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ที่ควบคุมอุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 65-70 เปอร์เซ็นต์ โดยในการเลี้ยงแมลงแต่ละรุ่นจะตรวจสอบอัตราการฟักไข่ (hatching rate) อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate) น้ำหนักของดักแด้ (pupa weight) และอัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio) จากการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ พบว่า แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* มีความแข็งแรงตามมาตรฐานงานทดลองและสามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณได้มากกว่า 50,000 ตัว ซึ่งเพียงพอเพื่อใช้สำหรับงานทดลองการกำจัดแมลงด้วยความร้อนในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้มันด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์

**3. เครื่องตู้อบความร้อนและการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิ**

จากการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิตรวจสอบเปรียบเทียบกับปรอทวัดความร้อนมาตรฐาน โดยจุ่มแท่งวัดอุณหภูมิทั้งหมดรวมทั้งปรอทวัดความร้อนมาตรฐานลงในเครื่องอ่างน้ำร้อน ตั้งค่าเครื่องอ่างน้ำร้อนให้มีอุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เมื่อน้ำร้อนและมีอุณหภูมิคงที่จึงเริ่มการบันทึกอุณหภูมิ จากการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิ พบว่า แท่งวัดอุณหภูมิทั้งหมดสามารถคงอุณหภูมิที่ 47 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 99.9-100 เปอร์เซ็นต์ จากเครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้น (hybrid recorder) ที่อ่านค่าได้ทุก 5 นาที ซึ่งระยะเวลา อุณหภูมิ และความชื้นในการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิที่ 47 องศาเซลเซียส ได้แสดงไว้ใน (Table

**1 and 2)** โดยมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงเป็นระยะเวลานานติดต่อกันในช่วงเวลานาน 20 นาที

4. การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์

การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ ดำเนินการทดลองด้วยเครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็ก จำนวน 2 เครื่อง ใช้มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เป็นตัวเปรียบเทียบพันธุ์กับมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน โดยใช้หนอนวัย 1 เพื่อเป็นตัวแทนของแมลงในการเตรียมมะม่วงให้มีแมลงวันผลไม้อยู่ภายในผล (artificial infestation method) มะม่วงที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด จำนวน 270 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อนวางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว ในถาดบรรจุผลไม้ จำนวน 10 ผล/ถาด ซึ่งในถาดเดียวกันนั้นแยกเป็นมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน จำนวน 5 ผล และมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ จำนวน 5 ผล อบมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ในเครื่องตู้อบความร้อนเดียวกัน โดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.1 ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5 และ10 นาที รวมทั้งน้ำหนักมะม่วงกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ใน **(Table 3 and 4)** จากการทดลอง 3 ครั้ง พบว่าแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันมีความทนทานต่อความร้อนมากกว่าหนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ โดยมีอัตราการตายเฉลี่ย 65.59,90.01,92.51,97.22, และ 100  100 ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์ **(Table 5 and 6)** โดยหนอนวัย 1 ตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ในผลมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์

**5. การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน**

การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง ใช้มะม่วงทั้งหมดจำนวน 165 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน วางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว จำนวน 5 ผล/ถาด อบมะม่วงโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.1 โดยระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที รวมทั้งน้ำหนักมะม่วงกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ใน **(Table 7 and 8)** จากการทดลอง 3 ครั้ง พบว่ามะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อนจำนวน 45 ผล มีแมลงวันผลไม้รอดชีวิต จำนวน 3,189 ตัว แสดงว่าในมะม่วงจำนวน 120 ผล ซึ่งผ่านความร้อนแต่ละระยะเวลาที่กำหนดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 รอดชีวิต จำนวน 700 ตัว ที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที โดยมีอัตราการตายของหนอนวัย 1 เฉลี่ย 64.19, 78.09, 91.90, 98.57, 100, 100, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ **(Table 9)** แสดงว่าที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 5 นาทีขึ้นไป สามารถกำจัดหนอนวัย 1 ในผลมะม่วงตายทั้งหมด

**6. การศึกษาประเมินประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์**

การศึกษาประเมินประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง อบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 เพื่อกำหนดกระบวนการอบไอน้ำที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในผลมะม่วงให้ตายทั้งหมด ใช้มะม่วงทั้งหมดจำนวน 140 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน วางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว จำนวน 10 ผล/ถาด อบมะม่วงโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.1 อบมะม่วงภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้อุณหภูมิภายในสุดผลมะม่วงเพิ่มขึ้นจนถึง 47 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลไว้ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงรวมทั้งน้ำหนักมะม่วงกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ใน **(Table 10 and 11)** จากการทดลอง 2 ครั้ง พบว่า มะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 40 ผล มีแมลงวันผลไม้รอดชีวิต จำนวน 2,890 ตัว แสดงว่าในมะม่วงจำนวน 100 ผล ซึ่งผ่านความร้อนแต่ละระยะเวลาที่กำหนดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 รอดชีวิต จำนวน 2 ตัว ที่อุณหภูมิผล 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที โดยมีอัตราการตายของหนอนวัย 1 เฉลี่ย 99.86, 99.86, 100, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ **(Table 12)**

จากการทดลองจึงประมาณการได้ว่ามะม่วงซึ่งผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส แต่ละระยะเวลาที่กำหนดจะมีหนอนที่รอดชีวิตได้จำนวนไม่น้อยกว่าประมาณ 7,225 ตัว ผลการตรวจนับจำนวนแมลงในผลมะม่วงจากการทดลองปรากฏว่าหนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงตายทั้งหมดเมื่อคงความร้อนที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เป็นเวลานานตั้งแต่ 10 นาทีขึ้นไป กระบวนการกำจัดแมลงดังกล่าวนี้มีความเป็นไปได้สูงที่จะมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงได้ตามข้อกำหนดของวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช ดังนั้นควรจะได้มีการทดสอบการศึกษายืนยันกระบวนการกำจัดแมลงดังกล่าวข้างต้น เพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชสำหรับกำจัดระยะไข่ และหนอนวัยต่าง ๆ ของแมลงวันผลไม้ในมะม่วงก่อนการส่งออก

**7. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน**

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำต่อมะม่วง ตรวจสภาพความผิดปกติของผลมะม่วง ซึ่งมะม่วงทุกผลจะต้องไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือรอยแตก แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 120 ผล และมะม่วงใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 40 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน อบมะม่วงด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) โดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วง ภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้อุณหภูมิภายในผลมะม่วงเพิ่มขึ้นจนถึง 47 และ48.5 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลไว้ที่อุณหภูมิ 47 และ48.5 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ2 ชั่วโมง ระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงรวมทั้งน้ำหนักมะม่วงกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ใน **(Table 13 and 14)** เมื่อสิ้นสุดการให้

ความร้อนลดอุณหภูมิผลมะม่วงโดยวิธีเป่าด้วยลมนาน 1 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน นำมะม่วงทดลองทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน บรรจุใส่ในกล่องกระดาษขนาด 35x50x12 เซนติเมตร ด้านยาวทั้งสองข้างเจาะรูพร้อมทั้งปิดด้วยผ้าตาข่าย จำนวน 4 รู เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดนำมะม่วงทั้งหมดที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อนมาประเมินความเสียหายจากความร้อน จากการทดลองพบว่าการสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 47 และ48.5 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ2 ชั่วโมง หลังจากเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน โดยคุณภาพความหวานของมะม่วงไม่เปลี่ยนแปลง **(Table 15, 16, 17, 18 and 19)** โดยมะม่วงที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 48.5 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จะพบอาการเกิดโรคของผลมะม่วง (disease infection)**)** และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ (spongy tissue)**)** เมื่อผ่านความร้อนที่อุณหภูมิสูงและคงความร้อนไว้เป็นเวลานาน

**8. การศึกษายืนยันประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงน้ำดอกไม้มัน**

เตรียมมะม่วงทดลองให้มีแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 อยู่ภายในผล ศึกษา 2 วิธีการ คือ 1. วิธีการใส่หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง (artificial infestation method) และ2. วิธีการให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลมะม่วง (forced infestation method) นำมะม่วงเข้าเครื่องตู้อบความร้อนเพื่อประเมินประสิทธิภาพของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ในการกำจัดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 จำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว ให้ตายทั้งหมด เพื่อการยอมรับเป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที รวมทั้งน้ำหนักมะม่วงกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ใน **(Table 20 and 21)** จากการทดลองพบว่า มะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อนจำนวน 100 และ80 ผล มีแมลงรอดชีวิตจำนวน จำนวน 7,352 และ5,016 ตัว ซึ่งมะม่วงที่ผ่านความร้อน จำนวน 300 และ240 ผล ไม่พบแมลงรอดชีวิต โดยสามารถกำจัดหนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ได้ประมาณ 37,104 ตัว ในผลมะม่วงตายทั้งหมด

ซึ่งวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ โดยช่วงแรกจะให้ความร้อนด้วยวิธีอบอากาศร้อน อากาศร้อนที่หมุนเวียนภายในตู้อบความร้อนมีจะความชื้นสัมพัทธ์ระหว่าง 50-80 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิภายในตู้เพิ่มขึ้นถึงระดับหนึ่ง และอุณหภูมิภายในผลมะม่วงมีอุณหภูมิที่ 43 องศาเซลเซียส จึงปรับเปลี่ยนการให้ความร้อนเป็นวิธีอบไอน้ำ อากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ (saturated condition) ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ กระบวนการอบมะม่วงดังกล่าวนี้มีประสิทธิภาพสูงได้ระดับมาตรฐานที่ยอมรับเป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช เพื่อใช้กำจัดแมลงวันผลไม้ระยะไข่และหนอนวัยต่าง ๆ ในมะม่วงก่อนการส่งออก

เพราะสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 ได้ตามมาตรฐานข้อกำหนดของประเทศญี่ปุ่นที่ระบุไว้ว่าวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชจะต้องกำจัดแมลงจำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว ตายทั้งหมด

**9. การศึกษาความเสียหายต่อคุณภาพผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน**

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่อมะม่วงในสภาพจำลองการส่งออกมะม่วงทางเครื่องบินและทางเรือ อบมะม่วงโดยช่วงแรกจะให้ความร้อนด้วยวิธีอบอากาศร้อน อากาศร้อนที่หมุนเวียนภายในตู้อบความร้อนจะมีความชื้นสัมพัทธ์ระหว่าง 50-80 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิภายในตู้เพิ่มขึ้นถึงระดับหนึ่งและอุณหภูมิภายในผลมะม่วงมีอุณหภูมิที่ 43 องศาเซลเซียส จึงปรับเปลี่ยนการให้ความร้อนเป็นวิธีอบไอน้ำ อากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เพื่อประเมินการสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน เมื่อเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 7 และ14 วัน ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที รวมทั้งน้ำหนักมะม่วงกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ใน **(Table 23)** จากการทดลองพบว่า สูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ **(Table 24 and 25)** เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที โดยคุณภาพความหวานของมะม่วงไม่เปลี่ยนแปลง

ผลไม้เกิดความเสียหายได้ทุก ๆ ขั้นตอนทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับผลไม้ที่ต้องผ่านวิธีการกำจัดศัตรูพืชก่อนการส่งออก เพื่อให้เป็นไปตามเงื่อนไขด้านกักกันพืชวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชนั้นจะต้องมีประสิทธิภาพในการกำจัดศัตรูพืชและไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ ถ้าหากทำให้คุณภาพของผลไม้เสียไปแล้วถือว่าวิธีการนั้นไม่มีประสิทธิภาพอย่างแท้จริง ดังนั้นวิธีการใดก็ตามที่ใช้สำหรับกำจัดแมลงศัตรูพืชในผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวควรจะมีผลทำให้ผลไม้เกิดความเสียหายน้อยที่สุด ความเสียหายของผลไม้จากวิธีการกำจัดศัตรูพืชหลังการเก็บเกี่ยวนั้นแสดงออกโดยสูญเสียคุณสมบัติด้านการตลาดหลายรูปแบบ ได้แก่ สีผล อายุการเก็บรักษา รูปลักษณ์ภายนอก การสุก รดชาด กลิ่น และความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุของโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยว (Goodwin and Jamikorn, 1952; McDonald and William, 1994) การที่คุณสมบัติดังกล่าวข้างต้นลดลงหรือผิดไปจากปกติจะมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

**1. สืบค้นฐานข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะประจำพันธุ์ชีววิทยาของมะม่วงน้ำดอกไม้มันเพื่อใช้ในการทดลอง**

จากการกลายพันธุ์ จากการปลูกมะม่วงเขียวเสวยด้วยเมล็ด โดย คุณลุงขาว น้อยรักษา เกษตรกรชาวบางบอน กรุงเทพฯ พบว่า มีลักษณะพิเศษกว่าต้นอื่น คือสามารถกินได้ทั้งสุกและดิบ

ซึ่งผลดิบมีรสชาติมันคล้ายเขียวเสวย ผลสุกมีรสชาติหวานเหมือนมะม่วงเขียวเสวยและยังมีเมล็ดลีบ จึงตั้งชื่อว่า มะม่วงน้ำดอกไม้มันต่อมา ปี 2538 จึงนำมะม่วงน้ำดอกไม้มัน ไปขึ้นทะเบียนเพื่อขอรับรองพันธุ์พืช ณ กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ใช้เวลา 5 ปี กรมวิชาการเกษตร จึงรับรองพันธุ์พืช โดยใช้ชื่อใหม่ว่า “ขาวนิยม” ตามชื่อของลุงขาว และนิยม แสดงถึงมะม่วงพันธุ์นี้ได้รับความนิยมของผู้ได้ลิ้มชิมรส และเพื่อเป็นอนุสรณ์แด่ คุณลุงขาว น้อยรักษา ผู้ให้กำเนิดมะม่วงสายพันธุ์นี้

**2. การเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในการทดลอง**

การเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ในห้องปฏิบัติการ ภายในห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ที่ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น ในการเลี้ยงแมลงแต่ละรุ่นจะตรวจสอบอัตราการฟักไข่ อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย น้ำหนักของดักแด้ และอัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย จากการเพาะเลี้ยงและเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ พบว่า แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* มีความแข็งแรงตามมาตรฐานงานทดลองและสามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณได้มากกว่า 50,000 ตัว ซึ่งเพียงพอสำหรับใช้ในการทดลอง

**3. เครื่องตู้อบความร้อนและการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิ**

จากการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิตรวจสอบเปรียบเทียบกับปรอทวัดความร้อนมาตรฐาน โดยจุ่มแท่งวัดอุณหภูมิทั้งหมดรวมทั้งปรอทวัดความร้อนมาตรฐานลงในเครื่องอ่างน้ำร้อน ตั้งค่าเครื่องอ่างน้ำร้อนให้มีอุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เมื่อน้ำร้อนและมีอุณหภูมิคงที่จึงเริ่มการบันทึกอุณหภูมิ จากการปรับค่าความเที่ยงตรงของแท่งวัดอุณหภูมิ พบว่าแท่งวัดอุณหภูมิทั้งหมดสามารถคงอุณหภูมิที่ 47 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 99.9-100 เปอร์เซ็นต์ จากเครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้น (hybrid recorder) ที่อ่านค่าได้ทุก 5 นาที โดยมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงเป็นระยะเวลานานติดต่อกันในช่วงเวลานาน 20 นาที ซึ่งได้มาตรฐานงานทดลองของเครื่องตู้อบความร้อนในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง

**4. การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์มันเดือนน้ำดอกไม้มันและมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์**

การศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ ดำเนินการทดลองด้วยเครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็ก จำนวน 2 เครื่อง ใช้มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เป็นตัวเปรียบเทียบพันธุ์กับมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน โดยใช้หนอนวัย 1 เพื่อเป็นตัวแทนของแมลงในการเตรียมมะม่วงให้มีแมลงวันผลไม้อยู่ภายในผล (artificial infestation method) มะม่วงที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด จำนวน 270 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อนวางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว ในถาดบรรจุผลไม้ จำนวน 10 ผล/ถาด ซึ่งในถาดเดียวกันนั้นแยกเป็นมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน

จำนวน 5 ผล และมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ จำนวน 5 ผล อบมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ในเครื่องตู้อบความร้อนเดียวกัน โดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงให้เป็นไปตามข้อ 6 และ6.1 ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการอบมะม่วงที่อุณหภูมิผล 45, 46, 46.5 องศาเซลเซียส นาน 0 นาที และ47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5 และ 10 นาที รวมทั้งน้ำหนักมะม่วงกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งได้แสดงไว้ใน **(Table 3 and 4)** จากการทดลอง 3 ครั้ง พบว่าแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มันมีความทนทานต่อความร้อนมากกว่าหนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ โดยมีอัตราการตายเฉลี่ย 65.59,90.01,92.51,97.22, และ 100 100 ตามลำดับเปอร์เซ็นต์ **(Table 5 and 6)** โดยหนอนวัย 1 ตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ในผลมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์

**5. การศึกษาเบื้องต้นประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มัน**

การศึกษาประเมินประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง อบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 เพื่อกำหนดกระบวนการอบไอน้ำที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในผลมะม่วงให้ตายทั้งหมด ใช้มะม่วงทั้งหมดจำนวน 140 ผล นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อนวางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว จำนวน 10 ผล/ถาด อบมะม่วงภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้อุณหภูมิภายในสุดผลมะม่วงเพิ่มขึ้นจนถึง 47 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลไว้ที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 0, 5, 10, 15 และ 20 นาที จากการทดลอง 2 ครั้ง พบว่า มะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 40 ผล มีแมลงวันผลไม้รอดชีวิต จำนวน 2,890 ตัว แสดงว่าในมะม่วงจำนวน 100 ผล ซึ่งผ่านความร้อนแต่ละระยะเวลาที่กำหนดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 รอดชีวิต จำนวน 2 ตัว ที่อุณหภูมิผล 47 องศาเซลเซียส นาน 0, 5, 10, 15 และ20 นาที โดยมีอัตราการตายของหนอนวัย 1 เฉลี่ย 97.05, 98.82, และ 100 และ 100 และ100 ตามลำดับ **(Table 3)**

**7. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้**

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำต่อมะม่วง อบมะม่วงโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้อุณหภูมิภายในผลของมะม่วงเพิ่มขึ้นถึง 47 และ48.5 องศาเซลเซียส และคงความร้อนไว้ที่อุณหภูมิ 47 และ48.5 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ2 ชั่วโมง จากการทดลองพบว่า การสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำไม่มีความแตกต่างกันจากมะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 47 และ48.5 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ2 ชั่วโมง หลังจากเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน โดยคุณภาพความหวานของมะม่วงไม่เปลี่ยนแปลง ซึ่งมะม่วงที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 48.5 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จะพบอาการเกิดโรคของผล

มะม่วง (disease infection) และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำ (spongy tissue) เมื่อผ่านความร้อนที่อุณหภูมิสูงและคงความร้อนไว้เป็นเวลานาน

**8 การศึกษายืนยันประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลน้ำดอกไม้**

การประเมินประสิทธิภาพของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 จำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว ให้ตายทั้งหมด เพื่อการยอมรับเป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช โดยวิธีการใส่หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง และวิธีการให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลมะม่วง จากการทดลองพบว่า มะม่วงที่ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 100 และ80 ผล มีแมลงรอดชีวิต จำนวน 5,384และ10,573 ตัว มะม่วงที่ผ่านความร้อน จำนวน 300 และ240 ผล ไม่พบแมลงรอดชีวิต โดยสามารถกำจัดหนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ได้จำนวนประมาณ 37,104 ตัว ในผลมะม่วงตายทั้งหมด

ซึ่งวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ โดยช่วงแรกจะให้ความร้อนด้วยวิธีอบอากาศร้อน อากาศร้อนที่หมุนเวียนภายในตู้อบความร้อนจะมีความชื้นสัมพัทธ์ระหว่าง 50-80 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเมื่ออุณหภูมิภายในตู้เพิ่มขึ้นถึงระดับหนึ่งและอุณหภูมิภายในผลมะม่วงมีอุณหภูมิที่ 43 องศาเซลเซียส จึงปรับเปลี่ยนการให้ความร้อนเป็นวิธีอบไอน้ำ อากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ (saturated condition) ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ กระบวนการอบมะม่วงดังกล่าวนี้มีประสิทธิภาพสูงได้ระดับมาตรฐานที่ยอมรับเป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช เพื่อใช้กำจัดแมลงวันผลไม้ในระยะไข่ และหนอนวัยต่าง ๆ ในมะม่วงก่อนการส่งออก

**9. การศึกษาความเสียหายต่อคุณภาพผลน้ำดอกไม้มัน**

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่อมะม่วงในสภาพจำลองการส่งออกมะม่วงทางเครื่องบินและทางเรือ อบมะม่วงที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ซึ่งการสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อน เมื่อเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 7 และ14 วัน พบว่า การสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรด อาการเกิดโรคของผลมะม่วง และอาการเสียหายที่เนื้อเป็นรูพรุนคล้ายฟองน้ำไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที โดยคุณภาพความหวานของมะม่วงไม่เปลี่ยนแปลง

ผลไม้เกิดความเสียหายได้ทุก ๆ ขั้นตอนทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวโดยเฉพาะอย่างยิ่งกับผลไม้ที่ต้องผ่านวิธีการกำจัดศัตรูพืชก่อนการส่งออกเพื่อให้เป็นไปตามเงื่อนไขด้านกักกันพืช วิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชนั้นจะต้องมีประสิทธิภาพในการกำจัดศัตรูพืชและไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ ถ้าหากทำให้คุณภาพของผลไม้เสียไปแล้วถือว่าวิธีการนั้นไม่มีประสิทธิภาพอย่างแท้จริง ดังนั้นวิธีการใดก็ตามที่ใช้สำหรับกำจัดแมลงศัตรูพืชในผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวควรจะมีผลทำให้

ผลไม้เกิดความเสียหายน้อยที่สุด ความเสียหายของผลไม้จากวิธีการกำจัดศัตรูพืชหลังการเก็บเกี่ยวนั้นแสดงออกโดยสูญเสียคุณสมบัติด้านการตลาดหลายรูปแบบ ได้แก่ สีผล อายุการเก็บรักษา รูปลักษณ์ภายนอก การสุก รดชาด กลิ่น และความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุของโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยว การที่คุณสมบัติดังกล่าวข้างต้นลดลงหรือผิดไปจากปกติจะมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค

**คำขอบคุณ**

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงก่อนการส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น ซึ่งได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากกองทุนสนับสนุนงานวิจัยด้านการเกษตร ขอขอบพระคุณท่านผู้เชี่ยวชาญด้านกักกันพืชและที่ปรึกษากรมวิชาการเกษตร คุณอุดร อุณหวุฒิ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกันทุกท่านที่มีส่วนช่วยในการเตรียมการทดลองรวมถึงตรวจผลการทดลอง

**เอกสารอ้างอิง**

กรมวิชาการเกษตร. 2562. แมลงวันผลไม้และการป้องกันกำจัด. [ออนไลน์] [อ้างถึง 26 กรกฎาคม 2563] แหล่งข้อมูล: http://www.doa.go.th/pibai/pibai/n12/v_10_nov/rai.html.

ชัยณรัตน์ สนศิริ สลักจิต พานคำ ชลธิชา รักใคร่ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ พุฒิพงษ์ เพ็งฤกษ์ และพงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์. 2562. การศึกษายืนยันประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงด้วยความร้อนเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera carambolae* (Diptera: Tephritidae) ในมังคุดก่อนการส่งออกไปประเทศไต้หวัน. การประชุมวิชาการของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ประจำปี 2562. 10-12 มิถุนายน 2562. ณ. รอยัลฮิลส์ กอล์ฟ รีสอร์ท แอนด์ สปา จ. นครนายก. เอกสารการประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 29 หน้า.

ชัยณรัตน์ สนศิริ สลักจิต พานคำ ชลธิชา รักใคร่ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ พุฒิพงษ์ เพ็งฤกษ์ และพงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์. 2563. การกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) (Diptera: Tephritidae) ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ เพื่อเปิดตลาดมังคุดไปไต้หวัน. การประชุมวิชาการของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ประจำปี 2563. 17-18 กันยายน 2563. ณ. อาคารเฉลิมพระเกียรติ สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. เอกสารการประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 15 หน้า.

เทคโนโลยีชาวบ้าน. 2562. มะม่วงมันเดือนเก้า ไม้ผลทำเงิน ขายดีติดตลาด. [ออนไลน์] [อ้างถึง 23 มกราคม 2563] แหล่งข้อมูล: http://www.technologychaban.com.

มนตรี จิระสุรัตน์. 2544. แมลงวันผลไม้ที่สำคัญของประเทศไทยและการแพร่กระจาย. แมลงวันผลไม้ในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกองกีฏวิทยาและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 6 หน้า.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2550. โรงงานอบไอน้ำเพื่อการส่งออก. คู่มืออารักขาพืช 13 (1): 2.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2552. การกำจัดแมลงในผลไม้เพื่อการส่งออกด้วยวิธีการอบไอน้ำ. หน้า. 43-46. *ใน*: เทคโนโลยีการผลิตและการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองนอกฤดูเพื่อการส่งออก. โดยภารกิจโครงการและประสานงานวิจัย, สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. กรุงเทพฯ.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2552. ขั้นตอนการอบไอน้ำมะม่วงและมังคุดสดจากประเทศไทยเพื่อการส่งออกไปญี่ปุ่น. *ใน*: การประชุมเชิงปฏิบัติการเรื่องเทคโนโลยีการผลิตและการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองเพื่อการส่งออก. 30 มิถุนายน-1 กรกฎาคม 2552. ณ. โรงแรมท็อปแลนด์พลาซ่า จ. พิษณุโลก. (เอกสารแจกในที่ประชุม)

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2554. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อนในส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งเพื่อการส่งออก. หน้า. 43-46. *ใน*: การประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืช 28-30 มิถุนายน 2554. ณ. โรงแรมทวาราวดี จ. ปราจีนบุรี. เอกสารการประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2555. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันทองด้วยความร้อนในผลมะละกอเพื่อการส่งออก. เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาศัตรูพืชหมดปัญหาเมื่ออารักขาถูกวิธี. 7-9 สิงหาคม 2555. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 100 หน้า.

อุดร อุณหวุฒิ จำลอง เจตนะจิตร มานะ พุ่มทอง พวงผกา คมสัน อวยชัย สมิตะสิริ จำลอง ลภาสาธุกุล วลัยกร วรวิศิษฏ์ธำรง และรัชฎา อินทรกำแหง. 2529. การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำเพื่อกำจัดแมลงวันทองและแมลงวันแตงในผลมะม่วงพันธุ์หนังกลางวัน. ว. วิชาการ กษ. 4: 43-66.

อุดร อุณหวุฒิ มานะ พุ่มทอง รัชฎา อินทรกำแหง วลัยกร วรวิศิษฏ์ธำรง และประเทือง ศรีสุข. 2536. การศึกษาความต้านทานต่อความร้อนของแมลงวันทองวัยที่ 1 ในมะม่วงหนังกลางวันน้ำดอกไม้ แรดและพิมเสนแดง. ว. วิชาการ กษ. 11: 133-147.

อุดร อุณหวุฒิ. 2541. การกำจัดแมลงวันผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว. ฝ่ายกักกันพืช, กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 129 หน้า.

อุดร อุณหวุฒิ สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชุติมา อ้อมกิ่ง จารุวรรณ จันทรา และรัชฎา อินทรกำแหง. 2549. การวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในส้มโอเพื่อส่งออก. ผลงานวิจัยเพื่อพัฒนาเป็นผลงานวิจัยดีเด่นประจำปี 2549, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. หน้า. 125-143.

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.

CABI. 2014. Invasive Species Compendium. *Bactrocera dorsalis*http://www.cabi.org/isc/datasheet/17685. (26 July 2014).

Goodwin, T.W. and M. Jamikorn. 1952. Biosynthesis of carotenes in ripening tomatoes Nature. 170: 104-105.Intarakumheng, R., U. Unahawutti, S. Phankum, C. Sonsiri, M. Srimartpirom, C. Ormking and J. Chantra. 2006. Thermal tolerance of the first instar larvae of oriental fruit fly to modified vapor heat treatment in Mahachanok and Nang Klarngwan mangoes. A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF) for approval of a quarantine treatment on Mahachanok mango to be exported from Thailand to Japan. Plant Quarantine Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture. Bangkok 38 p.

Intarakumheng, R., S. Phankum, C. Sonsiri, M. Srimartpirom, C. Ormking and U. Unahawutti. 2013. Evaluation of modified vapor heat treatment as quarantine treatment for Khiaosawoey and Chokanan mangoes infested with oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF) for market access of Khiaosawoey and Chokanan mangoes from Thailand to Japan. Plant Quarantine Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture. Bangkok. 139 p.

Iwaizumi, R. 2004. Species and host record of the *Bactrocera dorsalis* complex (Diptera: Tephritidae) detected by the plant quarantine of Japan. Applied Entomology and Zoology 39 (2): 327-333.

Jennifer, L. and G. Kaufman. 2012. Featured Greatures. University of Florida http://www.entnemdept.ufl.edu/creatures/fruit/tropical/oriental_fruit_fly.htm( 26 July 2014).

MAFF (Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries). 2010. Summary of proposed Revisions to the Enforcement Ordinance of the Plant Protection Law and Concerned Public Notice Retrieved February1, 2012 from http://www.members. wto.org/crnattachments/2010/sps/JPN/10_4194_00_e.pdf

McDonald, R.E. and W.R. Miller. 1994. Quality and condition maintenance. *In*: J.L. Sharp and G.Y. Hallman (eds.), Quarantine treatment for pests of food plant. Westview Press, Inc., Boulder, Cololado, USA. pp. 249-277.

Miyazaki, I. 2010. How to prepare the technical report on vapor heat disinfestations test. *In*: Report of the thermal treatment for the disinfestations of fruit flies. Naha Plant Protection Station, Ministry of Agriculture Forestry and Fisheries, Okinawa International Centre. Japan International Cooperation Agency, Japan. 30 p.

Shimizu, Y., T. Kohama, T. Uesato, T. Matsuyama and M. Yamagishi. 2007. Invasion of solanum fruit fly *Bactrocera latifrons* (Diptera: Tephritidae) to Yonaguni Island, Okinawa Prefecture, Japan. Appl. Entomol. Zool. 42 (2): 269-275.

Sonsiri, C., W. Rattanadechakul, S. Phankum, M. Srimartpirom and C. Ormking. 2015. Modified Vapor Heat Treatment for Mangosteen Infested with *Bactrocera dorsalis*, *B. carambolae* and *B. papayae* (Diptera: Tephritidae) for Export. A research submitted to Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine (BAPHIQ) Council of Agriculture, Executive Yuan Taipei City Taiwan, R.O.C. Plant Quarantine Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture. Bangkok. 26 p.

Srimartpirom, M. 2010. The final report of thermal treatment for the disinfestations of fruit flies from Thailand. p 95. *In*: Report of the thermal treatment for the disinfestations of fruit flies. Naha Plant Protection Station, Ministry of Agriculture Forestry and Fisheries, Okinawa International Centre. Japan International Cooperation Agency, Japan. 100 p.

Thomas, D. B. 2004. Hot peppers as a host for the Mexican fruit fly *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). Florida Entomologist 87 (4): 603-608.

Unahawutti, U., C. Chettanachitara, M. Poomthong, P. Konson, E. Smitasiri, C. Lapasathukool, W. Worawisitthumrong and R. Intarakumheng. 1986. Vapor heat treatment for 'Nang Klarngwun' mango, *Mangifera indica* Linn., infested with eggs and larvae of the oriental fruit fly, *Dacus dorsalis* Hendel and the melon fly, *Dacus cucurbitae* Coquillett (Diptera: Tephritidae). Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture. Bangkok. 108 p.

Unahawutti, U., M. Poomthong, R. Intarakumheng, W. Worawisitthumrong, C. Lapasathukool, E. Smitasiri, P. Srisoon and C. Ratanawaraha. 1991. Vapor heat as plant quarantine treatment of 'Nang Klarngwan', 'Nam Dorkmai', 'Rad' and 'Pimsen Daeng' mangoes infested with fruit flies (Diptera: Tephritidae). Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture. Bangkok. 342 p.

Unahawutti, U., S. Phankum, P. Ongthonglang and C. Chettanachitara. 1999. Heated-air quarantine treatment for mangosteen infested with oriental fruit fly (Diptera: Tephitidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on Thai mangosteen to be exported to Japan. Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture. Bangkok. 630 p.

Unahawutti, U., S. Phankum, M. Srimartpirom, C. Ormking, C. Sonsiri, J. Chantra, and R. Intarakumheng. 2006. Heated-air quarantine treatment for pummelo infested with oriental fruit fly (Diptera: Tephitidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on Thai pummelo to be exported to Japan. Plant Quarantine Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture. Bangkok. 135 p.

Watanabe, N., F. Ichinohe and M. Sonda. 1973. Improvement of corn flour medium for larval culture of oriental fruit fly. Res. Bull. Plant Prot. Japan. 11: 57-58.

White, I. M. and M. M. Elson-Harris. 1992. Fruit flies of economic significance: Their identification and bionomics. CAB International, Wallingford, UK. 601 p.

**Table 1** Calibration factor obtained from each sensor of the vapor heat treatment system (VHT chamber no.1)

| Date/Time | Number of sensor[1/] | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 7/3/2022 | 1 | 2 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
| 12:10 | 47.0 | 99.9 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 |
| 12:15 | 47.0 | 100.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 |
| 12:20 | 47.0 | 100.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 |
| 12:25 | 47.0 | 100.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 |
| 12:30 | 47.0 | 100.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 |

[1/]The test was conducted by dipping all sensors into constant temperature water bath at 47.0 °C for 0:20 minutes.

**Table 2** Calibration factor obtained from each sensor of the vapor heat treatment System (VHT chamber no.2)

| Date/Time | Number of sensor[1/] | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 7/3/2022 | 1 | 2 | 4 | 5 | 6 | 8 | 9 | 10 |
| 11:00 | 47.0 | 100.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 |
| 11:05 | 47.0 | 100.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 |
| 11:10 | 47.0 | 100.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 |
| 11:15 | 47.0 | 100.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 |
| 11:20 | 47.0 | 100.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 | 47.0 |

[1/]The test was conducted by dipping all sensors into constant temperature water bath at 47.0 °C for 0:20 minutes.

**Table 3** Mortality[1/] of first instar of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in mango (Nam Dok Mai Mun) treated with modified vapor heat treatment in comparative heat tolerance test

| Treatment[2/] | Number of treated (larvae) | Number of alive (larvae) | Number of dead (larvae) | Corrected mortality (%)[3/] |
|---|---|---|---|---|
| Control | 4,500 | 3,426 | 1,074 | 0 |
| 45.0 ° C | 1,500 | 372 | 1,128 | 65.59 |
| 46.0 ° C | 1,500 | 108 | 1,392 | 90.01 |
| 46.5 ° C | 1,500 | 81 | 1,419 | 92.51 |
| 47.0 ° C | 1,500 | 30 | 1,470 | 97.22 |
| 47.0 ° C + 0:05 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |
| 47.0 ° C + 0:10 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |

[1/]Combined data of 3 replicates.

[2/]Treatment: 5 fruits infested with 100 individuals/fruit.
Control: 15 fruits infested with 100 individuals/fruit.

[3/]Mortality is corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925)

**Table 4** Mortality[1/] of first instar of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in mango (Nam Dok Mai) treated with modified vapor heat treatment in comparative heat tolerance test

| Treatment[2/] | Number of treated (larvae) | Number of alive (larvae) | Number of dead (larvae) | Corrected mortality (%)[3/] |
|---|---|---|---|---|
| Control | 4,500 | 2,977 | 1,523 | 0 |
| 45.0 ° C | 1,500 | 387 | 1,113 | 64.20 |
| 46.0 ° C | 1,500 | 147 | 1,353 | 86.40 |
| 46.5 ° C | 1,500 | 111 | 1,389 | 89.73 |
| 47.0 ° C | 1,500 | 42 | 1,458 | 96.10 |
| 47.0 ° C + 0:05 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |
| 47.0 ° C + 0:10 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |

[1/]Combined data of 3 replicates.

[2/]Treatment: 5 fruits infested with 100 individuals/fruit.
Control: 15 fruits infested with 100 individuals/fruit.

[3/]Mortality is corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925).

**Table 5** Mortality[1/] of first instar of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in mango (Nam Dok Mai Mun) treated with modified vapor heat treatment in preliminary disinfestation test

| Treatment[2/] | Number of treated (larvae) | Number of alive (larvae) | Number of dead (larvae) | Corrected mortality (%)[3/] |
|---|---|---|---|---|
| Control | 4,500 | 3,326 | 1,174 | 0 |
| 45.0 ° C | 1,500 | 846 | 654 | 83.19 |
| 46.0 ° C | 1,500 | 45 | 1,455 | 95.58 |
| 46.5 ° C | 1,500 | 30 | 1,470 | 97.05 |
| 47.0 ° C | 1,500 | 12 | 1,488 | 98.82 |
| 47.0 ° C + 0:05 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |
| 47.0 ° C + 0:10 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |
| 47.0 ° C + 0:15 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |
| 47.0 ° C + 0:20 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |

[1/]Combined data of 3 replicates.

[2/]Treatment: 5 fruits infested with 100 individuals/fruit.

Control: 15 fruits infested with 100 individuals/fruit.

[3/]Mortality is corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925

**Table 6** Mortality[1/] of first instar of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in mango (Nam Dok Mai Mun) treated with modified vapor heat treatment in intermediate disinfestation test

| Treatment[2/] | Number of treated (larvae) | Number of alive (larvae) | Number of dead (larvae) | Corrected mortality (%)[3/] |
|---|---|---|---|---|
| Control | 4,000 | 2,800 | 1,900 | 0 |
| 47.0 ° C + 0:00 min. | 2,000 | 1 | 1,999 | 99.86 |
| 47.0 ° C + 0:05 min. | 2,000 | 1 | 1,999 | 99.86 |
| 47.0 ° C + 0:10 min. | 2,000 | 0 | 2,000 | 100 |
| 47.0 ° C + 0:15 min. | 2,000 | 0 | 2,000 | 100 |
| 47.0 ° C + 0:20 min. | 2,000 | 0 | 2,000 | 100 |

[1/]Combined data of 2 replicates.

[2/]Treatment: 10 fruits infested with 100 individuals/fruit.

Control: 20 fruits infested with 100 individuals/fruit.

[3/]Mortality is corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925).

**Table 7** Mortality[1/] of first instar of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in mango (Nam Dok Mai Mun) treated with modified vapor heat treatment in comparative heat tolerance test

| Treatment[2/] | Number of treated (larvae) | Number of alive (larvae) | Number of dead (larvae) | Corrected mortality (%)[3/] |
|---|---|---|---|---|
| Control | 4,500 | 3,426 | 1,074 | 0 |
| 45.0 ° C | 1,500 | 372 | 1,128 | 65.59 |
| 46.0 ° C | 1,500 | 108 | 1,392 | 90.01 |
| 46.5 ° C | 1,500 | 81 | 1,419 | 92.51 |
| 47.0 ° C | 1,500 | 30 | 1,470 | 97.22 |
| 47.0 ° C + 0:05 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |
| 47.0 ° C + 0:10 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |

[1/]Combined data of 3 replicates.

[2/]Treatment: 5 fruits infested with 100 individuals/fruit.

Control: 15 fruits infested with 100 individuals/fruit.

[3/]Mortality is corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925)

**Table 8** Mortality[1/] of first instar of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in mango (Nam Dok Mai) treated with modified vapor heat treatment in comparative heat tolerance test

| Treatment[2/] | Number of treated (larvae) | Number of alive (larvae) | Number of dead (larvae) | Corrected mortality (%)[3/] |
|---|---|---|---|---|
| Control | 4,500 | 2,977 | 1,523 | 0 |
| 45.0 ° C | 1,500 | 387 | 1,113 | 64.20 |
| 46.0 ° C | 1,500 | 147 | 1,353 | 86.40 |
| 46.5 ° C | 1,500 | 111 | 1,389 | 89.73 |
| 47.0 ° C | 1,500 | 42 | 1,458 | 96.10 |
| 47.0 ° C + 0:05 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |
| 47.0 ° C + 0:10 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |

[1/]Combined data of 3 replicates.

[2/]Treatment: 5 fruits infested with 100 individuals/fruit.

Control: 15 fruits infested with 100 individuals/fruit.

[3/]Mortality is corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925)

**Table 9** Mortality[1/] of first instar of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in mango (Nam Dok Mai Mun) treated with modified vapor heat treatment in preliminary disinfestation test

| Treatment[2/] | Number of treated (larvae) | Number of alive (larvae) | Number of dead (larvae) | Corrected mortality (%)[3/] |
|---|---|---|---|---|
| Control | 4,500 | 3,326 | 1,174 | 0 |
| 45.0 ° C | 1,500 | 846 | 654 | 83.19 |
| 46.0 ° C | 1,500 | 45 | 1,455 | 95.58 |
| 46.5 ° C | 1,500 | 30 | 1,470 | 97.05 |
| 47.0 ° C | 1,500 | 12 | 1,488 | 98.82 |
| 47.0 ° C + 0:05 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |
| 47.0 ° C + 0:10 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |
| 47.0 ° C + 0:15 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |
| 47.0 ° C + 0:20 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |

[1/]Combined data of 3 replicates.

[2/]Treatment: 5 fruits infested with 100 individuals/fruit.
Control: 15 fruits infested with 100 individuals/fruit.

[3/]Mortality is corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925)

**Table 10** Time for center of mango to attain 47.0 °C for 0:20 minutes during modified vapor heat treatment in large scale disinfestation test

| Rep. | Loading (kg/cum.) | Sensor fruit Weight (g) | | | Time (h)[1/] | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 0:00 | 0:20 |
| **Half load: 88.00-89.50 kg/cum.** | | | | | | |
| 1 | 88.00 | 357.15 | 359.56 | 361.88 | 2:24 | 2:44 |
| 2 | 89.50 | 351.24 | 351.34 | 352.34 | 2:25 | 2:45 |
| **Full load: 166.00-179.50 kg/cum.** | | | | | | |
| 1 | 166.00 | 363.23 | 363.72 | 366.25 | 2:52 | 3:12 |
| 2 | 179.50 | 367.25 | 368.27 | 375.21 | 3:01 | 3:21 |

[1/]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature

**Table 11** Time for center of mango to attain 43.0 and 47.0 °C during modified vapor heat treatment in large scale disinfestation test

| Rep. | Time for fruit center to reach 43.0 °C (h)[1/] | Time for fruit center to reach 47.0 °C (h)[1/] | Time form 43.0 to 47.0 °C (h)[1/] |
|---|---|---|---|
| **Half load: 88.00-89.50 kg/cum.** | | | |
| 1 | 1:30 | 2:19 | 0:49 |
| 2 | 1:30 | 2:20 | 0:50 |
| **Average** | **1:30** | **2:20** | **0:49** |
| **Full load: 166.00-179.50 kg/cum.** | | | |
| 1 | 1:53 | 2:48 | 0:55 |
| 2 | 2:03 | 3:02 | 0:55 |
| **Average** | **2:01** | **3:99** | **0:55** |

[1/]Time for center of only 2 sensor fruits to attain target temperature.

**Table 12** Survival[1/] of first instar of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in mango (Nam DoK Mai Mun) treated with modified vapor heat treatment at 47.0 ° C for 0:20 minutes in large scale disinfestation test

| Rep. | Infestation method | No. test fruit | | No. alive individual in control (larvae) | Estimated treated population (larvae) | No. survivors |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Control | Treatment[2/] | | | |
| **Half load: 88.00-89.50 kg/cum.** | | | | | | |
| 1 | Larval inoculation | 25 | 75 | 2,008 | 6,015 | 0 |
| | Forced infestation | 20 | 60 | 905 | 2,785 | 0 |
| 2 | Larval inoculation | 25 | 75 | 1,688 | 5,092 | 0 |
| | Forced infestation | 20 | 60 | 1,233 | 5,156 | 0 |
| | **Sub-total** | **90** | **270** | **5,834** | **1,908** | **0** |
| **Full load: 166.00-179.50 kg/cum.** | | | | | | |
| 1 | Larval inoculation | 25 | 75 | 1,784 | 5,380 | 0 |
| | Forced infestation | 20 | 60 | 978 | 2,968 | 0 |
| 2 | Larval inoculation | 25 | 75 | 1,805 | 5,365 | 0 |
| | Forced infestation | 20 | 60 | 1,363 | 4,135 | 0 |
| | **Sub-total** | **90** | **270** | **6,006** | **18,024** | **0** |
| | **Total** | **180** | **540** | **10,573** | **35,872** | **0** |

[1/]Combined data of 4 replicates.

[2/]Treatment: 300 fruits (Larval inoculation) infested with 100 individuals/fruit.
Control: 100 fruits (Larval inoculation) infested with 100 individuals/fruit.
Treatment: 240 fruits (Forced infestation).
Control: 80 fruits (Forced infestation).

**Table 13** Time for center of mango to attain 43.0 and 47.0 °C for 0:20 minutes during modified vapor heat treatment in commercial export simulation test

| Method of transportation | Rep. | Loading (kg/cum.) | Sensor fruit weight (g) | Time for fruit center to reach 43.0 °C (h)[1/] | Time for fruit center to reach 47.0 °C (h)[1/] | Time for fruit center to reach 47.0 °C 0:20 (h)[1/] |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Air shipment | 1 | 175.00 | 361.55 | 2:05 | 3:10 | 3:32 |
| Sea shipment | | | 362.07 | | | |
| | | | 363.25 | | | |
| Air shipment | 2 | 175210 | 360.27 | 1:45 | 2:52 | 3:12 |
| Sea shipment | | | 361.83 | | | |
| | | | 362.39 | | | |

[1/]Time for center of only 3 sensor fruits to attain target temperature.

**Table 14** Air transportation: Quality of mango fruits treated with proposed heat quarantine treatment at center temperature 47.0 °C for 0:20 minutes and 7 days chamber at 15 °C.

| Rep. | Item [ns] | | Control[1/] | Treatment[1/] |
|---|---|---|---|---|
| 1 | Weight loss | % | 6.23 | 6.56 |
| | TSS | $^{0}$Brix | 13.57 | 14.56 |
| | Acidity | % | 0.25 | 0.18 |
| | Disease infection[2/] | Present | 0.10 | 0.10 |
| | Spongy tissue[2/] | Present | 0/10 | 0/30 |
| | Smell[2/] | Unusual | 0/10 | 0/30 |
| | Taste[2/] | Unusual | 0/10 | 0/30 |
| 2 | Weight loss | % | 6.89 | 6.35 |
| | TSS | $^{0}$Brix | 13.39 | 13.27 |
| | Acidity | % | 0.28 | 0.19 |
| | Disease symptom[2/] | Present | 0.10 | 0.10 |
| | Spongy tissue[2/] | Present | 0/10 | 0/30 |
| | Smell[2/] | Unusual | 0/10 | 0/30 |
| | Taste[2/] | Unusual | 0/10 | 0/30 |

[1/]Control = mean of 10 fruits, Treatment = mean of 30 fruits.

[2/]Fruits exhibited symptom/Total number of fruits observed.

[ns] Non difference was statistically significant by t-test.

**Table 15** Sea transportation: Quality of mango fruits treated with proposed heat quarantine treatment at center temperature 47.0 °C for 0:20 minutes and 14chamber at 15 °C.

| Rep. | Item [ns] | | Control[1/] | Treatment[1/] |
|---|---|---|---|---|
| 1 | Weight loss | % | 11.10 | 11.74 |
| | TSS | [0] Brix | 13.99 | 13.85 |
| | Acidity | % | 0.11 | 0.17 |
| | Disease symptom[2/] | Present | 0.15 | 0.18 |
| | Spongy tissue[2/] | Present | 0/09 | 0/27 |
| | Smell[2/] | Unusual | 0/10 | 0/30 |
| | Taste[2/] | Unusual | 0/10 | 0/30 |
| 2 | Weight loss | % | 13.50 | 13.10 |
| | TSS | [0] Brix | 14.93 | 14.56 |
| | Acidity | % | 0.12 | 0.11 |
| | Disease symptom[2/] | Present | 0.30 | 0.30 |
| | Spongy tissue[2/] | Present | 0/10 | 0/30 |
| | Smell[2/] | Unusual | 0/10 | 0/30 |
| | Taste[2/] | Unusual | 0/10 | 0/30 |

[1/]Control = mean of 10 fruits, Treatment = mean of 30 fruits.

[2/]Fruits exhibited symptom/Total number of fruits observed.

[ns] Non difference was statistically significant by t-test.

**Figure 1** วิธีการใส่หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง (Artificial infestation method)

**Figure 2** วิธีการให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลมะม่วง (Forced infestation method)

**Figure 3** เครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 (Half load and Full load in chamber capacity 50 and 100 %)

**Figure 4** การประเมินความเสียหายในสภาพจำลองการส่งออกมะม่วงทางเครื่องบินและทางเรือ (Commercial export simulation test)

**Figure 5** ตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส เก็บมะม่วงเป็นระยะเวลานาน 7 และ14 วัน (Control and treated fruits in chamber at 15 ° C after heat treatment)

# วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงแดงจักรพรรดิเพื่อการส่งออก

# Research and Development on Disinfestation with Heated Air Quarantine Treatment to Controlling the Oriental Fruit Fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) on Mango (Dangjakkrapad Variety) for Export

**ปวีณา บูชาเทียน ศิริพร คงทวี มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์**
**พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์ ชัยณรัตน์ สนศิริ**
**กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

## Abstract

This study investigates the effectiveness of modified vapor heat treatment (MVHT) at different temperatures and exposure times for controlling fruit fly *Bactrocera dorsalis* in Dangjakkrapad mango. The objective was to determine the preliminary temperature and duration required to completely eliminate first-instar larvae in mango. Mango was subjected to MVHT at temperatures of 46, 46.5, and 47°C, maintaining an internal temperature of 47°C for durations of 10, 15, and 20 minutes. The results indicated that no fruit flies survived when vapor heat treatment was conducted at 46°C across all three exposure times. However, complete mortality of the larvae occurred at a temperature of 46.5°C and above, regardless of the exposure time.

Furthermore, in the large-scale test, temperatures starting from 47.0 °C achieved a 100% elimination rate of first-instar larvae. To confirm the large-scale test of, additional experiments were conducted at 50% and 100% capacity of the vapor heat treatment chamber. The mango was treated at 47.0 °C for 20 minutes. The proposed method demonstrated significant efficacy in quarantine pest, successfully eliminating 78,799 first-instar larvae of *B. dorsalis*, thereby meeting the phytosanitary standards for quarantine pest (exceeding the threshold of 30,000 individuals).

**Keywords :** fruit fly, modified vapor heat treatment

รหัสการทดลอง FF65-55-05-65-00-05-65

## บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เบื้องต้นในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิ เพื่อหาอุณหภูมิและระยะเวลาเบื้องต้นในการกำจัดหนอนวัยที่ 1 ในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิให้ตายทั้งหมด โดยอบไอน้ำมะม่วงที่ระดับ 46, 46.5, 47 °C และคงความร้อน ภายในผลไว้ที่ 47 °C เป็นเวลานาน 10, 15 และ 20 นาที พบว่า มีแมลงรอดชีวิตจากการอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 46.0 °C ทั้ง 3 ครั้งที่ทำการอบไอน้ำ และแมลงเริ่มตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 46.5 °C เป็นต้นไป ในการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดแมลงกับแมลงจำนวนมาก อุณหภูมิที่ 47 °C เป็นต้นไป สามารถกำจัด หนอนวัย 1 ได้ 100เปอร์เซ็นต์ทั้งหมด จึงทำการศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัด แมลงวันผลไม้จำนวนมากในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิ เพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช โดยอบไอน้ำ กำจัดแมลงวันผลไม้ที่ความจุ 50 เปอร์เซ็นต์ และความจุ 100 เปอร์เซ็นต์ของตู้อบไอน้ำ โดยอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 47 °C และคงความร้อนภายในผลไว้ที่ 47 °C เป็นเวลานาน 20 นาที โดยวิธีการที่เสนอเป็นวิธีการทางด้านกักกันพืชสามารถ กำจัดหนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ได้จำนวน 78,799 ตัว เป็นที่ยอมรับทางด้านกักกันพืช (ไม่ต่ำกว่า 30,000 ตัว)


**คำหลัก :** แมลงวันผลไม้, วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์

## คำนำ

มะม่วง (*Mangifera Indica*) เป็นผลไม้เมืองร้อนที่สามารถปลูกได้ทุกภาคของประเทศไทย ไม้พุ่มยืนต้น สูงประมาณ 10 - 15 ม. ลำต้นตรง ยอดกลม ทึบ ใบเดี่ยว การเกาะติดของใบบนกิ่งแบบเวียน ใบรูปหอกยาวแกมขอบขนาน ปลายเรียวแหลม โคนมนแหลม ออกดอกเดือนธันวาคม ถึง มกราคม ดอกออกเป็นช่อที่ปลายกิ่ง ในช่อดอกหนึ่งๆ จะมีช่อย่อยหลายช่อ ดอกย่อยขนาดเล็กสีเหลืองอ่อน ก้านดอกสั้น ผลสุกเดือนพฤษภาคม ถึง มิถุนายน และมีพันธุ์ทวายซึ่งออกนอกฤดูกาล ผลเป็นแบบผลสด รูปทรง ขนาด และสีผิวแล้วแต่ชนิดพันธุ์นั้นๆ บริโภคได้ทั้งผลดิบและผลสุก รสเปรี้ยว มัน และหวาน มะม่วงในประเทศไทยมีหลากหลายพันธุ์ (ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง. มปป.)

มะม่วงแดงจักพรรดิ์ หรือ ยู่เหวิน เป็นพันธุ์มะม่วงจากประเทศไต้หวัน เป็นมะม่วงลูกผสมระหว่างพันธุ์จินหวงกับมะม่วงพันธุ์เออร์วิน (สืบค้นจาก: research.hrdi.or.th. มมป) ผลโตเต็มมีน้ำหนักเฉลี่ย 1 กิโลกรัม ลักษณะเด่นของมะม่วงแดงจักพรรดิ์ ติดผลดก ให้ผลผลิตเร็ว ปลูกง่าย เจริญเติบโตในทุกสภาพดิน ใบมะม่วงหนา ต้านทานโรคได้ดี เมล็ดมะม่วงเล็ก เนื้อหนา ไม่มีเสี้ยน เปลือกมะม่วงหนา สีม่วงอมแดง ผลใหญ่ ผลดิบมีรสชาติหวาน มัน กรอบ นิยมทานผลสุก เพราะรสชาติหวาน กลิ่นหอม ไม่มีเสี้ยน เนื้อไม่เละ ผลสุกเก็บได้นาน 7-10 วัน การส่งขายต่างประเทศจึงสามารถทำได้ง่าย เพราะสามารถอยู่ได้นาน

ประเทศไทยเป็นแหล่งแพร่ระบาดของแมลงวันผลไม้ และมักพบปัญหาไข่และหนอนแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันที่สำคัญของต่างประเทศติดไปกับผักผลไม้ส่งออก ดังนั้น ก่อนการส่งออกผักผลไม้ไปยังประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช จึงต้องมีการกำจัดแมลงวันผลไม้ตามเงื่อนไขระหว่างประเทศ การกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT) เป็นวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ที่มีประสิทธิภาพสูง ประเทศไทยได้วิจัยและพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการดังกล่าว และประสบความสำเร็จในการใช้วิธีการดังกล่าวเจรจาเปิดตลาดเพื่อส่งออกผลไม้สด เช่น มะม่วง ส้มโอ และมังคุด ไปยังประเทศที่มีความเข้มงวดทางด้านกักกันพืชหลายประเทศ นอกจากนี้แล้วยังจำเป็นที่จะต้องศึกษาผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้จากวิธีที่ใช้กำจัดแมลงวันผลไม้นี้ด้วย ดังนั้นจึทำงานวิจัยนี้โดยมีวัตถุประสงค์

1) ศึกษาความเสียหายจากความร้อนด้วยเทคโนโลยีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่อคุณภาพของผลมะละกอพันธุ์แขกดำ และแขกนวล มะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า น้ำดอกไม้มัน แดงจักรพรรดิ และอกร่อง

2) ศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ด้วยเทคโนโลยีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในผลมะละกอพันธุ์แขกดำ และแขกนวล มะม่วงพันธุ์มันเดือนเก้า น้ำดอกไม้มัน แดงจักรพรรดิ และอกร่อง เพื่อใช้ในการเจรจาเปิดตลาดส่งออก

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. มะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิ
2. ตู้อบไอน้ำกำจัดแมลงขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง 2 เครื่อง
3. ตู้ลดอุณหภูมิผลไม้
4. ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ 2 ห้อง
5. เครื่องอ่างน้ำร้อน
6. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดของผลไม้
7. เครื่องวัดค่าความหวานของผลไม้
8. ห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก
9. ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก 4 ตู้
10. ห้องเย็นสำหรับเก็บผลไม้ที่ใช้ในการทดลอง
11. เครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์แบบต่อเนื่อง
12. แท่งวัดอุณหภูมิขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง

13. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่งสำหรับงานทดลอง

14. อุปกรณ์สำหรับเช็คผลการทดลอง ได้แก่ พู่กัน ปากคีบ เคาท์เตอร์ จานทดลองขนาดเล็ก ถาดใส่ผลไม้ ถุงผ้าตาข่าย ถุงมือ มีดปอกผลไม้ ถุงขยะดำ และอื่นๆ

**วิธีการ**

**1. ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้เบื้องต้นในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิ (Preliminary Disinfestation test)**

ดำเนินการทดลองอบไอน้ำกำจัดแมลงวันผลไม้ B. dorsalis ระยะหนอนวัย 1 ในสภาพที่แมลงอยู่ภายในผลมะม่วง ทำการทดลอง 3 ครั้ง กำหนดให้อุณหภูมิภายในสุดของผลมะม่วงอยู่ที่ระดับ 46, 46.5, 47 °C และคงความร้อนภายในผลไว้ที่ 47 °C เป็นเวลานาน 10, 15 และ 20 นาที แต่ละอุณหภูมิที่ทดลองกำจัดใช้มะม่วง 5 ผล แต่ละผลมีหนอนจำนวน 100 ตัว โดยวิธีการเตรียมหนอนให้อยู่ในผลมะม่วงดำเนินการโดยใช้มีดปลายแหลมกรีดทำรอยแผลสี่เหลี่ยมผืนผ้าเพียง 3 ด้าน แยกเปลือกออกจากเนื้อมะม่วง จากนั้นนำหนอนวัย 1 ใส่ลงบนเนื้อมะม่วงตรงบริเวณรอยแผล จำนวน 100 ตัวต่อผล ใช้มะม่วงสำหรับทดลองทั้งหมด 45 ผล โดยนำมะม่วงจำนวน 15 ผล จัดเรียงในถาดบรรจุผลไม้จำนวน 5 ผลต่อถาด อีก 30 ผล ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ต้องผ่านความร้อน อบมะม่วงด้วยวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ภายใต้สภาพที่อากาศร้อนอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นแต่ละระดับภายในช่วงเวลากำหนด (stepped temperature modified vapor heat treatment, STEPPED MVHT) โดยช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิผลขึ้นถึง 43 °C อากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์ 50% หลังจากนั้นจึงปรับเปลี่ยนเป็นอากาศร้อนที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90% (ดัดแปลงจาก อุดร และคณะ, 2549; Unahawutti et al., 2006)

การวัดอุณหภูมิผลมะม่วงทดลองอาศัยการวัดจากมะม่วงกำหนดอุณหภูมิ จำนวน 3 ผล เมื่อมะม่วงกำหนดอุณหภูมิจำนวน 2 ผล อุณหภูมิถึงระดับที่กำหนด จะนำมะม่วงในถาดบรรจุนั้นออกจากห้องบรรจุผลไม้ทันทีโดยเป่าด้วยพัดลม นาน 1 ชั่วโมง นำมะม่วงใส่ในเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ “Sanshu” shower cooling unit (Differential Pressure Type) (Model SHS-12, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan) หลังจากนั้นแยกมะม่วงแต่ละผลใส่ไว้ในถุงมัสลิน ขนาด 15x30 ซม. มัดปากถุงด้วยยางยืด เก็บไว้ในกระบะพลาสติก พร้อมทั้งคลุมกระบะด้วยผ้ามัสลิน อีกชั้นหนึ่งเพื่อป้องกันไม่ให้แมลงวันผลไม้จากภายนอกเล็ดลอดเข้าไปวางไข่ในมะม่วงทดลอง เก็บมะม่วงทั้งหมดไว้ในห้องอุณหภูมิ 25-27 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 70-80% จนกระทั่งตรวจผลการทดลองซึ่งจะดำเนินการวันที่ 5 หลังจากอบไอน้ำ โดยผ่ามะม่วงแต่ละผล บันทึกจำนวนแมลงที่รอดชีวิต เพื่อนำข้อมูลไปวิเคราะห์คำนวณหาอัตราการตายที่แท้จริง (corrected mortality) โดยสูตรของ Abbott’ formula (Abbott, 1925)

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

การบันทึกข้อมูล

1. ตรวจสอบค่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์จากกระดาษบันทึกอุณหภูมิและความชื้นของตู้อบไอน้ำ
2. บันทึกอัตราการตายที่แท้จริงของหนอนวัยที่ 1 (corrected mortality)

**2. ศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดแมลงกับแมลงจำนวนมาก (Intermediate disinfestation test)**

การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดแมลงกับแมลงจำนวนมาก เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของกระบวนการกำจัดแมลงด้วยความร้อนที่ได้จากงานวิจัยในหัวข้อการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้เบื้องต้นในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิกับแมลงจำนวนมากเพื่อกำหนดกระบวนการกำจัดแมลงที่จะเสนอเป็นวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช

ดำเนินการทดลองอบไอน้ำกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ระยะหนอนวัย 1 ในสภาพที่แมลงอยู่ภายในผลมะม่วง ทำการทดลอง 4 ครั้ง กำหนดให้อุณหภูมิภายในสุดของผลมะม่วงอยู่ที่ระดับ 46.5 47 °C และคงความร้อนภายในผลไว้ที่ 47 °C เป็นเวลานาน 5 นาที แต่ละอุณหภูมิที่ทดลองกำจัดใช้มะม่วง 10 ผล แต่ละผลมีหนอนจำนวน 100 ตัว โดยวิธีการเตรียมหนอนให้อยู่ในผลมะม่วงทำเช่นเดียวกับหัวข้อการทดลองเรื่อง การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้เบื้องต้นในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิ โดยใช้มะม่วงสำหรับทดลองทั้งหมด 45 ผล โดยนำมะม่วงจำนวน 30 ผล จัดเรียงในถาดบรรจุผลไม้จำนวน 5 ผลต่อถาด อีก 15 ผล ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ต้องผ่านความร้อน อบมะม่วงด้วยวิธีอบไอน้ำ ดำเนินการเช่นเดียวกับข้อแรก

**2. ศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนมากในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิเพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Large scale confirmation test)**

จากการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดแมลงกับแมลงจำนวนมาก ทำให้ทราบระยะเวลาของการอบไอน้ำมะม่วงแดงจักรพรรดิที่อุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส โดยไม่มีแมลงวันผลไม้รอดชีวิต ดังนั้น เพื่อให้กระบวนการอบไอน้ำดังกล่าวข้างต้นได้รับการยอมรับเป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันตามข้อเสนอของประเทศญี่ปุ่นต้องทำการทดลองยืนยันกระบวนการอบไอน้ำ (อุณหภูมิ และระยะเวลา) ที่จะเสนอเป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช ต้องมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะการเจริญเติบโตที่ทนต่อความร้อนมากที่สุดในผลมะม่วงแดงจักรพรรดิ จำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว จึงจะได้รับการรับรองให้สามารถส่งออกได้

การศึกษายืนยันประสิทธิภาพของวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วง โดยการประเมินประสิทธิภาพการกำจัดแมลงมีขั้นตอนและวิธีการดำเนินการดังต่อไปนี้ การทดลองนี้ใช้รูปแบบการทำลายของแมลงวันผลไม้ 2 รูปแบบ คือ ใช้วิธีการใส่

หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง (artificial infestation method) และใช้วิธีการให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลมะม่วง (forced infestation method) แต่ละวิธีมีรายละเอียดดังนี้

1) รูปแบบการทำลายโดยวิธีการใส่หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง (artificial infestation method) แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) และมะม่วงที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ ไม่ผ่านความร้อน (control) นำมะม่วงทั้งหมดเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25-28 °C จนกระทั่งนำมะม่วงไปใช้ในการทดลอง

2) รูปแบบการทำลายโดยวิธีการให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลมะม่วง (forced infestation method) เจาะรูด้วยเข็มขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร บนผลมะม่วง จำนวน 5 รู/ผล ให้ทะลุเปลือกไปถึงเนื้อ เพื่อบังคับให้แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ตัวเต็มวัยเพศเมียแทงอวัยวะวางไข่เข้าไปวางไข่ในผลมะม่วงผ่านรูที่เจาะ แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) และไม่ผ่านความร้อน (control) นำไปวางไว้ในกรงเลี้ยงแมลงขนาดเล็กที่มีแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัย จำนวนประมาณ 2,000 ตัว ใช้ระยะเวลาในการให้แมลงวางไข่นาน 1 ชั่วโมง นำมะม่วงทั้งหมดเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25-28 °C จนกระทั่งนำมะม่วงไปใช้ในการทดลอง

ทำการอบมะม่วงในสภาพของตู้อบความร้อนมีปริมาณมะม่วง 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ (Half load and Full load) แบ่งมะม่วงที่มีแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 ที่อยู่ภายในผล ทั้ง 2 วิธี ออกเป็น 4 ส่วน เลือกมะม่วงทดลองที่ได้จากวิธีการใส่หนอนวัย 1 ในผลมะม่วง และวิธีการให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลมะม่วง 1 ส่วน เก็บไว้สำหรับใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ มะม่วงส่วนนี้ใช้สำหรับการประมาณจำนวนแมลงทั้งหมดในมะม่วงที่ผ่านความร้อน เนื่องจากว่าจำนวนแมลงที่มีชีวิตในมะม่วงที่ผ่านความร้อนนั้นไม่สามารถที่จะทำการตรวจสอบได้โดยตรง สำหรับมะม่วงอีก 3 ส่วน แบ่งจำนวนเท่าๆ กัน ใส่ในภาชนะบรรจุผลไม้แบบกระบะพลาสติกแข็งทนความร้อนขนาด 36x70x15 เซนติเมตร กระบะเดียวกัน จำนวน 3 กระบะ ในแต่ละกระบะมีมะม่วงทดลองโดยวิธีการใส่หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง และวิธีการให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลมะม่วง ใส่มะม่วงที่ไม่ใช้ในการทดลอง (filler fruit) เฉลี่ยจำนวนเท่าๆ กัน ในกระบะบรรจุผลไม้อีก 9 กระบะ นำไปวางซ้อนลงบนกระบะซึ่งบรรจุมะม่วงทดลอง ในสภาพที่ห้องบรรจุผลไม้ของเครื่องตู้อบความร้อนมีปริมาณมะม่วง 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ของความจุตู้ นำมะม่วงเข้าเครื่องตู้อบความร้อนเพื่อประเมินประสิทธิภาพของกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ที่ได้จากการทดลองขั้นตอนที่ 5 ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 โดยให้มีแมลงทดลองจำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว ตายทั้งหมด

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. ตรวจสอบค่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์จากกระดาษบันทึกอุณหภูมิและความชื้นของตู้อบไอน้ำ
2. บันทึกอัตราการตายของหนอนวัยที่ 1 (corrected mortality)

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2566 - กันยายน 2567

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เบื้องต้นในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิ เพื่อหาอุณหภูมิและระยะเวลาเบื้องต้นในการกำจัดหนอนวัยที่ 1 ในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิให้ตายทั้งหมด โดยอบไอน้ำมะม่วงที่ระดับ 46, 46.5, 47 °C และคงความร้อนภายในผลไว้ที่ 47 °C เป็นเวลานาน 10, 15 และ 20 นาที พบว่า มีแมลงรอดชีวิตจากการอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 46.0 °C ทั้ง 3ครั้งที่ทำการอบไอน้ำและแมลงเริ่มตายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 46.5 °C เป็นต้นไป

ในการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดแมลงกับแมลงจำนวนมาก อุณหภูมิที่ 47 °C เป็นต้นไป สามารถกำจัดหนอนวัย 1 ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ทั้งหมด จึงทำการศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนมากในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิเพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช โดยอบไอน้ำกำจัดแมลงวันผลไม้ที่ความจุ 50 เปอร์เซ็นต์ และความจุ 100 เปอร์เซ็นต์ของตู้อบไอน้ำ โดยอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 47 °C และคงความร้อนภายในผลไว้ที่ 47 °C เป็นเวลานาน 20 นาที โดยวิธีการที่เสนอเป็นวิธีการทางด้านกักกันพืชสามารถกำจัดหนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ได้จำนวน 78,799 ตัว เป็นที่ยอมรับทางด้านกักกันพืช (ไม่ต่ำกว่า 30,000 ตัว)

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

**1. การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้เบื้องต้นในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิ (Preliminary disinfestation test)**

อุดร และคณะ (2536) รายงานไว้ว่าการอบไอน้ำในมะม่วงหนังกลางวันที่ 46.5 และ 46.5 °C นาน 10 นาที สามารถกำจัดหนอนแมลงวันทองวัยที่ 1 ซึ่งมีความต้านทานต่อความร้อนมากที่สุดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

จึงทำการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เบื้องต้นในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิ เพื่อหาอุณหภูมิและระยะเวลาเบื้องต้นในการกำจัดหนอนวัยที่ 1 ในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิให้ตายทั้งหมด (Figure 1) โดย Table 1 แสดงเวลาในการอบไอน้ำมะม่วงที่ระดับ 46, 46.5, 47 °C และคงความร้อนภายในผลไว้ที่ 47 °C เป็นเวลานาน 10, 15

และ 20 นาที โดยใช้มะม่วงกำหนดอุณหภูมิ จำนวน 3 ผล ที่มีน้ำหนักใกล้เคียงกันทั้งหมด ส่วนรายละเอียดต่างๆ เวลาในการใช้อบไอน้ำดังที่แสดงใน Table 2 แสดงผลการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้วัยที่1 พบว่า มีแมลงรอดชีวิตจากการอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 46.0 °C ทั้ง 3 ครั้งที่ทำการอบไอน้ำ โดยมีอัตราการตายที่แท้จริงเท่ากับร้อยละ 72.93, 57.55 และ 95.04 ตามลำดับ สำหรับกรรมวิธีที่ไม่ผ่านการอบไอน้ำ (control) มีจำนวนหนอนวัยที่ 1 รอดชีวิตเท่ากับ 1,330, 1,364 และ 1,209 ตัว ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ อุดร และคณะ (2536) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันทองวัย 1 ในมะม่วง 4 พันธ์คือ หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และ พิมเสนแดง พบว่าหนอนวัย 1 ในมะม่วงหนังกลางวัน น้ำดอกไม้ และแรด สามารถตายได้ร้อยละ 100 ที่อุณหภูมิ 46.5 °C นาน 10 นาที เช่นเดียวกับการศึกษาของ รัชฎา และคณะ (2553) จากการศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้วัย 1 ด้วยวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT) ในมะม่วงพันธ์หนังกลางวันเปรียบเทียบกับพันธ์เขียวเสวย มหาชนก และโชคอนันต์ ผลการทดลอง พบว่าที่อุณหูมิอุณหภูมิ 47 °C นาน 10 นาที สามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะหนอนวัยที่ 1 ใน มะม่วงพันธุ์เขียวเสวย มหาชนก และ หนังกลางวันได้ร้อยละ 100

**2.ศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดแมลงกับแมลงจำนวนมาก (Intermediate disinfestation test)**

อบไอน้ำกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ระยะหนอนวัย 1 ในสภาพที่แมลงอยู่ภายในผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 46.5 47 °C และคงความร้อนภายในผลไว้ที่ 47 °C เป็นเวลานาน 5 นาที ระยะเวลาในการอบไอน้ำแสดงใน Table 3 ผลการทดลองพบว่าแมลงวันผลไม้ที่ได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 46.5 °C มีอัตราการตายอยู่ที่ 99.86 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่อบมะม่วงด้วยอุณหภูมิ 47 °C และคงความร้อนภายในผลไว้ที่ 47 °C เป็นเวลานาน 5 นาที สามารถกำจัดหนอนวัย 1 ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ทั้งหมด ดังแสดงใน Table 4 แต่สำหรับศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำเพื่อเป็นวิธีการทางกักกันพืชในการกำจัดแมลงจำนวนมากได้เพิ่มระยะเวลาในการอบเป็นที่อุณหภูมิ 47 °C และคงความร้อนภายในผลไว้ที่ 47 °C เป็นเวลานาน 20 นาที ซึ่งเป็นอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้อบมะม่วงในพันธุ์ที่ประเทศญี่ปุ่นอนุญาตให้มีการส่งออกในเชิงพานิชย์แล้ว และเพื่อให้มั่นใจได้ว่าอุณหภูมิและระยะเวลาที่นำมาทำการทดสอบสามารถกำจัดหนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ได้เป็นที่ยอมรับทางด้านกักกันพืช (ไม่ต่ำกว่า 30,000 ตัว)

**3. ศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนมากในผลมะม่วงพันธุ์แดงจักรพรรดิเพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Large scale confirmation test)**

ระยะเวลาในการอบไอน้ำกำจัดแมลงวันผลไม้ที่ความจุ 50 เปอร์เซ็นต์ และความจุ 100 เปอร์เซ็นต์ ได้แสดงไว้ใน Table 5, Figure 2 โดยที่ความจุ 50 เปอร์เซ็นต์ จะใช้เวลาในการอบไอน้ำประมาณ 4 ชั่วโมง แต่เมื่ออบมะม่วงเต็มตู้หรือที่ความจุ 100 เปอร์เซ็นต์ จะใช้เวลาในการอบมะม่วงเพิ่มขึ้นอีกประมาณเกือบ 1 ชั่วโมง หรือใช้เวลาทั้งหมด 5 ชั่วโมง ผลการทดลองใน Table 6 พบว่า

แมลงวันผลไม้ตายทั้งหมดเมื่ออบไอน้ำที่อุณหภูมิ 47 ℃ และคงความร้อนภายในผลไว้ที่ 47 ℃ เป็นเวลานาน 20 นาที โดยวิธีการที่เสนอเป็นวิธีการทางด้านกักกันพืชสามารถกำจัดหนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ได้จำนวน 78,799 ตัว เป็นที่ยอมรับทางด้านกักกันพืช จำนวนหนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงได้รับการอบไอน้ำประเมินได้จากจำนวนแมลงที่รอดชีวิตในมะม่วงที่ไม่อบไอน้ำ หนอนวัย 1 ของแมลงที่อบไอน้ำได้จากการเตรียมผลมะม่วงด้วยวิธีการใส่หนอนวัย 1 ของในมะม่วงโดยตรงจำนวน 27,741 ตัว และจากวิธีการให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในมะม่วงจำนวน 51,058 ตัว

**คำขอบคุณ**

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ทุกท่านจากกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้ความรู้ คำแนะนำและให้คำปรึกษางานวิจัย ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรมที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้จริง สุดท้ายขอขอบคุณผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่านที่ช่วยให้งานทดลองนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

**เอกสารอ้างอิง**

รัชฎา อินทรกำแหง สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชุติมา อ้อมกิ่ง จารุวรรณ จันทรา และอุดร อุณหวุฒิ. 2553. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในมะม่วงพันธุ์มหาชนก โชคอนันต์ และเขียวเสวยเพื่อการส่งออก. คลังผลงานวิจัยกรมวิชาการเกษตร รายงานผลงานวิจัยและพัฒนา 2553. 11 หน้าอุดร อุณหวุฒิ มานะ พุ่มทอง รัชฎา อินทรกำแหง วลัยกร วรวิศิษฎ์ธำรง และประเทือง ศรีสุข. 2536. การศึกษาความต้านทานต่อความร้อนของหนอนแมลงวันทองวัยที่ 1 ในมะม่วงหนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง. วารสารวิชาการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. ปีที่11(3). หน้า 133-147.

อุดร อุณหวุฒิรัชฎา อินทรกำแหง สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชุติมา อ้อมกิ่ง และ จารุวรรณ จันทรา. 2549. การวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลพริกหวานเพื่อส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น. แบบเสนอโครงการวิจัย (Project Proposal) เพื่อขอรับทุนสนับสนุนการวิจัยจากกองทุนสนับสนุนงานวิจัยด้าน การเกษตร กรมวิชาการเกษตร: กรุงเทพฯ. 31 หน้า.

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.

Unahawutti, U., S. Phankum, M. Srimartpirom, C. Ormking, C. Sonsiri, J. Chantra and R. Intarakumheng. 2006. Development of Heated-Air Quarantine Treatment for Pummelo Infested with Oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF) for approval of a quarantine treatment on Thai pummel to be exported to Japan, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Chattuchak, Bangk o k. 143 p.

**Table 1** Time for the center of Dang Jakkrapad mango to attain 46, 46.5, and 47 °C for various holding times during modified vapor heat treatment in preliminary disinfestation test

| Rep. | Treatment | Load factor (kg/cum.) | Sensor fruit weight (g) | | | Time to reach target Temperature (hr.)[1/] |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 46 °C | 3.47 | 674.82 | 677.16 | 677.39 | 3:00 |
| | 46.5 °C | 3.29 | | | | 3:08 |
| | 47 °C | 3.25 | | | | 3:22 |
| | 47 °C+10 min | 3.27 | | | | 3:32 |
| | 47 °C+15 min | 3.32 | | | | 3:37 |
| | 47 °C+20 min | 3.26 | | | | 3:42 |
| 2 | 46 °C | | 673.33 | 673.40 | 674.23 | 2:29 |
| | 46.5 °C | | | | | 2:39 |
| | 47 °C | | | | | 3:52 |
| | 47 °C+10 min | | | | | 4:02 |
| | 47 °C+15 min | | | | | 4:07 |
| | 47 °C+20 min | | | | | 4:12 |
| 3 | 46 °C | | 670.72 | 671.02 | 671.72 | 2:55 |
| | 46.5 °C | | | | | 3:02 |
| | 47 °C | | | | | 3:22 |
| | 47 °C+10 min | | | | | 3:32 |
| | 47 °C+15 min | | | | | 3:37 |
| | 47 °C+20 min | | | | | 3:42 |

[1/]Time for center of 2 sensor fruits to attain target temperature.

**Table 2** Mortality[1/] of first instar of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in Dang Jakkrapad mango treated with modified vapor heat treatment in preliminary disinfestation test

| Rep. | Treatment[2/] | Number of treated (larvae) | Number of alive (larvae) | Number of dead (larvae) | Corrected mortality (%)[3/] |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Control | 1,500 | 1,330 | 120 | 0 |
| | 46.0 °C | 500 | 120 | 380 | 72.93 |
| | 46.5 °C | 500 | 0 | 500 | 100 |
| | 47.0 °C | 500 | 0 | 500 | 100 |
| | 47.0 °C + 10 min. | 500 | 0 | 500 | 100 |
| | 47.0 °C + 15 min. | 500 | 0 | 500 | 100 |
| | 47.0 °C + 20 min. | 500 | 0 | 500 | 100 |
| 2 | Control | 1,500 | 1,364 | 136 | 0 |
| | 46.0 °C | 500 | 193 | 307 | 57.55 |
| | 46.5 °C | 500 | 0 | 500 | 100 |
| | 47.0 °C | 500 | 0 | 500 | 100 |
| | 47.0 °C + 10 min. | 500 | 0 | 500 | 100 |
| | 47.0 °C + 15 min. | 500 | 0 | 500 | 100 |
| | 47.0 °C + 20 min. | 500 | 0 | 500 | 100 |
| 3 | Control | 1,500 | 1,209 | 219 | 0 |
| | 46.0 °C | 500 | 20 | 480 | 95.04 |
| | 46.5 °C | 500 | 0 | 500 | 100 |
| | 47.0 °C | 500 | 0 | 500 | 100 |
| | 47.0 °C + 10 min. | 500 | 0 | 500 | 100 |
| | 47.0 °C + 15 min. | 500 | 0 | 500 | 100 |
| | 47.0 °C + 20 min. | 500 | 0 | 500 | 100 |

[1/]Combined data of 3 replicates.

[2/]Treatment: 5 fruits infested with 100 individuals/fruit. Control: 2 fruits infested with 100 individuals/fruit.

[3/]Mortality is corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925).

**Table 3** Time for Dang Jakkrapad mango sensor to attain 46.5 °C and 47 °C for various holding time during vapor heat treatment for intermediate infestation test

| Rep. | Load factor | Sensor fruit weight | | | Temperature/Time (h) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Kg/cum | (g) | | | 46.5 °C | 47 °C | 47 °C+5 min |
| 1 | 20.44 | 633.14 | 633.93 | 634.93 | 3:00 | 3:12 | 3:17 |
| 2 | 19.62 | 656.07 | 657.39 | 657.72 | 3:12 | 3:27 | 3:32 |
| 3 | 19.59 | 651.09 | 652.89 | 653.55 | 3:17 | 3:32 | 3:37 |
| 4 | 19.81 | 658.63 | 658.90 | 659.66 | 3:06 | 3:11 | 3:16 |

**Table 4** Mortality[1] of first instar larvae of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*, in Dang Jakkrapad mango treated with vapor heat treatment for intermediate infestation test

| Treatment[2] | Number Treated | Number dead | Corrected mortality (%)[3] |
|---|---|---|---|
| Control | 6,000 | 964 | 0 |
| 46.5 °C | 4,000 | 3,992 | 99.86 |
| 47 °C | 4,000 | 4,000 | 100 |
| 47 °C+5 min | 4,000 | 4,000 | 100 |

[1/] Combined data of 4 replicates

[2/] Treatment: 10 fruits infested with 100 individuals/fruit/replication

Control : 15 fruits infested with 100 individuals/fruit replication

[3/] Mortality is corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925)

**Table 5** Time for sensor of Dang Jakkrapad mango to attain 47 °C+20 min in large scale test for half load and full load

| Rep. | Load factor (kg/cum) | Sensor fruit weight (g) | | | Time[1] (h) |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 94.2 (Half load) | 636.31 | 636.97 | 640.80 | 3:49 |
| 2 | 90.3 (Half load) | 670.39 | 682.99 | 687.82 | 4:10 |
| 3 | 182.4 (Full load) | 670.40 | 671.09 | 672.19 | 4:41 |
| 4 | 180.9 (Full load) | 635.66 | 636.61 | 646.39 | 4:48 |
| 5 | 180.3 (Full load) | 588.75 | 590.90 | 593.94 | 4:46 |

[1/] Time for center of only two sensor fruits to attain target temperature and exposure time

**Table 6** Survival of first instar larvae of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*, in Dang Jakkrapad mango treated with vapor heat treatment for large scale confirmation test

| Rep. | No. of alive individual in control | | Estimated Treated population | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Artificial inoculation | Forced Infestation | Artificial inoculation | Forced Infestation | Total treated population | No. survivors |
| | Half load | | | | | |
| 1 | 1,001 | 2,594 | 5,755 | 14,915 | 20,670 | 0 |
| 2 | 909 | 1,230 | 5,226 | 7,072 | 12,298 | 0 |
| Total | 1,910 | 3,824 | 1,0981 | 2,1987 | 32,968 | 0 |
| | Full load | | | | | |
| 3 | 965 | 1,412 | 5,548 | 8,119 | 13,667 | 0 |
| 4 | 1,018 | 1,207 | 5,853 | 6,940 | 12,793 | 0 |
| 5 | 932 | 2,437 | 5,359 | 14,012 | 19,371 | 0 |
| Total | 2,915 | 5,056 | 16,760 | 29,071 | 45,831 | 0 |
| **Grand total** | 4,825 | 8,880 | 27,741 | 51,058 | **78,799** | 0 |

**Figure 1** ‘Dangjakkrapad’ mango was treated with modified vapor heat treatment for disinfestation test of first instar larva of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in preliminary

**Figure 2** Infested fruits were subjected to proposed heat quarantine treatment under half load (left) and full load (right) condition in large-scale confirmatory test

# วิจัยและพัฒนาวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* ในผลมะม่วงอกร่องเพื่อการส่งออก

# Research and Development of Modified Vapor Heat Treatment for Ok Rong Mango infested with *Bactrocera dorsalis* for Export

**ศิริพร คงทวี ปวีณา บูชาเทียน มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์**
**ชัยณรัตน์ สนศิริ พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์**
**กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

**Abstract**

The goal of this study is to develop a modified vapor heat treatment to disinfest *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in 'Ok Rong' mango (*Mangifera indica* L.) fruits and to meet the plant quarantine regulation without damaging fruit quality. The result showed that the Modified Vapor Heat Treatment (MVHT) is an appropriate method for eliminating fruit flies in 'Ok Rong' mango before export, as it does not affect the quality of the fruits. Additionally, it was found that a temperature of 47°C for less than 20 minutes is effective in eradicating fruit flies in mango. Further studies confirmed the efficacy of the MVHT at 47°C for 20 minutes, successfully eliminating all first-instar fruit fly larvae, with a total mortality of no less than 30,000 larvae, meeting plant quarantine standards.

**Keywords :** Modified Vapor Heat Treatment, mango, quarantine pest, fruit fly

รหัสการทดลอง FF65-55-05-65-00-06-65

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในผลมะม่วงพันธุ์อกร่อง ให้ได้ตามมาตรฐานวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของมะละกอหลังอบไอน้ำ จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์เป็นวิธีการที่เหมาะสมในการใช้กำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงอกร่องก่อนการส่งออก เนื่องจากไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพสำหรับส่งออก โดยอุณภูมิที่สามารถใช้ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ในมะม่วงคือ 47 °C โดยใช้ระยะเวลาน้อยกว่า 20 นาที และเมื่อศึกษายืนยันประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 47 °C นาน 20 นาที สามารถกำจัดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 ให้ตายทั้งหมดไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว ซึ่งตรงตามมาตรฐานด้านกักกันพืช


**คำหลัก :** อบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์, มะม่วง, ศัตรูพืชกักกัน, แมลงวันผลไม้

## คำนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งแพร่ระบาดของแมลงวันผลไม้ และมักพบปัญหาไข่และหนอนแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันที่สำคัญของต่างประเทศติดไปกับผักผลไม้ส่งออก ดังนั้น ก่อนการส่งออกผักผลไม้ไปยังประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช จึงต้องมีการกำจัดแมลงวันผลไม้ตามเงื่อนไขระหว่างประเทศ การกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT) เป็นวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ที่มีประสิทธิภาพสูง ประเทศไทยได้วิจัยและพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการดังกล่าว และประสบความสำเร็จในการใช้วิธีการดังกล่าวเจรจาเปิดตลาดเพื่อส่งออกผลไม้สด เช่น มะม่วง ส้มโอ และมังคุด ไปยังประเทศที่มีความเข้มงวดทางด้านกักกันพืชหลายประเทศ ปัจจุบันประเทศไทยสามารถส่งออกมะม่วงไปประเทศญี่ปุ่นได้ 7 พันธุ์ คือ พันธุ์หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด พิมเสนแดง มหาชนก เขียวเสวย และโชคอนันต์ และสามารถส่งออกไปสาธารณรัฐเกาหลีได้ 4 พันธุ์ คือ หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และมหาชนก โดยในปี 2567 มีปริมาณการส่งออกราว 24,403 ตัน ซึ่งคิดเป็นมูลค่าการส่งออก 2,440 ล้านบาท สำหรับแนวโน้มการส่งออกเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง จากข้อมูลการส่งออกดังกล่าวแสดงให้เห็นว่ามะม่วงยังเป็นผลไม้ที่มีศักยภาพในการส่งออกและมีตลาดรองรับที่แน่นอน

ดังนั้น จึงทำการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในมะม่วงพันธุ์อกร่อง ที่มีประสิทธิภาพตรงตามมาตรฐานด้านกักกันพืช โดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ เพื่อใช้ในการเจรจาเปิดตลาดส่งออกผลไม้สดไปยังประเทศที่เข้มงวดด้านกักกันพืชได้มากขึ้น

## วิธีดำเนินการ

**อุปกรณ์**

1. มะม่วงพันธุ์อกร่อง
2. มะม่วงน้ำดอกไม้
3. แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis*
4. ตู้อบไอน้ำกำจัดแมลงขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง 2 เครื่อง
5. ตู้ลดอุณหภูมิผลไม้
6. ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ 2 ห้อง
7. เครื่องอ่างน้ำร้อน
8. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดของผลไม้
9. เครื่องวัดค่าความหวานของผลไม้
10. ห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก
11. ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก 4 ตู้
12. ห้องเย็นสำหรับเก็บผลไม้ที่ใช้ในการทดลอง
13. เครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์แบบต่อเนื่อง
14. แท่งวัดอุณหภูมิขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง
15. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่งสำหรับงานทดลอง
16. อุปกรณ์สำหรับเช็คผลการทดลอง ได้แก่ พู่กัน ปากคีบ เคาท์เตอร์ จานทดลองขนาดเล็ก ถาดใส่ผลไม้ ถุงผ้าตาข่าย ถุงมือ มีดปอกผลไม้ ถุงขยะดำ และอื่นๆ

**วิธีการ**

**1. การเลี้ยงแมลงวันผลไม้จำนวนมากด้วยอาหารเทียมเพื่อเพิ่มปริมาณและเพื่อใช้ในการทดลอง**

แมลงวันผลไม้ที่ใช้ในทดลอง ได้มาจากแมลงวันผลไม้ที่เข้าทำลายผลมะม่วงในพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา โดยทำการรวบรวมและเลี้ยงจนเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย จากนั้นจะคัดแยกชนิดอย่างละเอียดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คัดแยกแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis*, *B. carambolae* และ *B. papayae* ออกจากกัน แล้วจึงนำแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยไปเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการและเพิ่มจำนวนให้มากขึ้น ใช้เทคนิคและวิธีการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ตามวิธีการของ Watanabe et al., (1973) และอุดร (2541) โดยใช้การเลี้ยงด้วยอาหารเทียม (artificial diet) ที่ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ ของกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. บันทึกอัตราการฟักของไข่ (hatching rate)
2. บันทึกอัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate)
3. น้ำหนักของดักแด้

4. อัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio)

**2. ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้เบื้องต้นในผลมะม่วงพันธุ์อกร่อง**

ดำเนินการทดลองด้วยเครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็ก จำนวน 2 เครื่อง โดยใช้หนอนวัย 1 เพื่อเป็นตัวแทนของแมลงในการเตรียมมะม่วงให้มีแมลงวันผลไม้อยู่ภายในผล (artificial infestation method) (Figure 1) ตามวิธีการของ (Intarakumheng *et al*., 2013*)* มะม่วงที่ใช้ในการทดลองมีขนาดกลาง นำมะม่วงทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน วางเรียงมะม่วงที่ทำการใส่หนอนวัย 1 ของแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง ผลละ 100 ตัว ในถาดบรรจุผลไม้ ศึกษาการกำจัดแมลงวันผลไม้เบื้องต้นในผลมะม่วงพันธุ์อกร่องโดยอบมะม่วงในเครื่องตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิที่อุณหภูมิผล 46, 46.5 °C ใช้ระยะเวลาอบนาน 0 นาที และ 47 °C ใช้เวลาอบนาน 0 5 10 15 20 และ 25 นาที จากนั้นศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะม่วงพันธุ์อกร่อง อบมะม่วงกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 ในผลมะม่วงเพื่อกำหนดกระบวนการอบไอน้ำที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในผลมะม่วงพันธุ์อกร่องให้ตายทั้งหมด โดยอบมะม่วงในเครื่องตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิที่อุณหภูมิผล 47 °C ใช้เวลาอบนาน 0 5 10 และ 15 นาที (Figure 2)

ตรวจนับจำนวนหนอนแมลงวันผลไม้ที่รอดชีวิตในผลมะม่วงแต่ละผล หลังจากผ่านความร้อนเป็นเวลานาน 5 วัน โดยบันทึกจำนวนหนอนที่รอดชีวิตทั้งหมดในมะม่วงทดลองที่อุณหภูมิ และระยะเวลาที่กำหนด นำข้อมูลไปคำนวณหาอัตราการตายที่แท้จริง (corrected mortality) โดยสูตรของ Abbott (Abbott, 1925)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. ตรวจสอบค่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์จากกระดาษบันทึกอุณหภูมิและความชื้นของตู้อบไอน้ำ

2. บันทึกอัตราการตายของหนอนวัยที่ 1 (corrected mortality)

**3. ศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนมากในผลมะม่วงพันธุ์อกร่องเพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช**

1. ศึกษาประสิทธิภาพการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ที่สามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในระยะการเจริญเติบโตที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุด จำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว ในผลมะม่วงให้ตายทั้งหมด โดยอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์มะม่วงที่อุณหภูมิ 47 °C นาน 20 นาที โดยใช้รูปแบบการทำลายของแมลงวันผลไม้ 2 รูปแบบ คือ artificial infestation method และ forced infestation method ทำการอบมะม่วงในสภาพของตู้อบความร้อนมีปริมาณมะม่วง 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ (Low load and Full load) (Figure 3 และ 4)

1) รูปแบบการทำลายโดยวิธีการใส่หนอนวัย 1 แมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง (artificial infestation method) แยกเป็นมะม่วงที่ผ่านความร้อน (treatment) และมะม่วงที่ใช้เป็นตัว

เปรียบเทียบ ไม่ผ่านความร้อน (control) นำมะม่วงทั้งหมดเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25-28 C° จนกระทั่งนำมะม่วงไปใช้ในการทดลอง

2) รูปแบบการทำลายโดยวิธีการให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลมะม่วง (forced infestation method) โดยบังคับให้แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ตัวเต็มวัยเพศเมียแทงอวัยวะวางไข่เข้าไปวางไข่ในผลมะม่วงผ่านรูที่เจาะ ด้วยเข็มขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร จำนวน 5 รู/ผล ให้ทะลุเปลือกไปถึงเนื้อ นำไปวางไว้ในกรงเลี้ยงแมลงขนาดเล็กที่มีแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัย จำนวนประมาณ 2,000 ตัว ใช้ระยะเวลาในการให้แมลงวางไข่นาน 1 ชั่วโมง นำมะม่วงทั้งหมดเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25-28 C° จนกระทั่งนำมะม่วงไปใช้ในการทดลอง

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. ตรวจสอบค่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์จากกระดาษบันทึกอุณหภูมิและความชื้นของตู้อบไอน้ำ

2. บันทึกอัตราการตายของหนอนวัยที่ 1 (corrected mortality)

**เวลาและสถานที่**

| | |
|---|---|
| เวลา | เดือนตุลาคม 2566 - มีนาคม 2568 |
| สถานที่ | ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช |

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้เบื้องต้นในผลมะม่วงพันธุ์อกร่อง อบความร้อนที่อุณหภูมิผล 46, 46.5 °C ใช้ระยะเวลาอบนาน 0 นาที และ 47 °C ใช้เวลาอบนาน 0 5 10 15 20 และ 25 นาที พบว่าที่อุณหภูมิ 47 °C นาน 10 นาที ขึ้นไปทำให้หนอนแมลงวันผลไม้วัย 1 ตายทั้งหมด (Table 1) จากการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* วัย 1 ในผลมะม่วงพันธุ์อกร่องเพื่อกำหนดกระบวนการอบไอน้ำที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในผลมะม่วงอกร่องให้ตายทั้งหมด โดยอบความร้อนที่อุณหภูมิผล 47 °C ใช้เวลาอบนาน 0 5 10 และ 15 นาที พบว่าที่อุณหภูมิ 47 °C นาน 10 นาทีขึ้นไป ทำให้หนอนแมลงผลไม้วัย 1 ตายทั้งหมดไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว (Table 2) และจากการศึกษายืนยันประสิทธิภาพกระบวนการอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* จำนวนมากในผลมะม่วง เพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช ที่อุณหภูมิภายในสุดผลคงอยู่ที่ระดับ 47 °C นาน 20 นาที สามารถกำจัดหนอนวัยที่ 1 ในผลมะม่วงพันธุ์อกร่อง (Table 3 และ 4) จำนวน 40,050 ตัว ตายทั้งหมด

จากผลการทดลองยืนยันประสิทธิภาพมะละกอที่อุณหภูมิ 47 นาน 20 นาที สามารถกำจัดหนอนแมลงวันวัย 1 ตายทั้งหมดไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว สามารถยืนยันได้ว่าวิธีการอบไอน้ำที่อุณหภูมิ

47 °C นาน 20 นาที สามารถกำจัดหนอนแมลงวันวัย 1 ตายทั้งหมดไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว เนื่องจากอุณหภูมิ 47 °C นาน 20 นาที เป็นกระบวนการที่ใช้ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ก่อนการส่งออกสำหรับมะม่วง 7 พันธุ์ ส่งออกไปยังประเทศญี่ปุ่น (MAFF, 1993) และ 4 พันธุ์ส่งออกไปยังสาธารณรัฐเกาหลี (APQA, 2020) ในปัจจุบัน จึงสามารถเสนออุณภูมิ 47 นาน 20 นาที เป็นกระบวนการในการกำจัดแมลงวันผลไม้ในมะม่วงพันธุ์อกร่องก่อนการส่งออกได้

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์เป็นวิธีการที่เหมาะสมในการใช้กำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงพันธุ์อกร่องก่อนการส่งออก เนื่องจากไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพสำหรับส่งออก นอกจากนี้ยังพบว่าอุณภูมิที่สามารถใช้ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะละกอและมะม่วงคือ 47 °C โดยใช้ระยะเวลาน้อยกว่า 20 นาที และเมื่อศึกษายืนยันประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 47 °C นาน 20 นาที สามารถกำจัดแมลงวันผลไม้หนอนวัย 1 ให้ตายทั้งหมดไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว ซึ่งตรงตามมาตรฐานด้านกักกันพืช

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนงบประมาณโครงการวิจัย คณะกรรมการที่ปรึกษาด้านวิชาการ คณะกรรมการบริหารงานวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ได้ช่วยกันพิจารณาแก้ไข และให้คำแนะนำในการจัดทำโครงการวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกันของพืชส่งออก และเจ้าหน้าที่จากกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และขอขอบคุณสถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน) และศูนย์รังสีควบคุมศัตรูพืช กรมส่งเสริมการเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวนสำหรับการทดลอง

## เอกสารอ้างอิง

รัชฎา อินทรกำแหง สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชุติมา อ้อมกิ่ง จารุวรรณ จันทรา และอุดร อุณหวุฒิ. 2553. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในมะม่วงพันธุ์มหาชนก โชคอนันต์ และเขียวเสวยเพื่อการส่งออก. คลังผลงานวิจัยกรมวิชาการเกษตร รายงานผลงานวิจัยและพัฒนา 2553. 11 หน้า

อุดร อุณหวุฒิ. 2541. การกำจัดแมลงวันผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว. ฝ่ายกักกันพืช, กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 129 หน้า.

Animal and Plant Quarantine Agency (APQA), Republic of Korea. 2020. Plant quarantine import requirements of fresh mango fruits from Thailand into the Republic of Korea.

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.

Intarakumheng, R., Phankum, S., Sonsiri, C., Srimartpirom, M., Ormking, C., and Unahawutti, U. 2013. Evalution of modified vapor heat treatment as quarantine treatment for Khiaosawoey and Chokanan mangoes infested with oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae). A report Submitted to The Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF) for market access of Khiaosawoey and Chokanan mangoes from Japan to Thailand October 2013. 139p.

Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF), Japan. 1993. Work plan for exportation of the fresh fruits from Thailand to Japan.

Unahawutti, U., M. Poomthong, R. Intarakumheng, W. Worawisitthumrong, C. Lapasathukool, E. Smitasiri, P. Srisook and C. Ratanawaraha. 1991. Vapour heat as plant quarantine treatment of 'Nang klarngwan', 'Nam Dorkmai', 'Rad' and 'Pimsen Daeng' mangoes, Infested with fruit flies (Diptera: Tephritidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approved of quarantine treatment on Thai mangoes to be exported to Japan. Tech. Plant Quarant. Sub Div., Agr. Regulat. Div., Dept. of Agr., Bangkok. 342 p.

Watanabe, N., Ichinohe, F. and Sonda, M. 1973. *Improvement of corn flour medium for larval culture of oriental fruit fly.* Research Bulletin of the Plant Protection Service Japan. 11. 57–58 pp.

**Table 1** Mortality of first instars of the Oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis*) in 'Ok Rong' mango treated with modified vapor heat treatment in preliminary disinfestation test

| Treatment[2/] | Number of treated (larvae) | Number of alive (larvae) | Number of dead (larvae) | Corrected mortality[3/] (%) |
|---|---|---|---|---|
| Control[1/] | 1,500 | 1,286 | 214 | 0 |
| 46.0 °C | 1,500 | 898 | 602 | 40.13 |
| 46.5 °C | 1,500 | 573 | 927 | 62.80 |
| 47.0 °C | 1,500 | 11 | 1,489 | 99.27 |
| 47.0 °C + 5 min. | 1,500 | 39 | 1,461 | 97.40 |
| 47.0 °C + 10 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |
| 47.0 °C + 15 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |
| 47.0 °C + 20 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |
| 47.0 °C + 25 min. | 1,500 | 0 | 1,500 | 100 |

[1/] Control: 15 fruits infested with 100 larval/fruit

[2/]Treatment: 5 fruits infested with 100 larval/fruit

[3/] Corrected mortality is corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925)

**Table 2** Mortality of first instars of the Oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis*) in 'Ok Rong' mango treated with modified vapor heat treatment in intermediate disinfestation test

| Treatment[2/] | Number of treated (larvae) | Number of alive (larvae) | Number of dead (larvae) | Corrected mortality[3/] (%) |
|---|---|---|---|---|
| Control[1/] | 4,000 | 3,488 | 512 | 0 |
| 47.0 °C | 4,000 | 46 | 3,954 | 98.85 |
| 47.0 °C + 5 min. | 4,000 | 17 | 3,983 | 99.58 |
| 47.0 °C + 10 min. | 4,000 | 0 | 4,000 | 100 |
| 47.0 °C + 15 min. | 4,000 | 0 | 4,000 | 100 |

[1/] Control: 40 fruits infested with 100 larval/fruit

[2/]Treatment: 5 fruits infested with 100 larval/fruit

[3/] Corrected mortality is corrected by using Abbott's formula (Abbott, 1925)

**Table 3** Time for sensor of Ok Rong mango to attain 47 °C for 20 minutes in large scale test

| Rep. | Load factor (kg/cum) | Sensor fruit weight (g) | | | Time[1/] (h) |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 80 (Half load) | 223.06 | 223.40 | 224.08 | 2:45 |
| 2 | 153.6 (Full load) | 224.32 | 225.99 | 226.53 | 3:48 |
| 3 | 153.6 (Full load) | 224.56 | 223.74 | 223.78 | 3:53 |

[1/] Time for center of only two sensor fruits to attain target temperature and exposure time

**Table 4** Survival of first instar larvae of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*, in Ok Rong mango treated with vapor heat treatment for large scale confirmation test

| Rep. | No. of alive individual in control[1/] | | Estimated treated population[2/] | | Total treated population | No. survivors |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Artificial inoculation | Forced infestation | Artificial inoculation | Forced infestation | | |
| | **Half load** | | | | | |
| 1 | 2,163 | 1,587 | 6,489 | 4,761 | 11,250 | 0 |
| | **Full load** | | | | | |
| 2 | 2,067 | 2,940 | 6,201 | 8,820 | 15,021 | 0 |
| 3 | 1,813 | 2,780 | 5,439 | 8,340 | 13,779 | 0 |
| **Total** | **6,043** | **7,307** | **18,129** | **21,921** | **40,050** | **0** |

[1/]Artificial inoculation: 25 fruits/rep. and fruits infested with 100 individuals/fruit
Forced infestation: 25 fruits/rep. and fruits were exposed to fruit fly adults for 25 minutes

[2/] Artificial inoculation: 25 fruits/rep. and fruits infested with 100 individuals/fruit
Forced infestation: 25 fruits/rep. and fruits were exposed to fruit fly adults for 25 minutes

**Figure 1** Preparing mango fruit for fruit fly artificial disinfestation

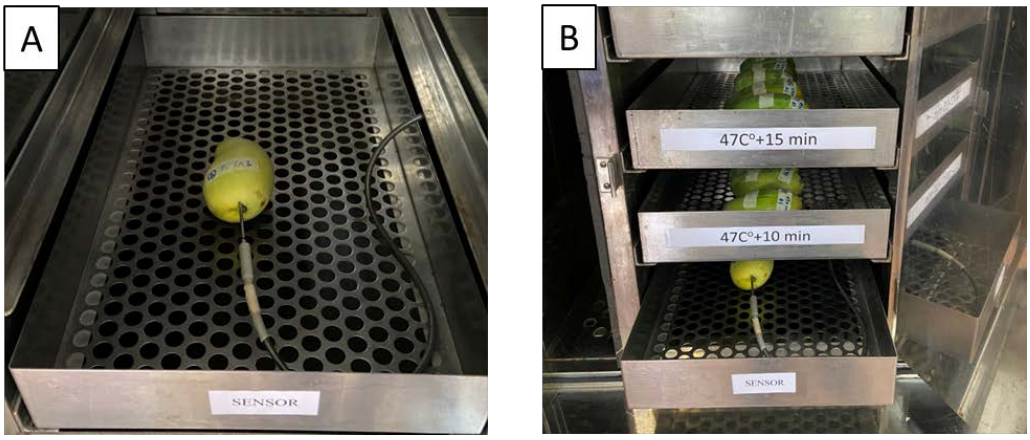



**Figure 2** Intermediate disinfestation test A; sensor fruit that places opposite heat air outlet and B; test fruits on separate trays of different time target

**Figure 3** Large scale disinfestation test (half load) for mango

**Figure 4** Large scale disinfestation test (full load) for mango

# การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata* ในประเทศไทย

# Survey and Surveillance of *Pseudomonas corrugata* in Thailand

**วานิช คำพานิช[1/] ชลธิชา รักใคร่[1/] วันเพ็ญ ศรีชาติ[2/]**
**พรรณิภา เปชัยศรี[1/] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[3/]**
**[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
**[2/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 2**
**[3/]ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

## Abstract

The survey and surveillance of *Pseudomonas corrugata*, has been determined a quarantine pest in Thailand, to confirm its current status and solve the problem of tomato seeds exports to the European Union, which are required to come from sources that are free from this pest. A surveillance guide and specific surveillance for determination of P. corrugata status has been conducted between October 2021 and March 2025 in 425 tomato orchards in 19 provinces. A total of 130 samples were inspected, collected, and examined in the laboratory of Plant Protection Research Development Office by tissue transplanting, dilution plate method and polymerase chain reaction. The results showed that all bacteria were not *P. corrugata.* This confirmation reinforces Thailand 's status as free from this quarantine pest.

**Keywords :** survey, surveillance, status, Bacteria, *Pseudomonas corrugata*

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-01-65

## บทคัดย่อ

การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata* ที่ถูกประกาศเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยเพื่อยืนยันสถานภาพที่เป็นปัจจุบันและแก้ปัญหาการส่งออกเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศไปสหภาพยุโรปซึ่งมีข้อกำหนดว่าต้องมาจากแหล่งผลิตที่ปราศจากเชื้อนี้ โดยการจัดทำคู่มือการเฝ้าระวัง วางแผนการเฝ้าระวังศัตรูพืชอย่างมีระบบ และดำเนินการเฝ้าระวังแบบเฉพาะเจาะจง (specific surveillance) ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือนมีนาคม 2568 ในแปลงปลูกมะเขือเทศในพื้นที่ 19 จังหวัด จำนวนทั้งสิ้น 425 แปลง ทำการตรวจและเก็บตัวอย่างที่แสดงอาการคล้ายโรค bacterial pith necrosis จำนวนทั้งสิ้น 130 ตัวอย่าง นำมาตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ด้วยวิธีการ tissue transplanting วิธีการ dilution plate และวิธีชีวโมเลกุลด้วยเทคนิค polymerase chain reaction ผลการตรวจสอบ พบว่าแบคทีเรียทั้งหมดไม่ใช่เชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* ทำให้สามารถยืนยันสถานภาพได้ว่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวยังคงสถานภาพศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย


**คำหลัก :** การสำรวจ, การเฝ้าระวัง, สถานภาพ, เชื้อแบคทีเรีย, *Pseudomonas corrugata*

## คำนำ

เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata* สาเหตุโรค bacterial pith necrosis ในพริกและมะเขือเทศเป็นเชื้อที่ไม่มีรายงานในประเทศไทยและถูกประกาศให้เป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ภายใต้พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 ที่แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2551 เชื้อดังกล่าว เป็นเชื้อที่มีรายงานการแพร่ระบาดในแหล่งผลิตพืชวงศ์มะเขือของต่างประเทศ และมีแหล่งแพร่กระจายในหลายประเทศทั่วโลกได้แก่ แอฟริกาใต้ อินเดีย อิสราเอล ญี่ปุ่น ฝรั่งเศส เยอรมนี โปแลนด์ สวีเดน แคนาดา เม็กซิโก สหรัฐอเมริกา เครือรัฐออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ บราซิล และอาร์เจนตินา (CABI, 2019) และในต่างประเทศมีรายงานว่าอาการของโรคจะพัฒนาเมื่อต้นพืช อายุ 3 เดือน โดยเริ่มแรกใบอ่อนมีอาการเหลือง บริเวณลำต้นหรือกิ่งที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และเนื้อเยื่อจะยุบลงไป เซลล์ของพืชจะแห้งตาย เมื่อผ่าลำต้นตามทางยาว พบว่าไส้ของลำต้นกลวง ท่อน้ำท่ออาหารถูกทำลาย และเป็นแผลเซลล์ตาย และยืนต้นตายในที่สุด (Moura *et al*., 2005) มีรายงานว่าเชื้อแบคทีเรียสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ และสามารถเจริญเติบโตได้ในดินที่มีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนสูง

ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศเข้ามาเพื่อปลูก จึงมีความเสี่ยงที่เชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* จะติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกและมะเขือเทศที่นำเข้า ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* เพื่อยืนยันสถานภาพการปรากฏและไม่ปรากฏของในพื้นที่ปลูกพืชอาศัยของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นปัจจุบันและแก้ปัญหาการส่งออกเมล็ด

พันธุ์พริกและมะเขือเทศไปประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรปซึ่งมีข้อกำหนดว่าต้องมาจากแหล่งผลิตที่ปราศจากเชื้อนี้ รวมทั้งใช้เป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และการรายงานศัตรูพืชต่อไป

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว และอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
2. ตู้อบ
3. เครื่องชั่ง
4. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ
5. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ
6. ปิเปต
7. เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง
8. อ่างควบคุมอุณหภูมิ
6. เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ
9. เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ
8. เครื่องแยกวิเคราะห์สารพันธุกรรม
9. เครื่องถ่ายภาพสารพันธุกรรม
10. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ สกัดดีเอ็นเอ และทำปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR)

### วิธีการ

**1. การรวบรวมข้อมูลเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata***

สืบค้นรวบรวมข้อมูลเชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* เช่น รายละเอียดของเชื้ออนุกรมวิธาน ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง รูปร่าง ลักษณะอาการ (Figure 1 และ Figure 2) การเข้าทำลาย พืชอาศัย การแพร่ระบาดพร้อมรูปภาพประกอบเป็นต้น จากทั้งในและต่างประเทศ ฐานข้อมูล เอกสารวิชาการ วารสาร รายงานการประชุม สัมมนาทางวิชาการและหน่วยงานอื่นที่เกี่ยวข้อง

**2. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata***

ทำการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรียตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No. 6) ในแปลงปลูกมะเขือเทศ โดยดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลเชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด ตามขั้นตอนต่อไปนี้

2.1 การสำรวจ

- กำหนดพื้นที่ แหล่งปลูกมะเขือเทศ และพริก ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา น่าน ตาก เลย กาฬสินธุ์ หนองคาย ขอนแก่น อุดรธานี หนองบัวลำภู มุกดาหาร นครพนม สกลนคร นครราชสีมา นครปฐม เพชรบุรี ระยอง และจันทบุรี

- วางแผนการสำรวจ ดำเนินการสำรวจตามมาตรฐาน ISPM No. 6 วางแผนการสำรวจในพื้นที่อย่างน้อย 10 แปลงต่อพื้นที่แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ สุ่มตรวจโรค 5 แถวต่อแปลง กำหนดการตรวจแบบแถวเว้นแถว โดยเดินเป็นรูปตัวยู (Figure 3)

2.2 วิธีการตรวจเชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* ในแปลง เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการ (Figure 1 และ Figure 2) ของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจหาเชื้อแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ

**3. การแยกเชื้อและจัดจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชในห้องปฏิบัติการ**

ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช โดยการตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ การตรวจสอบโดยการนำตัวอย่างที่เก็บมา เช่น ส่วนของใบ กิ่ง และลำต้นของมะเขือเทศที่แสดงอาการคล้ายกับรูปภาพนำมาแยกเชื้อตามวิธีการดังต่อไปนี้

3.1 วิธี tissue transplanting

ตัดใบพืชเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 2x2 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 1-2 ครั้ง นำไปผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อแล้ววางชิ้นส่วนพืชลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA) และอาหารเลี้ยงเชื้อ King's B Medium หรือบนอาหาร Yeast Peptone Glucose Agar (YPGA) นำจานเลี้ยงเชื้อไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จึงนำมาตรวจสอบหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย และนำไปศึกษาคุณลักษณะเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

3.2 วิธี dilution plate

ตัดใบพืชที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิว ด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 1-2 ครั้ง แล้วนำผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ นำชิ้นส่วนพืชใส่ลงในหลอดที่นึ่งฆ่าเชื้อ แล้วบดชิ้นส่วนในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ตั้งทิ้งไว้ 1-5 นาที นำน้ำใสส่วนบนมาทำให้เจือจางเป็นลำดับจาก $10^{-1}$ ถึง $10^{-5}$ ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA) และอาหารเลี้ยงเชื้อ King's B Medium หรือบนอาหาร Yeast Peptone Glucose Agar (YPGA) นำจานเลี้ยงเชื้อไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จึงนำมาตรวจสอบหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หากพบทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ และเก็บเชื้อไว้ในหลอดอาหาร NA เพื่อนำไปศึกษาการจำแนกชนิดต่อไป

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

1) ทดสอบแกรม (gram reaction)

โดยใช้สารละลายโปรแตสเซียม-ไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (3%KOH) ที่เตรียมใหม่ใช้ภายใน 2 สัปดาห์ หากตรวจพบเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) มีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) และนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

2) ทดสอบ hypersensitivity reaction บนยาสูบ

โดยการฉีดสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียอายุ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 108 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เข้าไปในใบยาสูบ (*Nicotiana tabacum* L.) บริเวณใต้ใบโดยฉีดเข้าเนื้อใบระหว่างเส้นใบ สังเกตลักษณะอาการเซลล์ตายตรงเนื้อใบหลังการฉีดเชื้อ 24 - 48 ชั่วโมง หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลทดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช

3.3 ทดสอบการเกิดโรค (Pathogenicity test)

นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากการเก็บตัวอย่าง มาทดสอบการเกิดโรคกับพริกและมะเขือเทศ โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร potato semi-synthetic agar (PSA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาปรับระดับความเข้มข้นของเชื้อโดยใช้ค่าดูดกลืนแสง O.D.600 nm เท่ากับ 0.2 ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ มีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 108 CFU/ml พ่นเชื้อแบคทีเรียบนพืชทดสอบแล้วใช้ถุงพลาสติกคลุมไว้ให้มีความชื้นเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จึงเปิดถุงออก และสังเกตอาการต้นพืชเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่พ่นด้วยน้ำเปล่า และพิสูจน์โรคตามวิธีการของ Koch (Koch's postulation)

4 ทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical properties)

เช่น การใช้ยูเรีย การย่อยเจลาติน การย่อยเอสคูลิน และแป้ง reduce ไนเตรต ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นต้น

3.5 การตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

และคัดเฉพาะโคโลนีที่ให้ผล ELISA เป็น positive มายืนยันการพบเชื้อ *P. corrugata* โดยใช้ specific primer โดยใช้วิธี Polymerase chain reaction (PCR)

**4. รวบรวมข้อมูลผลการสำรวจและผลการตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ**

โดยทำการวิเคราะห์สถานภาพศัตรูพืช สรุปผล และจัดทำรายงานผลการวิจัยสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* ของพริกและมะเขือเทศ

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกรายละเอียดตำแหน่งของแปลงปลูกมะเขือเทศที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง และพิกัด
2. บันทึกข้อมูลจำนวนแปลง และจำนวนตัวอย่างที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
3. บันทึกข้อมูลชนิดพืช ขนาดพื้นที่ปลูก ระยะการเจริญเติบโต และสภาพแวดล้อมอื่น ๆ

4. บันทึกลักษณะอาการการเกิดโรค ส่วนของพืชที่พบอาการของโรค ประเมินความรุนแรงของโรค และการแพร่กระจายในพื้นที่
5. บันทึกข้อมูลชนิดของเชื้อสาเหตุโรคพืช และลักษณะเชื้อสาเหตุที่ตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2564 – มีนาคม 2568

สถานที่ 1) ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2) แปลงผลิตพริกและมะเขือเทศในประเทศไทย

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1) การรวบรวมข้อมูลเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata***

*Pseudomonas corrugata* Roberts & Scarlett (1981), emend. Sutra *et al*. 1997

อนุกรมวิธาน

Phylum: Proteobacteria

Class: Gammaproteobacteria

Order: Pseudomonadales

Family: Pseudomonadaceae

Genus: *Pseudomonas*

Species: *Pseudomonas corrugata*

เชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* (bacterial pith necrosis) เป็นศัตรูพืชกักกัน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 (ฉบับที่ 6) (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550) ซึ่งเชื้อแบคทีเรียนี้ มีรายงานการแพร่ระบาดในแหล่งผลิต (แปลงปลูก) มะเขือเทศในต่างประเทศ เช่น อินเดีย อิสราเอล ญี่ปุ่น แอฟริกาใต้ เยอรมนี โปแลนด์ สวีเดน แคนาดา เม็กซิโก สหรัฐอเมริกา อาร์เจนตินา บราซิล นิวซีแลนด์ และเครือรัฐออสเตรเลีย เป็นต้น (CABI, 2019) และมีรายงานว่าอาการของโรค bacterial pith necrosis จะพัฒนาเมื่อต้นพืช อายุ 3 เดือน โดยอาการเริ่มแรกใบอ่อนมีอาการเหลือง บริเวณลำต้นหรือกิ่งที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และเหี่ยวในที่สุด เนื้อเยื่อจะยุบลง เมื่อผ่าลำต้นตามทางยาว พบว่า ไส้ของลำต้นกลวง (pith) ท่อน้ำท่ออาหารถูกทำลาย มีแผลเซลล์ตาย และยืนต้นตายในที่สุด (Moura *et al*., 2005) (Figure 1 และ Figure 2) นอกจากยังมีรายงานว่าเชื้อสามารถติดไป

กับเมล็ดพันธุ์ (CABI, 2019) เนื่องจากประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศ สำหรับผลิตผลสดเพื่อการบริโภคและผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อการส่งออกทำให้มีความเสี่ยงของศัตรูพืชสูง

**2) การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata***

ผลการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata* ในประเทศไทย โดยสำรวจและเก็บตัวอย่างโรค bacterial pith necrosis ในพื้นที่ปลูกมะเขือเทศและพริก จำนวน 19 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา น่าน ตาก เลย กาฬสินธุ์ หนองคาย ขอนแก่น อุดรธานี หนองบัวลำภู มุกดาหาร นครพนม สกลนคร นครราชสีมา นครปฐม เพชรบุรี ระยอง และจันทบุรี จำนวนทั้งสิ้น 425 แปลง รวมทั้งสิ้นจำนวน 130 ตัวอย่าง พบอาการคล้ายโรค bacterial pith necrosis (Figure 1 และ Figure 2) จำนวน 130 ตัวอย่าง นำมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการตรวจแล้วไม่พบเชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* สาเหตุโรค bacterial pith necrosis ทำให้สามารถสรุปได้ว่า เชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* ยังไม่ปรากฏในพื้นที่ปลูกมะเขือเทศและพริกของประเทศไทย ทำให้สามารถยืนยันสถานภาพได้ว่าเชื้อดังกล่าวยังคงสถานภาพการเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย การที่ไม่ปรากฏเชื้อชนิดนี้ในประเทศไทยอาจเกิดจากปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเกิดโรค bacterial pith necrosis ซึ่ง CABI (2019) รายงานว่าเชื้อแบคทีเรียสามารถก่อให้เกิดโรคได้ดีในสภาพความชื้นสูง อุณหภูมิสูงกว่า 37 องศาเซลเซียส แต่อย่างไรก็ตามประเทศไทยยังมีพื้นที่ที่มีความเสี่ยงสูงซึ่งกับเหมาะกับการผลิตมะเขือเทศ ทำให้ยังต้องมี การเฝ้าระวังอย่างต่อเนื่อง ซึ่งเชื่อมโยงกับการที่ประเทศไทยนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากแหล่งแพร่กระจาย เช่น ฝรั่งเศส อิตาลี สเปน สวีเดน สหราชอาณาจักร อินเดีย อิสราเอล ญี่ปุ่น แอฟริกาใต้ แคนาดา สหรัฐอเมริกา บราซิล และนิวซีแลนด์ หากไม่มีการตรวจสอบด้วยวิธีที่เฉพาะเจาะจงในเบื้องต้นด้วยวิธี PCR มาจากต้นทางจะมีความเสี่ยงที่เชื้อแบคทีเรียติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้ามามาปลูกในประเทศไทย

อย่างไรก็ตามยังจำเป็นต้องขยายขอบเขตการเฝ้าระวังเชื้อนี้ในปีถัดไป เพื่อให้เป็นตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (การเฝ้าระวัง) รวมทั้งรายงานศัตรูพืชต่อประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป และองค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization) ต่อไป

**3) สรุปผลการศึกษาสถานภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugata***

การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *P.corrugata* แบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) ตามมาตรฐาน ISPM ฉบับที่ 6 (เฝ้าระวัง) ในแปลงปลูกพืชวงศ์ส้มของประเทศไทยในพื้นที่ 19 จังหวัด จำนวน 425 แปลง ไม่ปรากฏพบเชื้อแบคทีเรีย *P.corrugata* ทำให้สามารถยืนยันได้ว่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวยังคงสถานภาพในการเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือนมีนาคม 2568 ในแปลงมะเขือเทศในพื้นที่ 19 จังหวัด 425 แปลง ทำการตรวจและเก็บอาการที่สงสัย

130 ตัวอย่าง นำมาตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการ ผลปรากฏว่าเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดไม่ใช่เชื้อแบคทีเรีย *P. corrugata* ทำให้สามารถยืนยันได้ว่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวยังคงมีสถานภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย ทั้งนี้จำเป็นต้องมีการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No. 6) ในพื้นที่ปลูกพืชอาศัยอย่างต่อเนื่อง

## คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนงบประมาณในการศึกษาวิจัยที่ปรึกษากรมวิชาการเกษตร อดีตผู้เชี่ยวด้านกักกันพืช ที่กรุณาให้คำแนะนำในการดำเนินงานวิจัย ขอขอบคุณคณะกรรมการที่ปรึกษาด้านวิชาการ ตลอดจนข้าราชการ พนักงานราชการ และพนักงานจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือในการทำงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 1 มิถุนายน 2550 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. ลงวันที่ 26 เมษายน 2550.

Blancard, D. 2012. Tomato Diseases (Identification, Biology and Control). Manson Publishing, London. England. 669 pp.

CABI (CAB International). 2019. *Pseudomonas corrugata*. CAB International. (Online). Available. https://www.cabi.org/ISC/datasheet/44945. (20 November 2019)

FAO. 2018. Surveillance. International Standards for Phytosanitary Measures (ISPM) No.6, FAO, Rome.

Moura, M.L., Jacques, M.A., Brito, L.M., Mourão, and I.M. Duclos. 2005. Tomato pith necrosis (TPN) caused by *Pseudomonas corrugata* and *P. mediterranea*: severity of damages and crop loss assessment. Acta Hort. (ISHS), 695, 365–372.

McMaugh, T. 2008. คำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก. ACIAR Monograph No. 119c.

**Figure 1** Symptoms of *Pseudomonas corrugata*; A) The leaflets of this leaf are slightly chlorotic and wilted; the tip leaflets are drying out and B) The pith of the stem is glassy and dark to blackish depending on position. Source: Blancard, 2012

**Figure 2** Symptoms of *Pseudomonas corrugata.* Source: Blancard, 2012

**Figure 3** The specific survey of *Pseudomonas corrugata* in production areas of pepper and tomatoes

# การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas vesicatoria* ในประเทศไทย

# Survey and Surveillance of *Xanthomonas vesicatoria* in Thailand

ทิพวรรณ กันหาญาติ[1/] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[2/] ชลธิชา รักใคร่[3/]
ธิดาวรรณ ชมเดช[3/] วันเพ็ญ ศรีชาติ[4/]

[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[4/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2

## Abstract

The bacterium *Xanthomonas vesicatoria*, the causal agent of bacterial spot in tomatoes and chilies, is a quarantine pest in several countries worldwide and is listed on the EPPO A2 list in the European Union. This bacterium has not previously been found in Thailand. However, as it can be transmitted via seeds and Thailand imports seeds for hybrid seed production, there is a risk of introduction, which could lead to outbreaks and significantly impact the country's seed industry. Therefore, this study aims to survey and monitor the presence or absence of *X. vesicatoria* in crop-growing areas, providing data to confirm its status as a quarantine pest in Thailand. A specific survey was conducted from October 2021 to March 2025, collecting leaf and fruit samples showing symptoms similar to bacterial spot in tomatoes and chilies from fresh produce and seed production fields across 40 provinces. The results of pathogen isolation and testing of all symptomatic samples with specific primers showed no detection of *X. vesicatoria*, thereby confirming that *X. vesicatoria* is not present in tomato and chili growing areas in Thailand.

**Keywords :** surveillance, bacterial spot, tomato, chili

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-02-65

## บทคัดย่อ

แบคทีเรีย *Xanthomonas vesicatoria* สาเหตุโรคใบจุดแบคทีเรียของมะเขือเทศและพริก เป็นศัตรูพืชกักกันของหลายประเทศทั่วโลกและมีรายชื่ออยู่ใน EPPO A2 list ของประเทศสหภาพยุโรป แบคทีเรียชนิดนี้ไม่มีปรากฏในประเทศไทยมาก่อน แต่เนื่องจากแบคทีเรียสามารถถ่ายทอดทางเมล็ดได้ รวมทั้งประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม จึงมีความเสี่ยงที่แบคทีเรียชนิดนี้จะติดเข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายและส่งผลเสียต่ออุตสาหกรรมเมล็ดพันธุ์ของประเทศ ดังนั้น การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจและติดตามการปรากฏหรือไม่ปรากฏของแบคทีเรีย *X. vesicatoria* ในแหล่งปลูกพืช สำหรับใช้เป็นข้อมูลยืนยันสถานภาพการเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย โดยดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงตั้งแต่เดือนตุลาคม 2564 - มีนาคม 2568 เก็บตัวอย่างใบหรือผลที่แสดงอาการคล้ายโรคใบจุดแบคทีเรียของมะเขือเทศและพริกจากแหล่งปลูกเพื่อจำหน่ายผลสดและแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ในพื้นที่ 40 จังหวัด ครอบคลุมแต่ละภูมิภาคของประเทศ นำมาตรวจหาแบคทีเรีย *X. vesicatoria* ผลการแยกเชื้อและตรวจตัวอย่างทั้งหมดด้วยไพรเมอร์จำเพาะ ไม่พบแบคทีเรีย *X. vesicatoria* ซึ่งข้อมูลผลการเฝ้าระวังในครั้งนี้ยืนยันสถานภาพของแบคทีเรีย *X. vesicatoria* ไม่มีปรากฏในพื้นที่ปลูกมะเขือเทศและพริกในประเทศไทย


**คำหลัก:** เฝ้าระวัง โรคใบจุดแบคทีเรีย มะเขือเทศ พริก

## คำนำ

โรคใบจุดที่เกิดจากแบคทีเรียในกลุ่ม *Xanthomonas* ของมะเขือเทศและพริก ถือเป็นโรคสำคัญสำหรับประเทศผู้ผลิตมะเขือเทศและพริกทั่วโลก เนื่องจากส่งผลให้ผลผลิตลดลงถึง 50% (Pohronezny and Volin, 1983) แบคทีเรียในกลุ่มนี้มีลักษณะอาการโรคที่คล้ายคลึงกัน และมีการรายงานชนิดของเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคอย่างหลากหลาย ซึ่งมีการจัดจำแนกและเปลี่ยนชื่อหลายครั้ง การจัดจำแนกโดย Jones *et al*. (2004) พบว่าเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Xanthomonas* ที่เป็นสาเหตุโรคใบจุดในมะเขือเทศและพริกมีการใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน และจากการศึกษา DNA-DNA hybridization ทำให้สามารถแบ่งเชื้อออกเป็น 4 ชนิด ได้แก่ *X. euvesicatoria, X. perforans, X. gardneri* และ *X. vesicatoria* (Jones *et al*., 2004) อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาในเวลาต่อมาได้มีการเสนอให้เปลี่ยนชื่อเชื้อทั้ง 4 ชนิดใหม่ ได้แก่ *X. euvesicatoria pv. euvesicatoria, X. euvesicatoria pv. perforans, X. hortorum pv. gardneri* และ *X. vesicatoria* ตามลำดับ (Constantin *et al*., 2016; Timilsina *et al*., 2020; Morinière *et al*., 2020) สำหรับในประเทศไทย มีรายงานเกี่ยวกับเชื้อสาเหตุโรคใบจุดในมะเขือเทศและพริกที่เกิดจากแบคทีเรีย *X. campestris pv. vesicatoria* (Uematsu *et al*., 1983) และรายงานการจำแนกชนิดของแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุด โดยเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์หลายตำแหน่ง พบเชื้อ 2 ชนิด ได้แก่ *X. euvesicatoria* และ *X. perforans* (สันติพงษ์และคณะ, 2563)

แบคทีเรีย *X. vesicatoria* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคใบจุดของมะเขือเทศและพริก ถูกจัดให้เป็นศัตรูพืชกักกันในหลายประเทศ และมีรายชื่ออยู่ใน EPPO A2 list (EPPO, 2023) เนื่องจากสามารถถ่ายทอดทางเมล็ดได้ ทำให้มีความเสี่ยงที่แบคทีเรียชนิดนี้จะแพร่ระบาดและก่อให้เกิดความเสียหายต่ออุตสาหกรรมเมล็ดพันธุ์ของประเทศ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศเพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม และส่งกลับไปจำหน่ายยังต่างประเทศ ถึงแม้ว่าแบคทีเรียชนิดนี้จะยังไม่มีรายงานการระบาดในประเทศไทย แต่บทความและเอกสารตีพิมพ์หลายฉบับระบุว่าเป็นแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดในมะเขือเทศและพริกในประเทศไทย ซึ่งส่งผลต่อสถานภาพของศัตรูพืชกักกันในประเทศ รวมถึงข้อกำหนดการนำเข้าและส่งออกเมล็ดพันธุ์

ดังนั้น การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของแบคทีเรีย *X. vesicatoria* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคใบจุดในมะเขือเทศและพริก เพื่อยืนยันสถานภาพของการเป็นศัตรูพืชกักกันในประเทศไทย และจัดเตรียมข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เพื่อสนับสนุนการวิเคราะห์ความเสี่ยง การกำหนดพื้นที่ปลอดศัตรูพืช และการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการส่งออกเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริกในอนาคต

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง เช่น อุปกรณ์จับพิกัด GPS ถุงพลาสติก
2. อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น กระบอกตวง จานเลี้ยงเชื้อ ลูป ตู้อบลมร้อน หม้อนึ่งความดันไอ ตู้ควบคุมอุณหภูมิ เครื่องชั่ง ปิเปตต์ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง อ่างควบคุมอุณหภูมิ เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เครื่องแยกวิเคราะห์สารพันธุกรรม เครื่องถ่ายภาพสารพันธุกรรม
3. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ สกัดดีเอ็นเอ และทำปฏิกิริยา PCR เช่น ชุดสกัดดีเอ็นเอ QIAamp DNA Mini kit (Qiagen, USA) สารเคมี One PCR Master Mix (GeneDirex® Inc., Taiwan) ดีเอ็นเอขนาดมาตรฐาน Onemark 100 (GeneDirex® Inc., Taiwan)

### วิธีการ

**1. การรวบรวมข้อมูลแบคทีเรีย *Xanthomonas vesicatoria***

สืบค้นรวบรวมข้อมูลเชื้อแบคทีเรีย *X. vesicatoria* เช่น อนุกรมวิธาน พืชอาศัย อาการของโรค เป็นต้น จากทั้งในและต่างประเทศ ฐานข้อมูล จากเอกสารวิชาการ วารสาร รายงานการประชุมสัมมนาทางวิชาการและหน่วยงานอื่นที่เกี่ยวข้อง

**2. การสำรวจและเฝ้าระวังตามมาตรฐาน International Standard for Phytosanitary Measures (ISPMs)**

ดำเนินการสำรวจและเฝ้าระวังตามมาตรฐาน ISPMs ฉบับที่ 6 (Surveillance) ในแปลงปลูกมะเขือเทศและพริก โดยดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลแบคทีเรีย *X. vesicatoria* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด ตามขั้นตอนต่อไปนี้

2.1 จัดทำคู่มือการสำรวจ โดยการรวบรวมตัวอย่างอ้างอิงและรูปภาพของโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย *X. vesicatoria* เพื่อใช้ในการตรวจสอบอ้างอิงขณะทำการสำรวจและจัดทำข้อมูลศัตรูพืช ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพืชอาศัย อาการของโรค รูปภาพสีของโรค และรายละเอียดของศัตรูพืชชนิดอื่นที่คล้ายคลึงกับศัตรูพืชเป้าหมาย

2.2 จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ ได้แก่ ชื่อที่อยู่ที่ตั้งของแปลง วันที่สำรวจ ตำแหน่งพิกัดภูมิศาสตร์ (พิกัด GPS) เป็นต้น

2.3 การสำรวจ กำหนดพื้นที่แหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศที่สำคัญในประเทศไทย ในเขตภาคเหนือ เชียงราย เชียงใหม่ น่าน แพร่ และ ลำปาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดศรีสะเกษ ชัยภูมิ หนองคาย ขอนแก่น และสกลนคร เป็นต้น วางแผนการสำรวจในพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ สุ่มตรวจโรค 5 แถวต่อแปลง กำหนดการตรวจแบบแถวเว้นแถว

2.4 วิธีการตรวจแบคทีเรีย *X. vesicatoria* ในแปลง เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างนำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

**3. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ**

3.1 การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

นำตัวอย่างกลับมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ โดยตัดส่วนของพืชบริเวณรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรคเป็นชิ้นเล็กๆ แต่ละชิ้นตัวอย่างนำมาแช่ในแอลกอฮอล์ 70% นาน 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง แล้วนำมาบดในน้ำกลั่น และแยกเชื้อบนอาหาร PSA (potato semisynthetic agar) หลังจากนั้นบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีกลมนูน ขอบเรียบ สีเหลือง ผิวเป็นมันวาว สำหรับการทดสอบต่อไป

3.2 ทดสอบการเกิดโรค (Pathogenicity test)

นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่าง มาทดสอบการเกิดโรคกับมะเขือเทศและพริก โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร PSA บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาปรับระดับความเข้มข้นของเชื้อโดยใช้ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.2 ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ มีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ $10^8$ CFU/ml พ่นเชื้อแบคทีเรียบนพืชทดสอบแล้วใช้ถุงพลาสติกคลุมไว้ให้มีความชื้นเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จึงเปิดถุงออก และสังเกตอาการต้นพืชเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่พ่นด้วยน้ำเปล่า และพิสูจน์โรคตามวิธีการของ Koch (Koch's postulation)

3.3 ศึกษาคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อ

ทำการศึกษาคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียบางประการตามวิธีการของ Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria Third Edition (Schaad *et al*., 2001)

3.4 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของมะเขือเทศและพริกด้วยเทคนิค PCR

ตรวจสอบเชื้อโรคใบจุดของมะเขือเทศและพริกด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ Bs-XvF/Bs-XvR (Koenraadt *et al.,* 2009) Xv-gyrB-F/Xv-gyrB-R (Araújo *et al*., 2013) และ XV1/XV2 (Beran and Mráz, 2015) (Table 1) โดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้น 10 นาโนกรัม/ไมโครลิตร น้ำยา One PCR Master Mix (GeneDirex® Inc., Taiwan) และไพรเมอร์ 0.2 ไมโครโมลาร์ เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ Biometra TAdvanced (Analytik Jena GmbH, Germany) ตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (agarose gel electrophoresis) โดยใช้ 2% agarose ใน 0.5X TBE กระแสไฟฟ้าที่ค่าความต่างศักย์ 100 โวลต์ นาน 30 นาที แล้วตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตด้วยเครื่อง UVITEC Cambridge Platinum (Uvitec Ltd., UK) โดยมีดีเอ็นเอควบคุมเป็นดีเอ็นเอของเชื้ออ้างอิง (Type strain) *X. vesicatoria* สายพันธุ์ NCPPB422 จากสถาบัน The National Collection of Plant Pathogenic Bacteria (NCPPB) สหราชอาณาจักร ความเข้มข้นดีเอ็นเอ 10 นาโนกรัม/ไมโครลิตร

3.5 การจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของมะเขือเทศและพริก

สกัดดีเอ็นเอเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศด้วยชุดสกัด QIAamp DNA Mini kit (Qiagen, USA) นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาเพิ่มปริมาณยีน *atpD, dnaK, efp* และ *gyrB* ตามรายงานของ Roach *et al.* (2018) ส่งผลผลิตพีซีอาร์เพื่อวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ และวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการเพื่อจัดจำแนกเชื้อเปรียบเทียบกับเชื้อแบคทีเรีย type strain ที่มีรายงานอยู่ใน GenBank โดยใช้การประมวลผลและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Maximum Likelihood (ML) ด้วยโปรแกรม RAxML v 8.1.15 (Stamatakis, 2014) กำหนดค่า model of evolution แบบ GTRGAMMA วิเคราะห์ด้วย rapid bootstrap (command –f a) และกำหนดค่า maximum likelihood bootstrap 1,000 ซ้ำ

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2564 – มีนาคม 2568

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. แหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศ

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. การรวบรวมข้อมูลแบคทีเรีย *Xanthomonas vesicatoria***

รวบรวมข้อมูลของแบคทีเรีย *X. vesicatoria* และโรคใบจุดของมะเขือเทศและพริก (bacterial spot of tomato and pepper) โดยรวบรวมลักษณะอาการของโรคทุกระยะของพืชอาศัย และศัตรูพืชชนิดอื่นที่คล้ายคลึงกัน เพื่อจัดทำเป็นคู่มือการสำรวจ มีรายละเอียดดังนี้

**โรคใบจุดของมะเขือเทศและพริก (bacterial spot of tomato and pepper)**

**ชื่อวิทยาศาสตร์** *Xanthomonas vesicatoria* (ex Doidge 1920) Vauterin *et al*. (1995)

**ชื่อพ้อง** *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge 1920) Dowson 1939

**ชื่อโรค** bacterial spot, bacterial leaf spot

**อนุกรมวิธาน**

Phylum Proteobacteria

Class Gammaproteobacteria

Order Lysobacterales (Xanthomonadales)

Family Lysobacteraceae (Xanthomonadaceae)

โรคใบจุดของมะเขือเทศและพริกมีรายงานครั้งแรกในปี ค.ศ. 1920 โดยพบในมะเขือเทศในแอฟริกาใต้ ซึ่งเชื้อสาเหตุของโรคนี้ถูกตั้งชื่อในตอนแรกว่า *Bacterium vesicatorium* (Doidge, 1921) ในช่วงเวลาเดียวกัน Gardner and Kendrick (1921) พบแบคทีเรียอีกชนิดหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคใบจุดในมะเขือเทศในรัฐอินเดียนา สหรัฐอเมริกา และเตรียมเสนอชื่อว่า *Bacterium exitiosum* เป็นเชื้อก่อโรคชนิดใหม่ แต่เมื่อทราบถึงงานวิจัยในแอฟริกาใต้ จึงใช้ชื่อ *Bacterium vesicatorium* แทนสำหรับเชื้อก่อโรคที่แยกได้ในสหรัฐอเมริกา

ในระยะแรก *B. vesicatorium* ถูกมองว่าเป็นสาเหตุของโรคจุดแบคทีเรียเพียงชนิดเดียว และได้มีการจัดหมวดหมู่ใหม่หลายครั้งโดยเปลี่ยนชื่อเป็น *Pseudomonas vesicatoria*, *Phytomonas vesicatoria* และ *Xanthomonas vesicatoria* ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ในปี 1978 สถานะทางอนุกรมวิธานของเชื้อหลายชนิดภายในสกุล *Xanthomonas* ถูกปรับลดลงอยู่ในระดับ pathovar และเชื้อก่อโรคใบจุดในมะเขือเทศและพริกถูกเปลี่ยนชื่อเป็น *X. campestris* pv. *vesicatoria* (Dye, 1978) ต่อมา พบว่า *X. campestris* pv. *vesicatoria* มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมโดยแบ่งเป็นสองกลุ่ม คือกลุ่ม A ซึ่งมีลักษณะคล้ายสายพันธุ์ที่พบครั้งแรกในแอฟริกาใต้ และกลุ่ม B ซึ่งคล้ายกับสายพันธุ์ที่พบครั้งแรกในสหรัฐอเมริกา (Stall *et al*., 1994) การศึกษาภายหลังยังพบกลุ่มที่สามหรือกลุ่ม C ซึ่งแยกได้จากมะเขือเทศในรัฐฟลอริดา สหรัฐอเมริกา (Jones *et al*., 1995) และกลุ่ม D ซึ่งก็คือ *X. gardneri* (เดิมชื่อ *Pseudomonas gardneri* ) ที่แยกได้จากมะเขือเทศในยูโกสลาเวีย (Šutic, 1957; Jones *et al*., 2000) ภายหลังมีการจัดหมวดหมู่ใหม่อีกครั้ง โดย *X. campestris* pv.

*vesicatoria* ที่ก่อโรคในมะเขือเทศและพริกถูกแบ่งออกเป็นสองชนิด ได้แก่ *X. vesicatoria* (กลุ่ม B) และ *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* (กลุ่ม A และ C) (Vauterin *et al*., 1995)

ในปี 2004 การวิเคราะห์ DNA:DNA hybridization นำไปสู่การปรับปรุงอนุกรมวิธานใหม่อีกครั้ง กลุ่ม A และ C ถูกจำแนกให้เป็นชนิดต่างกัน ทำให้แบ่งเชื้อก่อโรคใบจุดในมะเขือเทศและพริกออกเป็นสี่ชนิด ได้แก่ *X. euvesicatoria* (กลุ่ม A), *X. vesicatoria* (กลุ่ม B), *X. perforans* (กลุ่ม C) และ *X. gardneri* (กลุ่ม D) (Jones *et al*., 2004) อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์จีโนมใหม่ได้แสดงให้เห็นว่า *X. euvesicatoria* และ *X. perforans* ไม่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน จึงได้เสนอชื่อใหม่ให้เชื้อทั้งสองชนิดเป็น pathovars ของสปีชีส์เดียวกัน คือ *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* และ *X. euvesicatoria* pv. *perforans* ตามลำดับ ปัจจุบันเชื้อสาเหตุของโรคใบจุดในมะเขือเทศและพริกได้ถูกเปลี่ยนชื่อใหม่เป็น *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, *X. euvesicatoria* pv. *perforans*, *X. hortorum* pv. *gardneri* และ *X. vesicatoria* (Constantin *et al*., 2016; Morinière *et al*., 2020)

**สัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมี** เชื้อ *X. vesicatoria* เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างแท่ง ขนาด 0.6–0.7 x 1.0–1.5 ไมโครเมตร เคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลัม และต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต (aerobic) ผลการทดสอบ oxidase ของเชื้อเป็นลบ และ catalase เป็นบวก เมื่อเลี้ยงบนอาหาร NA เป็นเวลา 2–3 วัน จะสร้างโคโลนีกลมสีเหลือง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1–2 มิลลิเมตร บนอาหาร YDC, YGCA หรือ YPGA โคโลนีจะมีลักษณะเป็นเมือกและสีเหลือง แต่จะไม่เจริญบนอาหาร TTC 0.1% เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ amylolytic และpectolytic รวมถึงผลิต xanthomonadins ซึ่งเป็นเม็ดสีเหลืองเฉพาะตัว อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 25–30 องศาเซลเซียส (EPPO, 2024) บนอาหารกึ่งจำเพาะ CKTM โคโลนีจะมีลักษณะทรงกลมนูนสีเหลือง ล้อมรอบด้วยขอบผลึกสีขาว ในขณะที่บนอาหาร mTMB โคโลนีจะมีลักษณะคล้ายกันแต่มีเมือกเล็กน้อยและมีขอบสีขาวทึบล้อมรอบโคโลนีภายใน 3–7 วัน

**พืชอาศัย** พืชอาศัยหลักคือ มะเขือเทศ (*Solanum lycopersicum*, *S. lycopersicum* var. *cerasiforme*, *S. pimpinellifolium*) และพริก (*Capsicum annuum, C. frutescens, C. baccatum, C. anomalum, C. chinensis, C. pubescens*) (Osdaghi *et al*., 2021; EPPO, 2024)

**ลักษณะอาการ** อาการของโรคที่เกิดจาก *X. vesicatoria* ไม่สามารถแยกแยะได้จากอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อ *Xanthomonas* spp. อีกสามชนิด การติดเชื้อสามารถเกิดขึ้นได้ทุกส่วนของต้นที่อยู่เหนือพื้นดิน ทั้งในใบ ลำต้น ก้านใบ ก้านดอก และผล ผลผลิตส่วนใหญ่ที่สูญเสียไปมักมีสาเหตุมาจากการร่วงของดอกและผลอ่อน ส่วนผลที่เหลืออยู่ก็มักจะไม่สามารถจำหน่ายได้เนื่องจากคุณภาพต่ำ มักมีรอยโรค รูปร่างผิดปกติ หรือถูกทำลายจากแสงแดดจัดซึ่งเกิดจากการที่ใบถูกทำลายจนร่วงก่อนกำหนด ทำให้ผลไหม้แดดในที่สุด โดยทั่วไป การทิ้งใบมักเกิดขึ้นกับพริกมากกว่ามะเขือเทศ และจะมาพร้อมกับการร่วงของดอกและผลที่กำลังพัฒนา

อาการบนใบของมะเขือเทศจะปรากฏเป็นจุดกลมสีเข้มฉ่ำน้ำ ขนาดเล็กกว่า 3 มม. โดยจุดอาจขยายใหญ่ขึ้นได้ในสภาพที่มีความชื้นสูง ลักษณะของจุดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำในที่สุด บริเวณกลางจุดอาจแห้งและหลุดร่วงได้ เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสมจะพบจุดจำนวนมากกระจายบนใบ (Figure 1A) สำหรับผลมะเขือเทศที่ยังไม่สุก จะพบจุดสีเขียวซีดขนาดเล็กฉ่ำน้ำ อาจนูนขึ้นเล็กน้อย มีขอบสีขาวอมเขียวและขยายเป็นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3-6 มม. จากนั้นขอบจะหายไปและจุดจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มและยุบลงเล็กน้อย ผิวมีสะเก็ด โดยไม่มีอาการเน่าปรากฏบนผลที่ติดเชื้อ ดอกและผลอ่อนอาจหลุดร่วงบ้างเป็นบางครั้ง ส่วนผลที่สุกแล้วจะไม่สามารถจำหน่ายได้เนื่องจากลักษณะไม่สวยงาม อาการของโรคยังพบได้บนกลีบเลี้ยงของมะเขือเทศ โดยปรากฏเป็นจุดสีน้ำตาลและเกิดเนื้อตายบนกลีบเลี้ยง (Figure 1B) ในส่วนของลำต้นจะเกิดแผลแคบ ยาว และนูนขึ้น มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6 มม. โดยแผลจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มและมีลักษณะแห้งหยาบเมื่อเวลาผ่านไป (Figure 1C) (Osdaghi *et al*., 2021)

อาการในพริก โดยปกติจะเริ่มปรากฏที่บริเวณด้านล่างของใบ เริ่มจากจุดฉ่ำน้ำขนาดเล็ก (Figure 1D) ซึ่งมีจุดสีน้ำตาลอ่อนตรงกลางและมีขอบสีเข้มกว่า โดยบางครั้งอาจมีขอบสีเหลืองล้อมรอบ จากนั้นจุดจะขยายใหญ่ขึ้น มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 มม. จุดที่ขนาดใหญ่ขึ้นจะยุบตัวลงบนผิวใบด้านบน เมื่อเวลาผ่านไปสีจะเข้มขึ้นและอาจแตกตรงกลาง ทำให้ใบเป็นรู (Figure 1E) อาการมักปรากฏจำนวนมากที่ปลายและขอบใบเมื่อมีความชื้นสูง เมื่อจุดเหล่านี้มารวมกันจะทำให้เกิดอาการใบไหม้และเหลืองไปทั้งใบ จนในที่สุดใบจะร่วงก่อนกำหนด อาการของโรคบนผลจะเริ่มจากจุดสีน้ำตาลถึงดำขนาดเล็ก (Figure 1F) ซึ่งอาจมีหรือไม่มีขอบสีอ่อนรอบ ๆ เมื่อจุดขยายขนาดขึ้นเป็นประมาณ 6 มม. จะนูนขึ้นเล็กน้อยคล้ายสะเก็ดและมีสีน้ำตาลเข้ม ส่วนอาการจุดบนลำต้นและกลีบเลี้ยงมีลักษณะคล้ายกับบนใบ โดยบนกลีบเลี้ยงอาจเกิดเป็นแผลยาวขนาดถึง 6 มม. และบนลำต้น จุดอาจมีรูปร่างเป็นวงกลมหรือไม่สม่ำเสมอ ซึ่งจุดเหล่านี้มีสีตั้งแต่สีน้ำตาลเข้มไปจนถึงสีดำ (Figure 1G) (Larrahondo-Rodríguez *et al*., 2022)

**กระบวนการติดเชื้อและวงจรชีวิต (life cycle)** กระบวนการติดเชื้อของ *Xanthomonas* มีสองระยะสำคัญ (Utami *et al*., 2022) ได้แก่

1. ระยะเอพิไฟติก (Epiphytic Phase) ในระยะนี้ แบคทีเรียจะเข้าสู่พื้นผิวของพืช เช่น ใบและผล โดยอาจมาจากแหล่งปนเปื้อนภายนอก เช่น ละอองน้ำ หรือเศษซากพืชที่เป็นโรค หลังจากสัมผัสกับพืช แบคทีเรียสามารถเข้าสู่เนื้อเยื่อพืชได้ผ่านช่องเปิดตามธรรมชาติ เช่น ปากใบ (*stomata*) บาดแผล (*wounds*) ไฮดาโทด (*hydathodes*) ซึ่งเป็นช่องเปิดขนาดเล็กที่ขอบใบ เมื่อผ่านช่องเปิดเหล่านี้ได้แล้ว แบคทีเรียจะเคลื่อนที่เข้าสู่เส้นใบกลาง (*center veins*) และเริ่มแบ่งตัวเพิ่มจำนวน

2. ระยะเอนโดไฟติก (Endophytic Phase) หลังจากเข้าสู่ภายในเนื้อเยื่อพืช แบคทีเรียจะเริ่มขยายจำนวนภายในเซลล์ของพืช (*host tissue*) จนกระทั่งประชากรของแบคทีเรียเพิ่มขึ้นอย่างมาก ซึ่งนำไปสู่การพัฒนาอาการของโรค เช่น จุดแผลบนใบ

**ความอยู่รอดและการแพร่กระจายของเชื้อ** เชื้อ *Xanthomonas* สามารถอยู่รอดได้ข้ามฤดูกาลโดยหลบซ่อนในเมล็ดพันธุ์ของพริกและมะเขือเทศ เศษซากพืชที่ตายแล้ว ดิน และบริเวณรอบรากของพืช เช่น ถั่วเหลือง มะเขือเทศ และข้าวสาลี การแพร่กระจายของเชื้อเกิดขึ้นจากปัจจัยแวดล้อม เช่น ฝนและลม ซึ่งช่วยกระจายแบคทีเรียไปสู่พืชที่แข็งแรง ทำให้เกิดการติดเชื้อใหม่ วงจรชีวิตของ *Xanthomonas* ที่ก่อให้เกิดโรคใบจุดแบคทีเรียในพริก ดังแสดงใน Figure 2 เมื่อแบคทีเรียเติบโตถึงระดับที่เพียงพอ จะบุกรุกเข้าไปยังเนื้อเยื่อ mesophyll ภายในใบพืช ส่งผลให้พืชแสดงอาการของโรค จากนั้นเชื้อจะสามารถแพร่กระจายออกสู่พื้นผิวของใบ และแพร่ต่อไปยังพืชต้นใหม่ผ่านฝนหรือลม ทำให้เกิดการติดเชื้อรอบใหม่และดำเนินวงจรชีวิตต่อไป (Utami *et al*., 2022)

**2. การสำรวจและเฝ้าระวังตามมาตรฐาน ISPMs**

นำข้อมูลที่รวบรวมไว้จัดทำคู่มือสำหรับการสำรวจ (survey guide) ในแปลง ดำเนินการสำรวจและเฝ้าระวังตามมาตรฐาน ISPMs ฉบับที่ 6 (Surveillance) ในแปลงปลูกมะเขือเทศและพริก โดยสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2564 - มีนาคม 2568 เพื่อให้ทราบข้อมูลแบคทีเรีย *X. vesicatoria* ในพื้นที่สำรวจซึ่งเป็นแหล่งปลูกมะเขือเทศและพริกเพื่อจำหน่ายผลสดและแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ ครอบคลุมแต่ละภูมิภาคของประเทศ จำนวน 40 จังหวัด ดังนี้ **ภาคเหนือ** จำนวน 7 จังหวัด ได้แก่ เชียงราย น่าน พะเยา เชียงใหม่ แพร่ ลำปาง และอุตรดิตถ์ **ภาคกลาง** จำนวน 10 จังหวัด ได้แก่ พิษณุโลก สุโขทัย เพชรบูรณ์ พิจิตร กำแพงเพชร นครสวรรค์ ลพบุรี สระบุรี สุพรรณบุรี และนครปฐม **ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ** จำนวน 15 จังหวัด ได้แก่ หนองคาย นครพนม สกลนคร บึงกาฬ อุดรธานี เลย มุกดาหาร ขอนแก่น ร้อยเอ็ด ชัยภูมิ นครราชสีมา บุรีรัมย์ สุรินทร์ ศรีสะเกษ และอุบลราชธานี **ภาคตะวันตก** จำนวน 5 จังหวัด ได้แก่ ตาก กาญจนบุรี ราชบุรี เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ **ภาคใต้** จำนวน 3 จังหวัด ได้แก่ สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช และพัทลุง (Figure 3) กำหนดการตรวจแบบแถวเว้นแถว (Figure 4) สังเกตลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจ (survey guide) ที่จัดทำไว้ (Figure 5) บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง เก็บตัวอย่างนำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

**3. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ**

นำตัวอย่างที่มีลักษณะคล้ายโรคใบจุดในมะเขือเทศและพริกจากการสำรวจมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ โดยเลี้ยงแบคทีเรียที่มีโคโลนีกลม นูน สีเหลือง และขอบเรียบ ให้บริสุทธิ์สำหรับการทดสอบการเกิดโรค คุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมี และจำแนกชนิดด้วยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *atpD*, *dnak*, *efp* และ *gyrB* (Roach *et al*., 2018) และตรวจเชื้อด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ Bs-XvF/Bs-XvR ตามรายงานของ Koenraadt *et al*. (2009) รวมถึงไพรเมอร์อีกสองคู่ ได้แก่ Xv-gyrB-F/Xv-gyrB-R (Araújo *et al*., 2013) และ XV1/XV2 (Beran and Mráz, 2015) ซึ่งรายงานว่าสามารถแยก *X. vesicatoria* ออกจากเชื้อก่อโรคใบจุดในมะเขือเทศและพริกชนิดอื่นได้ โดย *X. vesicatoria* จะให้ผลิตภัณฑ์ PCR ขนาด 138, 104 และ 365 คู่เบส ตามลำดับ ผลการตรวจตัวอย่างทั้งหมด 1,151 ตัวอย่าง ไม่พบแบคทีเรีย *X. vesicatoria*

(Table 2) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของมะเขือเทศในประเทศไทยในปี 2563 โดยไม่พบแบคทีเรีย *X. vesicatoria* เช่นเดียวกัน (สันติพงษ์และคณะ, 2563)

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสำรวจและเฝ้าระวังแบคทีเรีย *X. vesicatoria* ในแปลงปลูกมะเขือเทศและพริกได้ดำเนินการแบบเฉพาะเจาะจงระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2564 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2568 โดยมีเป้าหมายเพื่อรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับสถานภาพของแบคทีเรียดังกล่าวในพื้นที่ปลูกมะเขือเทศและพริกเพื่อจำหน่ายผลสดและผลิตเมล็ดพันธุ์ใน 40 จังหวัด ครอบคลุมพื้นที่ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันตก และภาคใต้

ผลการสำรวจพบว่า ไม่พบการปรากฏของแบคทีเรีย *X. vesicatoria* ในพื้นที่ปลูกมะเขือเทศและพริกในประเทศไทย ข้อมูลจากการวิจัยครั้งนี้จะเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่สำคัญในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืชขององค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization; NPPO) และยังเป็นประโยชน์ต่อการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และการปรับปรุงบัญชีศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย นอกจากนี้ ข้อมูลดังกล่าวยังช่วยสนับสนุนการส่งออกเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริกได้อย่างมีประสิทธิภาพ

## คำขอบคุณ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดีต้องขอขอบคุณกลุ่มงานวินิจฉัยศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างจากแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ รวมถึงข้าราชการ พนักงานราชการ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่มีส่วนช่วยเหลือด้านข้อมูลและร่วมดำเนินการสำรวจในงานวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

สันติพงศ์ สิทธิธนสิน, จุฑาเทพ วัชระไชยคุปต์, ชัญญานุช กอรักงาม, ทิพวรรณ กันหาญาติ, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วิชัย โฆสิตรัตน และ สุจินต์ ภัทรภูวดล. 2563. การจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของมะเขือเทศในประเทศไทย. *วารสารวิชาการเกษตร.* 36: 80-88.

Araújo, E. R., M. A. S. V. Ferreira and A. M. Quezado-Duval. 2013. Specific primers for *Xanthomonas vesicatoria*, a tomato bacterial spot causal agent. *Eur. J. Plant Pathol.* 137: 5–9.

Beran, P., I. Mráz, B. Kokoskova and A. Bohata. 2015. Monitoring the occurrence of bacterial spot of tomato and pepper in the Czech Republic and development

of new PCR primers for detection of *Xanthomonas vesicatoria*. *Eur. J. Plant Pathol.* 141: 617–621.

Constantin, E.C., I. Cleenwerck, M. Maes, S. Baeyen, C. Van Malderghem, P. De Vos and B. Cottyn. 2016. Genetic characterization of strains named as *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* leads to a taxonomic revision of the *X. axonopodis* species complex. *Plant Pathol.* 65 (5): 792-806.

Doidge, E.M. 1921. A tomato canker. *Ann. appl. Biol.* 7: 407–430.

Dye, D.W. 1978. Genus IX. Xanthomonas. Dowson 1939. In: Young, J.M., D.W. Dye, J.F. Bradbury, C.G. Panagopoulos and C.F. Robbs. A proposed nomenclature and classification for plant pathogenic bacteria. *N. Z. J. Agric. Res.* 21: 153–177.

EPPO. 2023. PM 7/ 110 ( 2) *Xanthomonas* spp. ( *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, *Xanthomonas hortorum* pv. *gardneri*, *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans*, *Xanthomonas vesicatoria*) causing bacterial spot of tomato and sweet pepper.*EPPO Bulletin*, 53: 558–579. https://doi.org/10.1111/epp.12960

EPPO. 2024. *Xanthomonas vesicatoria*. EPPO datasheets on pests recommended for regulation. Available online. https://gd.eppo.int (accessed 2024-11-07)

Gardner, M.W. and J.B. Kendrick. 1921. Bacterial spot of tomato. *J. Agric. Res.* 21: 123–156.

Jones, J.B., G.H. Lacy, H. Bouzar, R.E. Stall and N.W. Schaad. 2004. Reclassification of the xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. *Syst. Appl. Microbiol.* 27: 755–762.

Jones, J.B., H. Bouzar, R.E. Stall, E.C. Almira, P.D. Roberts, B.W. Bowen, J. Sudberry, P.M. Strickler and J. Chun. 2000. Systematic analysis of xanthomonads (Xanthomonas spp.) associated with pepper and tomato lesions. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 50: 1211–1219. doi: 10.1099/00207713-50-3-1211.

Jones, J.B., R.E. Stall, J.W. Scott, G.C. Somodi, H. Bouzar and N.C. Hodge. 1995. A third tomato race of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Plant Disease* 79: 395-398.

Koenraadt, H., B. Van Betteray, R. Germain, G. Hiddink, J.B. Jones, J. Oosterhof, A. Rijlaarsdam, P. Roorda and B. Woudt. 2009. Development of specific primers for the molecular detection of bacterial spot of pepper and tomato, pp. 99-102. *In* II International Symposium on Tomato Diseases 808. *International Soc. Hort. Sci.* Belgium.

Larrahondo-Rodríguez, E., Y.-Y. Liao and A. Huerta. 2022. Diagnostic guide for bacterial spot of tomato and pepper. *Plant Health Prog*. 23: 355-361. https://doi.org/10.1094/PHP-11-21-0140-DG

Morinière, L., A. Burlet, E.R. Rosenthal, X. Nesme, P. Portier and C.T. Bull. 2020. Clarifying the taxonomy of the causal agent of bacterial leaf spot of lettuce through a polyphasic approach reveals that *Xanthomonas cynarae* Trébaol *et al*. 2000 emend. Timilsina *et al*. 2019 is a later heterotypic synonym of *Xanthomonas hortorum* Vauterin *et al*. 1995. *Syst. Appl. Microbiol.* 43: 126087.

Osdaghi, E., J.B Jones, A. Sharma, E.M. Goss, P. Abrahamian and E.A. Newberry. 2021. A centenary for bacterial spot of tomato and pepper. *Mol. Plant Pathol.* 22: 1500–1519. https://doi.org/10.1111/mpp.13125

Pohronezny, K. and R.B. Volin. 1983. The effect of bacterial spot on yield and quality of fresh market tomatoes. *Hort. Sci.* 18: 69-70.

Roach, R., R. Mann, C.G. Gambley, R.G. Shivas and B. Rodoni. 2018. Identification of *Xanthomonas* species associated with bacterial leaf spot of tomato, capsicum and chilli crops in eastern Australia. *Eur. J. Plant Pathol.* 150: 595-608.

Schaad, N.W., J.B. Jones and G.H. Lacy. 2001. Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria. American Phytopathological Society. Minnesota 175-199.

Stall, R.E., C. Beaulieu, G. Egel, N.C. Hodge, R.P. Leite, G.V. Minsavage, H. Bouzar, J.B. Jones, A.M. Alvarez and A.A. Benedict. 1994. Two genetically diverse groups of strains are included in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 44: 47–53.

Stamatakis, A. 2014. RAxML Version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30: 1312-1313.

Šutic, D. 1957. Bakterioze crvenog patlidzana (tomato bacteriosis). Poseb. Izd. Inst. Zasht. Bilja Beogr. (Spec. Ed. Inst. Plant Prot. Beograd).

Timilsina, S., S. Kara, M.A. Jacques, N. Potnis, G.V. Minsavage, G.E. Vallad, J.B. Jones and M. Fischer-Le Saux. 2020. Corrigendum: Reclassification of *Xanthomonas gardneri* (ex Šutic 1957) Jones *et al*. 2006 as a later heterotypic synonym of *Xanthomonas cynarae* Trébaol *et al*. 2000 and description of *X. cynarae* pv. *cynarae* and *X. cynarae* pv. *gardneri* based on whole genome analyses. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 69: 343-349, doi: 10.1099/ijsem.0.003104.

Uematsu, T., S. Chuenchitt, S. Kanjanarat, S. Vitithajinda, N. Napheerong, S. Benjathikul, S. Nilmanee, W. Dhirabhava and D. Buangsuwon. 1983. *Bacterial diseases on economic crops in Thailand*. Tropical Agricultural Research Center, Ministry of Agricultural, Forestry and Fisheries, Japan and Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperative Thailand. 266 p.

Vauterin, L., B. Hoste, K. Kersters and J. Swings. 1995. Reclassification of Xanthomonas. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45: 472–489.

**Table 1** Primers used in this study

| Primers | Sequence (5'–3') | Annealing Temperature | PCR product | Reference |
|---|---|---|---|---|
| BS-XvF | CCATGTGCCGTTGAAATACTTG | 64°C | 138 bp | Koenraadt *et al*. (2009) |
| BS-XvR | ACAAGAGATGTTGCTATGATTTGC | | | |
| Xv-gyrB-F | ATACGCGTTGGGCGAGCCT | 68°C | 104 bp | Araújo *et al*. (2013) |
| Xv-gyrB-R | CATCGCTGAAGATGGCCACGGCT | | | |
| Xv1 | TGGGAAATCCATCGCACT | 69°C | 404 bp | Beran *et al*. (2015) |
| Xv2 | TTGCCCTTGCCGTTCTCG | | | |

**Table 2** Detection survey of *Xanthomonas vesicatoria* in tomato and chili production areas in Thailand from October 2021 to March 2025

| Production area of tomato and chili | | | No. of sample | PCR test | | | Survey result |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Region | Province | District | | Bs-XvF/ Bs-XvR | Xv1/Xv2 | Xv-gyrB-F/ Xv-gyrB-R | |
| Northern | Chiang Mai | Hot, San Sai | 3 | - | - | - | Absence |
| | Chiang Rai | Mae Chan, Mae Lao, Mae Sai, Wiang Pa Pao | 10 | - | - | - | Absence |
| | Lampang | Chae Hom, Mueang Pan | 94 | - | - | - | Absence |
| | Nan | Pua, Tha Wang Pha, Wiang Sa | 46 | - | - | - | Absence |
| | Phayao | Dok Khamtai | 9 | - | - | - | Absence |
| | Phrae | Nong Muang Khai, Rong Kwang, Song | 26 | - | - | - | Absence |
| | Uttaradit | Phichai | 13 | - | - | - | Absence |

**Table 2** Detection survey of *Xanthomonas vesicatoria* in tomato and chili production areas in Thailand from October 2021 to March 2025 (Continue)

| Production area of tomato and chili | | | No. of sample | PCR test | | | Survey result |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Region | Province | District | | Bs-XvF/ Bs-XvR | Xv1/Xv2 | Xv-gyrB-F/ Xv-gyrB-R | |
| Central | Kamphaeng Phet | Bueng Samakkhi, Khanu Woralaksaburi, Khlong Khlung, Khlong Lan, Kosamphi Nakhon, Mueang Kamphaeng Phet, Phran Kratai | 45 | - | - | - | Absence |
| | Lop Buri | Chai Badan, Tha Luang | 11 | - | - | - | Absence |
| | Nakhon Pathom | Kamphaeng Saen, Mueang Nakhon Pathom | 11 | - | - | - | Absence |
| | Nakhon Sawan | Mueang Nakhon Sawan, Chum Saeng, Nong Bua | 13 | - | - | - | Absence |
| | Phetchabun | Lom Kao, Lom Sak, Bueng Sam Phan, Chon Daen, Khao Kho, Mueang Phetchabun, Wichian Buri | 32 | - | - | - | Absence |
| | Phichit | Sam Ngam, Taphan Hin, Wang Sai Phun | 37 | - | - | - | Absence |
| | Phitsanulok | Bang Krathum, Bang Rakam, Chat Trakan, Mueang Phitsanulok, Nakhon Tha, Noen Maprang, Phrom Phiram, Wang Thong, Wat Bot | 61 | - | - | - | Absence |
| | Saraburi | Muak Lek | 6 | - | - | - | Absence |
| | Sukhothai | Mueang Sukhothai, Sawankhalok, Si Nakhon, Si Samrong | 48 | - | - | - | Absence |
| | Suphan Buri | Mueang Suphan Buri, U Thong | 4 | - | - | - | Absence |
| North-Eastern | Bueng Kan | Bueng Khong Long, Mueang Bueng Kan | 26 | - | - | - | Absence |
| | Buri Ram | Ban Dan, Ban Kruat, Lam Plai Mat, Mueang Buri Ram, Nong Hong, Phlapphla Chai | 39 | - | - | - | Absence |
| | Chaiyaphum | Ban Khwao, Ban Thaen, Chatturat, Kaset Sombun, Khon San, Nong Bua Rawe, Phakdi Chumphon, Phu Khiao, Thep Sathit | 30 | - | - | - | Absence |

**Table 2** Detection survey of *Xanthomonas vesicatoria* in tomato and chili production areas in Thailand from October 2021 to March 2025 (Continue)

| Production area of tomato and chili | | | No. of sample | PCR test | | | Survey result |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Region | Province | District | | Bs-XvF/ Bs-XvR | Xv1/Xv2 | Xv-gyrB-F/ Xv-gyrB-R | |
| | Khon Kaen | Chum Phae, Mancha Khiri, Phu Pha Man, Sam Sung, Si Chomphu* | 23 | - | - | - | Absence |
| | Loei | Mueang Loei, Phu Ruea, Wang Saphung | 42 | - | - | - | Absence |
| | Mukdahan | Don Tan*, Mueang Mukdahan | 22 | - | - | - | Absence |
| | Nakhon Phanom | Ban Phaeng, Mueang Nakhon Phanom, Renu Nakhon, That Phanom | 46 | - | - | - | Absence |
| | Nakhon Ratchasima | Chakkarat, Chum Phuang, Dan Khun Thot, Kham Sakaesaeng, Lam Thamenchai, Non Thai, Pak Chong, Phimai, Phra Thong Kham, Sikhio | 86 | - | - | - | Absence |
| | Nong Khai | Mueang Nong Khai, Phon Phisai, Sangkhom, Si Chiang Mai, Tha Bo | 52 | - | - | - | Absence |
| | Roi Et | Selaphum, Thawat Buri | 15 | - | - | - | Absence |
| | Sakon Nakhon | Mueang Sakon Nakhon, Phanna Nikhom, Tao Ngoi | 22 | - | - | - | Absence |
| | Si Sa Ket | Huai Thap Than, Kanthararom, Mueang Chan, Mueang Si Sa Ket, Pho Si Suwan, Rasi Salai, Uthumphon Phisai, Yang Chum Noi | 51 | - | - | - | Absence |
| | Surin | Lamduan, Sangkha | 12 | - | - | - | Absence |
| | Ubon Ratchathani | Det Udom, Don Mot Daeng, Lao Suea Kok, Muang Sam Sip, Mueang Ubon Ratchathani, Na Yia, Phibun Mangsahan, Si Mueang Mai, Tan Sum | 41 | - | - | - | Absence |
| | Udon Thani | Kut Chap* | 1 | - | - | - | Absence |

**Table 2** Detection survey of *Xanthomonas vesicatoria* in tomato and chili production areas in Thailand from October 2021 to March 2025 (Continue)

| Production area of tomato and chili | | | No. of sample | PCR test | | | Survey result |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Region | Province | District | | Bs-XvF/ Bs-XvR | Xv1/Xv2 | Xv-gyrB-F/ Xv-gyrB-R | |
| Western | Kanchanaburi | Phanom Thuan, Sai Yok, Si Sawat, Tha Maka, Tha Muang | 34 | - | - | - | Absence |
| | Prachuap Khiri Khan | Bang Saphan, Hua Hin, Kui Buri, Pran Buri | 24 | - | - | - | Absence |
| | Phetchaburi | Cha-am, Kaeng Krachan, Mueang Phetchaburi, Nong Ya Plong, Tha Yang | 14 | - | - | - | Absence |
| | Ratchaburi | Ban Pong, Chom Bueng, Suan Phueng | 17 | - | - | - | Absence |
| | Tak | Mae Sot, Phop Phra | 57 | - | - | - | Absence |
| Southern | Nakhon Si Thammarat | Cha-uat, Chian Yai, Hua Sai, Khanom, Phra Phrom, Tha Sala | 11 | - | - | - | Absence |
| | Phatthalung | Mueang Phatthalung, Khuan Khanun, Si Banphot | 10 | - | - | - | Absence |
| | Surat Thani | Ban Na Doem, Don Sak, Kanchanadit, Tha Chana | 9 | - | - | - | Absence |
| | | **Total** | **1,151** | | | | |

Remark: *, the areas of seed production sites; -, not found

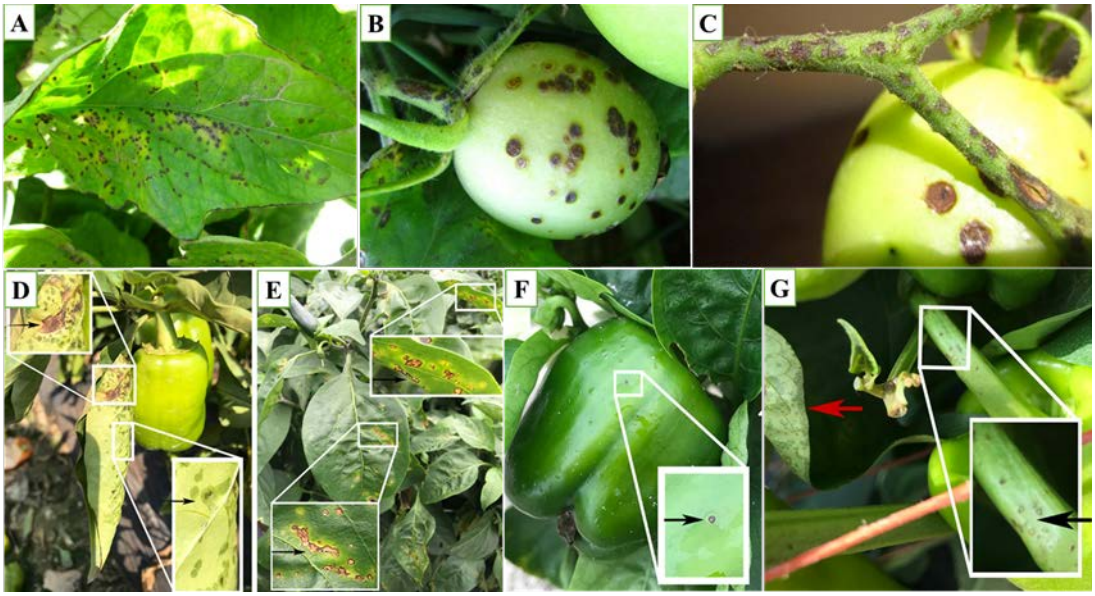



**Figure 1** Symptoms of bacterial spot on tomato and pepper include the following: **(A)** Initial symptoms on tomato leaves consist of water-soaked spots and dark-brown lesions. **(B)** On fruits, small, water-soaked spots with greenish-white halos develop, eventually turning dark brown with a scabby surface. **(C)** Stem lesions are narrow and elongated. **(D)** On peppers, the lower leaf surface initially appears water-soaked, **(E)** later becoming necrotic and merging into larger blighted areas. **(F)** Pepper fruits exhibit dark brown spots, and **(G)** dark brown lesions can also appear on the stem. (Osdaghi *et al*., 2021; Larrahondo-Rodríguez *et al*., 2022)

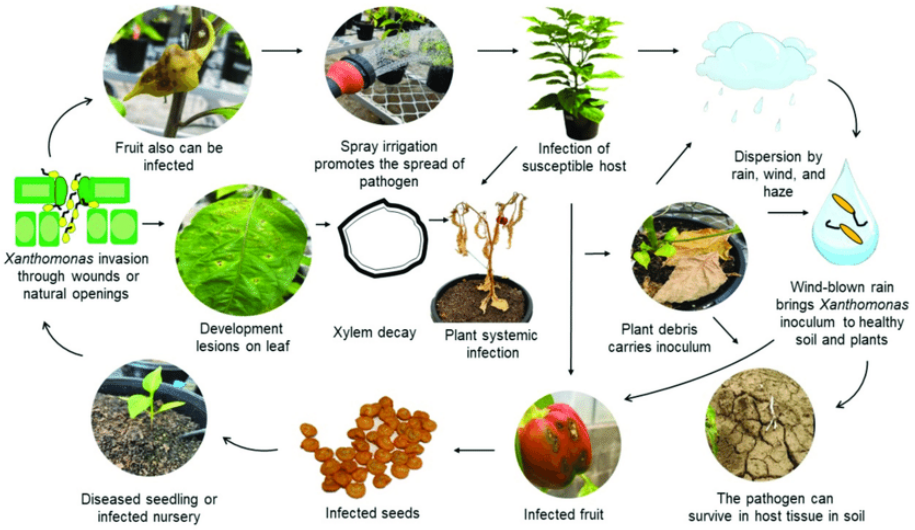



**Figure 2** Disease cycle of bacterial leaf spot of chili and tomato. (Utami *et al*., 2022)

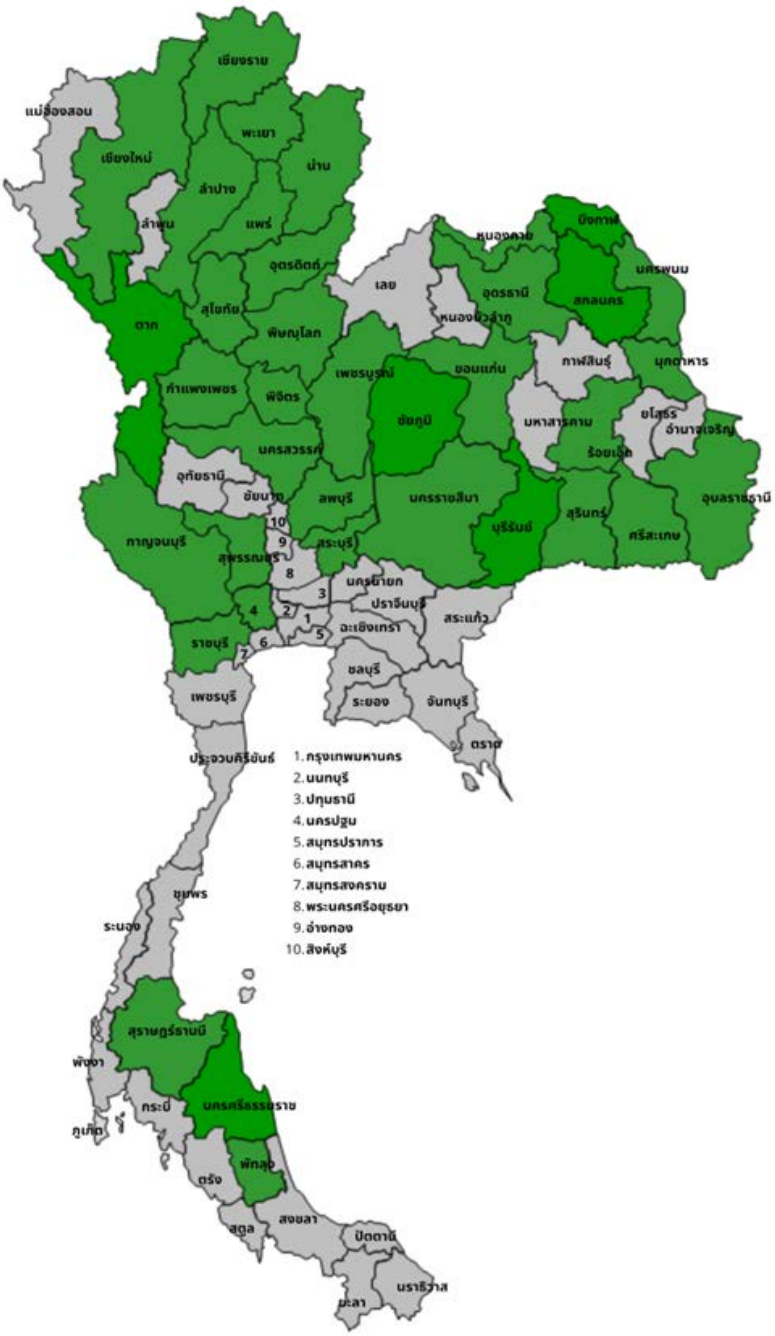



**Figure 3** The tomato and chili plantations (shown in green) had been surveyed during October 2021 – March 2025

**Figure 4** The survey pattern used for the field survey

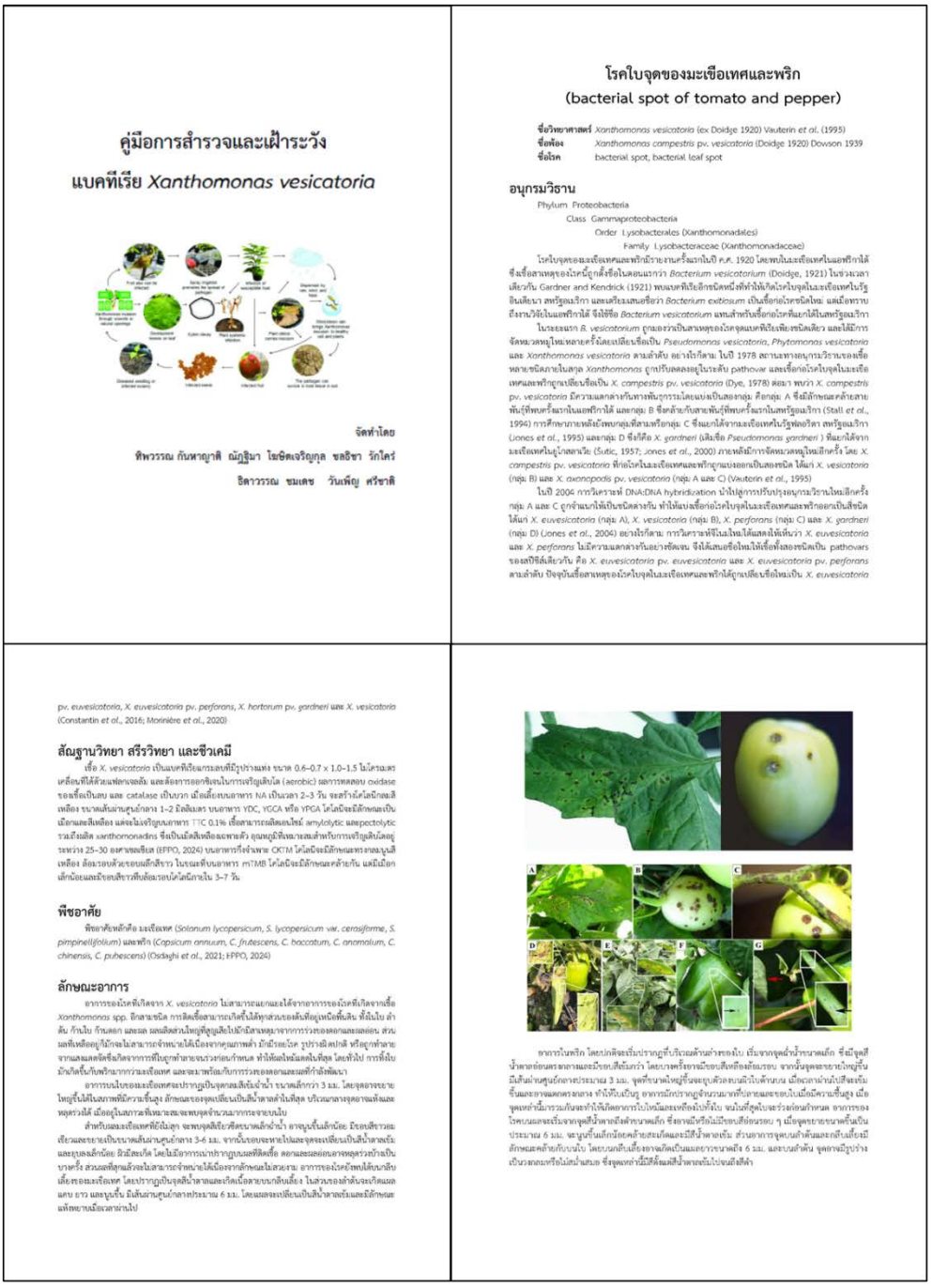



**Figure 5** The survey guide includes the symptoms to be observed during the field survey

# การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas perforans* ในประเทศไทย

# Survey and Surveillance of *Xanthomonas perforans* in Thailand

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[1/] ทิพวรรณ กันหาญาติ[2/] ชลธิชา รักใคร่[3/]
ธิดาวรรณ ชมเดช[3/] วันเพ็ญ ศรีชาติ[4/]
[1/]ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[4/]กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 2

## Abstract

The bacterium *Xanthomonas perforans*, the causative agent of bacterial spot disease in tomatoes and peppers, is a quarantine pest listed in the EPPO A2 list. References to the presence of *X. perforans* in Thailand have been cited in international publications, impacting pest risk analysis due to the bacterium's ability to be transmitted through seeds. Therefore, it is crucial to conduct surveys and monitor the spread of *X. perforans* in Thailand to confirm its status as a quarantine pest and update the country's quarantine pest list. The survey, conducted between October 2021 and March 2025, specifically targeted bacterial spot symptoms in tomatoes and peppers grown for fresh produce and seed production in 40 provinces. Samples were collected from cultivation areas and analyzed in a laboratory. The isolated bacteria displayed characteristics consistent with *Xanthomonas* species, forming round, convex, smooth-edged, yellow, glossy colonies. The isolated bacteria caused disease in tomatoes. Using the specific primer pair HpaF-f/HpaF-r, 14 isolates of *X. perforans* were identified. Phylogenetic analysis of the *atpD*, *dnaK*, *efp*, and *gyrB* genes confirmed these isolates as *X. euvesicatoria* pv. *perforans* (formerly known as *X. perforans*). These isolates were obtained from tomato samples collected in the provinces of Khon Kaen, Nong Khai, Bueng Kan, Nakhon Phanom, Mukdahan, Surin, Nakhon Pathom, Phetchaburi, and Prachuap Khiri Khan. This surveillance data confirms the presence of *X. perforans* in tomato cultivation areas in Thailand.

**Keywords :** surveillance, bacterial leaf spot, tomato, chili

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-04-65

## บทคัดย่อ

แบคทีเรีย *Xanthomonas perforans* สาเหตุโรคใบจุดแบคทีเรียของมะเขือเทศและพริก เป็นศัตรูพืชกักกันที่มีรายชื่ออยู่ใน EPPO A2 list ที่มีการพบข้อมูลอ้างอิงเชื้อ *X. perforans* จากประเทศไทยในผลงานตีพิมพ์ของต่างประเทศ ซึ่งส่งผลกระทบต่อการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้สามารถถ่ายทอดผ่านเมล็ดได้ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการสำรวจและเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของแบคทีเรีย *X. perforans* ในประเทศไทย เพื่อให้ได้ข้อมูลยืนยันสถานภาพการเป็นศัตรูพืชกักกันและปรับปรุงบัญชีรายชื่อศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย โดยทำการสำรวจตั้งแต่เดือนตุลาคม 2564 - มีนาคม 2568 ดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง และเก็บตัวอย่างอาการใบจุดแบคทีเรียในพริกและมะเขือเทศจากแหล่งปลูกเพื่อจำหน่ายผลสดและแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ใน 40 จังหวัด นำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ พบเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีกลม นูน ขอบเรียบ สีเหลือง ผิวมันวาว คล้ายแบคทีเรีย *Xanthomonas* โดยเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ก่อให้เกิดโรคในมะเขือเทศ ผลการตรวจเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดด้วยไพรเมอร์จำเพาะ HpaF-f/HpaF-r ตรวจพบเชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* จำนวน 14 ไอโซเลต วิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของยีน *atpD*, *dnaK*, *efp* และ *gyrB* พบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรีย *X. euvesicatoria* pv. *perforans* (ชื่อเดิม *X. perforans*) โดยแบคทีเรียทั้ง 14 ไอโซเลต แยกได้จากตัวอย่างมะเขือเทศที่สำรวจจากจังหวัดขอนแก่น หนองคาย บึงกาฬ นครพนม มุกดาหาร สุรินทร์ นครปฐม เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ ซึ่งข้อมูลการเฝ้าระวังในครั้งนี้ยืนยันสถานภาพของแบคทีเรีย *X. perforans* ปรากฏเฉพาะในพื้นที่ปลูกมะเขือเทศในประเทศไทย


**คำหลัก :** เฝ้าระวัง, โรคใบจุดแบคทีเรีย, มะเขือเทศ, พริก

## คำนำ

โรคใบจุดในมะเขือเทศและพริกเป็นหนึ่งในโรคสำคัญที่พบในประเทศที่ผลิตพืชเหล่านี้ โดยเฉพาะในเขตร้อนและเขตร้อนชื้น ซึ่งอาจส่งผลให้ผลผลิตลดลงถึง 50% (Pohronezny และ Volin, 1983) เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* หลายชนิดถูกระบุว่าเป็นสาเหตุของโรคใบจุด และมีการจำแนกชนิดใหม่หลายครั้งตามความก้าวหน้าของการศึกษา การจำแนกครั้งสำคัญโดย Jones *et al*. (2004) ได้แบ่งเชื้อที่เกี่ยวข้องกับโรคใบจุดของมะเขือเทศและพริกออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ *X. euvesicatoria*, *X. perforans*, *X. vesicatoria* และ *X. gardneri* (Jones *et al*., 2004) สำหรับประเทศไทยมีรายงานการศึกษาเชื้อสาเหตุโรคใบจุดของมะเขือเทศและพริกเกิดจากเชื้อ *X. campestris* pv. *vesicatoria* (Uematsu *et al*., 1983) และจากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์หลายตำแหน่งพบว่ามีสองชนิดคือ *X. euvesicatoria* และ *X. perforans* (สันติพงษ์และคณะ, 2563)

จากการรายงานการปรากฏของเชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* ในประเทศไทย รวมถึงในงานวิจัยต่างประเทศ (Strayer *et al*., 2016; Timilsina *et al*., 2020) พบว่ามีผลกระทบต่อ

สถานภาพของศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย รวมถึงข้อกำหนดการนำเข้าและส่งออกเมล็ดพันธุ์ จึงจำเป็นต้องสำรวจและเฝ้าระวังการแพร่ระบาด เนื่องจากประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม และส่งกลับจำหน่ายในต่างประเทศ ดังนั้น การศึกษานี้จึงมุ่งสำรวจสถานการณ์การแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* ในประเทศไทยเพื่อยืนยันสถานะศัตรูพืชกักกัน กำหนดพื้นที่ปลอดศัตรูพืช และจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง เช่น อุปกรณ์จับพิกัด GPS ถุงพลาสติก
2. อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น กระบอกตวง เครื่องชั่ง จานเลี้ยงเชื้อ ลูป ตู้อบลมร้อน หม้อนึ่งความดันไอ ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ปิเปตต์ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง อ่างควบคุมอุณหภูมิ เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เครื่องแยกวิเคราะห์สารพันธุกรรม เครื่องถ่ายภาพสารพันธุกรรม
3. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ สกัดดีเอ็นเอ และทำปฏิกิริยา PCR เช่น ชุดสกัด ดีเอ็นเอ QIAamp DNA Mini kit (Qiagen, USA) น้ำยา One PCR Master Mix (GeneDirex® Inc., Taiwan) ดีเอ็นเอขนาดมาตรฐาน Onemark 100 (GeneDirex® Inc., Taiwan)

### วิธีการ

**1. การรวบรวมข้อมูลแบคทีเรีย *Xanthomonas perforans***

สืบค้นรวบรวมข้อมูลเชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* เช่น อนุกรมวิธาน พืชอาศัย อาการของโรค เป็นต้น จากทั้งในและต่างประเทศ ฐานข้อมูล จากเอกสารวิชาการ วารสาร รายงานการประชุมสัมมนาทางวิชาการและหน่วยงานอื่นที่เกี่ยวข้อง

**2. การสำรวจและเฝ้าระวังตามมาตรฐาน International Standard for Phytosanitary Measures (ISPMs)**

ดำเนินการสำรวจและเฝ้าระวังตามมาตรฐาน ISPMs ฉบับที่ 6 (Surveillance) ในแปลงปลูกมะเขือเทศและพริก โดยดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลแบคทีเรีย *X. perforans* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด ตามขั้นตอนต่อไปนี้

2.1 จัดทำคู่มือการสำรวจ โดยการรวบรวมตัวอย่างอ้างอิงและรูปภาพของโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย *X. perforans* เพื่อใช้ในการตรวจสอบอ้างอิงขณะทำการสำรวจและจัดทำข้อมูลศัตรูพืช ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพืชอาศัย อาการของโรค รูปภาพสีของโรค และรายละเอียดของศัตรูพืชชนิดอื่นที่คล้ายคลึงกับศัตรูพืชเป้าหมาย

2.2 จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ ได้แก่ ชื่อที่อยู่ที่ตั้งของแปลง วันที่สำรวจ ตำแหน่งพิกัดภูมิศาสตร์ (พิกัด GPS) เป็นต้น

2.3 การสำรวจ กำหนดพื้นที่แหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศที่สำคัญในประเทศไทย ในเขตภาคเหนือ เชียงราย เชียงใหม่ น่าน แพร่ และ ลำปาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดศรีสะเกษ ชัยภูมิ หนองคาย ขอนแก่น และสกลนคร เป็นต้น วางแผนการสำรวจในพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ สุ่มตรวจโรค 5 แถวต่อแปลง กำหนดการตรวจแบบแถวเว้นแถว

2.4 วิธีการตรวจแบคทีเรีย *X. perforans* ในแปลง เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างนำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

**3. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ**

3.1 การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชและเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์

นำตัวอย่างกลับมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ โดยตัดส่วนของพืชบริเวณรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรคเป็นชิ้นเล็กๆ แต่ละชิ้นตัวอย่างนำมาแช่ในแอลกอฮอล์ 70% นาน 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง แล้วนำมาบดในน้ำกลั่น และแยกเชื้อบนอาหาร PSA หลังจากนั้นบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เลือกเก็บเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีกลมนูน ขอบเรียบ ผิวเป็นมันวาวสีเหลือง และทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ โดยเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ กลีเซอรอล 15% และ 50% ไว้ใช้ในการศึกษาต่อไป

3.2 ทดสอบการเกิดโรค (Pathogenicity test)

นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากการเก็บตัวอย่าง มาทดสอบการเกิดโรคกับมะเขือเทศและพริก โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร PSA บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาปรับระดับความเข้มข้นของเชื้อโดยใช้ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.2 ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ มีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ $10^8$ CFU/ml พ่นเชื้อแบคทีเรียบนพืชทดสอบแล้วใช้ถุงพลาสติกคลุมไว้ให้มีความชื้นเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จึงเปิดถุงออก และสังเกตอาการต้นพืชเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่พ่นด้วยน้ำเปล่า และพิสูจน์โรคตามวิธีการของ Koch (Koch's postulation)

3.3 ศึกษาคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อ

ทำการศึกษาคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียบางประการตามวิธีการของ Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria Third Edition (Schaad *et al*., 2001)

3.4 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของมะเขือเทศและพริกด้วยเทคนิค PCR

ตรวจสอบเชื้อโรคใบจุดของมะเขือเทศและพริกด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ Bs-XpF/Bs-XpR (Koenraadt *et al.,* 2009) และ HpaF-f/HpaF-r (Ning, 2012) (Table 1) โดยใช้ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา PCR 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้น

10 นาโนกรัม/ไมโครลิตร น้ำยา One PCR Master Mix (GeneDirex® Inc., Taiwan) และไพรเมอร์ 0.2 ไมโครโมลาร์ เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ Biometra TAdvanced (Analytik Jena GmbH, Germany) ตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (agarose gel electrophoresis) โดยใช้ 2% agarose ใน 0.5X TBE กระแสไฟฟ้าที่ค่าความต่างศักย์ 100 โวลต์ นาน 30 นาที แล้วตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตด้วยเครื่อง UVITEC Cambridge Platinum (Uvitec Ltd., UK) โดยมีดีเอ็นเอควบคุมเป็นดีเอ็นเอของเชื้ออ้างอิง (Type strain) *X. euvesicatoria* pv. *perforans* สายพันธุ์ NCPPB4321 จากสถาบัน The National Collection of Plant Pathogenic Bacteria (NCPPB) สหราชอาณาจักร ความเข้มข้นดีเอ็นเอ 10 นาโนกรัม/ไมโครลิตร

3.5 การจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของมะเขือเทศและพริก

สกัดดีเอ็นเอเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศด้วยชุดสกัด QIAamp DNA Mini kit (Qiagen, USA) นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาเพิ่มปริมาณยีน *atpD, dnaK, efp* และ *gyrB* ตามรายงานของ Roach *et al.* (2018) ส่งผลผลิตพีซีอาร์เพื่อวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ และวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการเพื่อจัดจำแนกเชื้อเปรียบเทียบกับเชื้อแบคทีเรีย type strain ที่มีรายงานอยู่ใน GenBank โดยใช้การประมวลผลและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Maximum Likelihood (ML) ด้วยโปรแกรม RAxML v 8.1.15 (Stamatakis, 2014) กำหนดค่า model of evolution แบบ GTRGAMMA วิเคราะห์ด้วย rapid bootstrap (command –f a) และกำหนดค่า maximum likelihood bootstrap 1,000 ซ้ำ

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2564 – มีนาคม 2568

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. แหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศ

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. การรวบรวมข้อมูลแบคทีเรีย *Xanthomonas perforans***

รวบรวมข้อมูลของแบคทีเรีย *X. perforans* และโรคใบจุดของมะเขือเทศและพริก (bacterial spot of tomato and pepper) โดยรวบรวมลักษณะอาการของโรคทุกระยะของพืชอาศัย และศัตรูพืชชนิดอื่นที่คล้ายคลึงกัน เพื่อจัดทำเป็นคู่มือการสำรวจ มีรายละเอียดดังนี้

**โรคใบจุดของมะเขือเทศและพริก** (EPPO, 2023)

**ชื่อภาษาอังกฤษ** bacterial spot, bacterial leaf spot

**ชื่อวิทยาศาสตร์** *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans*

**ชื่อพ้อง** *Xanthomonas perforans*, *X. campestris* pv. *perforans, X. axonopodis* pv. *vesicatoria*

**อนุกรมวิธาน**

Phylum Proteobacteria

Class Gammaproteobacteria

Order Lysobacterales (Xanthomonadales)

Family Lysobacteraceae (Xanthomonadaceae)

โรคใบจุดในมะเขือเทศและพริกได้รับการรายงานครั้งแรกในแอฟริกาใต้และสหรัฐอเมริกาในช่วงต้นปี ค.ศ. 1920 โดยเชื้อสาเหตุถูกตั้งชื่อว่า *Bacterium vesicatorium* (Doidge, 1921; Gardner and Kendrick, 1921) และต่อมาเปลี่ยนชื่อเป็น *X. vesicatoria* (Dowson, 1939) ในปี ค.ศ. 1978 มีการลดระดับสถานะทางอนุกรมวิธานของเชื้อหลายชนิดในกลุ่ม *Xanthomonas* ให้เป็น “pathovar” โดยเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคในมะเขือเทศและพริกถูกจัดเป็น *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Young *et al*., 1978) ในช่วงปี ค.ศ. 1990 มีการค้นพบว่าใน *X. campestris* pv. *vesicatoria* มีความแตกต่างทางพันธุกรรมแบ่งออกเป็นสองกลุ่มใหญ่ ได้แก่ กลุ่ม A มีลักษณะคล้ายสายพันธุ์ที่พบในแอฟริกาใต้ และกลุ่ม B มีลักษณะคล้ายสายพันธุ์ที่พบในสหรัฐอเมริกา (Stall *et al*., 1994) นอกจากนี้ ยังพบกลุ่มที่สามซึ่งแยกได้จากมะเขือเทศในรัฐฟลอริดา โดยมีคุณสมบัติในการย่อยแป้งและเพคติน และถูกจัดเป็นกลุ่ม C (Jones *et al*., 1995) ในปี ค.ศ. 1995 มีการจัดจำแนกสมาชิกของ *X. campestris* pv. *vesicatoria* ใหม่ แบ่งออกเป็นสองชนิด ได้แก่ *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (กลุ่ม A และ C) และ *X. vesicatoria* (กลุ่ม B) (Vauterin *et al*., 1995) อย่างไรก็ตาม ในปี ค.ศ. 1957 เชื้อแบคทีเรียชนิดหนึ่งถูกแยกจากมะเขือเทศในยูโกสลาเวีย แม้โคโลนีของเชื้อจะมีสีเหลือง แต่เชื้อดังกล่าวถูกตั้งชื่อว่า *Pseudomonas gardneri* (Šutic, 1957) ต่อมาเชื้อนี้ถูกเสนอให้ย้ายไปอยู่ในกลุ่ม *Xanthomonas* และจัดเป็นกลุ่ม D ของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคใบจุดแบคทีเรีย (Jones *et al*., 2000) ในปี ค.ศ. 2004 การวิเคราะห์ DNA:DNA hybridization ได้ส่งผลให้เชื้อ xanthomonads ที่ก่อโรคในมะเขือเทศและพริกถูกจัดจำแนกใหม่เป็น 4 ชนิด ได้แก่ *X. euvesicatoria* (กลุ่ม A), *X. vesicatoria* (กลุ่ม B), *X. perforans* (กลุ่ม C) และ *X. gardneri* (กลุ่ม D) (Jones *et al*., 2004) ในปัจจุบัน เชื้อ xanthomonads ที่ก่อโรคในมะเขือเทศและพริกถูกเปลี่ยนชื่อใหม่เป็น *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, *X. euvesicatoria* pv. *perforans*, *X. hortorum* pv. *gardneri* และ *X. vesicatoria* (Constantin *et al*., 2016; Morinière *et al*., 2020)

**สัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมี** เชื้อ *X. perforans* เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างแท่ง ขนาด 0.6–0.7 x 1.0–1.5 ไมโครเมตร เคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลัม และต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต (aerobic) ผลการทดสอบ oxidase ของเชื้อเป็นลบ และ catalase เป็นบวก เมื่อเลี้ยงบนอาหาร NA เป็นเวลา 2–3 วัน จะสร้างโคโลนีกลมสีเหลือง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1–2 มิลลิเมตร บนอาหาร YDC, YGCA หรือ YPGA โคโลนีจะมีลักษณะเป็นเมือกและสีเหลือง แต่จะไม่

เจริญบนอาหาร TTC 0.1% เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ amylolytic และpectolytic รวมถึงผลิต xanthomonadins ซึ่งเป็นเม็ดสีเหลืองเฉพาะตัว อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 25–30 องศาเซลเซียส (EPPO, 2024)

**พืชอาศัย** พืชอาศัยหลักคือมะเขือเทศ ภายหลังพบรายงานในพริกในรัฐฟลอริดา สหรัฐอเมริกา (Potnis *et al*., 2015)

**ลักษณะอาการ** อาการของโรคที่เกิดจาก *X. perforans* ไม่สามารถแยกแยะได้จากอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อ *Xanthomonas* spp. อีกสามชนิด พบอาการของโรคในทุกส่วนของพืชที่อยู่เหนือดิน รวมถึงใบ ก้าน กลีบเลี้ยง และผล ในใบ อาการเริ่มต้นด้วยจุดแผลขนาดเล็ก เส้นผ่านศูนย์กลาง 1–3 มม. ที่มีลักษณะฉ่ำน้ำ สีน้ำตาล รูปร่างไม่แน่นอน จากนั้นจึงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม (Figure 1A) จุดแผลที่ใบบางครั้งขยายใหญ่ขึ้นถึงเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มม. (Figure 1B) และยุบตัวลงที่ผิวด้านบนของใบ ใบที่มีจุดแผลจำนวนมากจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง (Figure 1C) และมีขอบใบที่ฉีกขาดไม่สม่ำเสมอ ในบางกรณีจุดแผลบนใบรวมตัวกันและมีลักษณะไหม้ (Figure 1D) ในผลมะเขือเทศที่ยังไม่สุก พบจุดขนาดเล็กที่ฉ่ำน้ำหรือนูนขึ้นเล็กน้อยเป็นสีเขียวอ่อน และบางครั้งมีวงสีเขียวอมขาวล้อมรอบ จุดเหล่านี้อาจขยายใหญ่ขึ้นถึงเส้นผ่านศูนย์กลาง 3–6 มม. (Figure 1E) ต่อมาวงรอบจุดจะหายไป และจุดจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ยุบตัวเล็กน้อย และมีพื้นผิวขรุขระคล้ายสะเก็ดหรือปุ่มนูน (Figure 1F) ไม่พบอาการเน่าในผลที่มีอาการ ผลที่สุกแล้วไม่สามารถจำหน่ายได้เนื่องจากมีลักษณะที่ไม่สวยงาม (Figure 1G) อาการของโรคยังพบในกลีบเลี้ยงของมะเขือเทศ โดยเป็นแผลสีน้ำตาลและเนื้อเยื่อตายบนกลีบเลี้ยง (Figure 1H) บนส่วนลำต้น แผลมีลักษณะแคบ ยาว โดยขยายใหญ่ได้ถึงเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มม. แผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (Figure 1I) (Osdaghi *et al*., 2017)

**2. การสำรวจและเฝ้าระวังตามมาตรฐาน ISPMs**

ดำเนินการสำรวจและเฝ้าระวังตามมาตรฐาน ISPMs ฉบับที่ 6 (Surveillance) ในแปลงปลูกมะเขือเทศและพริก โดยสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2564-มีนาคม 2568 เพื่อให้ทราบข้อมูลแบคทีเรีย *X. perforans* ในพื้นที่สำรวจซึ่งเป็นแหล่งปลูก มะเขือเทศและพริกเพื่อจำหน่ายผลสดและแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ ครอบคลุมแต่ละภูมิภาคของประเทศ จำนวน 40 จังหวัด ดังนี้ **ภาคเหนือ** จำนวน 7 จังหวัด ได้แก่ เชียงราย น่าน พะเยา เชียงใหม่ แพร่ ลำปาง และอุตรดิตถ์ **ภาคกลาง** จำนวน 10 จังหวัด ได้แก่ พิษณุโลก สุโขทัย เพชรบูรณ์ พิจิตร กำแพงเพชร นครสวรรค์ ลพบุรี สระบุรี สุพรรณบุรี และนครปฐม **ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ** จำนวน 15 จังหวัด ได้แก่ หนองคาย นครพนม สกลนคร บึงกาฬ อุดรธานี เลย มุกดาหาร ขอนแก่น ร้อยเอ็ด ชัยภูมิ นครราชสีมา บุรีรัมย์ สุรินทร์ ศรีสะเกษ และอุบลราชธานี **ภาคตะวันตก** จำนวน 5 จังหวัด ได้แก่ ตาก กาญจนบุรี ราชบุรี เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ **ภาคใต้** จำนวน 3 จังหวัด ได้แก่ สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช และพัทลุง (Figure 2) สังเกตลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง เก็บตัวอย่างนำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

**3. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ**

ผลการแยกเชื้อจากตัวอย่างที่มีลักษณะคล้ายโรคใบจุดในมะเขือเทศและพริก ได้เชื้อที่มีลักษณะโคโลนีกลมนูน ขอบเรียบ ผิวเป็นมันวาวสีเหลือง จำนวน 14 ไอโซเลต ทำการศึกษาคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมี พบว่าเป็นแบคทีเรียเป็นแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน เคลื่อนที่ได้ เจริญโดยใช้ออกซิเจน สามารถสร้าง Levan และเจริญบนอาหาร 0.1% TTC ได้ แบคทีเรียไม่สามารถเจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ไม่สร้างสาร Fluorescence และไม่สร้างเอนไซม์ Oxidase แต่สร้างเอนไซม์ Amylolytic และ Pectolytic ทดสอบการก่อโรคกับมะเขือเทศและพริกทุกไอโซเลตก่อให้เกิดโรคเฉพาะในมะเขือเทศ ตรวจสอบเชื้อด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ Bs-XpF/Bs-XpR ไม่พบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ แต่เมื่อตรวจสอบด้วยไพรเมอร์ HpaF-f/HpaF-r พบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ของ *X. perforans* ขนาด 300 คู่เบส การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *atpD*, *dnak*, *efp* และ *gyrB* เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดในมะเขือเทศใกล้เคียงกับแบคทีเรีย *X. euvesicatoria* pv. *perforans* สายพันธุ์ NCPPB4321 ชื่อเดิม *X. perforans* (Table 2; Figure 3)

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสำรวจและเฝ้าระวังแบคทีเรีย *X. perforans* ในแปลงปลูกมะเขือเทศและพริกดำเนินการแบบเฉพาะเจาะจงตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2564 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2568 เพื่อรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับแบคทีเรียดังกล่าวในพื้นที่ที่เป็นแหล่งปลูกมะเขือเทศและพริกสำหรับจำหน่ายผลสดและการผลิตเมล็ดพันธุ์ โดยครอบคลุมภูมิภาคต่าง ๆ ได้แก่ ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันตก และภาคใต้ ผลการสำรวจพบว่าไม่ปรากฏเชื้อแบคทีเรีย *X. perforans* ในพื้นที่ปลูกพริก แต่พบปรากฏในแหล่งปลูกมะเขือเทศบางแหล่งในประเทศไทย

ข้อมูลจากการวิจัยครั้งนี้จะเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์สำหรับการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และการปรับปรุงบัญชีรายชื่อศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย นอกจากนี้ยังช่วยสนับสนุนการกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพริกได้อย่างมีประสิทธิภาพ

## คำขอบคุณ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดีต้องขอขอบคุณกลุ่มงานตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างจากแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ รวมถึงข้าราชการ พนักงานราชการ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่มีส่วนช่วยเหลือด้านข้อมูลและร่วมดำเนินการสำรวจในงานวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

สันติพงศ์ สิทธิธนสิน, จุฑาเทพ วัชระไชยคุปต์, ชัญญานุช กอรักงาม, ทิพวรรณ กันหาญาติ, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วิชัย โฆสิตรัตน และ สุจินต์ ภัทรภูวดล. 2563. การจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดของมะเขือเทศในประเทศไทย. *วารสารวิชาการเกษตร.* 36: 80-88.

Araújo, E. R., M. A. S. V. Ferreira and A. M. Quezado-Duval. 2013. Specific primers for *Xanthomonas vesicatoria*, a tomato bacterial spot causal agent. *Eur. J. Plant Pathol.* 137: 5–9.

Beran, P., I. Mráz, B. Kokoskova and A. Bohata. 2015. Monitoring the occurrence of bacterial spot of tomato and pepper in the Czech Republic and development of new PCR primers for detection of *Xanthomonas vesicatoria*. *Eur. J. Plant Pathol.* 141: 617–621.

Constantin, E.C., I. Cleenwerck, M. Maes, S. Baeyen, C. Van Malderghem, P. De Vos and B. Cottyn. 2016. Genetic characterization of strains named as *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* leads to a taxonomic revision of the *X. axonopodis* species complex. *Plant Pathol.* 65 (5): 792-806.

Doidge, E.M. 1921. A tomato canker. *Ann. appl. Biol.* 7: 407–430.

Dowson, W.J. 1939. On the systematic position and generic names of the Gram negative bacterial plant pathogens. *Zentralblatt fur Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten,* 2(100): 177–193.

Dye, D.W. 1978. Genus IX. Xanthomonas. Dowson 1939. In: Young, J.M., D.W. Dye, J.F. Bradbury, C.G. Panagopoulos and C.F. Robbs. A proposed nomenclature and classification for plant pathogenic bacteria. *N. Z. J. Agric. Res.* 21: 153–177.

EPPO. 2023. PM 7/ 110 ( 2) *Xanthomonas* spp. ( *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, *Xanthomonas hortorum* pv. *gardneri*, *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans*, *Xanthomonas vesicatoria*) causing bacterial spot of tomato and sweet pepper. *EPPO Bulletin*, 53: 558–579. https://doi.org/10.1111/epp.12960

EPPO. 2024. *Xanthomonas vesicatoria*. EPPO datasheets on pests recommended for regulation. https://gd.eppo.int (accessed 2024-11-07)

Gardner, M.W. and J.B. Kendrick. 1921. Bacterial spot of tomato. *J. Agric. Res.* 21: 123–156.

Jones, J.B., G.H. Lacy, H. Bouzar, R.E. Stall and N.W. Schaad. 2004. Reclassification of the xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. *Syst. Appl. Microbiol.* 27: 755–762.

Jones, J.B., H. Bouzar, R.E. Stall, E.C. Almira, P.D. Roberts, B.W. Bowen, J. Sudberry, P.M. Strickler and J. Chun. 2000. Systematic analysis of xanthomonads (Xanthomonas spp.) associated with pepper and tomato lesions. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 50:1211–1219. doi: 10.1099/00207713-50-3-1211.

Jones, J.B., R.E. Stall, J.W. Scott, G.C. Somodi, H. Bouzar and N.C. Hodge. 1995. A third tomato race of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Plant Disease* 79: 395-398.

Koenraadt, H., B. Van Betteray, R. Germain, G. Hiddink, J.B. Jones, J. Oosterhof, A. Rijlaarsdam, P. Roorda and B. Woudt. 2009. Development of specific primers for the molecular detection of bacterial spot of pepper and tomato, pp. 99-102. *In* II International Symposium on Tomato Diseases 808. *International Soc. Hort. Sci.* Belgium.

Larrahondo-Rodríguez, E., Y.-Y. Liao and A. Huerta. 2022. Diagnostic guide for bacterial spot of tomato and pepper. *Plant Health Prog*. 23: 355-361. https://doi.org/10.1094/PHP-11-21-0140-DG

Morinière, L., A. Burlet, E.R. Rosenthal, X. Nesme, P. Portier and C.T. Bull. 2020. Clarifying the taxonomy of the causal agent of bacterial leaf spot of lettuce through a polyphasic approach reveals that *Xanthomonas cynarae* Trébaol *et al*. 2000 emend. Timilsina *et al*. 2019 is a later heterotypic synonym of *Xanthomonas hortorum* Vauterin *et al*. 1995. *Syst. Appl. Microbiol.* 43: 126087.

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

Osdaghi, E., S.M. Taghavi, H. Hamzehzarghani, A. Fazliarab and J.R. Lamichhane. 2017. Monitoring the occurrence of tomato bacterial spot and range of the causal agent *Xanthomonas perforans* in Iran. *Plant Pathol*, 66: 990-1002. https://doi.org/10.1111/ppa.12642

Osdaghi, E., J.B Jones, A. Sharma, E.M. Goss, P. Abrahamian and E.A. Newberry. 2021. A centenary for bacterial spot of tomato and pepper. *Mol. Plant Pathol*. 22: 1500–1519. https://doi.org/10.1111/mpp.13125

Pohronezny, K. and R.B. Volin. 1983. The effect of bacterial spot on yield and quality of fresh market tomatoes. *Hort. Sci.* 18: 69-70.

Roach, R., R. Mann, C.G. Gambley, R.G. Shivas and B. Rodoni. 2018. Identification of *Xanthomonas* species associated with bacterial leaf spot of tomato, capsicum and chilli crops in eastern Australia. *Eur. J. Plant Pathol.* 150: 595-608.

Schaad, N. W., J. B. Jones and G. H. Lacy. 2001. Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria. American Phytopathological Society. Minnesota 175-199.

Stall, R.E., C. Beaulieu, G. Egel, N.C. Hodge, R.P. Leite, G.V. Minsavage, H. Bouzar, J.B. Jones, A.M. Alvarez and A.A. Benedict. 1994. Two genetically diverse groups of strains are included in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 44: 47–53.

Stamatakis, A. 2014. RAxML Version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30: 1312-1313.

Strayer, A., A. Jeyaprakash, G.V. Minsavage, S. Timilsina, G.E. Vallad and J.B. Jones. 2016. A multiplex real-time PCR assay differentiates four *Xanthomonas* species associated with bacterial spot of tomato. *Plant Dis.* 100: 1660–1668.

Šutic, D. 1957. Bakterioze crvenog patlidzana (tomato bacteriosis). Poseb. Izd. Inst. Zasht. Bilja Beogr. (Spec. Ed. Inst. Plant Prot. Beograd).

Timilsina, S., S. Kara, M.A. Jacques, N. Potnis, G.V. Minsavage, G.E. Vallad, J.B. Jones and M. Fischer-Le Saux. 2020. Corrigendum: Reclassification of *Xanthomonas gardneri* (ex Šutic 1957) Jones *et al*. 2006 as a later heterotypic synonym of *Xanthomonas cynarae* Trébaol *et al*. 2000 and description of *X. cynarae* pv. *cynarae* and *X. cynarae* pv. *gardneri* based on whole genome analyses. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 69: 343-349, doi: 10.1099/ijsem.0.003104.

Uematsu, T., S. Chuenchitt, S. Kanjanarat, S. Vitithajinda, N. Napheerong, S. Benjathikul, S. Nilmanee, W. Dhirabhava and D. Buangsuwon. 1983. *Bacterial diseases on economic crops in Thailand*. Tropical Agricultural Research Center, Ministry of Agricultural, Forestry and Fisheries, Japan and Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperative Thailand. 266 p.

Vauterin, L., B. Hoste, K. Kersters and J. Swings. 1995. Reclassification of Xanthomonas. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45: 472–489.

Young, J. M. , D.W. Dye, J.F. Bradbury, C.G. Panagopoulos and C.F. Robbs. 1978. A proposed nomenclature and classification for plant pathogenic bacteria. *N. Z. J. Agric. Res.* 21: 153–177.

**Table 1** Primers used in this study

| Primers | Sequence (5'–3') | Annealing Temperature | PCR product | Reference |
|---|---|---|---|---|
| BS-XpF | GTCGTGTTGATGGAGCGTTC | 64°C | 197 bp | Koenraadt *et al*. (2009) |
| BS-XpR | GTGCGAGTCAATTATCAGAATGTGG | | | |
| HpaF-f | GTGGCAGGCAGGCAATCGACG | 65°C | 300 bp | Ning (2012) |
| HpaF-r | CCGGCACGTCGACGCCTGGAAACC | | | |
| dnaK-F | TGGGCAAGATCATTGGTATT | 67°C | 765 bp | Roach *et al*. (2018) |
| dnaK-R | ACCTTCGGCATACGGGTCTG | | | |
| atpD-F | GGGCAAGATCGTTCAGAT | 66°C | 768 bp | Roach *et al*. (2018) |
| atpD-R | GCTCTTGGTCGAGGTGAT | | | |
| gyrB-F | GCCGAGGTGATCCTCACCGT | 69°C | 774 bp | Roach *et al*. (2018) |
| gyrB-R | GGCCGAGCCACCTGCCGAGT | | | |
| efp-F | GTCAAGAACGGCATGAAGA | 65°C | 387 bp | Roach *et al*. (2018) |
| efp-R | TCGTCCTGGTTGACGAAC | | | |

**Table 2** Detection survey of *Xanthomonas perforans* in tomato and chili production areas in Thailand from October 2021 to November 2024

| Production area of tomato and chili | | | No. of sample | No. of isolate | PCR test | | Survey result |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Region | Province | District | | | Bs-XpF/ Bs-XpR | HpaF-f/ HpaF-r | |
| Northern | Chiang Mai | Hot, San Sai | 3 | 0 | - | - | Absence |
| | Chiang Rai | Mae Chan, Mae Lao, Mae Sai, Wiang Pa Pao | 10 | 0 | - | - | Absence |
| | Lampang | Chae Hom, Mueang Pan | 94 | 0 | - | - | Absence |
| | Nan | Pua, Tha Wang Pha, Wiang Sa | 46 | 0 | - | - | Absence |
| | Phayao | Dok Khamtai | 9 | 0 | - | - | Absence |
| | Phrae | Nong Muang Khai, Rong Kwang, Song | 26 | 0 | - | - | Absence |
| | Uttaradit | Phichai | 13 | 0 | - | - | Absence |
| Central | Kamphaeng Phet | Bueng Samakkhi, Khanu Woralaksaburi, Khlong Khlung, Khlong Lan, Kosamphi Nakhon, Mueang Kamphaeng Phet, Phran Kratai | 45 | 0 | - | - | Absence |
| | Lop Buri | Chai Badan, Tha Luang | 11 | 0 | - | - | Absence |
| | Nakhon Pathom | **Kamphaeng Saen**, Mueang Nakhon Pathom | 11 | 1 | - | + | **Presence** |

**Table 2** Detection survey of *Xanthomonas perforans* in tomato and chili production areas in Thailand from October 2021 to November 2024 (continued)

| Production area of tomato and chili | | | No. of sample | No. of isolate | PCR test | | Survey result |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Region | Province | District | | | Bs-XpF/ Bs-XpR | HpaF-f/ HpaF-r | |
| | Nakhon Sawan | Mueang Nakhon Sawan, Chum Saeng, Nong Bua | 13 | 0 | - | - | Absence |
| | Phetchabun | Lom Kao, Lom Sak, Bueng Sam Phan, Chon Daen, Khao Kho, Mueang Phetchabun, Wichian Buri | 32 | 0 | - | - | Absence |
| | Phichit | Sam Ngam, Taphan Hin, Wang Sai Phun | 37 | 0 | - | - | Absence |
| | Phitsanulok | Bang Krathum, Bang Rakam, Chat Trakan, Mueang Phitsanulok, Nakhon Tha, Noen Maprang, Phrom Phiram, Wang Thong, Wat Bot | 61 | 0 | - | - | Absence |
| | Saraburi | Muak Lek | 6 | 0 | - | - | Absence |
| | Sukhothai | Mueang Sukhothai, Sawankhalok, Si Nakhon, Si Samrong | 48 | 0 | - | - | Absence |
| | Suphan Buri | Mueang Suphan Buri, U Thong | 4 | 0 | - | - | Absence |
| North-Eastern | Bueng Kan | Bueng Khong Long, **Mueang Bueng Kan** | 26 | 1 | - | + | **Presence** |
| | Buri Ram | Ban Dan, **Ban Kruat**, Lam Plai Mat, Mueang Buri Ram, Nong Hong, Phlapphla Chai | 39 | 1 | - | + | Presence |
| | Chaiyaphum | Ban Khwao, Ban Thaen, Chatturat, Kaset Sombun, Khon San, Nong Bua Rawe, Phakdi Chumphon, Phu Khiao, Thep Sathit | 30 | 0 | - | - | Absence |
| | Khon Kaen | Chum Phae, Mancha Khiri, Phu Pha Man, Sam Sung, **Si Chomphu*** | 23 | 2 | - | - | **Presence** |
| | Loei | Mueang Loei, Phu Ruea, Wang Saphung | 42 | 0 | - | - | Absence |
| | Mukdahan | **Don Tan**, Mueang Mukdahan | 22 | 1 | - | + | **Presence** |
| | Nakhon Phanom | Ban Phaeng, Mueang Nakhon Phanom, Renu Nakhon, **That Phanom** | 46 | 1 | - | + | **Presence** |
| | Nakhon Ratchasima | Chakkarat, Chum Phuang, Dan Khun Thot, Kham Sakaesaeng, Lam Thamenchai, Non Thai, Pak Chong, Phimai, Phra Thong Kham, Sikhio | 86 | 0 | - | - | Absence |

**Table 2** Detection survey of *Xanthomonas perforans* in tomato and chili production areas in Thailand from October 2021 to November 2024 (continue)

| Production area of tomato and chili | | | No. of sample | No. of isolate | PCR test | | Survey result |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Region | Province | District | | | Bs-XpF/ Bs-XpR | HpaF-f/ HpaF-r | |
| | Nong Khai | Mueang Nong Khai, Phon Phisai, Sangkhom, **Si Chiang Mai**, Tha Bo | 52 | 2 | - | + | **Presence** |
| | Roi Et | Selaphum, Thawat Buri | 15 | 0 | - | - | Absence |
| | Sakon Nakhon | **Mueang Sakon Nakhon**, Phanna Nikhom, **Tao Ngoi** | 22 | 3 | - | + | **Presence** |
| | Si Sa Ket | Huai Thap Than, Kanthararom, Mueang Chan, Mueang Si Sa Ket, Pho Si Suwan, Rasi Salai, Uthumphon Phisai, Yang Chum Noi | 51 | 0 | - | - | Absence |
| | Surin | Lamduan, Sangkha | 12 | 0 | - | - | Absence |
| | Ubon Ratchathani | Det Udom, Don Mot Daeng, Lao Suea Kok, Muang Sam Sip, Mueang Ubon Ratchathani, Na Yia, Phibun Mangsahan, Si Mueang Mai, Tan Sum | 41 | 0 | - | - | Absence |
| | Udon Thani | Kut Chap* | 1 | 0 | - | - | Absence |
| Western | Kanchanaburi | Phanom Thuan, Sai Yok, Si Sawat, Tha Maka, Tha Muang | 34 | 0 | - | - | Absence |
| | Prachuap Khiri Khan | Bang Saphan, Hua Hin, Kui Buri, **Pran Buri** | 24 | 1 | - | + | **Presence** |
| | Phetchaburi | **Cha-am**, Kaeng Krachan, Mueang Phetchaburi, Nong Ya Plong, Tha Yang | 14 | 1 | - | + | **Presence** |
| | Ratchaburi | Ban Pong, Chom Bueng, Suan Phueng | 17 | 0 | - | - | Absence |
| | Tak | Mae Sot, Phop Phra | 57 | 0 | - | - | Absence |
| Southern | Nakhon Si Thammarat | Cha-uat, Chian Yai, Hua Sai, Khanom, Phra Phrom, Tha Sala | 11 | 0 | - | - | Absence |
| | Phatthalung | Mueang Phatthalung, Khuan Khanun, Si Banphot | 10 | 0 | - | - | Absence |
| | Surat Thani | Ban Na Doem, Don Sak, Kanchanadit, Tha Chana | 9 | 0 | - | - | Absence |
| | | **Total** | **1,151** | **14** | | | |

Remark: *, the areas of seed production sites; -, not detected; +, detected; bold font, production areas where *X. perforans* was found

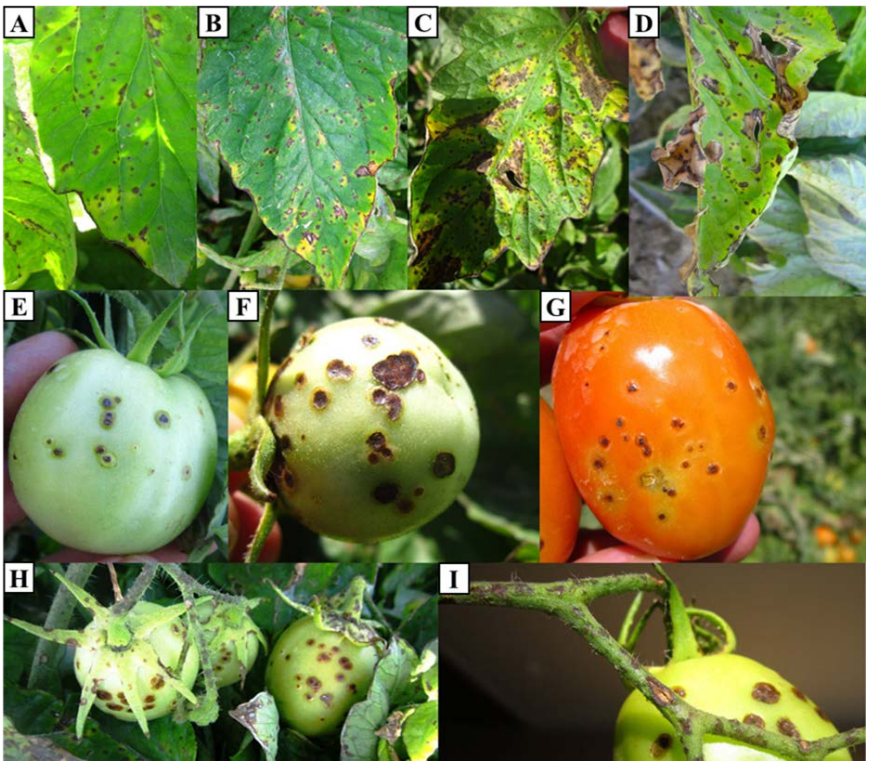



**Figure 1** Field symptoms of bacterial spot of tomato caused by *Xanthomonas perforans*. The disease began as water-soaked spots, tending to dark-brown and greasy lesions (a) that enlarged to 5–10 mm in diameter (b). Leaves with many lesions turned yellow (c). In severe infections, spots on the leaves coalesced and had a blighted appearance (d). Small and water-soaked spots with greenish-white halos were observed on green fruits (e). Subsequently, the spots became dark brown with a scabby or wart-like surface (f). Ripened fruits were nonmarketable because of brown lesions and poor quality (g). On the sepals, symptoms were seen as brown lesions, leading to necrotic areas (h). Stem lesions were narrow, elongated and raised, expanding up to 6 mm (i). (Osdaghi *et al*., 2017)

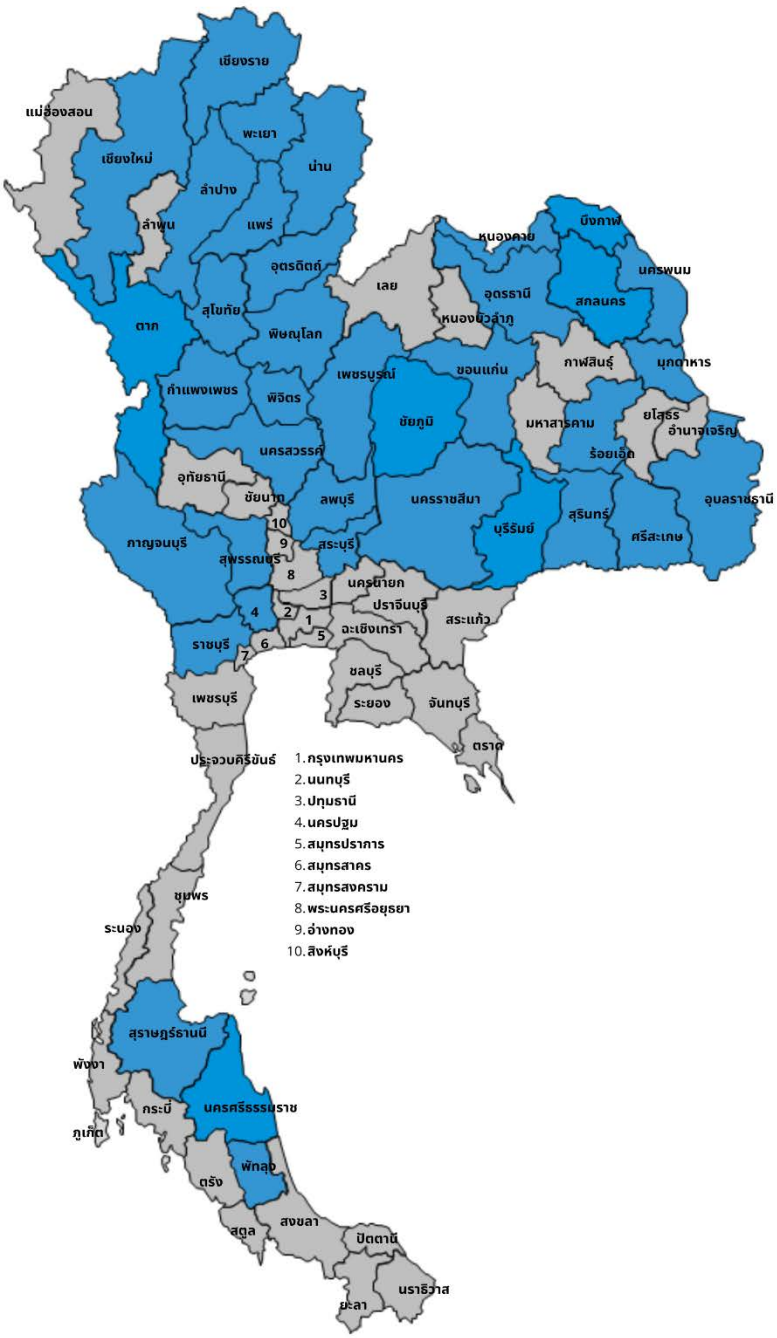



**Figure 2** The tomato and chili plantations (shown in green) had been surveyed during October 2021 – March 2025

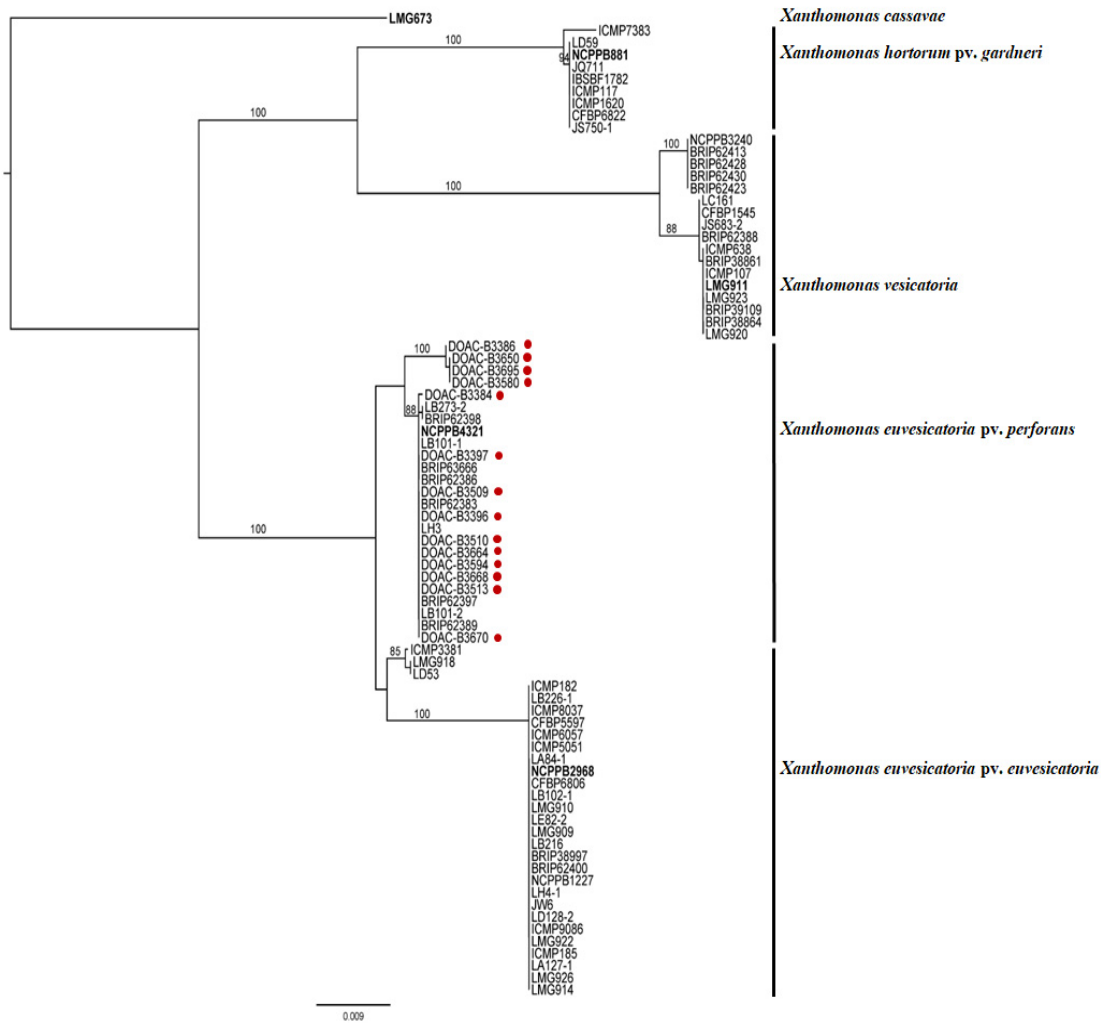



**Figure 3** A maximum-likelihood tree, based on concatenated nucleotide sequences of *atpD*, *dnaK*, *efp*, and *gyrB*, illustrates the relationships among 14 isolates from tomato and the type strains of various species. Bootstrap values, calculated from 1000 replicates, are indicated at the branch nodes

# การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis* ในประเทศไทย

# Survey and Surveillance of *Pseudocercospora angolensis* in Thailand

**วานิช คำพานิช[1/] ธิดาวรรณ ชมเดช[1/] ชนินทร ดวงสอาด[2/] ดนัย ชัยเรือนแก้ว[1/]**
**พรรณิภา เปชัยศรี[1/] ชุติมา อ้อมกิ่ง[1/] โสภา มีอำนาจ[1/] ชลธิชา รักใคร่[1/]**
**ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[3/] อภินันท์ เอี่ยมสุวรรณสุข[1/]**
**[1/]กลุ่มวิจัยการกักกัน สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
**[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
**[3/]ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

## Abstract

*Pseudocercospora angolensis* (*Phaeoramularia angolensis*) is a quarantine pest of Thailand, was studied to confirm its current status and address the issue of exporting citrus fruits to the European Union. The EU requires that the products come from areas free of this pathogen. The study involved creating a manual for systematic pest survey planning and monitoring, as well as conducting targeted surveys in accordance with the International Standards for Phytosanitary Measures No. 6 (Surveillance) from October 2021 to March 2025. Surveys were carried out in 17 provinces where pomelos are grown, with 183 leaf and fruit spot samples collected, and in 26 provinces where tangerine are grown, with 375 leaf and fruit spot samples collected. The samples were sent for diagnostic testing at the Plant Protection Research and Development Office using the tissue transplanting method and following the European Food Safety Authority's procedures, with confirmation through the polymerase chain reaction (PCR) method. The diagnostic results revealed that none of the fungi were *P. angolensis*, confirming that this fungus remains a quarantine pest of Thailand. The findings also showed that the fungi found in both pomelos and tangerines were not the target pathogen, thereby confirming the continued status of *P. angolensis* as a quarantine pest of Thailand.

**Keywords :** Survey, Surveillance, Status, *Pseudocercospora angolensis*

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-05-65

**บทคัดย่อ**

เชื้อรา *Pseudocercospora angolensis* (*Phaeoramularia angolensis*) ที่ถูกประกาศเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยเพื่อยืนยันสถานภาพที่เป็นปัจจุบันและแก้ปัญหาการส่งออกผลพืชวงศ์ส้มไปสหภาพยุโรปซึ่งมีข้อกำหนดว่าต้องมาจากแหล่งผลิตที่ปราศจากเชื้อนี้ โดยการจัดทำคู่มือการสำรวจ วางแผนการสำรวจและเฝ้าระวังศัตรูพืชอย่างมีระบบ และดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (การเฝ้าระวัง) ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือนมีนาคม 2568 ในพื้นที่ปลูกส้มโอ 17 จังหวัด ทำการสุ่มตัวอย่างใบจุดและผลจุด 183 ตัวอย่าง และพื้นที่ปลูกส้มเขียวหวาน 26 จังหวัด สุ่มตัวอย่างใบจุดและผลจุด375 ตัวอย่าง นำมาตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ด้วยวิธีการ tissue transplanting และตามวิธีการของ European Food Safety Authority และตรวจยืนยันด้วยวิธี polymerase chain reaction ผลการตรวจวินิจฉัยพบว่า เชื้อราทั้งหมดไม่ใช่เชื้อรา *P. angolensis* ทำให้สามารถยืนยันได้ว่าเชื้อราดังกล่าวยังคงสถานภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย ผลการตรวจสอบ พบว่าเชื้อราที่พบในส้มโอและส้มเขียวหวานไม่ใช่เชื้อรา ทำให้สามารถยืนยันสถานภาพได้ว่าเชื้อราดังกล่าวยังคงสถานภาพศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย


**คำหลัก :** การสำรวจ, การเฝ้าระวัง, สถานภาพ, เชื้อรา *Pseudocercospora angolensis*

**คำนำ**

เชื้อรา *Pseudocercospora angolensis* เป็นเชื้อราที่มีชื่อพ้องกับ *Phaeoramularia angolensis* ซึ่งเป็นศัตรูกักกัน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้าม ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 (ฉบับที่ 6) และ CABI (2019) รายงานว่า *Pseudocercospora angolensis* เป็นเชื้อราสาเหตุของโรคใบจุด และผลจุดของพืชวงศ์ส้มหลายสกุล ในปี 1998 มีรายงานว่า เชื้อรา *P. angolensis* เมื่อทำลายส้มบางพันธุ์แสดงอาการใบจุด ผลจุด และสามารถทำให้ผลผลิตลดลงได้ถึง 50-100% รวมทั้งสร้างความเสียหายในระดับเศรษฐกิจ (CABI, 2019) เชื้อราชนิดสามารถแพร่กระจายได้โดยลม และสามารถไปผลและส่วนขยายพันธุ์ เช่น กิ่งพันธุ์ต้นตอ สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. angolensis* คือ สภาพอากาศอบอุ่น มีความชื้นสัมพัทธ์สูง (European Food Safety Authority, 2017; 2022) ทำให้หลายประเทศให้ความสำคัญกับเชื้อราชนิดนี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ได้มีข้อกำหนดสำหรับการนำเข้าพืชวงศ์ส้มจากประเทศที่สาม เช่น ประเทศไทย คือ ผลพืชวงศ์ส้มที่ต้องการส่งออกไปประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรปต้องมาจากแหล่งหรือพื้นที่ที่ปราศจากเชื้อรา *P. angolensis* และประกอบกับประเทศไทยนำเข้าผลสดของส้มจากหลายประเทศ ได้แก่ เครือรัฐออสเตรเลีย ญี่ปุ่น แอฟริกาใต้ สาธารณรัฐประชาชนจีน จึงมีความเสี่ยงที่เชื้อรา *P. angolensis* อาจติดมากับส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช และผลผลิตพืชที่นำเข้าจากต่างประเทศ ดังนั้นจึงมีความ

จำเป็นต้องสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *P. angolensis* ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (การเฝ้าระวัง) เพื่อยืนยันสถานภาพการปรากฏและไม่ปรากฏของในพื้นที่ปลูกพืชอาศัยของเชื้อราที่เป็นปัจจุบันและแก้ปัญหาการส่งออกไปสหภาพยุโรปซึ่งมีข้อกำหนดว่าต้องมาจากแหล่งผลิตที่ปราศจากเชื้อรานี้ รวมทั้งใช้เป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และการรายงานศัตรูพืชต่อไป

## วิธีดำเนินการ

**อุปกรณ์**

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างได้แก่ ถุงพลาสติก กระดาษบันทึก ปากกาเคมี เครื่องระบุพิกัดภูมิศาสตร์

2. วัสดุและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง อ่างควบคุมอุณหภูมิ เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เครื่องแยกวิเคราะห์สารพันธุกรรม

3. เครื่องถ่ายภาพสารพันธุกรรม

4. อุปกรณ์ทำตัวอย่างแห้ง เช่น กระดาษหนังสือพิมพ์ ไม้อัดตัวอย่าง กระดาษฟางซองกระดาษสำหรับใส่ตัวอย่าง

5. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง ขวดดูแรน บีกเกอร์ ปิเปต สไลด์ และแผ่นแก้วปิดสไลด์ กระบอกตวง แท่งแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์เข็มเขี่ยปลายแหลม ห่วงถ่ายเชื้อ ปากคีบ ใบมีดผ่าตัด

6. กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound พร้อมกล้องถ่ายภาพ

7. สารเคมีที่ใช้ในการแยกและจำแนกชนิดของเชื้อรา ได้แก่ อาหารแยกและเลี้ยงเชื้อ water agar (WA) potato dextrose agar (PDA) สีย้อมเชื้อรา

8. สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ ได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ และ เอธิลแอลกอฮอล์ 75%

9. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ สกัดดีเอ็นเอ และทำปฏิกิริยา PCR

10. คู่มือสำรวจและจัดจำแนกชนิดของเชื้อ

**วิธีการ**

**1. การรวบรวมข้อมูลเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis***

สืบค้นรวบรวมข้อมูลเชื้อรา *P. angolensis* เช่น รายละเอียดของเชื้อ อนุกรมวิธาน ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง รูปร่างลักษณะ การเข้าทำลาย พืชอาศัย การแพร่ระบาดพร้อมรูปภาพประกอบเป็นต้น จากทั้งในและต่างประเทศ ฐานข้อมูล จาก เอกสารวิชาการ วารสาร รายงานการประชุม สัมมนาทางวิชาการและหน่วยงานอื่นที่เกี่ยวข้อง

**2. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis***

ทำการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *P. angolensis* ตามมาตรฐาน ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ดำเนินการสำรวจและเฝ้าระวังตามมาตรฐาน ISPMs ฉบับที่ 6 (Surveillance) ในแปลงปลูกพืชวงศ์ส้ม โดยดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลเชื้อรา *P. angolensis* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด ตามขั้นตอนต่อไปนี้

2.1 การสำรวจ

- กำหนดพื้นที่ แหล่งปลูกพืชวงศ์ส้ม ได้แก่ พื้นที่ผลิตส้มโอและส้มเขียวหวาน เช่น จังหวัดเชียงราย พิจิตร พิษณุโลก นนทบุรี ฉะเชิงเทรา นครนายก กาญจนบุรี ราชบุรี นครปฐม สมุทรสงคราม ชัยนาท ปทุมธานี จันทบุรี ตราด และจังหวัดนครศรีธรรมราช และพื้นที่ปลูกส้มเขียวหวาน เช่น จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ พะเยา น่าน แพร่ อุตรดิตถ์ สุโขทัย พิษณุโลก พิจิตร ศรีสะเกษ เลย นครราชสีมา กรุงเทพฯ ปทุมธานี ชัยนาท กาญจนบุรี นครปฐม ราชบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม ระยอง ฉะเชิงเทรา จันทบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร และจังหวัดนครศรีธรรมราช

- วางแผนการสำรวจ ทำการแบบเฉพาะเจาะจง (Specific survey) ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No. 6) โดยทำการสำรวจตรวจหา (Detection survey) เพื่อสืบค้นหาศัตรูพืชเป้าหมาย สำรวจในพื้นที่อย่างน้อย 10 แปลงต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบ โดยเดินแบบตัวยู

2.2 วิธีการตรวจเชื้อรา *P. angolensis* ในแปลง เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจหาเชื้อในห้องปฏิบัติการ

**3. การตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อราที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง**

3.1 วิธีการตรวจเชื้อรา *P. angolensis*

สำรวจและเก็บตัวอย่างโดยสังเกตจากลักษณะอาการของโรคที่พบเปรียบเทียบกับคู่มือและบันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการของโรคบนใบ ผลที่แสดงอาการคล้ายโรคตามคู่มือการสำรวจ รวมทั้งสุ่มเก็บตัวอย่างพืชปกติ มาตรวจสอบเชื้อราและจัดจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการพร้อมบันทึกข้อมูลแปลงและลักษณะอาการของโรค

3.2 การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

3.2.1 ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนใบและส่วนของผลของพืชวงศ์ส้ม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) และ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 3-5 วัน เมื่อพบเส้นใยของเชื้อราให้นำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อรามาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนใบและผลของพืชเพื่อตรวจสอบดูลักษณะต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope) ถ่ายรูปลักษณะเชื้อและบันทึกลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อ

3.2.2 แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ โดยวิธี Tissue transplanting ตามขั้นตอน ดังนี้

นำส่วนของพืช เช่น ใบ หรือเปลือกผลพืชที่เป็นโรคมาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซับบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร water agar (WA) และPotato Dextrose Agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 5-7 วัน หลังจากนั้นแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ และนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

3.3 การจำแนกชนิดเชื้อรา *P. angolensis* ตามวิธีการของ European Food Safety Authority (EFFA, 2017; 2022)

3.3.1 ศึกษาลักษณะทางชีววิทยา เช่น ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ สรีรวิทยา รูปร่างลักษณะของเชื้อรา mount slide ด้วยน้ำ หรือ shear's solution และนำไปจำแนกชนิดของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope)

3.3.2 หากตรวจพบตัวอย่างเชื้อราที่สงสัยหรือไม่สามารถจัดจำแนกโดยวิธีการทางสัณฐานวิทยาได้ จึงทำการตรวจยืนยัน โดยวิธี Polymerase chain reaction (PCR) ลำดับเบส ITS1, ITS2 และตำแหน่ง 5.8s ribosomal DNA ที่อยู่ใน GenBank เพื่อเปรียบเทียบ

**4. รวบรวมข้อมูลการสำรวจและการตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ**

โดยทำการวิเคราะห์สถานภาพศัตรูพืช สรุปผล และจัดทำรายงานผลการวิจัยสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *P. angolensis* ในประเทศไทย

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. บันทึกรายละเอียดตำแหน่งพิกัดของแปลงปลูกพืชวงศ์ส้มที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
2. บันทึกข้อมูลจำนวนแปลง และจำนวนตัวอย่างที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
3. บันทึกข้อมูลชนิดพืช ขนาดพื้นที่ปลูก ระยะการเจริญเติบโต และสภาพแวดล้อมอื่น ๆ
4. บันทึกลักษณะอาการการเกิดโรค ส่วนของพืชที่พบอาการของโรค ประเมินความรุนแรงของโรค และการแพร่กระจายในพื้นที่
5. บันทึกข้อมูลชนิดของเชื้อสาเหตุโรคพืชและลักษณะเชื้อสาเหตุที่ตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2564 – มีนาคม 2568

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. แปลงปลูกพืชวงศ์ส้ม (ส้มโอและส้มเขียวหวาน) ในประเทศไทย

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. การรวบรวมข้อมูลเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis***

*Pseudocercospora angolensis* (T. de Carvalho & O. Mendes) Crous & U. Braun 2003

ชื่อสามัญ: Cercospora fruit and leaf spot, cercosporiose of citrus fruit and leaf spot of citrus และ Phaeoramularia fruit and leaf spot

อนุกรมวิธาน

Phylum: Ascomycota

Subphylum: Pezizomycotina

Class: Dothideomycetes

Subclass: Dothideomycetidae

Order: Capnodiales

Family: Mycosphaerellaceae

Genus: *Pseudocercospora*

Species: *Pseudocercospora angolensis*

เชื้อรา *P. angolensis* เป็นเชื้อราที่มีชื่อพ้องกับ *Phaeoramularia angolensis* ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกัน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้าม ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 (ฉบับที่ 6) และ CABI (2019b) รายงานว่า *Pseudocercospora angolensis* เป็นเชื้อราสาเหตุของโรคใบจุด ผลจุดของพืชวงศ์ส้ม ได้แก่ สกุล *Citrus aurantiifolia* (มะนาว), *C. aurantium* (ส้ม), *C.deliciosa* (ส้ม), *C. jambhiri* (มะนาว), *Citrus latifolia* (มะนาวตาฮิติ), *C. limon* (มะนาว), *C. maxima* (ส้มโอ), *C. medica*, *C. reticulata* (ส้มแมนดาริน), *C. sinensis* (ส้นนาเวล), *C. unshiu* (ส้มอุนชุ), *Citrus x paradisi* (grapefruit) และ *Fortunella japonica* (round kumquat) (CABI, 2019) และในปี 1998 มีรายงานว่า เชื้อรา *P. angolensis* เมื่อทำลายส้มบางพันธุ์แสดงอาการใบจุด ผลจุด (ภาพที่ 9) และสามารถทำให้ผลผลิตลดลงได้ถึง 50-100 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งสร้างความเสียหายในระดับเศรษฐกิจ (CABI, 2019b) เชื้อราชนิดสามารถแพร่กระจายได้ โดยลม และสามารถไปผลและส่วนขยายพันธุ์ เช่น กิ่งพันธุ์ ต้นตอ สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. angolensis* คือ สภาพอากาศอบอุ่น มีความชื้นสัมพัทธ์สูง (European Food Safety Authority, 2017) ทำให้หลายประเทศให้ความสำคัญกับเชื้อราชนิดนี้ ซึ่งมีความเสี่ยงสูงต่อการผลิตส้มในพื้นที่ปลูก เนื่องจากเชื้อสามารถติดมากับผล ใบ ส่วนขยายพันธุ์พืช รวมทั้งสามารถเจริญเติบโตและแพร่กระจายได้ดีหากมีสภาพแวดล้อมเหมาะสมและสามารถสร้างความเสียหายทำให้ผลผลิตได้ทั้งเชิงปริมาณและคุณภาพ รวมทั้งส่งกระทบต่อการค้าระหว่างประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) จึงมีข้อกำหนดสำหรับการนำเข้าพืชวงศ์ส้มจากประเทศที่สาม เช่น ประเทศไทย คือ ผลพืชวงศ์ส้มที่ต้องการส่งออกไปประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรปต้องมาจากแหล่งหรือพื้นที่ที่ปราศจาก *P. angolensis* จากการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *P. angolensis* ในประเทศไทย

**2. การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis***

ผลการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *P. angolensis*ในประเทศไทย โดยสำรวจและเก็บตัวอย่างอาการใบจุด และผลจุด ในพื้นที่พืชวงศ์ส้ม ได้แก่ พื้นที่ผลิตส้มโอ 17 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงราย

พิจิตร พิษณุโลก นนทบุรี ฉะเชิงเทรา นครนายก กาญจนบุรี ราชบุรี นครปฐม สมุทรสงคราม ชัยนาท อ่างทอง ปทุมธานี จันทบุรี ตราด ศรีสะเกษ และจังหวัดนครศรีธรรมราช จำนวน 183 ตัวอย่าง และพื้นที่ปลูกส้มเขียวหวาน จำนวน 26 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ พะเยา น่าน แพร่ อุตรดิตถ์ สุโขทัย พิษณุโลก พิจิตร ศรีสะเกษ เลย นครราชสีมา กรุงเทพฯ ปทุมธานี ชัยนาท กาญจนบุรี นครปฐม ราชบุรี สมุทรสาคร สมุทรสงคราม ระยอง ฉะเชิงเทรา จันทบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร และนครศรีธรรมราช จำนวน 375 ตัวอย่าง นำตัวอย่างอาการใบจุดและผลจุดของส้มโอและส้มเขียวหวาน (Figure 1) มาแยกเชื้อด้วยวิธีการ tissue transplanting และตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการตามวิธีการของ European Food Safety Authority และตรวจยืนยันด้วยวิธี polymerase chain reaction ผลการตรวจวินิจฉัยพบว่า เชื้อราทั้งหมดไม่ใช่เชื้อรา *P. angolensis* ทำให้สามารถยืนยันได้ว่าเชื้อราดังกล่าวยังคงสถานภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย ผลการวินิจฉัย พบว่าเชื้อราที่พบบนใบและผลของส้มโอ และส้มเขียวหวานไม่ใช่เชื้อรา *P. angolensis*

**3. สรุปผลการศึกษาสถานภาพของเชื้อรา *Pseudocercospora angolensis***

การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *P. angolensis* แบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) ตามมาตรฐาน ISPM ฉบับที่ 6 (เฝ้าระวัง) ในพื้นที่ปลูกส้มโอ 17 จังหวัด และพื้นที่ปลูกส้มเขียวหวาน 26 จังหวัด ไม่ปรากฏพบเชื้อรา *P. angolensis* ทำให้สามารถยืนยันได้ว่าเชื้อราดังกล่าวยังคงสถานภาพในการเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย และประเทศไทยยังคงเป็นพื้นที่ปลอดจากเชื้อรา *P. angolensis*

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *P. angolensis* ในประเทศไทยโดยการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) ตามมาตรฐาน ISPM ฉบับที่ 6 ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - เดือนมีนาคม 2568 ในแปลงปลูกของพืชวงศ์ส้ม ได้แก่ พื้นที่ผลิตส้มโอ 17 จังหวัด และพื้นที่ปลูกส้มเขียวหวาน 26 จังหวัด นำตัวอย่างส้มโอ และส้มเขียวหวานมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ผลการตรวจสอบ พบว่า เชื้อราทั้งหมดไม่ใช่เชื้อรา *P. angolensis* ทำให้สามารถยืนยันได้ว่าเชื้อราดังกล่าวยังคงสถานภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน (quarantine pest) ของประเทศไทย ทั้งนี้จำเป็นต้องสำรวจและเฝ้าระวังอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้เป็นไปตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No. 6)

**คำแนะนำ**

หากตรวจพบเชื้อรา *P. angolensis* ด้วยวิธีการทางสัณฐานวิทยาไม่เพียงพอที่จะยืนยันว่าพื้นที่ปลูกพืชพบเชื้อราดังกล่าวทันที ควรตรวจยืนยันอีกครั้งด้วยวิธีการทางชีวโมเลกุลประกอบการยืนยันสถานภาพของเชื้อราในพื้นที่ใด พื้นที่หนึ่งนั้นด้วย รวมทั้งหาแนวทางรวมถึงมาตรการจัดการศัตรูพืชนั้น ๆ เพื่อลดปัญหาผลกระทบทางด้านสุขอนามัยพืชสำหรับการส่งออกไปจำหน่ายยังประเทศที่มี

ความเข้มงวด หรือประเทศที่มีการกำหนดทางเลือก (option) เช่น ทางเลือกภายใต้ Commission Implementing Regulation (EU) 2019/2072 ของประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป

หากตรวจพบเชื้อรา *P. angolensis* หรือพบรายงานแจ้งเตือนเชื้อราดังกล่าว เจ้าหน้าที่และหน่วยงานที่เกี่ยวข้องจำเป็นต้องดำเนินการเข้าพื้นที่สำรวจในพื้นที่ที่มีรายงานพบเชื้อราดังกล่าว ถ้าหากตรวจพบต้องดำเนินการกำหนดมาตรการในการควบคุมการแพร่ระบาดของศัตรูพืช และส่งข้อมูลไปยังศูนย์เฝ้าระวังและติดตามการระบาดของศัตรูพืชของกรมวิชาการเกษตร เพื่อเสนอมาตรการเฝ้าระวังและควบคุมศัตรูพืชต่อไป

หากต้องการขยายพื้นที่ปลอดศัตรูพืชหรือปลอดจากเชื้อรา *P. angolensis* ในพื้นที่ที่ยังไม่เคยมีการเฝ้าระวังศัตรูพืช เจ้าหน้าที่และหน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรมีการเฝ้าระวังเพิ่มเติม และต่อเนื่องตามมาตรฐาน ISPM ฉบับที่ 6 (การเฝ้าระวัง) และ ISPM ที่เกี่ยวข้อง

## คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนงบประมาณในการศึกษาวิจัย ที่ปรึกษากรมวิชาการเกษตร อดีตผู้เชี่ยวชาญด้านกักกันที่กรุณาให้คำแนะนำในการดำเนินงานวิจัย ขอขอบคุณคณะกรรมการที่ปรึกษาด้านวิชาการ ตลอดจนข้าราชการ พนักงานราชการ และพนักงานจ้างเหมาของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1-7 ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือในการทำงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2550 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 124 ง. ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550.

CABI (CAB International). 2019. *Pseudocercospora angolensis* (leaf spot of Citrus spp.). CAB International. (Online). Available. https://www.cabi.org/isc/datasheet/12184 (19 November 2019)

European Food Safety Authority (EFSA). 2017. Pest categorisation of *Pseudocercospora angolensis*. EFSA. https://efsa.onlinelibrary. wiley.com/doi/ full/10.2903/j.efsa. 2017.4883 (21 July 2017)

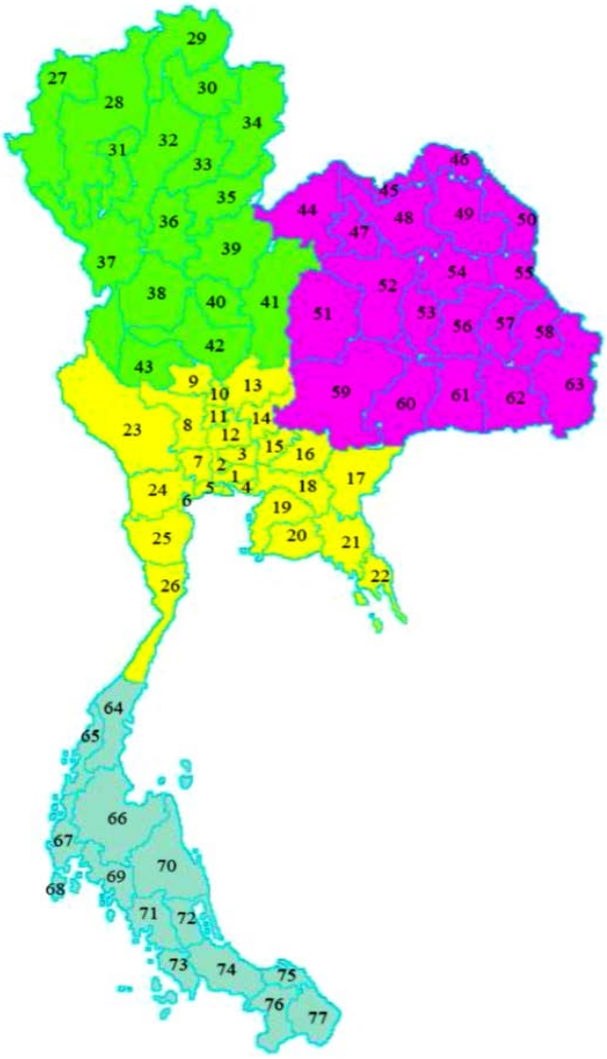
European Food Safety Authority (EFSA). 2022. Pest survey card on Pseudocercospora angolensis. EFSA. https://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/en-7548 (3 August 2022).

FAO. 2018. Surveillance. International Standards for Phytosanitary Measures (ISPM) No.6, FAO, Rome.

McMaugh, T. 2008. คำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก. ACIAR Monograph No. 119c.

**Figure 1** Symptoms of *Pseudocercospora angolensis* of *Citrus* sp.

**Source:** M.C. Pretorius, 2005



| Northern Region | |
|---|---|
| 27. Mae Hong Son | 36. Sukhothai |
| 28. Chiang Mai | 37. Tak |
| 29. Chiang Rai | 38. Kamphaeng Phet |
| 30. Phayao | 39. Phitsanulok |
| 31. Lamphun | 40. Phichit |
| 32. Lampang | 41. Phetchabun |
| 33. Phrae | 42. Nakhon Sawan |
| 34. Nan | 43. Uthai Thani |
| 35. Uttaradit | |

| North-Eastern Region | |
|---|---|
| 44. Loei | 54. Kalasin |
| 45. Nong Khai | 55. Mukdahan |
| 46. Bueng Kan | 56. Roi Et |
| 47. Nong Bua Lam Phu | 57. Yasothon |
| 48. Udon thani | 58. Amnat Charoen |
| 49. Sakon Nakhon | 59. Nakhon Ratchasima |
| 50. Nakhon Phanom | 60. Buri Ram |
| 51. Chaiyaphum | 61. Surin |
| 52. Khon Kaen | 62. Si Sa Ket |
| 53. Maha Sarakham | 63. Ubon Ratchathani |

| Central Plain Region | |
|---|---|
| 1. Bangkok | 13. Lop Buri |
| 2. Nonthaburi | 14. Sarabuti |
| 3. Pathum Thani | 15. Nakhon Nayok |
| 4. Samut Prakan | 16. Prachin Buri |
| 5. Samut Sakhon | 17. Sa Kaeo |
| 6. Samut Songkhram | 18. Chachoengsao |
| 7. Nakhon Pathom | 19. Chon Buri |
| 8. Suphan Buri | 20. Rayong |
| 9. Chai Nat | 21. Chanthaburi |
| 10. Sing Buri | 22. Trat |
| 11. Ang Thong | 23. Kanchanaburi |
| 12. Phra Nakhon Si Ayutthaya | 24. Ratchaburi |
| | 25. Phetchaburi |
| | 26. Prachuap Khiri Khan |

| Southern Region | |
|---|---|
| 64. Chumphon | 71. Trang |
| 65. Ranong | 72. Phatthalung |
| 66. Surat Thani | 73. Satun |
| 67. Phang-Nga | 74. Songkhla |
| 68. Phuket | 75. Pattani |
| 69. Krabi | 76. Yala |
| 70. Nakhon Si Thammarat | 77. Narathiwat |

**Figure 2** Map of Thailand

# การสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *Verticillium albo-atrum* ในประเทศไทย

# Survey and Surveillance of *Verticillium albo-atrum* in Thailand

ธิดาวรรณ ชมเดช[1/] วานิช คำพานิช[1/] ชนินทร ดวงสอาด[2/]
โสภา มีอำนาจ[1/] ดนัย ชัยเรือนแก้ว[1/] พรรณิภา เปชัยศรี[1/]
[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

## Abstract

*Verticillium albo-atrum* is a plant pathogen that has not been reported in Thailand and is classified as a quarantine pest under Order No. 67 of the Ministry of Agriculture and Cooperatives, which specifies prohibited pests under the Plant Quarantine Act B.E. 2507 (1974) (No. 6) B.E. 2550 (2007). To confirm the status of *V. albo-atrum* in Thailand, surveillance for this pathogen was conducted by performing targeted surveys according to the International Standards for Phytosanitary Measures No. 6 (surveillance: ISPM No.6) and guidelines for pest surveillance in the Asia and Pacific region. This was carried out in chili pepper and tomato cultivation areas, which are main host plants, across 22 provinces and 165 cultivation sites from October 2021 to March 2025. No *V. albo-atrum* was detected in laboratory tests of the collected samples during the study. Therefore, Thailand remains free from *V. albo-atrum* and continues to uphold its status as a quarantine pest as specified in the Ministry of Agriculture and Cooperatives' Order No. 67 under the Plant Quarantine Act B.E. 2507 (1974) (No. 6) B.E. 2550 (2007).

**Keywords :** Surveillance, *Verticillium albo-atrum*, chili, pepper, tomato

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-06-65

## บทคัดย่อ

เชื้อรา *Verticillium albo-atrum* เป็นศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทยและเป็นศัตรูพืชกักกัน ลำดับที่ 67 ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 และเพื่อยืนยันสถานภาพของเชื้อรา *V. albo-atrum* ในประเทศไทย จึงดำเนินการเฝ้าระวังเชื้อรา *V. albo-atrum* โดยดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (surveillance: ISPM No.6) และคำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก ในแหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศซึ่งเป็นพืชอาศัยหลัก จำนวน 22 จังหวัด 165 แหล่งปลูก ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ.2564 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2568 เมื่อสุ่มเก็บตัวอย่างมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ระหว่างการศึกษาตรวจแล้วไม่พบเชื้อรา *V. albo-atrum* ดังนั้นประเทศไทยยังคงเป็นพื้นที่ปลอดเชื้อรา *V. albo-atrum* และยังคงความเป็นศัตรูพืชกักกัน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550


**คำหลัก :** การสำรวจ, สถานภาพ, พริก, มะเขือเทศ, เชื้อรา *Verticillium albo-atrum*

## คำนำ

เชื้อรา *Verticillium albo-atrum* เป็นศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทยและเป็นศัตรูพืชกักกัน (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550) เชื้อรา *V. albo-atrum* เป็นสาเหตุโรคในเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น พริก มะเขือเทศ มันฝรั่ง ฮอปส์ (hops เชื้อรานี้เมื่อเข้าทำลายพืชทำให้ใบแก่เหี่ยวและมีสีเหลือง เมื่อเชื้อโรครุนแรงขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลลุกลามเข้าไปในเนื้อใบทำให้ใบมีรูปร่างเป็นรูปตัววี (V-shape) จากนั้นใบแก่ทั้งหมดจะเหี่ยว และแห้งตาย ต่อมาเมื่อตัดโคนต้นตามขวาง ลำต้นจะมีสีน้ำตาลอ่อนๆ และจุดสีน้ำตาลเข้มกระจายอยู่ทั่วไปตามท่อน้ำ ท่ออาหาร ตลอดจนทำให้โคนต้นมีสีน้ำตาลถึงดำ ระบบรากถูกทำลาย นอกจากนี้เชื้อรายังสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ 2-30% ส่งผลทำให้ผลผลิตและคุณภาพของพืชลดลง (Goicoechea, 2006) และด้วยประเทศไทยมีการนำเข้าพริกและมะเขือเทศ (Tomato; *Solanum lycopersicum* L.) จากหลายประเทศทั่วโลกเพื่อใช้ในปลูกขยายพันธุ์ ผลิตพ่อ-แม่พันธุ์ และผลิตเพื่อบริโภคผลสดภายในประเทศ จึงมีความเสี่ยงที่เชื้อรา *Verticillium albo-atrum* จะติดเข้ามากับส่วนที่นำเข้าได้ จึงจำเป็นต้องมีการเฝ้าระวังเชื้อรา *V. albo-atrum* ในพื้นที่ปลูกพริกและมะเขือเทศของประเทศไทยซึ่งเป็นพืชอาศัยหลัก เพื่อเป็นการยืนยันสถานภาพจึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังศัตรูพืชชนิดนี้ในพื้นที่ปลูกพริกและมะเขือเทศของประเทศอย่างเป็นระบบตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (surveillance: ISPM No.6) (FAO, 2018) และคำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก (McMaugh, 2008) เพื่อเป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่อง

การปลอดศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชและการรายงานศัตรูพืชอีกด้วย

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงพลาสติก ถุงกระดาษ กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ไม้ทับตัวอย่าง กระดาษ หนังสือพิมพ์ ซองกระดาษสำหรับเก็บและรักษาตัวอย่าง

2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (centrifuge) เครื่อง Polymerase chain reaction (PCR machine) เครื่องเขย่า (vortex) เครื่อง tissue lyser gel tank เครื่องกำเนิดกระแสไฟ gel plate comb เครื่องถ่ายภาพเจล microwave micropipette ขนาด 10 100 200 และ 1000 ไมโครลิตร กล้องจุลทรรศน์แบบ compound กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ water bath และ heat block

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

4. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ บีกเกอร์ ขวดดูแรน กระบอกตวง ตะเกียงแอลกอฮอล์ plate

5. สารเคมี ได้แก่ เอนไซม์สำหรับทำปฏิกิริยา Taq DNA Polymerase Phusion High-Fidelity DNA Polymerase Proteinase K enzyme Lithium Borate buffer (LB) ชุดสำหรับการสกัดดีเอ็นเอ ได้แก่ Microbial DNA Isolation Kit Power Plant Isolation Kit ชุดสำหรับการสกัดเจล ชุดสำหรับทำความสะอาด ดีเอ็นเอ Stain G loading dye agarose gel (PCR grade) PCR water DNA ladder สีย้อมเส้นใย อาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น potato dextrose agar (PDA) และไพร์เมอร์ LROR/LR5 (Vilgalys and Hester, 1990) Ef1/Ef2 (Geiser *et al.,* 2004)

6. Sequence assemble programs เช่น Geneious version 8.1.9

7. คู่มือสำรวจและจัดจำแนกชนิดของเชื้อ

### วิธีการ

**1. สืบค้นข้อมูล**

- สืบค้นข้อมูลลักษณะของเชื้อรา *Verticillium albo-atrum* ได้แก่ รายละเอียดของเชื้อ ชื่อพ้อง ชื่อวิทยาศาสตร์ และลักษณะอาการโรค การเข้าทำลาย การแพร่ระบาด พร้อมรูปภาพ

- สืบค้นข้อมูลของพืชอาศัยของเชื้อรา *Verticillium albo-atrum* ได้แก่ ชนิดของพืชอาศัย ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ความต้านทานและความอ่อนแอต่อโรค เป็นต้น

- สืบค้นข้อมูลพื้นที่ปลูกพริกและมะเขือเทศในประเทศ

**2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ**

โดยรวบรวมข้อมูลลักษณะเชื้อ ลักษณะอาการโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Verticillium albo-atrum* พร้อมรูปภาพสีเพื่อใช้ในการตรวจสอบอาการที่พบในแปลง ตลอดจนรายละเอียดของอาการที่

มีลักษณะคล้ายกับอาการของพืชเป้าหมาย และจัดทำแบบฟอร์มการสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูลชื่อเกษตรกร สถานที่ วันที่เก็บ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์

**3. การสำรวจ**

กำหนดพื้นที่โดยเป็นแหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศที่สำคัญในประเทศไทย ได้แก่ สระบุรี ชัยภูมิ เชียงใหม่ ลำปาง น่าน เชียงราย กาญจนบุรี ขอนแก่น มุกดาหาร นครปฐม นครราชสีมา เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สุพรรณบุรี ปทุมธานี สกลนคร นครพนม ศรีสะเกษ อุดรธานี กาฬสินธุ์ เพชรบูรณ์ และพิษณุโลก วางแผนการสำรวจอย่างมีระบบ (systematic surveys) สำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific surveys) ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (surveillance: ISPM No.6) (FAO, 2018) และคำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก (McMaugh, 2008) สำรวจอย่างน้อย 5 แปลงต่อพื้นที่ เก็บตัวอย่างที่สงสัยว่าเป็นโรค โดยให้สังเกตจาก ลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือ และบันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างที่แสดงอาการคล้ายกับโรค ที่เกิดจากเชื้อรา *V. albo-atrum* ตามคู่มือการสำรวจ และสำหรับต้นปกติ สุ่มเก็บตัวอย่าง มาตรวจหาเชื้อในห้องปฏิบัติการ

**4. การตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อราที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง**

**4.1 วิธีการแยกเชื้อรา *Verticillium albo-atrum***

**ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช**

ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนใบเพื่อดูการเข้าทำลายของเชื้อที่ใบและลำต้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณท่อน้ำและท่ออาหารภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ นาน 5-10 วัน เมื่อพบเชื้อราสร้างเส้นใยหรือ conidium ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เข็มเขี่ยส่วนของเส้นใยมาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนใบและส่วนของท่อน้ำ ท่ออาหารให้บางๆ และตรวจดูลักษณะต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound ถ่ายรูปลักษณะเชื้อและบันทึกลักษณะต่างๆ ของเชื้อ

**แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplanting**

นำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซับบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ ห้องปฏิบัติการ นาน 7-21 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ และเลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA)

**4.2 การจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืช**

ศึกษารูปร่างลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจดูลักษณะเส้นใย conidiophore และสปอร์ และศึกษาลักษณะของสปอร์และโครงสร้างอื่น ๆ ของเชื้อรา โดยการ mount slide ด้วยน้ำหรือ shear's solution ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี ลักษณะของสปอร์ conidiophore สี ขนาด

ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound บันทึกขนาด รูปร่างวาดภาพ และบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพหากตรวจพบตัวอย่างเชื้อราที่สงสัยหรือไม่สามารถจัดจำแนกโดยวิธีการทางสัณฐานวิทยาได้จึงทำการตรวจยืนยัน โดยวิธี Polymerase chain reaction (PCR)

**5. รวบรวมข้อมูลที่ได้จากการสำรวจและสรุปผลการทดลอง**

การบันทึกข้อมูล โดยเก็บรวบรวมข้อมูลที่ได้ในรูป data sheet เพื่อใช้ในการวิเคราะห์สถานภาพศัตรูพืช จัดทำรายงานผลการวิจัย รวบรวมบันทึกข้อมูลจากการเฝ้าระวังเชื้อรา *V. albo-atrum* ที่ทำการสำรวจในประเทศไทย ดังนี้

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

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2564 - มีนาคม 2568

สถานที่ 1) ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2) แหล่งปลูกพืชอาศัยในประเทศไทย

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสืบค้นข้อมูลเพื่อจัดทำข้อมูล พบว่า เชื้อรา *Verticillium albo-atrum* เป็นศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทยและเป็นศัตรูพืชกักกัน ลำดับที่ 67 ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550) เชื้อรา *V. albo-atrum* เป็นสาเหตุโรคในเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น พริก มะเขือเทศ มันฝรั่ง ฮอปส์ (hops) เชื้อราชนิดนี้มีแหล่งแพร่กระจายดังนี้ แองโกลา เอธิโอเปีย เคนยา มาดากัสการ์ มาลาวี โมร็อคโค ไนจีเรีย แทนซาเนีย ตูนิเซีย ซาอีร์ ซิมบับเว อัฟกานิสถาน สาธารณรัฐประชาชนจีน อิหร่าน อิสราเอล เลบานอน ปากีสถาน ฟิลิปปินส์ ซาอุดิอาระเบีย ไซเลีย ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ สหราชอาณาจักร บัลแกเรีย ไซปรัส เชคโกสโลวาเกีย เดนมาร์ค ฟินแลนด์ ฝรั่งเศส เยอรมนี กรีซ ฮังการี อิตาลี เนเธอร์แลนด์ นอร์เวย์ โปแลนด์ โปรตุเกส โรมาเนีย สเปน สวีเดน สวิสเซอร์แลนด์ รัสเซีย ลัตเวีย ยูโกสลาเวีย แคนาดา เม็กซิโก สหรัฐอเมริกา

เบลีซ กัวเตมาลา นิคารากัว เปอร์โตริโก อาร์เจนตินา บราซิล โคลัมเบีย เอกวาดอร์ กายอานา ชิลี เปรู อุกวัย เวเนซุเอลา (CABI, 2019) เชื้อรานี้เมื่อเข้าทำลายพืชทำให้ใบแก่เหี่ยวและมีสีเหลือง เมื่อเชื้อโรครุนแรงขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลลุกลามเข้าไปในเนื้อใบทำให้ใบมีรูปร่างเป็นรูปตัววี (V-shape) จากนั้นใบแก่ทั้งหมดจะเหี่ยว และแห้งตาย ต่อมาเมื่อตัดโคนต้นตามขวาง ลำต้นจะมีสีน้ำตาลอ่อนๆ และจุดสีน้ำตาลเข้มกระจายอยู่ทั่วไปตามท่อน้ำ ท่ออาหาร ตลอดจนทำให้โคนต้นมีสีน้ำตาลถึงดำ ระบบรากถูกทำลาย นอกจากนี้เชื้อรายังสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ 2-30% ส่งผลทำให้ผลผลิตและคุณภาพของพืชลดลง (Goicoechea, 2006) และเชื้อสามารถเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไป เช่น Potato Dextrose Agar (PDA) และ Potato Dextrose Yeast Peptone (PDYP) broth นอกจากนี้มีรายงานว่าเชื้อราชนิดนี้ทำให้มะเขือเทศแสดงความเสียหายบนใบได้รุนแรงที่อุณหภูมิ 17-30 องศาเซลเซียส (Jahoun-Khiareddine, 2006) ส่วนในการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราสามารถจัดจำแนกโดยการใช้ลักษณะรูปร่าง การเจริญบนอาหาร ลักษณะทางสัณฐานวิทยารวมทั้งการใช้วิธีการทางด้านชีวโมเลกุลในการจัดจำแนกและยืนยันชนิดของเชื้อรา *V. albo-atrum* ได้ตามวิธีใน EPPO Standard PM 7/78 (1) (EPPO, 2007)

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างต้องสงสัยว่าคล้ายกับอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *V. albo-atrum* โดยสำรวจตามคู่มือการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อรา *V. albo-atrum* (Figure 1-3) ที่แหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศ ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2567 จำนวน 22 จังหวัด ในพื้นที่จังหวัดสระบุรี (4 แหล่งปลูก) ชัยภูมิ (16 แหล่งปลูก) เชียงใหม่ (3 แหล่งปลูก) ลำปาง (2 แหล่งปลูก) น่าน (1 แหล่งปลูก) เชียงราย (12 แหล่งปลูก) ขอนแก่น (23 แหล่งปลูก) มุกดาหาร (6 แหล่งปลูก) นครราชสีมา (7 แหล่งปลูก) เพชรบุรี (1 แหล่งปลูก) ประจวบคีรีขันธ์ (5 แหล่งปลูก) สุพรรณบุรี (8 แหล่งปลูก) กาญจนบุรี (21 แหล่งปลูก) นครปฐม (8 แหล่งปลูก) ปทุมธานี (4 แหล่งปลูก) สกลนคร (10 แหล่งปลูก) นครพนม (1 แหล่งปลูก) ศรีสะเกษ (12 แหล่งปลูก) อุดรธานี (5 แหล่งปลูก) กาฬสินธุ์ (4 แหล่งปลูก) เพชรบูรณ์ (7 แหล่งปลูก) และพิษณุโลก (5 แหล่งปลูก) (Table 1) นำตัวอย่างมาตรวจสอบหาเชื้อรา *V. albo-atrum* ในห้องปฏิบัติการ ระหว่างการตรวจสอบตัวอย่างแล้วไม่พบเชื้อรา *V. albo-atrum*

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจแหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศ เพื่อยืนยันสถานภาพของเชื้อรา *V. albo-atrum* ในประเทศไทย แบบเฉพาะเจาะจง ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (surveillance: ISPM No.6) (FAO, 2018) และคำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก (McMaugh, 2008) ในแหล่งปลูกพริกและมะเขือเทศซึ่งเป็นพืชอาศัยหลักของเชื้อ จำนวน 22 จังหวัด 165 แหล่งปลูก เมื่อสุ่มเก็บตัวอย่างมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ระหว่าง

การศึกษาตรวจแล้วไม่พบเชื้อรา *V. albo-atrum* ดังนั้นประเทศไทยยังคงเป็นพื้นที่ปลอดเชื้อรา *V. albo-atrum* และยังคงความเป็นศัตรูพืชกักกัน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 อย่างไรก็ตามยังต้องมีการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังอยู่ทุกๆ 3 – 5 ปี และสำรวจในพืชอาศัยอื่นเพิ่มเติม เพื่อประเทศไทยยังคงเป็นพื้นที่ปลอดเชื้อรา *V. albo-atrum* ต่อไป

## คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ ข้าราชการ พนักงานราชการ และพนักงานจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้คำแนะนำและช่วยเหลือในการทำงานวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2550 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550.

CABI (CAB International). 2019. *Verticillium albo-atrum* (Distribution). CAB International. (Online). Available. https://www.cabi.org/ ISC/abstract/ 20056500365

EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). 2007. PM 7/78 (1) *Verticillium albo-atrum and V. dahliae* on hop. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 37, 528-535.

FAO. 2018. Surveillance. International Standards for Phytosanitary Measures(ISPM) No.6, FAO, Rome.

Goicoechea., N. 2006. *Verticillium*-induced Wilt in Pepper: Physiological Disorders and Perspectives for Controlling the Disease. Plant Pathology Journal, 5: 258-265.

Jahoun-Khiareddine., H., M., Daami-Ramadi, K., Hibar, j., Robb and M., El Mahjoub. 2006. Effect of temperature on Verticillium wilt of Tomato in Tunisia. Plant Pathology Journal. 5 (1): 1-6.

McMaugh, T. 2008. คำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก .ACIAR Monograph No. 119c.

**Table 1** Detective survey of *Verticillium albo-atrum* on pepper and tomato in Thailand

| No | Production area (Province) | Source | Survey result |
|---|---|---|---|
| 1 | Saraburi | 4 | Absent |
| 2 | Chaiyaphum | 16 | Absent |
| 3 | Chiang Mai | 3 | Absent |
| 4 | Lampang | 2 | Absent |
| 5 | Nan | 1 | Absent |
| 6 | Chiang Rai | 12 | Absent |
| 7 | Khon Kaen | 23 | Absent |
| 8 | Mukdahan | 6 | Absent |
| 9 | Nakhon Ratchasima | 7 | Absent |
| 10 | Phetchaburi | 1 | Absent |
| 11 | Prachuap Khiri Khan | 5 | Absent |
| 12 | Suphan Buri | 8 | Absent |
| 13 | Kanchanaburi | 21 | Absent |
| 14 | Nakhon Pathom | 8 | Absent |
| 15 | Pathum Thani | 4 | Absent |
| 16 | Sakon Nakhon | 10 | Absent |
| 17 | Nakhon Phanom | 1 | Absent |
| 18 | Si Sa Ket | 12 | Absent |
| 19 | Udon Thani | 5 | Absent |
| 20 | Kalasin | 4 | Absent |
| 21 | Phetchabun | 7 | Absent |
| 22 | Phitsanulok | 5 | Absent |

**Figure 1** Symptoms of old leaves are pale, yellow, V-shaped brown lesions. The edges of the old leaves wither and will eventually dry up and die.Source: Courtesy of Flavia Ruiz, Erieview, Inc. และ Gerald Holmes, California Polytechnic State University

**Figure 2** Guide Survey and Surveillance of *Verticillium albo-atrum*

**Figure 3** Survey pattern and collecting sample

# การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *Ditylenchus destructor* ในประเทศไทย

# Survey and Surveillance of plant parasitic nematode *Ditylenchus destructor* in Thailand

นภลภัส บุษบงก์[1/] ไตรเดช ข่ายทอง[1/] ทมิตา โชคปิยธนากุล[1/]
วานิช คำพานิช[2/] สุรศักดิ์ แสนโคตร[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

## Abstract

*Ditylenchus destructor* is a significant quarantine plant-parasitic nematode in Thailand, posing a serious threat to agricultural production, particularly potato cultivation. This pest not only causes damage in the field but also spreads during storage through infected tubers. Surveillance of *D. destructor* was conducted from 2022 to 2024 to assess its distribution and validate its designation as a quarantine pest in Thailand. A total of 324 soil samples were collected from potato-growing areas in Chiang Mai, Lamphun, and Tak provinces, along with other host crops such as onions, garlic, and shallots. Nematode extraction was performed using Decanting and Sieving techniques with a Baermann tray. The results showed absence of *D. destructor* in all samples. Identification of plant-parasitic nematodes in the samples was conducted using the dichotomous key developed by Mai and Mullin (1996). Nine genera of plant-parasitic nematodes were identified: *Criconemoides spp.* (1.87%), *Helicotylenchus* spp. (13.24%), *Heterodera* spp. (2.80%), *Hirschmanniella* spp. (5.97%), *Hoplolaimus* spp. (2.24%), *Pratylenchus* spp. (7.28%), *Meloidogyne* spp. (44.03%), *Rotylenchulus* spp. (18.47%), and *Tylenchorhynchus* spp. (4.10%). The results confirm the status of *D. destructor* as a quarantine pest in Thailand.

**Keyword :** quaranteen pests, surveillance, phytosanitary measures, plant pest diagnosis

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-07-65

## บทคัดย่อ

ไส้เดือนฝอย *Ditylenchus destructor* เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชกักกันชนิดที่สำคัญของประเทศไทยเนื่องจากสามารถทำความเสียหายแก่การผลิตทางการเกษตรอย่างรุนแรง โดยเฉพาะมันฝรั่ง ซึ่งนอกจากสามารถทำความเสียหายในแปลงปลูกแล้วยังสามารถติดไปกับหัวมันฝรั่งและแพร่กระจายในโรงเก็บได้อีกด้วย การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *D. destructor* ในประเทศไทยเพื่อทราบข้อมูลการปรากฏหรือไม่ปรากฏของไส้เดือนฝอยชนิดนี้ในประเทศไทย เพื่อยืนยันสถานะการเป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชกักกัน ดำเนินการระหว่างปี พ.ศ. 2565-2567 โดยเก็บตัวอย่างในพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง ใน จ.เชียงใหม่ ลำพูน และ จ.ตาก รวมทั้งพืชชนิดอื่น ๆ ที่เป็นพืชอาศัยของ *D. destructor* เช่น หอมหัวใหญ่ กระเทียม และหอมแดง รวมทั้งสิ้น 324 ตัวอย่าง แยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่างดินโดยวิธี Decanting and Sieving with Bearmann Tray จากผลการตรวจตัวอย่างดินไม่ปรากฏพบไส้เดือนฝอยสกุล *Ditylenchus* ในทุกตัวอย่าง ทำสไลด์ถาวรของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ตรวจพบและเก็บรักษาจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่พบโดยใช้ dichotomous key ของ Mai and Mullin (1996) ในการจำแนกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชระดับสกุล พบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 9 สกุล คือ *Criconemoides spp.* (1.87%), *Helicotylenchus* spp. (13.24%), *Heterodera* spp. (2.80%), *Hirschmanniella* spp. (5.97%), *Hoplolaimus* spp. (2.24%), *Pratylenchus* spp. (7.28%), *Meloidogyne* spp. (44.03%), *Rotylenchulus* spp. (18.47%), and *Tylenchorhynchus* spp. (4.10%) จากผลการดำเนินงานสามารถยืนยันสถานะการเป็นศัตรูพืชกักกันของไส้เดือนฝอย *D. destructor*


**คำหลัก :** ศัตรูพืชกักกัน, การเฝ้าระวังศัตรูพืช, มาตรการสุขอนามัยพืช, การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืช

## คำนำ

ไส้เดือนฝอย *Ditylenchus destructor* Thorne ( potato tuber nematode) เป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้าม ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 (ฉบับที่ 6) และเป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่มีความสำคัญกับการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่ง มันเทศ หอมหัวใหญ่ กระเทียม หัวบีทรูท หัวแครอท ลิลลี่ ทิวลิป ไหลสตรอเบอร์รี โสม ในหลายประเทศ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน สหรัฐอเมริกา แคนาดา สหราชอาณาจักร เป็นต้น

โดยทั่วไปไส้เดือนฝอยชนิดนี้เข้าทำลายภายในหัวผ่านทางช่องเปิดธรรมชาติ จากนั้นเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็วภายในหัวพันธุ์ทำให้หัวพันธุ์มันฝรั่งถูกทำลาย และไส้เดือนฝอยยังคงความมีชีวิต และพัฒนาอยู่ในหัวพันธุ์ภายหลังการเก็บเกี่ยวได้ นอกจากนี้ไส้เดือนฝอยสามารถเคลื่อนที่อยู่ในดินได้เป็นระยะสั้นๆ และสามารถแพร่กระจายโดยติดไปกับหัวพันธุ์และดิน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในดินที่มีสภาพเย็นและชื้น นอกจากนี้ยังมีระยะฟักตัวที่ทนทานต่อสภาพแวดล้อม มีวงจรชีวิต 6-7 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และยังพบว่าเป็นปัญหาสำคัญในพื้นที่ผลิตพืชที่มี

สภาพอากาศหนาวเย็น อุณหภูมิ 15 - 20 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ มากกว่า 90% แต่ไส้เดือนฝอย *D. destructor* ไม่ทนต่อความแห้งแล้ง

ไส้เดือนฝอยชนิดนี้เมื่อเข้าทำลายมันฝรั่งจะเริ่มทำลายจากเปลือกของหัวพันธุ์และทำให้เห็นเป็นจุดเล็กสีขาวบนหัวพันธุ์ เมื่อขยายเป็นวงกว้าง จึงเปลี่ยนเป็นสีดำ และเน่าในที่สุดถ้าเก็บไว้ในสภาพที่มีความชื้น ในหัวที่เน่าจะพบว่าไส้เดือนฝอยสามารถแพร่กระจายไปยังหัวพันธุ์อื่นได้ (CABI, 2019) มีรายงานในประเทศสวีเดนว่าหัวพันธุ์มันฝรั่งปกติที่นำไปปลูกในแปลง เมื่อมีการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย *D. destructor* 0.3 - 94% ทำให้หัวใหม่แสดงอาการผิดปกติได้ถึง 41-70 % โดยน้ำหนัก ไส้เดือนฝอย *D. destructor* แยกออกจากเนื้อเยื่อพืชได้ตามวิธีการใน EPPO Standard PM 7/119 (EPPO, 2013) และสามารถจัดจำแนกชนิดได้ด้วยลักษณะสัณฐานวิทยาและเทคนิคด้านอณูชีววิทยา เช่น ITS-rRNA PCR-RFLP ด้วยไพรเมอร์ 18S: 5′-TTG ATT ACG TCC CTG CCC TTT-3′ และ 26S: 5′-TTT CAC TCG CCG TTA CTA AGG-3′ ได้แถบดีเอ็นเอขนาด 1,200 bp (Wendt *et al.*, 1995)

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างดิน
2. อุปกรณ์สำหรับแยกไส้เดือนฝอยออกจากดินและส่วนของพืช
3. อุปกรณ์สำหรับปลูกพืช
4. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงชนิดหัวกลับ
5. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ
6. คอมพิวเตอร์และอุปกรณ์ถ่ายภาพ
7. เครื่องปั่นเหวี่ยง
8. สไลด์ กระจกปิดสไลด์
9. ถ้วยนับตัวอย่าง
10. เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม
11. เครื่องอิเล็กโตโฟรีสีส
12. microcentrifuge tube, pcr tube, pipette tip
13. ชุด kit สำหรับสกัดดีเอ็นเอ
14. agarose gel, gel star, pcr buffer, pcr mix

### วิธีการ

**1. สืบค้นข้อมูล**

สืบค้นข้อมูลลักษณะของไส้เดือนฝอย *D. destructor* ได้แก่ รายละเอียดของไส้เดือนฝอย ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง รูปร่างลักษณะ การเข้าทำลาย พืชอาศัย การแพร่ระบาด พร้อมรูปภาพประกอบ

**2.จัดทำคู่มือศัตรูพืช**

รวบรวมข้อมูลอ้างอิง ข้อมูลลักษณะไส้เดือนฝอย ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชนิดของพืชอาศัย สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม แหล่งที่พบ ลักษณะอาการที่เกิดจากไส้เดือนฝอย *D. destructor* พร้อมรูปภาพสีเพื่อใช้ในการตรวจสอบอาการที่พบในแปลง ตลอดจนรายละเอียดของอาการที่มีลักษณะคล้ายกับอาการของพืชเป้าหมาย และรูปภาพลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอย

**3. จัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ**

รวบรวมข้อมูลลักษณะไส้เดือนฝอย ลักษณะอาการที่เกิดจากไส้เดือนฝอย *D. destructor* พร้อมรูปภาพสีเพื่อใช้ในการตรวจสอบอาการที่พบในแปลง ตลอดจนรายละเอียดของอาการที่มีลักษณะคล้ายกับอาการของพืชเป้าหมาย และจัดทำแบบฟอร์มการสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูลชื่อเกษตรกร สถานที่ วันที่เก็บ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์

**4. การสำรวจ**

กำหนดพื้นที่ โดยเน้นพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง ในประเทศไทย เช่น จ.ตาก เชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน และจ.พะเยา เป็นต้น รวมทั้งพื้นที่ปลูกพืชอาศัยของไส้เดือนฝอย *D. destructor* ที่สำคัญ เช่น มันเทศ หอม กระเทียม เป็นต้น

วางแผนการสำรวจ ดำเนินการสำรวจตามแนวทางในมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No. 6) เก็บตัวอย่างดินโดยแบ่งพื้นที่เป็นแปลงย่อย (grid) ขนาด 10 x 10 เมตร สุ่มเก็บตัวอย่างดินโดยเดินเก็บในลักษณะสลับฟันปลาให้ทั่วพื้นที่ เก็บดินที่ความลึก 25 เซนติเมตร ด้วย auger ขนาด 1 นิ้ว ให้ได้ตัวอย่างดินประมาณ 4 ลิตรต่อพื้นที่ 10,000 ตารางเมตร คลุกเคล้าตัวอย่างดินให้ทั่ว แล้วแบ่งตัวอย่างดิน 250 กรัม เพื่อตรวจหาไส้เดือนฝอย

5. การตรวจสอบและจำแนกไส้เดือนฝอย *D. destructor* ในห้องปฏิบัติการ

แยกไส้เดือนฝอยออกจากดิน และหัวมันฝรั่งตามวิธีใน EPPO Standard PM 7/119 แยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดินโดยคลุกเคล้าตัวอย่างดินให้ทั่ว ชั่งตัวอย่างดินหนัก 250 กรัม แยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่างดินโดยวิธีการกวนตัวอย่างดินในน้ำ 2 ลิตรและกรองน้ำส่วนบนผ่านตะแกรงโลหะที่มีขนาดช่อง 850 ไมโครเมตร วางบนตะแกรงที่มีขนาดช่อง 38 ไมโครเมตร ล้างตัวอย่างดินที่ค้างอยู่บนตะแกรงอันล่าง และนำตัวอย่างใส่ลงบนกระดาษกรอง ที่วางอยู่บนตะแกรงไนลอน วางลงในจานรองที่มีน้ำสะอาด (Decanting and Sieving with Baermann’s Tray Technique) ตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงชนิดหัวกลับ

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- บันทึกรายละเอียดตำแหน่งของแปลงปลูกที่ทำการสำรวจ/เก็บตัวอย่าง
- บันทึกข้อมูลชนิดพืช ขนาดพื้นที่ปลูก ระยะการเจริญเติบโตของพืช และสภาพแวดล้อม
- บันทึกข้อมูลชนิดของไส้เดือนฝอย และลักษณะของไส้เดือนฝอยที่ตรวจพบ

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2564 – มีนาคม 2568

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**การสืบค้นข้อมูล**

ข้อมูลรายละเอียดของไส้เดือนฝอย *Ditylenchus destructor* ได้มีการรวบรวมไว้ใน Diagnostic Protocols (DP 8: *Ditylenchus dipsaci* and *Ditylenchus destructor*) ใน International Standard for Phytosanitary Measures 27 ซึ่งจัดทำโดย Secretariat of the International Plant Protection Convention (IPPC)

*Ditylenchus destructor* หรือ potato rot nematode มีการแพร่กระจายในหลายพื้นที่ทั่วโลก โดยเฉพาะในเขตอบอุ่น (temperate regions) ซึ่งไส้เดือนฝอยชนิดนี้เป็นศัตรูที่สำคัญในการผลิตมันฝรั่ง และฮอปส์ มีพืชอาศัยมากกว่า 90 ชนิด โดยมันฝรั่งเป็นพืชอาศัยหลัก ซึ่งนอกจากจะสามารถทำความเสียหายแก่มันฝรั่งในแปลงปลูกแล้ว *D. destructor* ยังสามารถแพร่กระจายและเข้าทำลายมันฝรั่งในโรงเก็บได้ พืชอาศัยชนิดอื่น ๆ ได้แก่ *Ipomoea batatas* (sweet potato), bulbous iris (hybrids and selections derived from *Iris xiphium* and *Iris xiphioides*), *Taraxacum officinale* (dandelion), *Humulus lupulus* (hop), *Tulipa* spp. (tulip), *Leopoldia comosa* (grape hyacinth), *Hyacinthus orientalis* (hyacinth), *Gladiolus* spp. (gladiolus), *Dahlia* spp. (dahlia), *Coronilla varia* and *Anthyllis vulneraria* (vetch), *Beta vulgaris* (sugar beet), *Calendula officinalis* (marigold), *Daucus carota* (carrot), *Petroselinum crispum* (parsley) and *Trifolium* spp. (red, white and alsike clover) นอกจากนั้น *D. destructor* ยังสามารถเข้าทำลายเชื้อราและเห็ดมากกว่า 70 ชนิด *D. destructor* สามารถมีชีวิตอยู่ในสภาวะแห้งแล้งและอุณหภูมิต่ำได้ สามารถมีชีวิตข้ามฤดูได้ในระยะไข่ ไส้เดือนฝอย *D. destructor* พบในภูมิภาคต่าง ๆ เช่น ยุโรป เอเชีย แอฟริกาใต้ อเมริกาเหนือ อเมริกาใต้ และ โอเชียเนีย

**ข้อมูลด้านอนุกรมวิธาน**

ชื่อ: *Ditylenchus destructor* Thorne, 1945.

ชื่อพ้อง (synonym): ไม่มี

ตำแหน่งอนุกรมวิธาน (Taxonomic position): Nematoda, Secernentea, Diplogasteria, Tylenchida, Tylenchina, Tylenchoidea, Anguinidae

ชื่อสามัญ (Common names): Tuber-rot eelworm, potato rot nematode

พืชอาศัยและลักษณะอาการ: *Solanum tuberosum* and *Dahlia* spp.

ไม่มีลักษณะอาการที่เด่นชัดระหว่างการเจริญเติบโตของพืช *D. destructor* เข้าทำลายมันฝรั่งทาง stolons ไส้เดือนฝอยส่วนใหญ่จะอยู่ระหว่างขอบบริเวณเนื้อเยื่อที่ถูกเข้าทำลายกับเนื้อเยื่อปกติ หากตัดเนื้อเยื่อส่วนนี้ไปแช่น้ำจะพบไส้เดือนฝอยจำนวนมากออกมา ซึ่งสามารถมองเห็นได้ด้วยแว่นขยาย หัวมันฝรั่งที่ถูกเข้าทำลายระยะแรกจะพบจุดสีขาวใต้ผิวมันฝรั่ง ต่อมาจะขยายใหญ่ขึ้นและมีสีเข้มขึ้น เป็นสีเทา น้ำตาลเข้ม หรือดำ เนื้อผิวมีลักษณะคล้ายฟองน้ำ (sponge texture) ซึ่งเกิดจากการเข้าทำลายซ้ำเติมด้วยเชื้อชนิดอื่น ๆ หัวมันฝรั่งที่แสดงอาการรุนแรงแผลจะมีลักษณะแห้งยุบตัว และมีรอยแตก

**รูปร่างลักษณะของไส้เดือนฝอย *D. destructor***

ขนาดสัดส่วน: (after Goodey, 1952, from various higher plant hosts). (n = 237, female): L = 1.07 (0.69–1.89) mm; a = 32 (18–49); b = 7 (4–12); c = 17 (9–30); V = 80 (73–90). (n = 231, male): L = 0.96 (0.76–1.35) mm; a = 35 (24–50); b = 7 (4–11); c = 14 (11–21); T = 65 (40–84).

<u>ลักษณะทางสัณฐานโดยทั่วไป:</u>

ตัวเต็มวัยของ *D. destructor* มีขนาดเล็ก ยาว 0.8-1.4 มิลลิเมตร กว้าง 23-47 ไมโครเมตร ลำตัวโค้งงอไปทางด้านท้อง (ventrally arcuate) ลักษณะทางสัณฐานมีความแปรปรวนพอสมควรขึ้นอยู่กับพืชอาศัยและอายุ ตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียมีความคล้ายคลึงกัน lateral field มีเส้น (incisures) 6 เส้น และจะลดลงเหลือ 2 เส้นบริเวณคอและปลายหาง ผิวหนัง และวงรอบบริเวณหัว (annulation) มีลักษณะเรียบ ส่วนหัวแคบกว่าส่วนของลำตัวบริเวณใกล้เคียง มี annulation 4 วง Stylet cone ยาว 45-50 เปอร์เซ็นต์ของความยาว stylet มี stylet knob ชัดเจน ลาดเอียงไปทางด้านหลัง Median bulb แข็งแรงมี lumen wall หนา ยาวประมาณ 3 ไมโครเมตร Posterior bulb ซ้อนทับกับลำไส้ช่วงสั้นๆ ทางด้าน dorsal ถึงแม้ว่าจะมีบางตัวอย่างที่ glandular bulb มีลักษณะ offset Excretory pore อยู่ตรงข้ามกับ oesophageal glands Postvulval sac ยาวประมาณ 3/4 ของระยะระหว่าง vulva และ anus ส่วนปากของ vulva หนาและสูง Anterior ovary เหยียดตรง บางครั้งยาวถึง oesophageal region Postvulval uterine sac ยาว 40-98% ของระยะระหว่าง vulva และ anus และไม่ได้ทำหน้าที่เป็น spermatheca Bursa ยาว 50-90 เปอร์เซ็นต์ของความยาวหาง Spicules ยาว 24-27 ไมโครเมตร Testis เหยียดยาวเกือบถึง oesophagous หางของทั้งเพศผู้และเพศเมียมีลักษณะ conical มีความยาวประมาณ 3-5 เท่าของความกว้างลำตัวตำแหน่ง anus มักจะโค้งไปทางด้าน ventral มีปลายมน

**การสำรวจ**

เก็บตัวอย่างในพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง ใน จ. เชียงใหม่ ลำพูน และ จ.ตาก รวมทั้งพืชชนิดอื่น ๆ ที่เป็นพืชอาศัยของ *D. destructor* เช่น หอมหัวใหญ่ กระเทียม และหอมแดง รวมทั้งสิ้น 324 ตัวอย่าง แยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่างดินโดยวิธี Decanting and Sieving with Bearmann Tray จากผลการตรวจตัวอย่างดิน**ไม่พบไส้เดือนฝอยสกุล *Ditylenchus* ในทุกตัวอย่าง** พบไส้เดือนฝอย

ศัตรูพืช 9 สกุล คือ *Criconemoides spp.* (1.87%), *Helicotylenchus* spp. (13.24%), *Heterodera* spp. (2.80%), *Hirschmanniella* spp. (5.97%), *Hoplolaimus* spp. (2.24%), *Pratylenchus* spp. (7.28%), *Meloidogyne* spp. (44.03%), *Rotylenchulus* spp. (18.47%), *Tylenchorhynchus* spp. (4.10%)

ทำสไลด์ถาวรของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ตรวจพบและเก็บรักษา จำแนกชนิดไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่พบโดยใช้ dichotomous key ของ Mai and Mullin (1996) พบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชสกุลต่าง ๆ ดังนี้

*Criconemoides* spp.

ไส้เดือนฝอยสกุล *Criconemoides* spp. ตัวเต็มวัยเพศเมียมีความยาวประมาณ 300 – 600 ไมโครเมตร มี annulation ชัดเจน cuticle ไม่มีลักษณะเป็นหนาม (spines) และมี cuticle เพียงชั้นเดียว ไม่มี extra cuticle หางมีลักษณะโค้งมน ริมฝีปากมี submedian lobe ชัดเจน แต่บาง species อาจไม่ชัดเจนก็ได้ วง annule แรกอาจไม่สมบูรณ์หรือหายไป annule ที่ 2 มักจะกว้างและชัดเจนกว่า ส่วน valva ปิด ตัวเต็มวัยเพศเมียมี stylet ยาว stylet knob มีลักษณะคล้ายสมอ

*Helicotylenchus* spp.

ไส้เดือนฝอยสกุล *Helicotylenchus* spp. ลักษณะตัวเต็มวัยเพศเมียทรงกระบอก (cylindrical) เมื่อถูกความร้อนและตายลำตัวมักจะโค้งงอคล้ายเลข 1 ไทย ส่วน esophagus ซ้อนทับกับลำไส้ทางด้าน ventral ส่วนริมฝีปากไม่มี longitudinal striation ส่วน dorsal esophageal gland opening อยู่หลัง stylet knob มีความยาวประมาณ 1/4 ของความยาว stylet Phasmid มีขนาดเล็กลักษณะเป็นรู มี ovary 2 ข้าง ตำแหน่ง vulva อยู่ประมาณ 2/3 ของความยาวลำตัว ส่วน median bulk แข็งแรง (sclerotized) มี valve ชัดเจน หางมีลักษณะ asymmetrical ด้าน dorsal มีลักษณะโค้งมากกว่าด้าน ventral ส่วนมากปลายหางโค้งมน

*Heterodera* spp.

ไส้เดือนฝอยสกุล *Heterodera* spp. ที่แยกจากตัวอย่างดินพบตัวอ่อนระยะที่สองซึ่งสามารถจำแนกได้โดยลักษณะทางสัณฐาน โดยส่วนหัวจะมีลักษณะ offset รูปร่าง hemispherical มี 4 annules มี amphid apertures ด้านข้าง ใกล้ช่องปาก ส่วน stylet ชัดเจน stylet knob ชัดเจนชี้ไปด้านหน้า (forwardly-directed) มีเส้นข้างลำตัว 4 เส้น median bulb ชัดเจน dorsal gland orifice อยู่ห่างจากฐานของ stylet knob 3-4 ไมโครเมตร หางมีลักษณะรูปโคนแหลม (acutely conical) ปลายหางมน มี hyaline terminal section ยาว 1-1.25 เท่าของความยาว stylet มี phasmids ที่ไม่ชัดเจน อยู่ post-anal

*Hirschmanniella* spp.

ไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* spp. ตัวเต็มวัยเพศเมียลำตัวมีความยาว 0.9-4.2 มิลลิเมตร ริมฝีปากไม่ offset จากลำตัว โครงหัวมีความแข็งแรงลักษณะครึ่งวงกลม (hemispherical) esophageal gland ซ้อนทับลำไส้ทางด้าน ventral stylet แข็งแรงยาวประมาณ 1/2-4 เท่าของ

ความกว้างลำตัวมี stylet knob ชัดเจน ตำแหน่ง vulva ประมาณ 48-58 เปอร์เซ็นต์ของความยาวลำตัว มี ovary 2 ข้าง หางลักษณะ taper เรียวแหลม

*Hoplolaimus* spp.

ไส้เดือนฝอยสกุล *Hoplolaimus* spp. ตัวเต็มวัยเพศเมียริมฝีปาก setoff โครงหัวมีความแข็งแรงลักษณะครึ่งวงกลม (hemispherical) ความยาว stylet มากกว่า 2 เท่าของความกว้างริมฝีปาก มี stylet knob ชัดเจน esophageal gland ซ้อนทับลำไส้ทางด้าน dorsal ส่วนของลำไส้มีสีเข้ม ปลายหางมนลักษณะครึ่งวงกลม (hemispherical) ตำแหน่ง vulva 51-62 เปอร์เซ็นต์ของความยาวลำตัว

*Pratylenchus* spp.

ไส้เดือนฝอยสกุล *Pratylenchus* spp. ลักษณะตัวเต็มวัยเพศเมียทรงกระบอก (cylindrical) ตำแหน่งของ vulva อยู่ค่อนไปทางหางประมาณ 1/3 ของความยาวลำตัว มี ovary ข้างเดียว ยื่นไปทางส่วนหัว ovary อีกด้านหนึ่งลดรูปเรียกว่า postvulval sac ลักษณะของหางส่วนมากมักจะมีปลายมนมีบางชนิดเท่านั้นที่ปลายหางแหลม ผนังลำตัว (cuticle) ไม่มีรอยหยักชัดเจน (not prominently annulated) เมื่อตายตัวจะเหยียดตรงหรือโค้งเล็กน้อย ส่วนของ esophagus ซ้อนทับกับลำ ไส้ไปทางด้าน ventral ลักษณะของ median bulb และ valve ชัดเจน ส่วน stylet สมบูรณ์ ริมฝีปากต่ำ (lip region flattened) แข็งแรง (sclerotized) เมื่อส่องดูภายใต้กล้องเห็นเป็นสีเข้ม

*Meloidogyne* spp.

ไส้เดือนฝอยสกุล *Meloidogyne* spp. การแยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดินจะพบตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สอง ซึ่งสามารถจำแนกได้โดยลักษณะทางสัณฐาน ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองมีความยาวประมาณ 200-380 ไมโครเมตร ริมฝีปากไม่ offset labial disc ยกสูง มักจะไม่มี lateral lip, stylet ยาว 11-25 ไมโครเมตร stylet knob offset มีลักษณะกลม หรือ transversely elongated มี hemizonid อยู่ด้านหน้า หรือใกล้ excretory pore หางยาว 15-60 ไมโครเมตร ปลายมน ความกว้างลำตัวบริตำแหน่ง anus ประมาณ 8-17 ไมโครเมตร มีเส้นข้างลำตัว (lateral lines) 4 เส้น และมี incisures หางมี phasmid อยู่บริเวณ subterminal ลักษณะเป็นจุดใกล้ cloacal aperture

*Rotylenchulus* spp.

ไส้เดือนฝอยสกุล *Rotylenchulus* spp. ตัวอ่อนมีความยาวประมาณ 340 ไมโครเมตร ตัวเต็มวัยเพศผู้มีความยาวประมาณ 420 ไมโครเมตร ตัวเต็มวัยเพศเมียมีความยาวประมาณ 380-520 ไมโครเมตร เมื่อถูกความร้อนและตายลำตัวจะมีลักษณะ C shaped ริมฝีปากของตัวเต็มวัยเพศเมียไม่ offset ส่วนของริมฝีปากชัดเจน (conspicuous) stylet ยาวประมาณ 16 – 20 ไมโครเมตร stylet knob กลมมีขนาดเล็ก dorsal gland orifice อยู่ห่างจากฐานของ stylet knob ประมาณมากกว่า 1/2 ของความยาว stylet ส่วน esophageal gland ซ้อนทับลำไส้ด้าน lateral หรือ ventral ตำแหน่ง vulva ประมาณ 63% ของความยาวลำตัว มี ovary 2 ข้าง แบบ amphidelphic หางของ

ตัวเต็มวัยเพศเมียมักจะยาวเป็น 2 เท่าของความกว้างลำตัวบริเวณ anus หางของตัวอ่อนมีลักษณะ taper ปลายมนมี 20 – 24 annules ส่วน phasmid ลักษณะ pore-like ตัวเต็มวัยเพศผู้มี stylet และ stylet knob ไม่แข็งแรง esophagous ไม่สมบูรณ์ median bulb และ valve ไม่ชัดเจน มี caudal alae แบบ adanal ส่วน lateral field ของตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย และตัวอ่อนมี lateral lines 4 เส้น ไม่ areolated

*Tylenchorhynchus* spp.

ไส้เดือนฝอยสกุล *Tylenchorhynchus* spp. ตัวเต็มวัยเพศเมียริมฝีปาก setoff โครงหัวมีความแข็งแรงลักษณะครึ่งวงกลม (hemispherical) ความยาวของ stylet สมบูรณ์มี stylet knob ชัดเจน esophageal gland ไม่ซ้อนทับกับลำไส้ ลักษณะหางแบบ conical หรือ cylindrical ปลายมน มี ovary 2 ข้าง ตำแหน่ง vulva 46-60 เปอร์เซ็นต์ของความยาวลำตัว

จากผลการสำรวจและเฝ้าระวังยังไม่ปรากฏพบไส้เดือนฝอย *Ditylenchus destructor* ในประเทศไทย ทำให้ไส้เดือนฝอยชนิดนี้ยังคงสถานภาพศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *Ditylenchus destructor* ในประเทศไทย ดำเนินการระหว่างปี พ.ศ. 2565-2567 โดยเก็บตัวอย่างในพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง ใน จ.เชียงใหม่ ลำพูน และ จ.ตาก รวมทั้งพืชชนิดอื่น ๆ ที่เป็นพืชอาศัยของ *D. destructor* เช่น หอมหัวใหญ่ กระเทียม และหอมแดง รวมทั้งสิ้น 324 ตัวอย่าง จากผลการตรวจตัวอย่างดินไม่ปรากฏพบไส้เดือนฝอยสกุล *Ditylenchus* ในทุกตัวอย่าง ทำให้ไส้เดือนฝอย *D. destructor* ยังคงสถานภาพศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

## เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็น .2550 . ฉบับที่) 2507 .ศ.สิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ62550 .ศ.พ ( ประกาศ ณ วันที่ 2550 เมษายน 26 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 66 ตอนพิเศษ 124 ง ลงวันที่ .1 มิถุนายน2550 .

CABI (CAB International). 2019. *Ditylenchus destructor* (Potato tuber nematode). CAB International. (Online). Available. https://www.cabi.org/isc/datasheet/19286. (22 November 2019)

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

FAO. 2018. Surveillance. International Standards for Phytosanitary Measures (ISPM) No.6, FAO, Rome.

McMaugh, T. 2008. Guidelines for Plant Pest Surveillance in Asia and the Pacific. ACIAR Monograph No. 119c.

Plant Health Australia (2018). The Australian Handbook for the Identification of Fruit Flies. Version 3.1. Plant Health Australia. Canberra, ACT.

Wendt, K.R., Swart, A., Vrain, T.C. & Webster, J.M. 1995. Ditylenchus africanus sp.n. from South Africa: A morphological and molecular characterization. Fundamental and Applied Nematology, 18: 241-250.

**Tabel 1** Plant-parasitic nematode genera found in soil samples during *Ditylenchus destructor* surveillance in Thailand

| Genera | Number of sample | frrquency (%) |
|---|---|---|
| *Criconemoides* spp. | 10 | 1.87 |
| *Helicotylenchus* spp. | 71 | 13.24 |
| *Heterodera* spp. | 15 | 2.80 |
| *Hirschmanniella* spp. | 32 | 5.97 |
| *Hoplolaimus* spp. | 12 | 2.24 |
| *Pratylenchus* spp. | 39 | 7.28 |
| *Meloidogyne* spp. | 236 | 44.03 |
| *Rotylenchulus* spp. | 99 | 18.47 |
| *Tylenchorhynchus* spp. | 22 | 4.10 |

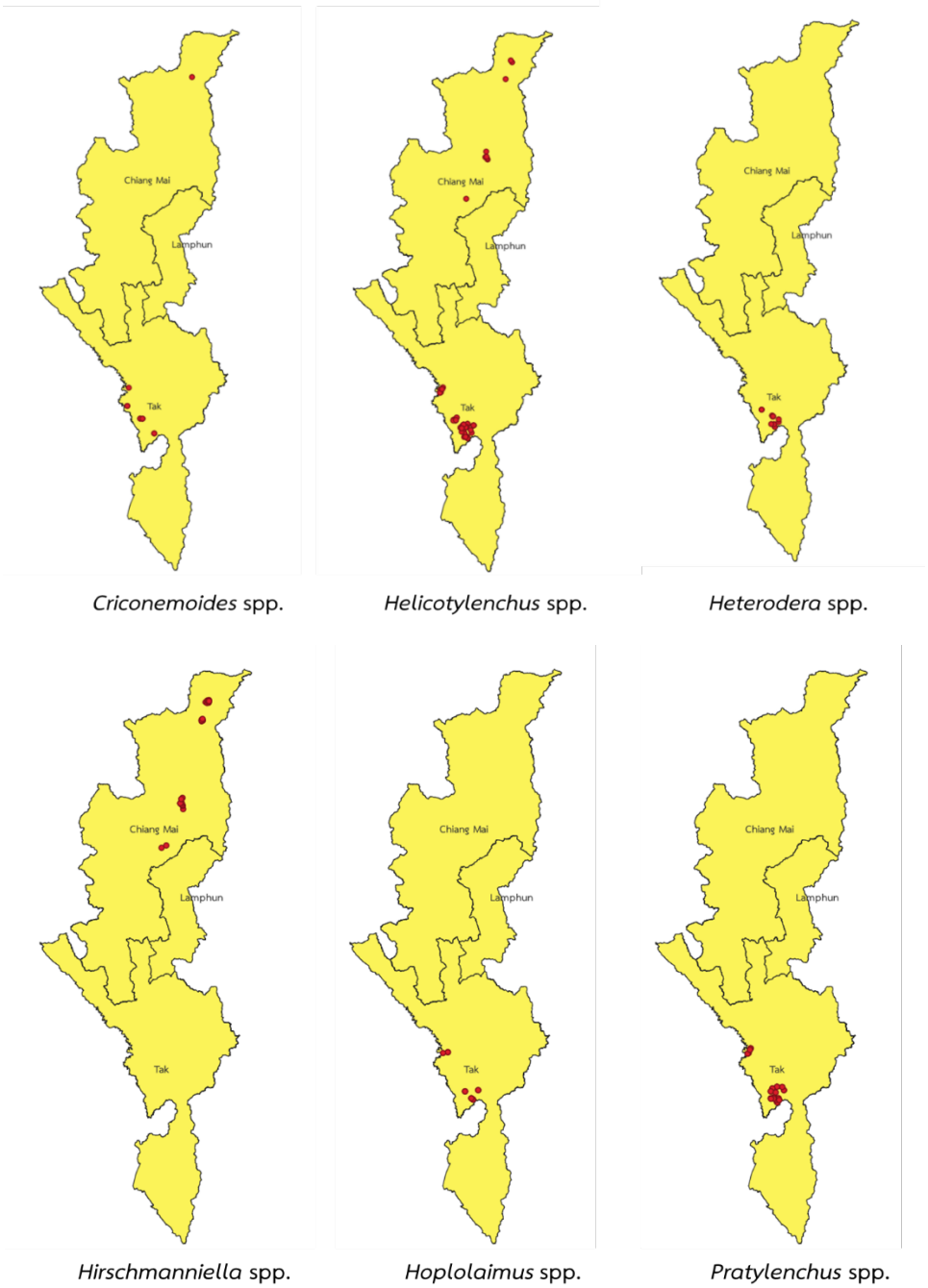
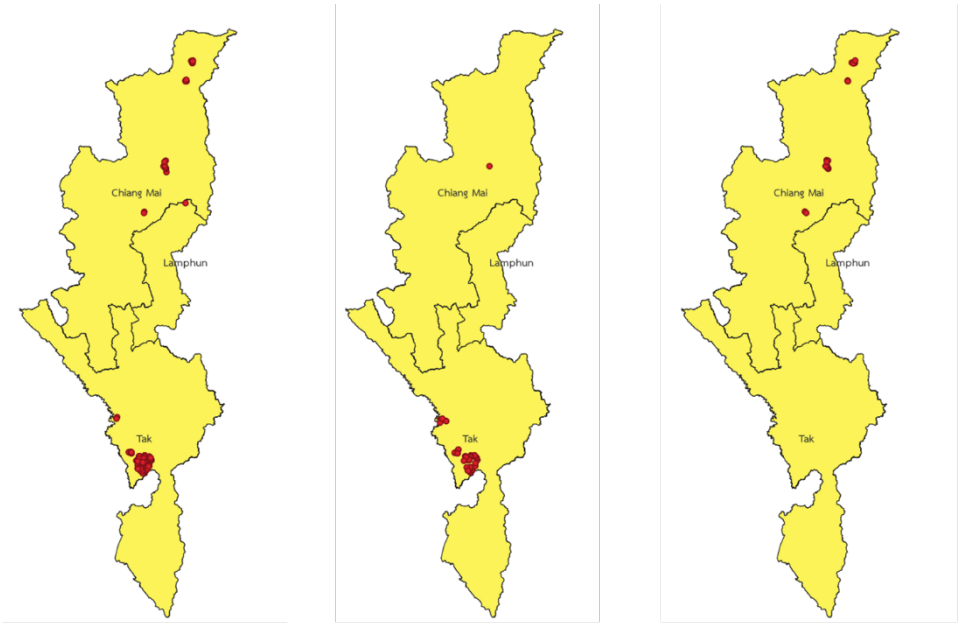



**Figure 1** Distribution of plant-parasitic nematode genera found in soil samples during *Ditylenchus destructor* surveillance in Thailand




*Meloidogyne* spp. *Rotylenchulus* spp. *Tylenchorhynchus* spp.

**Figure 1** Distribution of plant-parasitic nematode genera found in soil samples during *Ditylenchus destructor* surveillance in Thailand (continue)

# การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* ในประเทศไทย

# Surveys and Surveillance of *Ditylenchus dipsaci* in Thailand

**ทมิตา โชคปิยธนากุล[1/] ไตรเดช ข่ายทอง[1/] วานิช คำพานิช[2/] สุรศักดิ์ แสนโคตร[2/]**

**[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

**[2/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

## Abstract

This research to conduct surveys and surveillance of *Ditylenchus dipsaci* in Thailand between October 2021 – March 2025. The results of the survey and monitoring of nematodes in the areas of Uttaradit, Phrae, Nan, Phayao, Lampang, Mae Hong Son and Chiang Mai provinces collected 1954 plant and soil samples as follows: Thai garlic with growing soil, spring onion with growing soil, Thai garlic, onion, Thai shallots, native Laplae shallots, red onion, Soil are continually planting Thai garlic and Thai shallots. Diagnostic examinations revealed the presence of plant-parasitic nematode such as *Tylenchorrhynchus* spp. *Hirschmanniella* spp. *Helicotylenchus* spp. *Meloidogyne* spp. *Aphelenchoides* spp. *Tylenchus* spp. *Pratylenchus* and *Aphelenchus* spp., etc., But the genus *Ditylenchus* were found in any sample. Therefore, this report concluded Thailand free from *Ditylenchus dipsaci*.

**Keywords :** Surveys, Surveillance, Ditylenchus dipsaci, garlic, onion

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-08-65

**บทคัดย่อ**

การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* ในประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 – เดือนมีนาคม 2568 ผลของการการสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอยในพื้นที่ จังหวัดอุตรดิตถ์ แพร่ น่าน พะเยา ลำปาง แม่ฮ่องสอน และ เชียงใหม่ ได้เก็บตัวอย่างพืชและดินปลูก จำนวน 1954 ตัวอย่าง ดังนี้ กระเทียมพันธุ์พื้นเมืองพร้อมดินปลูก หอมแบ่ง (หอมขาว) พร้อมดินปลูก หอมแดง พร้อมดินปลูก กระเทียมพันธุ์พื้นเมือง หอมหัวใหญ่ ดินที่เคยปลูกกระเทียมพันธุ์พื้นเมืองและเคยปลูกหอมแดงพื้นเมืองอย่างต่อเนื่องจำนวน หอมแดงพื้นเมือง หอมแดงลับแล และ หอมแดงแขก ได้ดำเนินการตรวจวินิจฉัยพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชพบ เช่น *Tylenchorrhynchus* spp. *Hirschmanniella* spp. *Helicotylenchus* spp. *Meloidogyne* spp. *Aphelenchoides* spp. *Tylenchus* spp. *Pratylenchus* และ *Aphelenchus* spp. เป็นต้น และไม่พบไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* ในทุกตัวอย่าง

**คำหลัก :** สำรวจ การเฝ้าระวัง *Ditylenchus dipsaci* กระเทียม หอมหัวใหญ่

**คำนำ**

ไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* (Kühn, 1857) Filip'ev, 1936 ชื่อสามัญ stem and bulb nematode เป็นศัตรูกักกัน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์เรื่องกำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้าม ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 (ฉบับที่ 6) (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550) ไส้เดือนฝอยชนิดนี้มีถิ่นกำเนิด และการแพร่กระจายในบริเวณเขตอบอุ่นของโลก (temperate regions) เช่น ยุโรปและภูมิภาคเมดิเตอร์เรเนียน อเมริกาเหนือและใต้ แอฟริกาเหนือและใต้ เอเชียและโอเชียเนีย เป็นต้น ชีววิทยาของเชื้อ *D. dipsaci* เป็นไส้เดือนฝอยสามารถเคลื่อนย้ายตัวได้ภายในเซลล์ของพืช (migratory endoparasite) มีการเจริญพันธุ์แบบ Amphimixis แต่การขยายตัวของประชากรเกิดได้อย่างรวดเร็วเพราะหลังจากที่ลอกคราบเป็นตัวอ่อนระยะที่ 2 ได้เพียง 2 วัน ก็เจริญเป็นตัวเต็มวัยเพียง 4-5 วัน วัฏจักรชีวิต ประมาณ 19-23 วัน ที่อุณหภูมิ 15 °C และตัวเมียหนึ่งตัวสามารถวางไข่ได้กว่า 500 ฟอง อีกทั้งสามารถมีชีวิตอยู่ได้มากกว่า 10 สัปดาห์ สิ่งที่สำคัญของเชื้อ *D. dipsaci* นี้ คือความสามารถในการทนต่อสภาพความแห้งแล้ง หรือ แม้แต่การตายของพืชอาศัย โดยเชื้อควบคุมการสูญเสียของน้ำและขดตัวอย่างแน่นหนา เรียกว่า “eelworm wool”ซึ่งสามารถอยู่ได้นานหลายปี และเมื่อได้รับความชื้นก็จะกลับเข้าทำลายพืชอีกครั้ง จากการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่าสามารถเก็บ eelworm wool ได้นาน 10 ปี และมีหลักฐานการพบเชื้อ *D. dipsaci* ในตัวอย่างแห้งของพืช *Dipsacus fullonum* (wild teasel)ในพิพิธภัณฑ์ที่เก็บไว้กว่า 23 ปี อีกทั้งเชื้อยังมีความทนทานอุณหภูมิที่ต่ำกว่าจุดเยือแข็ง และจากการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่าสามารถมีชีวิตอยู่รอดที่อุณหภูมิ -150 °C นาน 18 เดือน ส่วนการเข้าการทำลายของ *D. dipsaci* พบมากเข้าทำลายพืชในสกุล Allium และในพืชสกุลอื่นๆมีพบการเข้าทำลาย เช่น หอมหัวใหญ่ (*Allium cepa*; onion)

หอมแดง (*Allium cepa* var. *aggregatum*; shallot) กระเทียม (*Allium sativum*; garlic) แครอท (*Daucus carota*; carrot) และถั่วปากอ้า (*Vicia faba*; faba bean) เป็นต้น ส่วนใหญ่มีอาการเหลืองและแห้งตาย สำหรับกระเทียมหอมหัวใหญ่ หอมแดง ใบจะบวมพองและเป็นแผลปริแตก ส่วนหัวของพืชในวงนี้เป็นหัวที่เกิดจากกาบใบ เมื่อถูกเข้าทำลายกาบใบจะแตกออกใกล้ฐานของหัวหรือใกล้กับรากและกาบใบด้านในมักจะถูกทำลายมากกว่ากาบใบด้านนอก เมื่อเนื้อเยื่อภายในจะถูกทำลายก็จะทำให้ไม่สามารถเก็บรักษาหัวไว้ได้นาน (Perry and Moens, 2006)

ข้อมูลการปลูกกระเทียม หอมแดง หอมหัวใหญ่ของประเทศไทย โดยส่วนใหญ่ปลูกในพื้นที่ภาคเหนือ ได้แก่ เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน ลำพูน ลำปาง เป็นต้น ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องทำการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังศัตรูพืชชนิดนี้ในพื้นที่ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และการรายงานศัตรูพืชอีกด้วย

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงพลาสติก ถุงกระดาษ กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ไม้ทับตัวอย่างกระดาษ หนังสือพิมพ์ ซองกระดาษสำหรับเก็บและรักษาตัวอย่าง เป็นต้น

2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ อุปกรณ์แยกไส้เดือนฝอย ได้แก่ เครื่องชั่ง ตะแกรง (sieve) ขนาด 18 - 60 mesh 200 และ 325 mesh ตะแกรง เครื่อง ultrasonic เครื่องปั่น กรวยแก้ว (funnel) พร้อมสายยาง คลิปหนีบสายยาง Oostenbrink dish ถังกะละมัง กระดาษกรอง กระบอกฉีดน้ำ ตู้เย็นเก็บตัวอย่าง เป็นต้น กล้องจุลทรรศน์ชนิดหัวกลับ (Inverted Microscope) กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ เป็นต้น
อุปกรณ์ทำสไลด์ไส้เดือนฝอย ได้แก่ เข็มเขี่ย มีดและใบมีดผ่าตัด ปากคีบ ตะเกียงแอลกอฮอล์ water bath และ heat block และ embryo dish โถดูดความชื้น บีกเกอร์ ขวดดูแรน กระบอกตวง สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์ สไลด์หลุม กล่องเก็บสไลด์ สารเคมี เช่น silica gel, formalin, glycerin, ethyl alcohol เป็นต้น

3. สารเคมีและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุล ได้แก่ เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม เครื่องแยกสารพันธุกรรมด้วยไฟฟ้า (gel electrophoresis) เครื่องสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometor) ตู้ปลอดเชื้อ เครื่องปั่นตกตะกอน เครื่องดูดสารละลายปริมาตรต่ำ (micropipettes) ตู้แช่ 4 องศาเซลเซียส ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส เป็นต้น สารเคมีได้แก่ DNA/RNA template, DNA polymerase, primers (forward and reverse), deoxynucleotide triphosphates (dNTPs) ,PCR buffers ,Taq polymerase ,PCR buffers (Tris-HCl, potassium chloride (KCl) and magnesium chloride (MgCl2)) Agarose gel และ น้ำกลั่น เป็นต้น

4. คู่มือสำรวจและจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอย

**วิธีการ**

การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* ดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (surveillance: ISPM No. 6)

**1. การรวบรวมข้อมูลไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci***

โดยการสืบค้นข้อมูลลักษณะของไส้เดือนฝอย *D. dipsaci* ได้แก่ รายละเอียดของไส้เดือนฝอย ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง รูปร่างลักษณะ การเข้าทำลาย พืชอาศัย การแพร่ระบาด จากทั้งในและต่างประเทศ ฐานข้อมูล เอกสารวิชาการ วารสาร รายงานการประชุม สัมมนาทางวิชาการและหน่วยงานอื่นที่เกี่ยวข้อง

**2. การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci***

2.1 จัดทำคู่มือศัตรูพืชและจัดทำฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ (2565)

โดยรวบรวมข้อมูลอ้างอิง ข้อมูลลักษณะไส้เดือนฝอย ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชนิดของพืชอาศัย สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม แหล่งที่พบ ลักษณะอาการที่เกิดจากไส้เดือนฝอย *D. dipsaci* พร้อมรูปภาพสีเพื่อใช้ในการ ตรวจสอบอาการที่พบในแปลง ตลอดจนรายละเอียดของอาการที่มีลักษณะคล้ายกับอาการของพืชเป้าหมาย และรูปภาพ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอย และจัดทำแบบฟอร์มการสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูลชื่อเกษตรกร สถานที่ วันที่เก็บ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์

2.2 การสำรวจ

กำหนดพื้นที่ แหล่งปลูกกระเทียม และหอมหัวใหญ่ ในประเทศไทย เช่น จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง แม่ฮ่องสอน ตาก พะเยา แพร่ น่าน นครสวรรค์ ศรีสะเกษ กาญจนบุรี เป็นต้น และวางแผนการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (Specific survey) ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No. 6) โดยทำการสำรวจแบบสืบพบ (Detection survey) เพื่อสืบค้นหาศัตรูพืชเป้าหมาย โดยการสำรวจอย่างน้อย 10 แปลงต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างดินและพืชแบบเป็นระบบ

2.3 วิธีการตรวจไส้เดือนฝอย *D. dipsaci* ในแปลงปลูกกระเทียมและหอมหัวใหญ่ เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป สุ่มเก็บตัวอย่าง อย่างน้อย 30 จุด ต่อแปลง หรือ 10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่แปลง รวมทั้งเก็บตัวอย่างหัวกระเทียมและหอมหัวใหญ่ 50-100 หัวต่อแปลง ห่อกระดาษหนังสือพิมพ์ เขียนรายละเอียดกำกับ นำกลับมาแยก ตรวจสอบและจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ

**3. การตรวจสอบและจำแนกไส้เดือนฝอย *D. disaci* ในห้องปฏิบัติการ**

การแยกเชื้อทำสองส่วนโดยแยกจากดินและจากพืช (กระเทียม และหอมหัวใหญ่) ตามวิธีใน EPPO Standard PM 7/119 (1) Nematode extraction (EPPO, 2013) ดังนี้

3.1 แยกไส้เดือนฝอยจากดิน โดยวิธี Cobb's sieving and Baermann funnel หรือ Oostenbrink dish ตามขั้นตอนโดยย่อดังนี้ นำตัวอย่างดิน 250กรัม ใส่ในภาชนะพลาสติกเทน้ำลงไปขยี้ดินให้แตก เพื่อให้ไส้เดือนฝอยแยกตัวหลุดออกมาจากดินมากที่สุด ทิ้งไว้ประมาณ 30 วินาที เทน้ำลงในตะแกรง (sieve) ขนาด 18 - 60 mesh (ความยาว 1 นิ้วมี 18 - 60 ช่อง) โดยมีภาชนะรองรับเศษพืช เศษไม้ จะติดอยู่บนตะแกรงนำน้ำที่ผ่านตะแกรงแรกแล้ว มาเทลงในตะแกรงขนาด 200 mesh นำน้ำที่ผ่านตะแกรงขนาด 200 mesh เทลงในตะแกรงขนาด 325 - 400 mesh โดยไม่ต้องมีภาชนะรองรับ เนื่องจากไส้เดือนฝอยเกือบทุกชนิดจะติดอยู่บนตะแกรงนี้ ใช้ฝอยน้ำฉีดเบาๆให้ทั่วตะแกรงเพื่อให้ตะกอนดินหลุดลงมา แล้วเก็บน้ำจากตะแกรงนี้กรองผ่านกระดาษกรองโดยใช้วิธี Oostenbrink dish วางไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 24 - 48 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยจะว่ายน้ำไชผ่านกระดาษกรองมาอยู่ในน้ำ นำน้ำที่ได้ไปตรวจสอบและจัดจำแนกชนิดด้วยวิธีการทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง

3.2 แยกไส้เดือนฝอยจากรากและหัวกระเทียม หรือหอมหัวใหญ่ โดยการนำตัวอย่างกระเทียมหรือหอมหัวใหญ่ ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ แล้ววางลงตะแกรงที่มีกระดาษกรองวางอยู่ด้านบนโดยวิธี Baermann funnel หรือ Oostenbrink dish วางไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 24 - 48 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยจะว่ายน้ำไชผ่านกระดาษกรองมาอยู่ในน้ำ จากนั้นเก็บน้ำไปตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง

**4. การวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืชโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา**

การตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยที่พบภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง โดยเปรียบเทียบกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอยที่พบกับ คู่มือการจำแนกสกุลของไส้เดือนฝอย Plant-parasitic nematodes ; A pictorial key to genera (Mai *et al*., 1996) และ Manual of agricultural nematology (Nickle (ed),1991 และหากสงสัยว่าเป็นไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* ก็เปรียบเทียบกับข้อมูลลักษณะทางสัณฐาน EPPO Standard PM 7/87 (2) *Ditylenchus destructor* and *Ditylenchus dipsaci* (EPPO, 2017) และ Diagnostic protocols for regulated pests. DP 8: *Ditylenchus dipsaci* and *Ditylenchus destructor* (ISPM 27,2016) และเอกสารอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

**5. ศึกษาลักษณะทางชีวโมเลกุลของไส้เดือนฝอยสกุล *D. dipsaci***

5.1 การสกัดดีเอ็นเอ

ใช้วิธีการตาม Schizas *et al*., 1997 ร่วมกับคำแนะนำของ GeneReleaser® (BioVentures) ที่แนบมากับผลิตภัณฑ์ เขี่ยไส้เดือนฝอย 1 ตัว ใส่ลงบนหยด PCR Buffer II (500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl, pH 8.3) 20 ไมโครลิตร บนสไลด์แก้ว ตัดตัวไส้เดือนฝอยออกเป็น 2-3 ท่อน โดยใช่ส่วนปลายของ pipette tip ดูดสารละลายทั้งหมดใส่ลงในหลอด microcentrifuge ขนาด 500 ไมโครลิตร นำหลอดแช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 10 นาที เติม proteinase K ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ลงในหลอดและบ่มที่ 55°C ใน water bath

เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำหลอดใส่ใน heating block ที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 5 นาทีเพื่อหยุดการทำงานของ proteinase K ใส่ GeneReleaser® 20 ไมโครลิตรลงในหลอด นำหลอดใส่ในเตาไมโครเวฟ เป็นเวลา 6 นาที ถ้าเตาไมโครเวฟเป็นชนิด 750 วัตต์ (สามารถปรับเวลาตามกำลังไฟของเตาไมโครเวฟให้ได้ 4,500 วัตต์-นาที ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสม)

5.2 การเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยปฏิกริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (PCR)

การเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยปฏิกริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส ในส่วน D2-D3 expansion region ของ 28s ribosomal RNA gene (rDNA) โดยใช้ forward primer D2A (5' - ACA AGT ACC GTG AGG GAA AGT TG -3') และ reverse primer D3B (5' - TCG GAA GGA ACC AGC TAC TA -3') แล้วนำ เพิ่มปริมาณ DNA บริเวณ (Kaplan *et al*., 2000; Subbotin *et al*., 2006) โดยสารที่ใช้ในปฏิกริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส ปริมาตรรวม 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 1.0 U AmpliTaq® DNA Polymerase, 10 mM Tris-Cl, pH 8.3, 50 mM KCL, 2.5 mM MgCl2, 200 uM dNTPs ,0.2 µM primers และ 1.0 µl DNA template เมื่อเตรียม master mix ใส่ หลอด PCR แล้วเติม DNA template ในหลอด PCR นำหลอด ดังกล่าวใส่ลงในเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุ์กรรม (Thermocycle) จากนั้นตั้งอุณหภูมิและเวลาของขั้นตอนปฏิกิริยา PCR ดังนี้

| ปฏิกิริยา | อุณหภูมิ (°C) | เวลา(นาที) | |
|---|---|---|---|
| 1. Initial denaturation | 94 | 1 | |
| 2. Denaturation | 94 | 1 | 35 cycles |
| 3. Annealing | 55 | 1 | |
| 4. Extension | 72 | 1 | |
| 5. Final extension | 72 | 5 | |

เมื่อได้ PCR product ที่ดีสามารถนำมาทดสอบกับ SCAR primers ด้วยการเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยปฏิกริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส ในส่วน ITS region ประกอบด้วย ITS1, ITS2 และ 5.8S rDNA gene โดยใช้ primers เฉพาะชนิดของ Ditylenchus dipsaci ได้แก่ DdpS1 primer (5′-TGG CTG CGT TGA AGA GAA CT-3′) และ rDNA2 (5′-TTT CAC TCG CCG TTA CTA AGG-3′) โดย *D. dipsaci* มีขนาด 517 bp และหรือ DdpS2 primer (5′-CGA TCA ACC AAA ACA CTA GGA ATT-3′) และ rDNA2 (5′-TTT CAC TCG CCG TTA CTA AGG-3′) ซึ่ง *D. dipsaci* มีขนาด 707 bp เมื่อเตรียม master mix ใส่ หลอด PCR แล้วเติม DNA template ในหลอด PCR นำหลอด ดังกล่าวใส่ลงในเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุ์กรรม (Thermocycle) จากนั้นตั้งอุณหภูมิและเวลาของขั้นตอนปฏิกิริยา PCR ดังนี้

| ปฏิกิริยา | อุณหภูมิ (°C) | เวลา(นาที) | |
|---|---|---|---|
| 1. Initial denaturation | 94 | 1 | |
| 2. Denaturation | 94 | 30s | 40 cycles |
| 3. Annealing | 60 | 30s | |
| 4. Extension | 72 | 45s | |
| 5. Final extension | 72 | 10 | |

5.3 การทำอิเลกโทรโฟรีซีสแบบอะกาโรส

เตรียม 1.5% ของอะกาโรส โดยชั่งอะกาโรส 1.5 กรัม ผสมกับ สารละลายบัฟเฟอร์ 0.5xTBE ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปต้มให้สารละลายใส ตั้งไว้ให้เย็น แล้วเทอะกาโรสลงในชุด gel box ที่ปรับสมดุล และวางหวีไว้แล้ว เมื่อเจลแข็งตัว จึงดึงหวีออก แล้วนำเจลที่ได้ไปวางในแชมเบอร์ จากนั้นเทสารละลายบัฟเฟอร์ 0.5xTBE ให้ท่วมแผ่นเจล นำ DNA ที่ได้ผสมกับสีย้อมดีเอ็นเอ ในอัตราส่วน 5 ต่อ 1 จากนั้นหยอดตัวอย่าง 10 ไมโครลิตรลงในหลุมของเจลอะกาโรสในแชมเบอร์ เรียบร้อยแล้วจึงต่อขั้วไฟฟ้าเข้ากับเครื่องกำเนิดไฟฟ้า ใช้กระแสไฟ 100 โวลต์ นานประมาณ 40-50 นาที แล้วเจลอะกาโรสไปย้อมสี DNA แล้วนำไปส่องดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต ด้วยเครื่อง UV-transilluminator แล้วถ่ายภาพ

5.4 การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing)

ผลผลิตปฏิกิริยา PCR จาก D2-D3 expansion region และ ITS regions นำไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ DNA โดยตรง (direct sequencing) ทั้ง 2 ทิศทางโดยใช้ทั้ง forward และ reverse primers โดยทำผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยา PCR (PCR product) ที่ได้ให้บริสุทธิ์ด้วย Qiagen QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen) หรือ ExoSAP-IT® For PCR Product Clean-Up (Affymetrix) โดยใช้วิธีการตามคำแนะนำที่แนบมากับผลิตภัณฑ์ เตรียมตัวอย่างตามคำแนะนำและส่งตัวอย่างไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์

5.5 เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์กับฐานข้อมูลเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับฐานข้อมูลของไส้เดือนฝอย *D. dipsaci* จาก Genbank

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. บันทึกวัน เดือน ปี รายละเอียดตำแหน่งของแปลงปลูกกระเทียมและหอมหัวใหญ่ที่ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่าง

2. บันทึกข้อมูลจำนวนแปลง และจำนวนตัวอย่างที่ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่าง

3. บันทึกข้อมูลชนิดพืช ขนาดพื้นที่ปลูก ระยะการเจริญเติบโต และสภาพแวดล้อมอื่น ๆ พืชข้างเคียงประวัติการเพาะปลูก (ถ้ามี) เกษตรกรเจ้าของแปลง (ถ้ามี)

4. บันทึกถ่ายภาพลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญ เช่น ลำตัวทั้งหมด ส่วนหัว กลางลำตัว หาง stylet ลักษณะและตำแหน่งอวัยวะเพศ ระบบสืบพันธุ์ cuticle เป็นต้น และลักษณะสำคัญอื่นที่ใช้ในการจัดจำแนก และ morphometric ในห้องปฏิบัติการ

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2564 – มีนาคม 2568

สถานที่ 1) กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2) แปลงปลูกหอมหัวใหญ่ หอมแดง และกระเทียม

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1.ผลการรวบรวมข้อมูลไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci***

**สืบค้นข้อมูลลักษณะของไส้เดือนฝอย**

*D. dipsaci ไส้เดือนฝอย Ditylenchus dipsaci (Kuehn) Filipjev*

ชื่อพ้อง :

*Anguillulina* (*Ditylenchus*) (Filip'ev, 1936)

*Boleodoroides* (Mathur, Khan and Prasad, 1966)

*Diptenchus* (Khan, Chawla and Seshadri, 1969)

*Safianema* (Siddiqi, 1980)

*Orrina* (Brzeski, 1981)

อันดับ: Tylenchida

วงศ์: Anguinidae

ชื่อสามัญ: Stem and bulb nematode

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะอาการที่เกิดจากไส้เดือนฝอย *D. dipsaci* พร้อมรูปภาพสีเพื่อใช้ในการตรวจสอบอาการที่พบในแปลงและแนวทางการจำแนก (Figure1 และ Figure 2) สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมและแหล่งที่พบ ส่วนใหญ่อยู่ในเขตหนาว และกึ่งอบอุ่น ได้แก่ United Kingdom, North America (Florida, New York etc.) Canada, Australia, New Zealand, South America (Argentina, Brazil, Bolivia etc.) การแพร่กระจายในบริเวณเขตอบอุ่นของโลก (temperate regions) เช่น ยุโรปและภูมิภาคเมดิเตอร์เรเนียน อเมริกาเหนือและใต้ แอฟริกาเหนือและใต้ เอเชียและโอเชียเนียชนิดของพืชอาศัย *D. dipsaci* มีรายงานว่ามีมากกว่า 450 ชนิดที่เป็นพืชอาศัย รวมถึงวัชพืชหลายชนิด แต่อย่างไรก็ตาม ไส้เดือนฝอยชนิดนี้ สามารถเข้าทำลายพืชอย่างรุนแรงจนเกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจเพียงมีเพียงพืชประมาณ 8-10 ชนิด ที่มีอาการรุนแรง เช่น กลุ่มที่1 ธัญพืชมีเมล็ดพืชส่วนใหญ่ ข้าวไรย์ ข้าวโพด และข้าวโอ๊ต กลุ่มที่2 อัลฟัลฟา พืชตระกูลถั่วบางชนิด วัชพืช และโคลเวอร์ด้วย กลุ่มที่3 ดอกไม้ส่วนใหญ่ ได้แก่ ดอกแดฟโฟดิล ดอกนาร์ซิสซัส และทิวลิป กลุ่มที่4 หัวหอม กระเทียม แครอท ถั่วลันเตา มันฝรั่ง สตรอเบอร์รี่ หัวบีทน้ำตาล การเข้าการทำลายของ *D. dipsaci* พบมากเข้าทำลายพืชในสกุล *Allium* และในพืชสกุลอื่นๆมีพบการเข้าทำลาย เช่น หอมหัวใหญ่ (*Allium cepa*; onion) หอมแดง (*Allium cepa* var. *aggregatum*; shallot) กระเทียม (*Allium sativum*; garlic) แครอท (*Daucus carota*; carrot) และถั่วปากอ้า (*Vicia faba*; faba bean) เป็นต้น (Goodey *et al.,* 1965)

ผลของการการสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* ในประเทศไทย ระหว่าง ตุลาคม 2564 – มีนาคม 2568 ในพื้นที่ จังหวัดอุตรดิตถ์ แพร่ น่าน พะเยา ลำปาง แม่ฮ่องสอน และ เชียงใหม่ ได้เก็บตัวอย่างพืชและดินปลูก จำนวน 1954 ตัวอย่าง ดังนี้

กลุ่มตัวอย่างที่ 1 กระเทียมพันธุ์พื้นเมืองพร้อมดินปลูกจำนวนตัวอย่างรวม 125 ตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างที่ 2 หอมแบ่ง (หอมขาว) พร้อมดินปลูกจำนวน 35 ตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างที่ 3 หอมแดง พร้อมดินปลูกจำนวน 30 ตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างที่ 4 กระเทียมพันธุ์พื้นเมืองจำนวน 20 ตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างที่ 5 หอมหัวใหญ่ จำนวน 120 ตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างที่ 6 ดินที่เคยปลูกกระเทียมพันธุ์พื้นเมืองอย่างต่อเนื่องจำนวน 74 ตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างที่ 7 ดินที่เคยปลูกหอมแดงพื้นเมืองอย่างต่อเนื่องจำนวน 200 ตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างที่ 8 หอมแดงพื้นเมือง จำนวน 1030 ตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างที่ 9 หอมแดงลับแล จำนวน 200 ตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างที่ 10 หอมแดงแขก จำนวน 25 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1-12)

ได้ดำเนินการตรวจวินิจฉัยพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชพบ เช่น *Tylenchorrhynchus* spp. *Hirschmanniella* spp. *Helicotylenchus* spp. *Meloidogyne* spp. *Aphelenchoides* spp. *Tylenchus* spp. *Pratylenchus* และ *Aphelenchus* spp.เป็นต้น และในการสำรวจและเฝ้าระวังไม่พบไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* ในทุกตัวอย่าง

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสำรวจและเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* ในประเทศไทยระหว่าง ตุลาคม 2564 – มีนาคม 2568 ในพื้นที่ จังหวัดอุตรดิตถ์ แพร่ น่าน พะเยา ลำปาง แม่ฮ่องสอน และ เชียงใหม่ โดยเก็บตัวอย่างพืชและหรือดินปลูก เช่น กระเทียมพันธุ์พื้นเมือง หอมแบ่ง (หอมขาว) หอมแดง หอมหัวใหญ่ จำนวน 1,954 ตัวอย่าง ผลการตรวจวินิจฉัยพบว่าในทุกตัวอย่างไม่พบไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* ทำให้สามารถยืนยันสถานภาพได้ว่าไส้เดือนฝอยดังกล่าวยังคงสถานภาพศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

## เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2550 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550.

EPPO.2017 PM 7/87 (2) *Ditylenchus destructor* and *Ditylenchus dipsaci*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 47 (3), 401–419 EPPO.2017 PM 7/87 (2) *Ditylenchus destructor* and *Ditylenchus dipsaci*. Bulletin

International Standard for Phytosanitary Measures (ISPM 6).2018. Surveillance. ROME. IPPC, FAO.

**Table 1** Samples of Thai garlic with growing soil for plant-parasitic nematode examinations between October 2021 – March 2025

| Area Samples | Geographic coordinates | Number of samples | Plant-parasitic nematodes | *Ditylenchus* |
|---|---|---|---|---|
| San Sai Subdistrict, Fang District, Chiang Mai Province | 19.8993692 N 99.2143106 E | 35 | *Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Aphelenchus* spp. *Meloidogyne* spp. *Aphelenchoides* spp. *Hirschmanniella spp.* | Not found |
| Wiang Subdistrict, Fang District, Chiang Mai Province | 19.9405321 N 99.1693058 E | 27 | *Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Aphelenchus* spp. *Meloidogyne* spp. *Aphelenchoides* spp. *Hirschmanniella spp.* | Not found |
| Pong Nam Ron Subdistrict,Fang District, Chiang Mai Province | 19.9853° N, 99.1788° E /19.8573° N, 99.1456° E | 15 | *Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Aphelenchus* spp. *Meloidogyne* spp. *Aphelenchoides* spp. *Hirschmanniella spp.* | Not found |
| Ban Tham Subdistrict, Dok Khamtai District, Phayao Province | 19°9′45″N 99°59′36″E | 3 | *Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Aphelenchus* spp. *Meloidogyne* spp. *Aphelenchoides* spp. *Hirschmanniella spp.* | Not found |
| **Total samples** | | **80** | | |

**Table 2** Samples of Thai garlic with growing soil for plant-parasitic nematode examinations between October 2021 – March 2025

| Area Samples | Geographic coordinates | Number of samples | Plant-parasitic nematodes | *Ditylenchus* |
|---|---|---|---|---|
| San Sai Subdistrict, Fang District, Chiang Mai Province | 19.8993692 N 99.2143106 E | 5 | *Helicotylenchus* spp.<br>*Tylenchorhychus* spp.<br>*Aphelenchus* spp.<br>*Meloidogyne* spp.<br>*Aphelenchoides* spp.<br>*Hirschmanniella spp.* | Not found |
| Wiang Subdistrict, Fang District, Chiang Mai Province | 19.9405321 N 99.1693058 E | 5 | *Helicotylenchus* spp.<br>*Tylenchorhychus* spp.<br>*Aphelenchus* spp.<br>*Meloidogyne* spp.<br>*Aphelenchoides* spp. | Not found |
| Pong Nam Ron Subdistrict, Fang District, Chiang Mai Province | 19.9405321 N 99.1693058 E | 5 | *Helicotylenchus* spp<br>*Tylenchorhychus* spp.<br>*Meloidogyne* spp.<br>*Hirschmanniella* spp.<br>*spp.Radopholus* spp. | Not found |
| **Total samples** | | **15** | | |

**Table 3** Samples of spring onion with growing soil for plant-parasitic nematode examinations between October 2021 – March 2025

| Area Samples | Geographic coordinates | Number of samples | Plant-parasitic nematodes | *Ditylenchus* |
|---|---|---|---|---|
| Area 1 Chai Chumphon Sub-district, Laplae District, Uttaradit Province | 17.6266875 N /17°39′5″N 100°2′21″E 17°39′5″N 100°2′21″E /100.0434217 E | 5 | *Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Aphelenchus* spp. *Meloidogyne* spp. *Aphelenchoides* spp. Hirschmanniella spp. | Not found |
| Area 2 Chai Chumphon Sub-district, Laplae District, Uttaradit Province | 17°39′5″N 100°2′21″E /100.0434217 E /100.0445589 E 17.6183535 N | 5 | *Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Meloidogyne* spp. *Hirschmanniella spp.* *Criconemoides spp.* | Not found |
| Area 3 Chai Chumphon Sub-district, Laplae District, Uttaradit Province | 17.6236455 N 100.0513144 E | 5 | *Criconemoides* spp. *Helicotylenchus* spp. *Aphelenchus* spp. *Aphelenchoides* spp. *Radopholus* spp. | Not found |
| Area 1 Sri Dongyen SubdistrictChai Prakan District, Chiang Mai Province | 19.6935933 N 99.1523822 E | 10 | *Criconemoides* spp. *Aphelenchus spp.* *Aphelenchoides spp.* *Radopholus spp.* | Not found |
| Area 2 Sri Dongyen SubdistrictChai Prakan District, Chiang Mai Province | 19.7021558 N 99.153389 E | 10 | *Helicotylenchus spp.* *Criconemoides spp.Aphelenchus spp.* *Aphelenchoides spp.* *Radopholus spp.* | Not found |
| | **Total samples** | **35** | | |

**Table 4** Samples of shallot with growing soil for plant-parasitic nematode examinations. between October 2021 – March 2025

| Area Samples | Geographic coordinates | Number of samples | Plant-parasitic nematodes | *Ditylenchus* |
|---|---|---|---|---|
| Area 1 Chai Chumphon Sub-district,Laplae District, Uttaradit Province | 17.6201791 N 100.0491472 E | 10 | *Helicotylenchus* spp.<br>*Tylenchorhychus spp.*<br>*Meloidogyne* spp.<br>*Pratylenchus* spp.<br>*Hirschmanniella* spp.<br>*Radopholus* spp. | Not found |
| Area 1 Nong Bua Subdistrict,Chai Prakan District Chiang Mai Province | 19.7200489 N 99.1283327 E | 10 | *Helicotylenchus spp.*<br>*Tylenchorhychus spp.*<br>*Meloidogyne spp.*<br>*Hirschmanniella spp.*<br>*Radopholus spp.* | Not found |
| Area 2 Nong Bua Subdistrict,Chai Prakan District Chiang Mai Province | 19.7146329 N 991211190 E | 10 | *Helicotylenchus spp.*<br>*Tylenchorhychus spp.*<br>*Meloidogyne spp.*<br>*Hirschmanniella spp.*<br>*Radopholus spp.* | Not found |
| | **Total samples** | **30** | | |

**Table 5** Samples of Thai garlic for plant-parasitic nematode examinations between October 2021 – March 2025

| Area Samples | Geographic coordinates | Number of samples | Plant-parasitic nematodes | *Ditylenchus* |
|---|---|---|---|---|
| Area 1 Pang Moo Subdistric Mueang District, Mae Hong Son Province | 19.3731615″N 97.8848775″E | 10 | *Hirschmanniella* spp.<br>*Pratylenchus* spp.<br>*Radopholus* spp. | Not found |
| Area 2 Pang Moo Subdistric Mueang District, Mae Hong Son Province | 19.37312 N 97.88497 E | 5 | *Hirschmanniella* spp | Not found |
| Area 3 Pang Moo Subdistric Mueang District, Mae Hong Son Province | 19.37312 N 97.88497 E | 5 | *Hirschmanniella* spp | Not found |
| **Total samples** | | **20** | | |

**Table 6** Samples of onion for plant-parasitic nematode examinations. between October 2021 – March 2025

| Area<br>Samples | Geographic<br>coordinates | Number<br>of samples | Plant-parasitic<br>nematodes | *Ditylenchus* |
|---|---|---|---|---|
| Area 1 Pang Mapha Subdistrict, Pang Mapha District, Mae Hong Son Province | 19.9113765 N<br>98.2025519 E | 10 | not found | not found |
| Area 2 Thung Yao Subdistrict,Pai District,Mae Hong Son Province | 19.3316785N<br>98.4334523 E | 5 | not found | not found |
| Area 3 Thung Yao Subdistrict,Pai District,Mae Hong Son Province | 19.3136178 N<br>98.4439841 E | 5 | not found | not found |
| Area 4 Mae Hee Subdistrict, Pai District, Mae Hong Son Province | 19.2965173 N<br>98.4714025 E | 5 | not found | not found |
| Area 1 Chilek Subdistrict, Mae Taeng District, Chiang Mai Province | 19.0881336 N<br>98.8911098 E | 5 | not found | not found |
| Area 2 Mon Pin Subdistrict,Fang District,Chiang Mai | 19.9113765 N<br>99.1745869 E | 30 | not found | not found |
| Area 3 Mon Pin Subdistrict,Fang District,Chiang Mai | 19.9168°N<br>99.1583°E | 5 | not found | not found |
| Area 4 Mon Pin Subdistrict,Fang District,Chiang Mai | 19.9113765N<br>99.1745869 E | 30 | not found | not found |
| Area 4 Fang Onion Growers Cooperative, Mon Pin Subdistrict, Fang District, Chiang Mai Province | | 25 | not found | not found |
| | **Total samples** | **120** | | |

**Table 7** Samples of Thai garlic with growing soil for plant-parasitic nematode examinations. between October 2021 – March 2025

| Area Samples | Geographic coordinates | Number of samples | Plant-parasitic nematodes | *Ditylenchus* |
|---|---|---|---|---|
| Area 1 Ban Tham Subdistrict, Dok Khamtai District, Phayao Province | 19°9′45″N 99°59′36″E | 30 | *Aphelenchus* spp.<br>*Aphelenchoides* spp.<br>*Hirschmanniella* spp.<br>*Meloidogyne* spp.<br>*Tylenchorhychus* spp. | not found |
| Pong Nam Ron Subdistrict,Fang District, Chiang Mai Province | 19.9405321 N 99.1693058 E | 5 | *Helicotylenchus* spp.<br>*Radopholus* spp.<br>*Hirschmanniella* spp.<br>*Meloidogyne* spp.<br>*Tylenchorhychus* spp. | not found |
| Area 2-Area 4 Ban Tham Subdistrict, Dok Khamtai District, Phayao Province | 19°9′45″N 99°59′36″E | 70 | *Aphelenchus* spp.<br>*Aphelenchoides* spp.<br>*Helicotylenchus* spp.<br>*Hirschmanniella* spp.<br>*Meloidogyne* spp.<br>*Tylenchorhychus* spp. | not found |
| Tambon Luang Tai,Ngao District, Lampang Province | 18°44′3.5″N 99°58′16.3″E | 20 | *Helicotylenchus* spp.<br>*Hirschmanniella* spp.<br>*Meloidogyne* spp. | not found |
| | **Total samples** | **125** | | |

**Table 8** Samples of Soil are continually planting Thai garlic for plant-parasitic nematode examinations. between October 2021 – March 2025

| Area Samples | Geographic coordinates | Number of samples | Plant-parasitic nematodes | *Ditylenchus* |
|---|---|---|---|---|
| Area 1-Area 20 Ban Nong Kham, Pa Daeng Subdistrict, Mueang Phrae District, Phrae District | 18°8′44″N 100°8′29″E | 74 | *Aphelenchoides* spp. *Helicotylenchus* spp. *Meloidogyne* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Aphelenchus spp.* | not found |
| | **Total samples** | **74** | | |

**Table 9** Samples of Soil are continually planting Thai shallots for plant-parasitic nematode examinations between October 2021 – March 2025

| Area Samples | Geographic coordinates | Number of samples | Plant-parasitic nematodes | *Ditylenchus* |
|---|---|---|---|---|
| Area 1-Area 40 Ban Huai Bong, Pa Sang Subdistrict, Mueang District, Uttaradit Province | 17.59362, 100.17022 | 200 | *Aphelenchoides* spp. *Hirschmanniella spp.* *Helicotylenchus* spp. *Meloidogyne* spp. *Tylenchorhychus* spp. *Radopholus spp.* | not found |
| | **Total samples** | **200** | | |

*The remarkable some of samples for plant-parasitic nematode examinations are not found plant-parasitic nematodes such as Area1-10, Area 17-Area 20, Area 26, Area 35, Area 39-Area 40.

**Table 10** Samples of Thai shallots for plant-parasitic nematode examinations between October 2021 – March 2025

| Area Samples | Geographic coordinates | Number of samples | Plant-parasitic nematodes | *Ditylenchus* |
|---|---|---|---|---|
| Area 1-Area 45 Kanchana Subdistrict, Mueang District, Phrae Province | 18°8′44″N 100°8′29″E | 630 | *Rotylenchus spp.* *Helicotylenchus* spp. *Meloidogyne* spp. *Hirschmanniella spp.* *Tylenchorrhynchus spp.* | not found |
| Area 1-Area 20 Tha Nao, Amphoe Phu Phiangt, Nan Province | 18°45′42″N 100°47′17″E | 400 | *Helicotylenchus* spp. *Tylenchorrhynchus* spp. *Meloidogyne* spp. *Hirschmanniella* spp. *Tylenchus* spp. *Rotylenchus* spp. *Pratylenchus* spp. | not found |
| | **Total samples** | **1,030** | | |

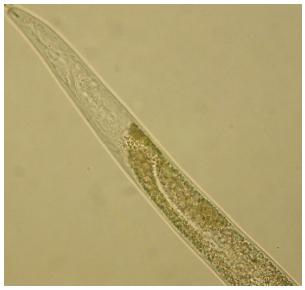
**Table 11** Samples of native Laplae shallots for plant-parasitic nematode examinations between October 2021 – March 2025

| Area Samples | Geographic coordinates | Number of samples | Plant-parasitic nematodes | *Ditylenchus* |
|---|---|---|---|---|
| Area 1-Area 20 Fai Luang Subdistrict, Laplae District, Uttaradit Province | 17.6835°N,100.0472°E | 200 | *Tylenchorhychus* spp. Hirschmanniella spp. Helicotylenchus spp. Pratylenchus spp. *Meloidogyne* spp. *Tylenchus* spp. *Hoplolaimus* spp. | not found |
| | **Total samples** | **200** | | |

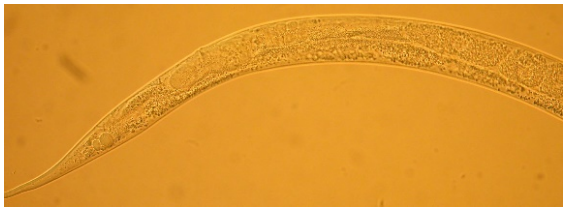
**Table 12** Samples of red onion for plant-parasitic nematode examinations between October 2021 – March 2025

| Area<br>Samples | Geographic<br>coordinates | Number<br>of<br>samples | Plant-parasitic<br>nematodes | *Ditylenchus* |
|---|---|---|---|---|
| Area 1-Area 5 Pa Ngio Subdistrict Si Satchanalai District, Sukhothai Province | 17°31′2″N 99°45′37″ E | 25 | *Tylenchorhychus* spp.<br>Helicotylenchus spp. | not found |
| | **Total samples** | **25** | | |

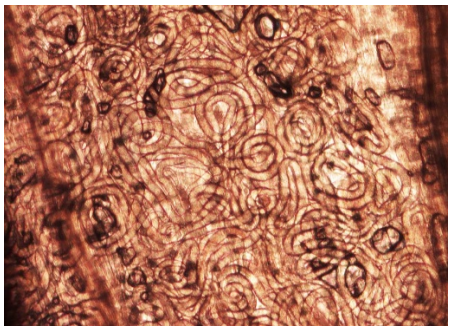
**Figure 1** Symptoms from *Ditylenchus dipsaci* of onions, garlic: Bloated, twisted, swollen, leaves, distorted and cracked bulbs (EPPO, 2017)



(A) Basal bulb with 0.5 or less overlapping intestine, dorsal and subventral gland



(B) Female gonad with post-uterine sac.



**(C)** Garlic bloat nematode (*Ditylenchus dipsaci*); nematode "wool" found between the bulbs scales of infested garlic. Cornell Plant Disease Diagnostic Clinic, Ithaca, New York, USA.©Sandra Jensen/Cornell University/Bugwood.org - CC BY-NC 3.0 US

(D) Symptoms Stem and bulb nematode (Ditylenchus dipsaci); damage to stems and bulbs on onion transplants. USA.©Howard F. Schwartz/Colorado State University/Bugwood.org - CC BY 3.0 US

**Figure 2** Character of *Ditylenchus dipsaci* (A-C)and symptoms on host plants (D)

# การสำรวจและเฝ้าระวังแมลงวันผลไม้ *Bactrocera minax* (Enderlein) (Chinese citrus fly) ในประเทศไทย

# Survey and Surveillance of *Bactrocera minax* (Enderlein) (Chinese citrus fly) in Thailand

**ดนัย ชัยเรือนแก้ว[1/] วานิช คำพานิช[1/] ยุวรินทร์ บุญทบ[2/] พรรณิภา เปชัยศรี[1/]**
**ธิดาวรรณ ชมเดช[1/] ชุติมา อ้อมกิ่ง[1/]**
**[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
**[2/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

## Abstract

The Chinese citrus fly (*Bactrocera minax* (Enderlein)) is an insect in the order Diptera, family Tephritidae, which damages citrus crops. Adult females lay eggs in citrus fruits. When the larvae hatch, they feed and live inside the citrus, making the citrus unmarketable and affecting agricultural exports. Chinese citrus fly only infects citrus crops and has been found in China, which has continuously exported citrus to Thailand. However, there have been no reports of this insect in Thailand. The survey results on important citrus planting area in Thailand (Chiang Mai, Chiang Rai, Lampang, Phrae, Nan, Phichit, Kamphaeng Phet, Sukhothai, Chai Nat, Nakhon Pathom, Ratchaburi, Kanchanaburi, Phetchaburi, Prachuap Khiri Khan, Surat Thani, Nakhon Si Thammarat, Phatthalung, Pathum Thani, Samut Songkhram, Prachin Buri, Rayong, Chanthaburi, Chaiyaphum, Nakhon Ratchasima, and Ubon Ratchathani provinces) covering 302 plots, 2,572 rai, between October 2021 and March 2025. When the fruit fly identification in the laboratory was performed using a stereo microscope, it was found that no fruit fly with external characteristics similar to the target pests had infested the surveyed citrus plants. However, four other fruit fly species were found to have infested the surveyed citrus plants: *B. dorsalis, B. correcta, B. cucurbitae, and B. papayae.* These four fruit fly species are pests that can be commonly found in Thailand and the Asia-Pacific region. This experiment, it can confirm that the fruit fly *B. minax* still has the status of a quarantine pest in Thailand.

**Keywords :** Survey, Surveillance, Citrus, Chinese citrus fly

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-09-65

## บทคัดย่อ

แมลงวันผลไม้ *Baxtrocera minax* (Enderlein) (Chinese citrus fly) คือแมลงที่อยู่ในอันดับ Diptera วงศ์ Tephritidae ซึ่งทำความเสียหายให้กับพืชตระกูลส้ม โดยตัวเต็มวัยเพศเมียจะวางไข่ในผลส้ม เมื่อหนอนฟักจะกัดกินและอาศัยอยู่ภายในผลส้ม ทำให้ผลส้มที่ถูกทำลายไม่สามารถจำหน่ายได้ กระทบต่อการส่งออกผลผลิตทางการเกษตร แมลงชนิดนี้ มีการเข้าทำลายเฉพาะพืชตระกูลส้มเท่านั้น และพบการระบาดในประเทศจีน (CABI, 2019) ซึ่งมีการส่งออกส้มมายังประเทศไทยมาอย่างต่อเนื่อง แต่ยังไม่มีการรายงานว่าพบแมลงชนิดนี้ในประเทศไทย จากการสำรวจแปลงปลูกพืชตระกูลส้มในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง แพร่ น่าน พิจิตร กำแพงเพชร สุโขทัย ชัยนาท นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ปทุมธานี สมุทรสงคราม ปราจีนบุรี ระยอง จันทบุรี ชัยภูมิ นครราชสีมา และอุบลราชธานี ซึ่งเป็นแหล่งปลูกพืชตระกูลส้มที่สำคัญในประเทศไทย จำนวน 302 แปลง 2,572 ไร่ ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2564 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2568 ผลการสำรวจ เมื่อตรวจดูลักษณะภายนอกของแมลงวันผลไม้ที่ได้จากการเก็บตัวอย่างและทำการเปรียบเทียบลักษณะสำคัญของแมลงในห้องปฏิบัติการ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope พบว่า ยังไม่พบว่ามีแมลงวันผลไม้ ซึ่งมีลักษณะภายนอกที่ใกล้เคียงกับศัตรูพืชเป้าหมาย เข้าทำลายพืชตระกูลส้มที่ทำการสำรวจ แต่พบว่า มีการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ชนิดอื่น ๆ จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *B. dorsalis B. correcta B. cucurbitae* และ *B. papayae* โดยแมลงวันผลไม้ทั้ง 4 ชนิดนี้จัดเป็นศัตรูพืชที่สามารถพบได้ทั่วไปในประเทศไทยและภูมิภาคเอเชีย-แปซิฟิกอยู่แล้ว จากการทดลองนี้จึงสามารถยืนยันได้ว่า แมลงวันผลไม้ *B. minax* ยังคงมีสถานภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย


**คำหลัก :** การสำรวจ, เฝ้าระวัง, พืชตระกูลส้ม, แมลงวันผลไม้

## คำนำ

ประเทศไทยในฐานะที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ซึ่งต้องปฏิบัติตามเงื่อนไขอนุสัญญาว่าด้วยการอารักขาพืชระหว่างประเทศ (International Plant Protection Convention, IPPC) ซึ่งกำหนดมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ส่วนมาตรการสุขอนามัยพืช (Phytosanitary measures) หมายถึง ตัวบทกฎหมาย กฎระเบียบข้อบังคับ หรือวิธีการใด ๆ ที่มีวัตถุประสงค์เพื่อป้องกันการเข้ามา และ/หรือ การแพร่กระจายของศัตรูพืชกักกัน (Quarantine pest) หรือเพื่อสกัดกั้นผลกระทบทางเศรษฐกิจของศัตรูพืชที่ไม่ใช่ศัตรูพืชกักกันที่ต้องมีการควบคุม (Regulated non-quarantine pest) รวมทั้งข้อกำหนดการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืช (Phytosanitary import requirements) หมายถึงมาตรการสุขอนามัยพืชเฉพาะ ที่จัดทำขึ้นมาโดยประเทศผู้นำเข้าสำหรับสินค้าที่จะอนุญาตให้นำเข้า เป็นผลจากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของสินค้านั้น และได้กำหนดให้กรมวิชาการเกษตร คือ องค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection

Organization; NPPO) เช่นเดียวกันกับการส่งออกสินค้าพืชของประเทศไทยไปยังประเทศที่ยังไม่เคยอนุญาตนำเข้ามาก่อนก็ต้องส่งมอบข้อมูลสินค้าพืชนั้นและบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest list) ที่เกี่ยวข้อง เพื่อการทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของประเทศปลายทาง และป้องกันปัญหาเนื่องจากความตกลงว่าด้วยการใช้บังคับมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, SPS Agreement) ซึ่งกำหนดให้ประเทศสมาชิก WTO มีสิทธิ์กำหนดหรือใช้มาตรการใด ๆ สำหรับการนำเข้าสินค้า เพื่อป้องกันชีวิตหรือสุขภาพสัตว์หรือพืชจากความเสี่ยงของโรคและแมลงศัตรูพืชที่ทำให้เกิดโรคหรือเป็นพาหะของโรค เพื่อป้องกันชีวิตสุขภาพมนุษย์สัตว์ สิ่งแวดล้อม จากความเสี่ยงซึ่งเกิดจากการใช้สารปรุงแต่ง สิ่งเจือปน สารพิษ หรือสิ่งมีชีวิตที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร เครื่องดื่ม หรืออาหารสัตว์ เพื่อป้องกันชีวิตหรือสุขภาพมนุษย์จากความเสี่ยงซึ่งเกิดจากโรคที่มีในสัตว์ พืช หรือผลิตภัณฑ์จากสิ่งนั้นเป็นพาหะ และเพื่อป้องกันหรือจำกัดความเสียหายอื่น ๆ จากการเข้ามา (Entry) การตั้งรกราก (Establishment) แพร่ระบาด (Spread) ของศัตรูพืช เช่น โรคพืช แมลง ไร วัชพืช และสัตว์ศัตรูพืช รวมทั้งสร้างความเสียหายกับพืชและผลิตพืชภายในประเทศ

การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูโดยการศึกษาและการสำรวจแบบติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง (Surveillance) (IPPC Secretariat, 2018) ตาม ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 เป็นกระบวนการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งในพื้นที่ ซึ่งสอดคล้องกับ ISPM ฉบับที่ 4 ข้อกำหนดสำหรับจัดตั้งพื้นที่ปลอดศัตรูพืช (Requirements for the establishment of pest free areas) (IPPC Secretariat, 2024) ที่เป็นทางเลือกหนึ่งในการจัดการความเสี่ยงสำหรับการรับรองสุขอนามัยพืชของพืชและผลผลิตพืช รวมทั้งสิ่งควบคุมอื่น ๆ เพื่อการส่งออก รวมถึง ISPM ฉบับที่ 8 การกำหนดสถานภาพของศัตรูพืชในพื้นที่ (Determination of pest status in an area) (IPPC Secretariat, 2021) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการบันทึกศัตรูพืช (pest record) เพื่อกำหนดสถานภาพการปรากฏ หรือไม่ปรากฏพบของศัตรูพืชในพื้นที่ โดยการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชนั้นสามารถทำได้ 2 แบบ คือ การเฝ้าระวังโดยทั่วไป ด้วยการสืบค้นข้อมูลจากแหล่งข้อมูลที่น่าเชื่อถือ และการเฝ้าระวังโดยการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง ที่ดำเนินการด้วยการสำรวจแบบตรวจหา แบบมีขอบเขต และแบบติดตามอย่างต่อเนื่อง (McMaugh, 2008) โดยประโยชน์ของการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงนั้น จะสามารถบอกถึงสถานการณ์ของศัตรูพืชชนิดนั้นในพื้นที่ ซึ่งข้อมูลที่ได้ถือเป็นการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชในกรณีที่ไม่พบศัตรูพืชในพื้นที่นั้น ๆ เมื่อได้รับการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชแล้ว การจะคงสภาพพื้นที่ปลอดศัตรูพืชจะต้องมีการสำรวจแบบตรวจหาอย่างเป็นระบบ โดยข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการสำรวจติดตามศัตรูพืชเพื่อการเฝ้าระวังนี้จะส่งต่อให้ NPPO นำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ เช่น ใช้ในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืชที่ดำเนินการโดย NPPO หรือเป็นส่วนหนึ่งในกระบวนการตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา รวมถึงให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ เป็นต้น

*Bactrocera minax* (Enderlein) (Chinese citrus fly) คือแมลงที่อยู่ในอันดับ Diptera วงศ์ Tephritidae ซึ่งทำความเสียหายให้แก่พืชตระกูลส้ม และเป็นศัตรูพืชกักกันของหลายประเทศ โดยตัวเต็มวัยเพศเมียจะวางไข่ในผลส้ม เมื่อหนอนฟักออกจากไข่จะกัดกินและอาศัยอยู่ภายในผลส้ม ทำให้ผลส้มที่ถูกทำลายไม่สามารถจำหน่ายได้ กระทบต่อการส่งออกผลผลิตทางการเกษตร แมลงชนิดนี้มีการเข้าทำลายเฉพาะพืชตระกูลส้มเท่านั้น และพบการระบาดในประเทศจีน (CABI, 2019) ซึ่งมีการส่งออกส้มมายังประเทศไทยมาอย่างต่อเนื่อง แต่ยังไม่มีการรายงานว่าพบแมลงชนิดนี้ในประเทศไทย จากวงจรชีวิตของแมลงวันผลไม้ชนิดนี้ พบว่าตัวเต็มวัยเพศเมีย 1 ตัว สามารถวางไข่ได้ 50 - 200 ฟอง และตัวหนอนที่อาศัยอยู่ภายในผลส้มจะสามารถทนต่ออุณหภูมิต่ำได้ และโอกาสการแพร่กระจายนั้นจะเกิดมาจากการขนส่ง โดยติดมากับผลส้มนำเข้าจากแหล่งที่มีแมลงวันชนิดนี้

พืชตระกูลส้มในประเทศไทยมีมากมายหลายชนิด จากการรายงานของ กรมส่งเสริมการเกษตร 2562 รายงานว่าพื้นที่ปลูกพืชตระกูลส้มในประเทศไทยทั้งหมด จำนวน 307,131 ไร่ โดยแบ่งเป็น มะนาว 145,755 ไร่ ส้มเขียวหวาน 92,473 ไร่ ส้มโอ 62,835 ไร่ มะกรูด 3,694 ไร่ ส้มเกลี้ยงและส้มตรา 2,354 ไร่ ตามลำดับ โดยได้รับความนิยมในการบริโภคอย่างมากทั้งภายในประเทศและส่งออกไปยังประเทศเพื่อนบ้าน นอกจากนี้ประเทศไทยมีการนำเข้าส้มเขียวหวานซึ่งเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ชนิดนี้ จากวงจรชีวิตและลักษณะการทำลายของแมลง มีความเป็นไปได้ที่สามารถเข้ามาตั้งรกรากอยู่ในประเทศไทยได้ และหากสามารถตั้งรกรากได้จริงย่อมมีโอกาสที่จะเกิดการระบาดและสร้างความเสียหายต่อส้มและพืชอื่นๆที่เป็นพืชอาศัยของแมลงชนิดนี้ได้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องทำการสำรวจเฝ้าระวังศัตรูพืชในพื้นที่ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และการรายงานศัตรูพืชอีกด้วย

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ วารสาร

2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก ปากกามาร์กเกอร์ มีดคัตเตอร์ กรรไกรตัดกิ่ง กับดักแมลงวันผลไม้ เหยื่อโปรตีนสำหรับล่อแมลงวันผลไม้ สารฆ่าแมลง malathion 57%EC กล่องเก็บตัวอย่างแมลง เครื่องบันทึกพิกัดทางภูมิศาสตร์

3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว สารเคมี กล้องจุลทรรศน์ เข็มเขี่ย เข็มปักแมลง กล่องเก็บรักษาตัวอย่างแมลง

4. คู่มือการจำแนกแมลงวันผลไม้ *B. minax*

**วิธีการ**

**1. สืบค้นข้อมูล**

สืบค้นข้อมูลลักษณะของแมลงวันผลไม้ *B. minax* ศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืชของประเทศไทย ได้แก่ รายละเอียดของแมลงวันผลไม้ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง รูปร่างลักษณะ การเข้าทำลาย พืชอาศัย การแพร่ระบาด พร้อมรูปภาพประกอบ

**2. จัดทำรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ**

รวบรวมข้อมูลลักษณะของแมลงวันผลไม้ พร้อมรูปภาพสีเพื่อใช้เป็นคู่มือในการตรวจสอบ จัดทำแบบฟอร์มการสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูล เช่น ชื่อพืช ชื่อเกษตรกรเจ้าของแปลง สถานที่ วันที่สำรวจ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์ ข้อมูลการนำเข้าพืช ประเทศต้นทาง เป็นต้น

**3. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้**

- กำหนดพื้นที่ วางแผนการสำรวจ โดยการสำรวจแบบกำหนดขอบเขตตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No.6) และการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชกักกันตามเงื่อนไขประกาศกรมวิชาการเกษตร

- สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้ในแปลงปลูกพืชทั่วทุกภาคของประเทศไทย ทั้งหมด 150 แปลง (ปีละ 50 แปลง) โดยแบ่งเป็นการสำรวจในพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ ซึ่งเป็นพืชตระกูลส้ม (Citrus) ได้แก่ มะกรูด (*C. hystrix*) 3 แปลง มะนาว (*C. aurantifolia*) 69 แปลง ส้มโอ (*C. maxima*) 30 แปลง ส้มเกลี้ยง (*C. sinensis*) 3 แปลง และส้มเขียวหวาน (*C. reticulata*) 45 แปลง โดยใช้จำนวนพื้นที่ปลูกมาเป็นเกณฑ์ในการตัดสินใจเลือกแปลงที่จะนำมาใช้ในการทดลอง

- สำรวจแมลงวันผลไม้โดยกับดักแมลงวันผลไม้ที่มีสารล่อเป็นเหยื่อโปรตีนร่วมกับสารเมทธิลยูจีนอลผสมกับสารฆ่าแมลง malathion 57%EC

- ทำการเก็บกับดักในทุกเดือน บันทึกสถานที่ พิกัดทางภูมิศาสตร์ วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่าง ชนิดและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งชื่อผู้เก็บ นำตัวอย่างแมลงวันผลไม้ที่เก็บรวบรวมได้ มาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการตรวจดูลักษณะภายนอกด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope ถ่ายภาพ บันทึกรายละเอียด เช่น ขนาด รูปร่างลักษณะและสีของแมลงวันผลไม้ก่อนนำตัวอย่างไปตรวจจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ที่มีกำลังขยายสูง ตรวจดูลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนก

- การบันทึกรายละเอียดบนป้ายชื่อตัวอย่าง เขียนรายละเอียดเกี่ยวกับพืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ชื่อวิทยาศาสตร์ เพศ วันเดือนปี ชื่อผู้จำแนก และจัดเก็บตัวอย่างแมลงวันผลไม้ในกล่องนำเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามหลักสากล

**4. สรุปผลการศึกษาสถานภาพของแมลงวันผลไม้**

ทำการสรุปผลการศึกษาสถานภาพของแมลงวันผลไม้ *B. minax* เพื่อนำไปใช้ในการจัดทำมาตรการเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2564 - มีนาคม 2568

สถานที่ 1) ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนปลูกพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2) พื้นที่ปลูกพืชตะกูลส้มของประเทศไทย เช่น เชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง น่าน แพร่ กำแพงเพชร พิจิตรสุโขทัย ชัยนาท ปทุมธานี นครปฐม สมุทรสงคราม ปราจีนบุรี ราชบุรี กาญจนบุรี ระยอง จันทบุรี ชัยภูมิ นครราชสีมา อุบลราชธานี เพชรบุรี สุราษฎร์ธานี และนครศรีธรรมราช

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. สืบค้นข้อมูลสืบค้นข้อมูลลักษณะของแมลงวันผลไม้ *B. minax***

สืบค้นข้อมูลสืบค้นข้อมูลลักษณะของแมลงวันผลไม้ *B. minax* (Chinese citrus fly) ได้แก่ รายละเอียดของแมลง ชื่อวิทยาศาสตร์ และลักษณะการทำลายบนพืช ตลอดจนถึงพืชอาศัยและเขตการแพร่กระจายของแมลงชนิดนี้ โดยมีรายละเอียดดังนี้

รายละเอียดของแมลง (CABI, 2019; EPPO, 2020) ดังนี้ (Figure 1)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Bactrocera minax* (Enderlein)

ชื่อสามัญ: Chinese citrus fly

อันดับ: Diptera

วงศ์: Tephritidae

สกุล: *Bactrocera*

<u>ลักษณะของแมลง</u>

ตัวเต็มวัยของแมลงชนิดนี้ จัดอยู่ในสกุล *Bactrocera* ซึ่งมีรูปร่างลักษณะคล้ายกับแมลงในวงศ์ Tephritidae ส่วนใหญ่ โดยมากแล้วแมลงจะมีลวดลายบนปีก อีกทั้งตัวเมียยังมีท่อนำไข่ที่ยาว และมีลักษณะเป็นปลายแหลม ซึ่งคุณลักษณะเหล่านี้เป็นลักษณะสำคัญที่ทำให้แมลงถูกแยกออกจาก Diptera อื่น ๆ โดยรูปร่างของ *B. minax* เป็นสายพันธุ์ที่มีสีน้ำตาลส้มเด่น มีแถบสีเหลืองตรงกลางและด้านข้าง (แถบ) บนหนังหุ้ม รวมทั้งลักษณะที่ผิดปกติของแถบสีเหลืองด้านข้างด้านหน้าของรอยประสาน ไม่มีส่วนหน้าของ supra-alar setae และ aculeus ของตัวเมียมีจุดปลายมนจุดเดียว

วงจรชีวิตของแมลงชนิดนี้ประมาณ 5 สัปดาห์ แต่ทว่าใน 1 ปี จะผลิตประชากรได้เพียง 1 รุ่นเท่านั้น ส่วนการแพร่กระจายนั้นจะเกิดขึ้นจากการขนส่ง โดยติดมากับผลส้มที่นำเข้ามาจากแหล่งที่มีรายงานการระบาด แมลงวันผลไม้ชนิดนี้ มีการพัฒนาวงจรชีวิตสอดคล้องกับระยะการเจริญเติบโตของส้ม ตัวเต็มวัยเพศเมียจะทำการผสมพันธุ์ และวางไข่ในระยะที่ส้มเป็นผลอ่อน หลังจากหนอนฟักจะกัดกินอาศัยและพัฒนาวงจรชีวิตอยู่ภายในผล ก่อนจะออกจากผลเพื่อทิ้งตัวเข้าดักแด้ในผิวดินใกล้กับต้นส้ม

ลักษณะการทำลายบนพืช

แมลงจะทำความเสียหายให้กับพืชตระกูลส้ม โดยตัวเต็มวัยเพศเมียจะวางไข่ในผลส้ม เมื่อหนอนฟักออกจากไข่จะกัดกินและอาศัยอยู่ภายในผลส้ม ทำให้ผลส้มที่ถูกทำลายไม่สามารถจำหน่ายได้ กระทบต่อการส่งออกผลผลิตทางการเกษตร แมลงชนิดนี้มีการเข้าทำลายเฉพาะพืชตระกูลส้มเท่านั้น และพบการระบาดในประเทศจีน (CABI, 2019: EPPO, 2020) ซึ่งมีการส่งออกส้มมายังประเทศไทยมาอย่างต่อเนื่อง แต่ยังไม่มีการรายงานว่าพบแมลงชนิดนี้ในประเทศไทย จากวงจรชีวิตของแมลงวันผลไม้ชนิดนี้ พบว่าตัวเต็มวัยเพศเมีย 1 ตัว สามารถวางไข่ได้ 50 - 200 ฟอง และตัวหนอนที่อาศัยอยู่ภายในผลส้มจะสามารถทนต่ออุณหภูมิต่ำได้ อีกทั้งโอกาสการแพร่กระจายนั้นจะเกิดมาจากการขนส่งโดยติดมากับผลส้มที่นำเข้าจากแหล่งที่มีการระบาดของแมลงวันชนิดนี้

การแพร่กระจาย

ส่วนใหญ่จะเกิดจากนำผลส้มที่มีหนอนแมลงวันผลไม้จากแหล่งที่พบว่ามีการระบาดเข้ามาในพื้นที่ นอกจากนี้ยังพบว่า แมลงวันผลไม้ชนิดนี้ สามารถปรับตัวในพื้นที่ที่มีสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมได้ดีในระดับหนึ่ง

พื้นที่การระบาด

ทวีปเอเชีย – จีน ภูฏาน อินเดีย และเนปาล

พืชอาศัย

พืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ชนิดนี้จำกัดอยู่ในพืชวงศ์ส้มเท่านั้น (CABI, 2019; EPPO, 2020) ได้แก่ *Citrus aurantiifolia, Citrus aurantium, Citrus junos, Citrus limon, Citrus maxima, Citrus medica, Citrus paradisi, Citrus reticulata, Citrus sinensis, Citrus tangerina, Citrus trifoliata, Citrus unshiu, Citrus x nobilis, Citrus, Fortunella crassifolia, Fortunella japonica, Fortunella margarita, Fortunella* เป็นต้น

**2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ**

จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจแมลงวันผลไม้ชนิด *B. minax* และสร้างคู่มือการสำรวจในแปลงปลูกพืชตระกูลส้ม (Figure 2) โดยคู่มือประกอบด้วย

- ข้อมูลพื้นฐานของแมลง และภาพตัวอย่างการทำลาย ตลอดจนวิธีการจำแนกชนิดและความแตกต่างของรอยทำลายที่เกิดขึ้นของแมลง เทียบกับแมลงวันผลไม้ที่เป็นศัตรูพืชเดิมของพืชชนิดนี้
- แบบบันทึกรายงานการสำรวจโดยมีรายละเอียดคือ วันเดือนปีที่สำรวจ สถานที่สำรวจ (หมู่บ้าน ตำบล อำเภอ จังหวัด) พิกัดทางภูมิศาสตร์ ขนาดของพื้นที่ที่ทำการสำรวจ ชื่อผู้สำรวจ จำนวนแปลงที่สำรวจ ชื่อพืชที่พบรอยทำลาย อัตราการทำลาย และพืชอาศัยอื่นที่อยู่ข้างเคียง
- รูปแบบการเดินสำรวจร่องรอยการทำลายของพืช สังเกตรอยทำลายบนผลส้มต้นละ 4 ทิศรอบทรงพุ่ม จำนวน 10 ต้นต่อแปลง เดินสำรวจในแนวทแยงมุม (Figure 3)
- รูปแบบและวิธีการติดตั้งกับดักแมลงวันผลไม้ชนิดเหยื่อโปรตีนในแปลงปลูก เพื่อดักจับแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัย

- การเก็บตัวอย่าง โดยเก็บส่วนของผลส้มที่มีรอยทำลาย ใส่ในถุงกระดาษหรือห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์แล้วใส่ในถุงพลาสติก เพื่อมาตรวจจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ

**3. การสำรวจ**

จากการสำรวจแปลงปลูกพืชตระกูลส้มในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง แพร่ น่าน พิจิตร กำแพงเพชร สุโขทัย ชัยนาท นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ปทุมธานี สมุทรสงคราม ปราจีนบุรี ระยอง จันทบุรี ชัยภูมิ นครราชสีมา และอุบลราชธานี ซึ่งเป็นแหล่งปลูกพืชตระกูลส้มที่สำคัญในประเทศไทย จำนวน 302 แปลง 2,572 ไร่ ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2564 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2568 (Figure 4) ผลการสำรวจ เมื่อตรวจดูลักษณะภายนอกของแมลงวันผลไม้ที่ได้จากการเก็บตัวอย่างและทำการเปรียบเทียบลักษณะสำคัญของแมลงในห้องปฏิบัติการ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo พบว่า ไม่มีแมลงวันผลไม้ที่มีลักษณะภายนอกที่ใกล้เคียงกับแมลงเป้าหมายเข้าทำลายพืชตระกูลส้มในพื้นที่ที่ดำเนินการสำรวจ แต่พบว่า มีการเข้าทำลายของแมลงวันชนิดอื่นจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *B. dorsalis B. correcta B. cucurbitae* และ *B. papayae* โดยแมลงวันผลไม้ทั้ง 4 ชนิดนี้จัดเป็นศัตรูพืชที่สามารถพบได้ทั่วไปในประเทศไทยและภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิกอยู่แล้ว

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจแปลงปลูกพืชตระกูลส้มในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง แพร่ น่าน พิจิตร กำแพงเพชร สุโขทัย ชัยนาท นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ปทุมธานี สมุทรสงคราม ปราจีนบุรี ระยอง จันทบุรี ชัยภูมิ นครราชสีมา และอุบลราชธานี ซึ่งเป็นแหล่งปลูกพืชตระกูลส้มที่สำคัญในประเทศไทย จำนวน 302 แปลง 2,572 ไร่ ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2564 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2568 ผลการสำรวจ เมื่อตรวจดูลักษณะภายนอกของแมลงวันผลไม้ที่ได้จากการเก็บตัวอย่างและทำการเปรียบเทียบลักษณะสำคัญของแมลงในห้องปฏิบัติการ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo พบว่า ไม่มีแมลงวันผลไม้ที่มีลักษณะภายนอกที่ใกล้เคียงกับแมลงเป้าหมายเข้าทำลายพืชตระกูลส้มในพื้นที่ที่ดำเนินการสำรวจ แต่พบว่า มีการเข้าทำลายของแมลงวันชนิดอื่นจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *B. dorsalis B. correcta B. cucurbitae* และ *B. papayae* โดยแมลงวันผลไม้ทั้ง 4 ชนิดนี้ จัดเป็นศัตรูพืชที่สามารถพบได้ทั่วไปในประเทศไทยและภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิกอยู่แล้ว จึงสามารถยืนยันได้ว่า แมลงชนิดนี้ ยังคงมีสถานภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

## คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ ข้าราชการ พนักงานราชการ และพนักงานจ้างเหมา ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือในการทำงานวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2550 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 124 ง. ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550.

CABI (CAB International). 2019. *Bactrocera minax* (Chinese citrus fly). CAB International. (Online). Available. https://www.cabi.org/isc/datasheet/8726. (3 December 2019)

EPPO. 2020. *Bactrocera minax*. EPPO Global Database. (Online). Available. https:// https://gd.eppo.int/taxon/DACUCT/datasheet (16 January 2020)

IPPC Secretariat. 2018. Surveillance. International Standard for Phytosanitary Measures No. 6. Rome, IPPC, FAO.

IPPC Secretariat. 2021. Determination of pest status in an area. International Standard for Phytosanitary Measures No. 8. Rome, IPPC, FAO.

IPPC Secretariat. 2024. Requirements for the establishment of pest free areas. International Standard for Phytosanitary Measures No. 4. Rome, IPPC, FAO.

McMaugh, T. 2008. คำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก .ACIAR Monograph No. 119c.

Plant Health Australia (2018). The Australian Handbook for the Identification of Fruit Flies. Version 3.1. Plant Health Australia. Canberra, ACT.

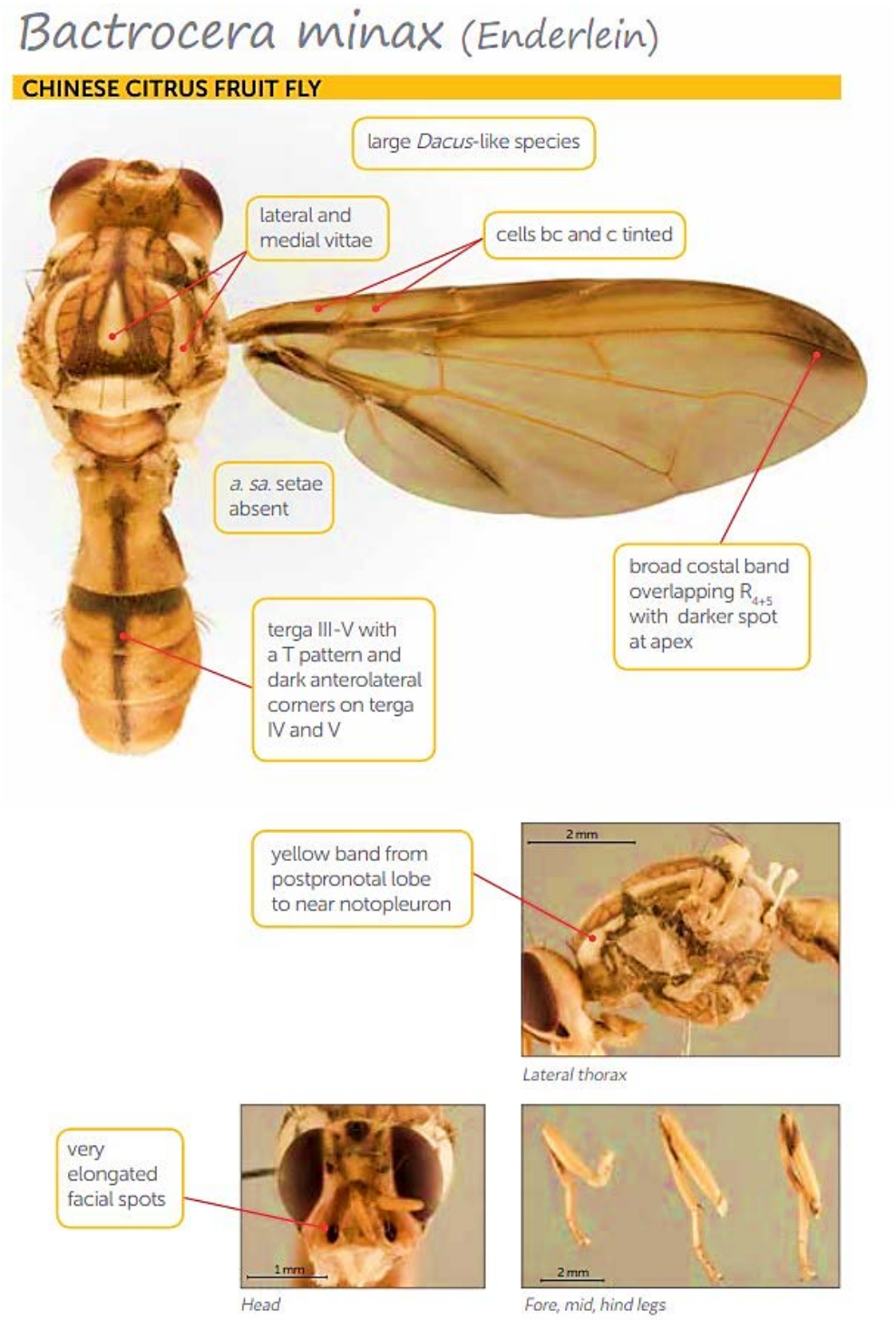



**Figure 1** Characteristics of *Bactrocera minax*

Source: THE AUSTRALIAN HANDBOOK FOR THE IDENTIFICATION OF FRUIT FLIES, 2018

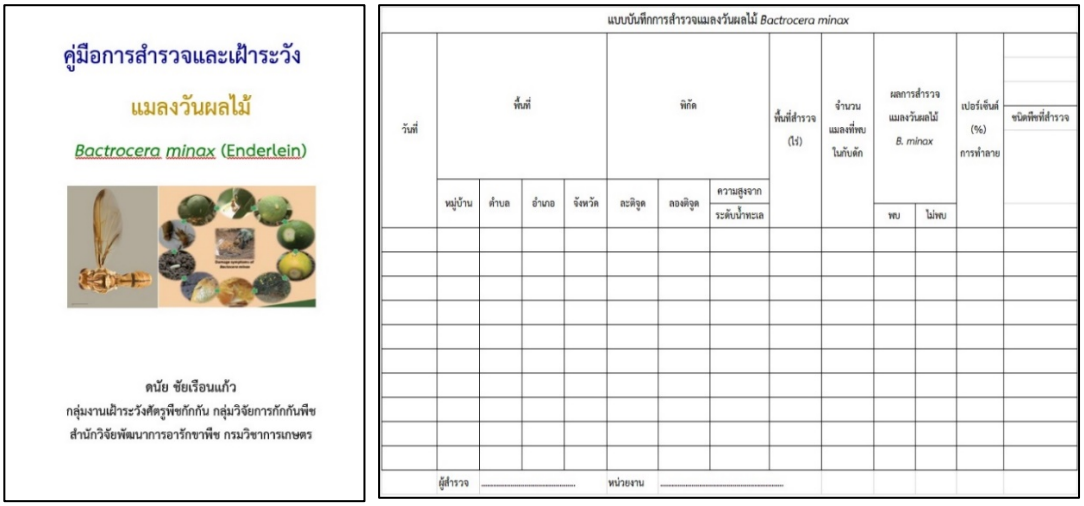



**Figure 2** Survey guide and report form

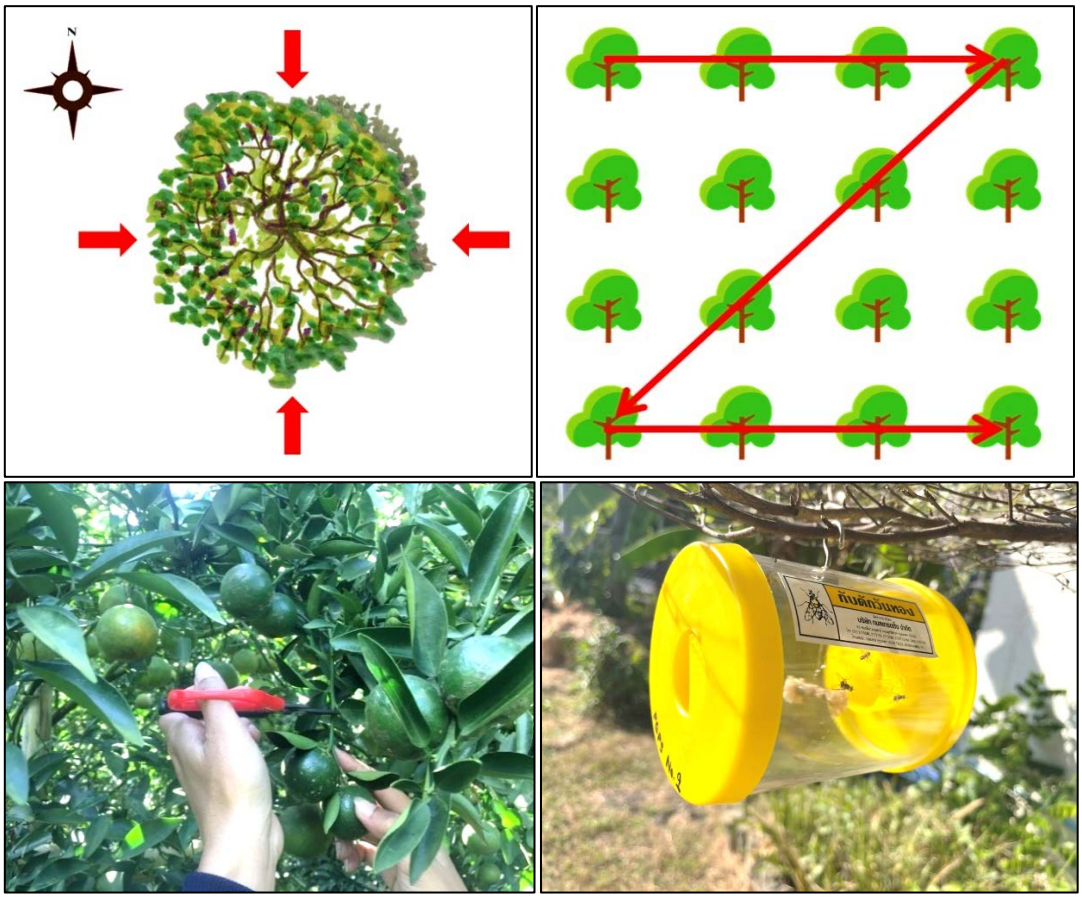



**Figure 3** Survey pattern and collecting sample of *Citrus* spp.

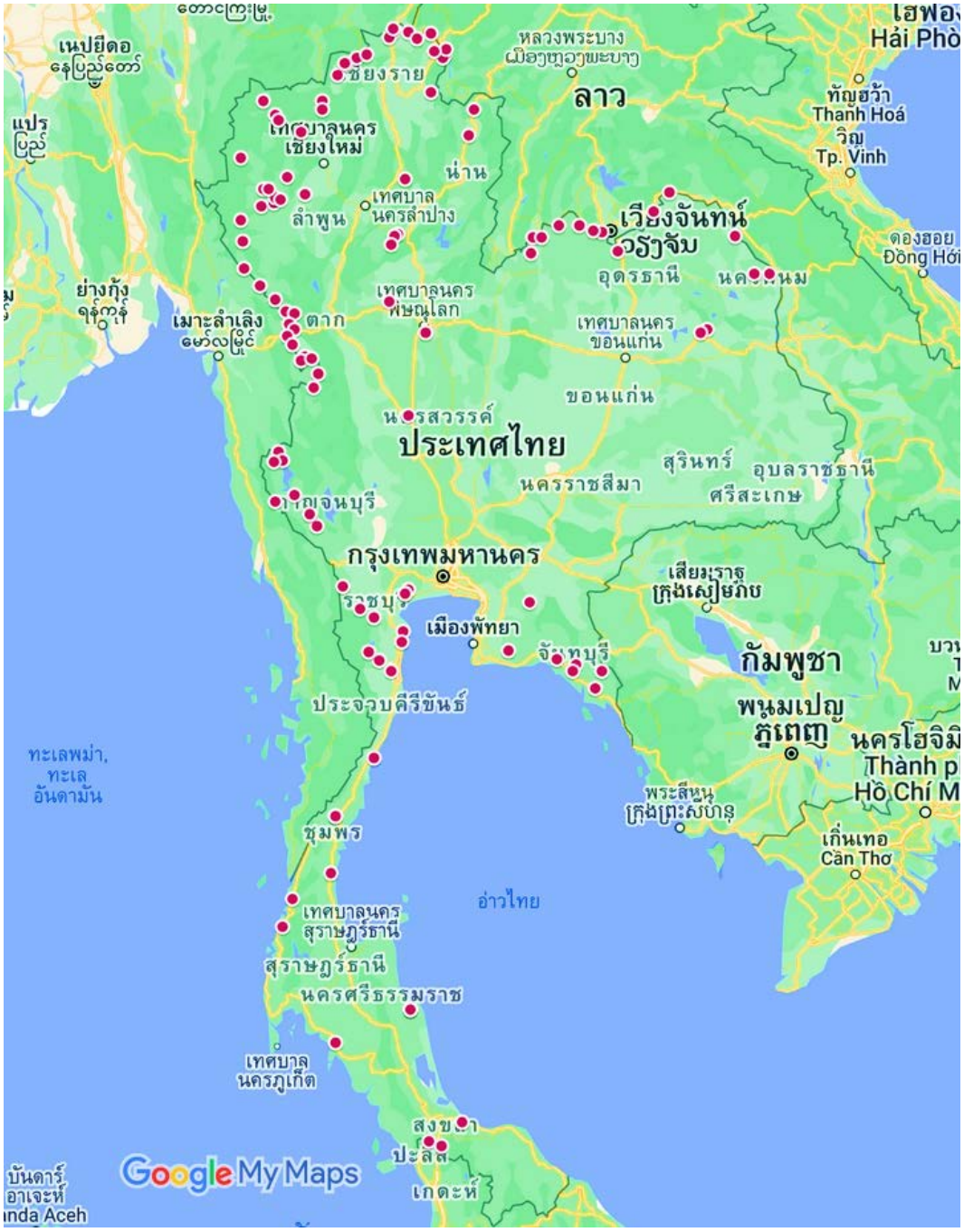



**Figure 4** Survey of *Bactrocera minax* (Chinese citrus fly)
in Citrus plantation in Thailand

# การสำรวจและเฝ้าระวังตั๊กแตนไผ่ *Ceracris kiangsu* Tsai ในประเทศไทย

# The Survey and Surveillance of Yellow-spine bamboo locust, *Ceracris kiangsu* Tsai in Thailand

**จารุวัตถ์ แต้กุล ยุวรินทร์ บุญทบ สุนัดดา เชาวลิต ชมัยพร บัวมาศ**
**อิทธิพล บรรณาการ เกศสุดา สนศิริ อาทิตย์ รักกสิกร**
**จอมสุรางค์ ดวงธิสาร สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์**
**กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช**

## Abstract

Due to reports of an outbreak of the Yellow-spined bamboo locust (*Ceracris kiangsu* Tsai) in the Lao People's Democratic Republic and the lack of survey and monitoring data on this locust species in Thailand for over 30 years, this study aimed to determine the status, morphological characteristics, and diagnostic approach for *Ceracris kiangsu* Tsai in Thailand. The study involved field surveys and specimen collection in high-risk areas such as economic crop plantations and border regions. A total of 450 locust specimens were collected and identified into 12 species: *Aiolopus thalassinus tamulus, Atractomorpha crenulate, Ceracris fasciata, Cyrtacanthacris tatarica, Gesonula mundata* (Walker), *Locusta migratoria manilensis, Oxya hyla* Serville, *Oxya japonica* (Thunberg), *Patanga succincta, Phlaeoba antennata, Pseudoxya diminuta* (Walker), and *Spathosternum prasiniferum* (Walker). However, *Ceracris kiangsu* was not found in the surveyed areas. A comprehensive dataset on the Yellow-spined bamboo locust, including its life cycle, distribution, and diagnostic characteristics, was compiled and published as a scientific article in the Journal of Entomology and Zoology. Upon completion of the study, the obtained results enabled the Plant Quarantine Research Group to utilize the diagnostic dataset for international trade negotiations and to provide essential information for government agencies to conduct future surveys and monitoring of this pest species. The key economic impact of this research was the establishment of

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-10-65

a database on the distribution and status of the Yellow-spined bamboo locust, which supported international trade discussions and facilitated agricultural exports, thereby contributing to the national economy.

**Keywords :** Yellow-spine bamboo locust, bamboo locust, bamboo grasshoppers, *Rammeacris kiangsu,* Locust Survey

**บทคัดย่อ**

เนื่องจากมีรายงานการระบาดของตั๊กแตนไผ่ (Yellow-spined bamboo locust): *Ceracris kiangsu* Tsai ในสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว และไม่มีข้อมูลด้านการสำรวจและเฝ้าระวังตั๊กแตนไผ่ในประเทศไทยมากว่า 30 ปี วัตถุประสงค์ของการทดลอง เพื่อทราบสถานภาพ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และแนวทางการวินิจฉัยของตั๊กแตนไผ่ *Ceracris kiangsu* Tsai ในประเทศไทย ดำเนินการทดลองโดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างตั๊กแตนในพื้นที่เสี่ยงเช่น พื้นที่ปลูกพืชไร่ทางเศรษฐกิจ พื้นที่บริเวณชายแดน เป็นต้น ได้ตัวอย่างตั๊กแตนทั้งสิ้น 450 ตัวอย่าง วินิจฉัยชนิดของตั๊กแตนได้ 12 ชนิดได้แก่ *Aiolopus thalassinus tamulus*, *Atractomorpha crenulate*, *Ceracris fasciata*, *Cyrtacanthacris tatarica*, *Gesonula mundata* (Walker), *Locusta migratoria manilensis*, *Oxya hyla* Serville, *Oxya japonica* (Thunberg), *Patanga succincta*, *Phlaeoba antennata*, *Pseudoxya diminuta*, *Pseudoxya diminuta* (Walker), และ *Spathosternum prasiniferum* (Walker) ทั้งนี้ไม่พบตั๊กแตนไผ่ *Ceracris kiangsu* ได้ชุดข้อมูลรายละเอียดของตั๊กแตนไผ่ วงจรชีวิต การแพร่กระจาย วินิจฉัยลักษณะ ตีพิมพ์ในบทความวิชาการ วารสารกีฏและสัตววิทยา จำนวน 1 บทความ เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองผลลัพธ์ที่ได้คือกลุ่มวิจัยกักกันพืชสามารถนำชุดข้อมูลการวินิจฉัยชนิดของตั๊กแตนไผ่ ใช้ทั้งประกอบการเจรจาการค้าระหว่างประเทศ รวมถึงเป็นข้อมูล ให้หน่วยงานราชการดำเนินการสำรวจ และเฝ้าระวังแมลงศัตรูพืชชนิดนี้ต่อไปในอนาคต ส่งผลกระทบที่สำคัญด้านเศรษฐกิจคือ ได้ฐานข้อมูล การแพร่กระจาย และสถานภาพของตั๊กแตนไผ่ ประกอบการเจรจาการค้าระหว่างประเทศ ทำให้สามารถส่งสินค้าเกษตร หรือต่อรองกับประเทศคู่ค้า สร้างรายได้ทางเศรษฐกิจให้กับประเทศ

**คำหลัก :** ตั๊กแตนไผ่, ตั๊กแตนหนวดสั้น, ตั๊กแตนข้าวโพด, ตั๊กแตนแถบเหลือง, การสำรวจตั๊กแตนหนวดสั้น

**คำนำ**

ได้มีรายงานการระบาดของตั๊กแตนไผ่ (Yellow-spined bamboo locust): *Ceracris kiangsu* Tsai ในสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว ซึ่งทาง สปป.ลาว ได้รายงานในที่ประชุมคณะกรรมาธิการอารักขาพืชระหว่างประเทศแห่งภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก ครั้งที่ 29 เมื่อปี 2558 (The Asia and Pacific Plant Protection Commission: APPPC) ว่าเกิดการระบาดอย่างรุนแรงของตั๊กแตนไผ่ ทำลายพืชเศรษฐกิจ เช่น ข้าวไร่ ข้าวโพด และลูกเดือย การระบาดเกิดขึ้นในพื้นที่แขวงหัวพัน ซึ่งเป็นเขตติดต่อกับประเทศสาธารณรัฐสังคมนิยมเวียดนาม มีรายงานพบตั๊กแตนชนิดนี้ครั้งแรกในปี 2472 ที่สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนจีน ในพื้นที่มณฑล เสฉวน หูเป่ย เกียงสู หูหนาน เกียงสี ฝูเจียน และกวางตุ้ง ซึ่งสร้างความเสียหายอย่างรุนแรงหลายครั้ง ในช่วงปี 2478 – 2489 โดยพบทำความเสียหายอย่างรุนแรงในพืชไผ่ ข้าวโพด และข้าว (Centre for overseas pest research, 1982) อย่างไรก็ตาม ไม่มีรายงานการระบาดของตั๊กแตนชนิดนี้ในประเทศไทย แต่มีรายงานว่าเคยพบที่จังหวัดเชียงใหม่และสุพรรณบุรี (Roffey, 1979) รวมทั้งมีตัวอย่างอ้างอิงในพิพิธภัณฑ์แมลงของกรมวิชาการเกษตร ซึ่งเก็บได้จากไผ่และธัญพืช ที่จังหวัดสุพรรณบุรี (ปี 2506) เชียงใหม่ (ปี 2518) และสุรินทร์ (ปี 2518) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากลักษณะอากาศที่ร้อนของประเทศไทยไม่เหมาะสมกับแมลงชนิดนี้ ในปี 2558 มีรายงานการระบาดของตั๊กแตนไผ่เพิ่มในแขวงพงสาลีซึ่งเป็นเขตติดต่อกับสาธารณรัฐประชาชนจีนและปัจจุบันพบการระบาดในแขวงหลวงพระบางซึ่งอยู่ห่างจากประเทศไทยเพียง 114 กิโลเมตร การระบาดมีความรุนแรงจนไม่สามารถควบคุมการระบาดได้ ดังนั้นสปป.ลาว จึงได้ขอความช่วยเหลือไปยังองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) ให้เข้ามาช่วยควบคุมการระบาดของตั๊กแตนไผ่ปัจจุบันยังไม่สามารถควบคุมได้เนื่องจากพื้นที่ที่มีการระบาดของตั๊กแตนไผ่มีสภาพภูมิประเทศเป็นป่าและภูเขาสูงชัน ทำให้ไม่สามารถดำเนินการป้องกันกำจัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ตั๊กแตนชนิดนี้ พบแพร่กระจายอย่างกว้างขวางบริเวณพื้นที่ป่าไผ่ ทางตอนใต้ของประเทศจีน ด้านตะวันออกเฉียงใต้ของมณฑลแจงสี บริเวณทางลาดเชิงเขา มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 300 – 400 เมตร บางครั้งพบในพื้นที่มีความสูงกว่าระดับน้ำทะเลถึง 780 เมตร มีรายงานว่าพบแมลงชนิดนี้วางไข่จำนวนมากใต้ผิวดินไข่ของตั๊กแตนชนิดนี้จะฟักในบริเวณที่มีแสงแดดส่องถึง โดยมีอุณหภูมิสูงกว่า 32 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามตัวเต็มวัยชอบอาศัยอยู่ในพื้นที่ที่มีอากาศค่อนข้างเย็น ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยมีการแพร่กระจายเป็นกลุ่ม ตัวอ่อนในระยะสุดท้ายเริ่มมีการอพยพเคลื่อนย้ายเป็นกลุ่มใหญ่ซึ่งเป็นระยะที่เริ่มสร้างความเสียหายให้กับพืชได้ ระยะตัวเต็มวัยจะสร้างความเสียหายได้กว้างขวางและรุนแรงที่สุดนอกจากพืชกลุ่มไผ่แล้วแมลงชนิดนี้ยังเป็นศัตรูพืชที่สำคัญของพืชในตระกูลหญ้า (graminivorous) และยังพบว่าสามารถเข้าทำลายพืชตระกูลปาล์มและพืชล้มลุกบางชนิด ถึงแม้ขณะนี้ยังไม่มีรายงานการระบาดสร้างความเสียหายภายในประเทศไทย แต่อย่างไรก็ตามตั๊กแตนชนิดนี้อาจจะมีโอกาสเข้ามาแพร่ระบาดสร้าง

ความเสียหายในประเทศไทยได้ ตั๊กแตนไผ่ มีวงจรชีวิตแบ่งเป็น 4 ระยะ คือ ระยะวางไข่ใต้ผิวดิน ในช่วงเดือน ม.ค.- เม.ย. ระยะตัวอ่อน (46-69 วัน) ในช่วงเดือน พ.ค.- ก.ค. ระยะตัวเต็มวัย (40 วัน) ในช่วงเดือน ส.ค.-ก.ย. และระยะไข่ในช่วงเดือน ต.ค.- ธ.ค. มีรายงานว่า พบแมลงชนิดนี้วางไข่จำนวนมากใต้ผิวดิน ไข่ของตั๊กแตนไผ่จะฟักในบริเวณที่มีแสงแดดส่องถึง โดยมีอุณหภูมิสูงกว่า 32 องศาเซลเซียส ตัวเต็มวัยของตั๊กแตนไผ่ ชอบอาศัยอยู่ในพื้นที่ที่มีอากาศค่อนข้างเย็น ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยมีการแพร่กระจายเป็นกลุ่ม ตัวอ่อนในระยะสุดท้ายเริ่มมีการอพยพเคลื่อนย้ายเป็นกลุ่มใหญ่

วัตถุประสงค์ของการทดลอง เพื่อทราบสถานภาพ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และแนวทางการวินิจฉัยของตั๊กแตนไผ่ *Ceracris kiangsu* Tsai ในประเทศไทย

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. กับดักแมลงประกอบไปด้วย กับดักแสงไฟ (Light trap) กับดักถ้วยสีเหลือง (Yellow pan trap) กับดักมุ้ง (Malaise trap และ Slam trap) รวมทั้งสวิงจับแมลง
2. ขวดฆ่าแมลง (killing jar) ซึ่งบรรจุน้ำยาเอททิล อะซิเตด (ethyl acetate)
3. อุปกรณ์สำหรับจัดรูปร่างแมลงเช่น เข็มสแตนเลส กระดาษลอกลาย
4. ethanol ความเข้มข้น 95% เพื่อใช้ในการจัดเก็บตัวอย่างสดของแมลง
5. กระดาษคุณภาพสูง (acid free) เพื่อการเก็บรักษาตัวอย่างแห้งในระยะยาว
6. อุปกรณ์บันทึกเขตการแพร่กระจายในระดับละเอียด (GPS)
7. Forceps ขนาดเล็ก
8. ขวดแก้วขนาดเล็กสำหรับตัวอย่างสด
9. กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope กำลังขยายมากกว่า 50 เท่าขึ้นไป
10. สารเคมีในการทำแห้งตัวอย่างแมลง
11. โรงเรือนทดลองกรณีจำเป็นต้องเลี้ยงตั๊กแตน
12. กล้องจุลทรรศน์สเตริโอแบบกำลังขยายสูงสำหรับงานทางอนุกรมวิธานแมลง Leica M205 C พร้อมเลนซ์ Planapo Objective 1.0x สำหรับการถ่ายภาพเพื่อตีพิมพ์ในเอกสารวิชาการ

### วิธีการ

ดำเนินการสำรวจตามคำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิกซึ่งเป็นคู่มือการสำรวจขององค์การการอารักขาพืชแห่งชาติ (NPPO) และจากมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (Surveillance: ISPM No. 6)

1. ศึกษารายละเอียดของศัตรูพืช ชื่อ วงจรชีวิต เขตการแพร่กระจาย ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และแนวทางการวินิจฉัย รายละเอียดของพืชอาศัย โดยการสืบค้นข้อมูลทั้งในประเทศและต่างประเทศ

2. จัดทำคู่มือการวินิจฉัยชนิดศัตรูพืชรูปภาพของศัตรูพืชและพืชอาศัยลักษณะการทำลาย สำหรับเจ้าหน้าที่และนักวิชาการที่เกี่ยวข้อง

3. ระบุพื้นที่ที่ดำเนินการสำรวจ โดยสำรวจตัวอย่างแบบสุ่มในพื้นที่ปลูกพืชไร่ใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจได้แก่ อ้อย ข้าวโพด ข้าวฝ่าง และพืชอาหารของตั๊กแตนไผ่ได้แก่ ไผ่ และธัญพืช โดยสำรวจจังหวัดละ 10 % ของพื้นที่ในแต่ละภาคที่มีการปลูกพืชเหล่านี้ ได้แก่ จังหวัดเชียงราย น่าน พะเยา เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน แพร่ ลำพูน อุตรดิตถ์ พิษณุโลก สุโขทัย เพชรบูรณ์ พิจิตร กำแพงเพชร นครสวรรค์ ลพบุรี ชัยนาท อุทัยธานี สิงห์บุรี อ่างทอง สระบุรี พระนครศรีอยุธยา สุพรรณบุรี นครนายก ปทุมธานี นนทบุรี นครปฐม สมุทรปราการ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม หนองคาย นครพนม สกลนคร อุดรธานี หนองบัวลำภู เลย มุกดาหาร กาฬสินธุ์ ขอนแก่น อำนาจเจริญ ยโสธร ร้อยเอ็ด มหาสารคาม ชัยภูมิ นครราชสีมา บุรีรัมย์ สุรินทร์ ศรีสะเกษ อุบลราชธานี สระแก้ว ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา ชลบุรี ระยอง จันทบุรี ตราด ตาก กาญจนบุรี ราชบุรี และจังหวัดเพชรบุรี

4. แนวทางการเก็บตัวอย่าง

การเดินสำรวจใช้สวิงจับแมลงและใช้มือเก็บตัวอย่าง หลังจากได้ตัวอย่างตั๊กแตนแล้ว ดำเนินการฆ่าโดยใช้ขวดฆ่า (killing jar) ซึ่งบรรจุน้ำยาเอททิล อะซิเตด (ethyl acetate) หลังจากนั้นห่อตัวอย่างตั๊กแตนที่ตายแล้วด้วยกระดาษลอกลาย บิดหัวท้ายลักษณะคล้ายท็อฟฟี่ เก็บตัวอย่างลงกล่องพลาสติกใส่แมลง นำกล่องใส่ตัวอย่างใส่ไว้ในกล่องรักษาความเย็นอีกชั้นเพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างเน่าเสียหาย หลังจากนั้นเก็บรักษาตัวอย่างในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส รอเพื่อจัดรูปร่างและทำตัวอย่างแห้งต่อไป

การจัดรูปร่างตั๊กแตนเพื่อศึกษาด้านอนุกรมวิธานแมลง นำตัวอย่างตั๊กแตนจัดรูปร่าง บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) โดยจัดให้มีรูปร่างเหมือนลักษณะในธรรมชาติ การจัดวางขาและหนวดอยู่ในลักษณะสมมาตรเหมือนกันทั้งสองข้าง หลังจากนั้นนำไปอบให้แห้งในตู้อบ (oven) ปรับอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 15-30 วัน ขึ้นกับขนาดตัวอย่าง การศึกษาครั้งนี้นอกจากตัวอย่างตั๊กแตนที่ได้จากการสำรวจแล้ว ยังใช้ตัวอย่างที่มีอยู่เดิมในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตรด้วย รวมถึงตัวอย่างที่ได้รับจากนักวิชาการ หรือจากผู้มาขอรับบริการตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิดจากหน่วยต่างๆ ภายในกรมวิชาการเกษตร

การตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด โดยดูลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ ลักษณะโครงสร้างทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญเช่น สี ขนาดลำตัว ลักษณะและตำแหน่งของแหนมแหลมบนลำตัว โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิด ประกอบกับการเปรียบเทียบตัวอย่างแมลงที่ได้จำแนกแล้วในพิพิธภัณฑ์ ดำเนินการจัดจำแนกในระดับอันดับ (order) และวงศ์ (family) โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยของ

Triplehorn & Johnson (2005) นับจำนวนของแมลงในแต่ละอันดับในแต่ละครั้งที่ทำการเก็บตัวอย่าง ทั้งนี้เพื่อศึกษาถึงศักยภาพของกับดัก วิธีการเก็บแมลง แมลงในกลุ่มเป้าหมาย Orthoptera การจัดหมวดหมู่ในระดับ สกุลและชนิดใช้แนวทางการวินิจฉัยประกอบจาก Roffey (1979) และ Centre for overseas pest research (1982) ทั้งนี้ได้รับความร่วมมือจากนักวิจัยด้านตั๊กแตนจากประเทศสหรัฐอเมริกา ช่วยในการตรวจวินิจฉัยชนิด หลังจากนั้นดำเนินการถ่ายภาพใต้กล้อง stereo microscope ใช้โปรแกรมการถ่ายภาพ AutoMontage หรือ Cartograph extended-focus โดยใช้ JVC KY-F75U digital camera, Leica Z16 APOA

5. หลังจากจำแนกชนิดลงบันทึกรายละเอียดในป้ายตัวอย่าง (specimen label) ขนาด 1x2 เซนติเมตร ซึ่งประกอบด้วย แหล่งที่เก็บ พิกัดทางภูมิศาสตร์ วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่าง เทคนิคการเก็บตัวอย่าง ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง นำป้ายดังกล่าวติดไว้ใต้ตัวอย่าง พร้องบันทึกรายละเอียดในฐานข้อมูลในโปรแกรม Excel จัดเก็บรักษาตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์แมลง เพื่อเป็นตัวอย่างอ้างอิง (Voucher Specimens)

6. สรุปและรายงานผล สถานภาพศัตรูพืช (pest report)

7. หากมีการพบตัวอย่าง มีมาตรการในการทำลายอย่างรวดเร็วคือ ดำเนินการฆ่าโดยใช้ขวดฆ่า (killing jar) ซึ่งบรรจุน้ำยาเอททิล อะซิเตด (ethyl acetate) หลังจากนั้นรายงานต่อองการการอารักขาพืชแห่งชาติ (NPPO)

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- บันทึกข้อมูลรายละเอียดแต่ละตัวอย่างที่เก็บได้ ประกอบด้วย แหล่งที่เก็บ พิกัดทางภูมิศาสตร์ พืชอาศัย วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่าง เทคนิคการเก็บตัวอย่าง ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง เป็นต้น
- การลงทะเบียนในระบบฐานข้อมูลตั๊กแตนในประเทศไทยโดย ตัวอย่างแต่ละตัวอย่างมีรายละเอียดแยกกันอย่างชัดเจน (specimen barcode) หากมีการค้นพบชื่อวิทยาศาสตร์ชนิดใหม่ดำเนินการตีพิมพ์และขึ้นทะเบียนกับ IZCN-Zoobank (Polaszek *et al.* 2005)
- รูปแบบการเขียนตีพิมพ์ผลงานวิจัย (taxonomic description) ดำเนินการตามแบบมาตรฐานของ Pyle *et al*. (2008)
- เก็บรักษาตัวอย่างแมลงทั้งตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้ง ณ พิพิธภัณฑ์แมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2564 – มีนาคม 2568

สถานที่ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา และ พิพิธภัณฑ์แมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

### รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ

ตั๊กแตนไผ่อยู่ในสกุล *Ceracris* (Aridiidae: Orthoptera) เป็นตั๊กแตนหนวดสั้นอยู่ในวงศ์ย่อย Acridinae ซึ่งมีหนวดเป็นแบบเส้นด้าย (filiform) หนวดค่อนข้างยาว ยาวกว่าส่วนอกและส่วนท้องรวมกัน ปัจจุบันตั๊กแตนไผ่ *Ceracris* มีอยู่ 13 ชนิดทั้วโลก ได้แก่ *C. amplicornis* Cao, Dang & Yin, 2019; *C. chuannanensis* Ou, Zheng & Chen, 1995; *C. deflorata* (Brunner von Wattenwyl, 1893); *C. fasciata* (Brunner von Wattenwyl, 1893); *C. hainanensis* Liu & Li, 1995; *C. hoffmanni* Uvarov, 1931; *C. jianfenglingensis* Feng, Qiao & Yin, 2018; *C. jiangxiensis* Wang, 1992; *C. kiangsu* Tsai, 1929; *C. nigricornis* Walker, 1870; *C. pui* Liang, 1988; *C. striata* Uvarov, 1925; *C. versicolor* (Brunner von Wattenwyl, 1893); *C. xizangensis* Liu, 1981 (Cigliano *et al*., 2021) อย่างไรก็ตาม Roffey (1979) ได้รายงานว่าพบในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้จำนวน 7 ชนิดและพบในประเทศไทยเพียงแค่ 3 ชนิดได้แก่ *C. kiangsu* Tsai, *C. fasciata* (Brunner von Wattenwyl) และ *C. nigricornis* Walker ซึ่งแต่ละชนิดสามารถจำแนกได้โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาดังนี้

*C. kiangsu* หนวดเป็นแบบเส้นด้ายค่อนข้างยาว ในเพศผู้มีความยาวหนวดเป็นสองเท่าของความยาวส่วนหัวและส่วนอกรวมกัน ในเพศเมียมีความยาวเท่ากับความยาวส่วนหัวและอกรวมกัน แผ่นนูนด้านข้างอกปล้องแรก (lateral carina of pronotum) ไม่เป็นปื้นสีดำ (Figure 4.) *C. fasciata* ความยาวของหนวดมีขนาดสั้นกว่า *C. kiangsu* ด้านข้างอกปล้องแรกมีปื้นสีดำตรงฐาน ปลายหนวดมีสีขาว กล้ามขาหลัง (hind femur) ไม่มีแถบสีดำ *C. nigricornis* หนวดมีขนาดสั้นกว่า *C. kiangsu* ด้านข้างอกปล้องแรกมีปื้นสีดำตรงฐาน หนวดมีสีดำหรือปลายหนวดมีสีดำ กล้ามขาหลัง (hind femur) มีแถบสีดำเห็นชัดเจน

ลักษณะตัวเต็มวัยตั๊กแตนไผ่ มีขนาดกลางค่อนข้างหนา ขนาดความยาวลำตัวจากส่วนหัวถึงส่วนท้องปล้องสุดท้ายโดยเฉลี่ยในเพศผู้มีความยาว 18 – 25 มิลลิเมตร ส่วนเพศเมียมีความยาวลำตัว 31 – 40 มิลลิเมตร เมื่อมองจากด้านข้างลำตัว ส่วนหัวสูงกว่าอกปล้องแรก (Pronotum) เมื่อมองจากด้านบนส่วนหน้าผาก (fastigium vertex) ยื่นไปทางด้านหน้า (Figure 2 – 4) หนวดมีลักษณะเป็นเส้นด้ายมีขนาดค่อนข้างยาว ในเพศผู้มีความยาวมากกว่า 2 เท่าของความยาวส่วนหัวและอกรวมกันในเพศเมียหนวดยาวเป็น 2 เท่า ของความยาวหัวและอก ส่วนกลางอกปล้องแรกคอดเข้าหาลำตัว และค่อยขยายออก ส่วนกลางอกเมื่อมองจากด้านบน (median carina) มีรอยหยักตัดผ่านตามขวาง 3 รอย รอยหยักสุดท้ายมีความลึกมากที่สุด (Figure 3) แผ่นนูนด้านข้างจางมองเห็นไม่ชัดเจน ปีกคู่หน้ามีลักษณะแคบและยาวขยายไปจนถึงขาคู่หลัง (Figure 1,2) ปีกคู่หลังพัฒนาอย่างสมบูรณ์ ลำตัวสีเขียวขุ่นทึบ เมื่อมองจากด้านบน

เห็นแถบสีส้มเหลืองอยู่ตรงกลางของอกทั้งสามปล้องเห็นได้อย่างชัดเจน แถบมีลักษณะแคบและค่อยขยายขึ้นจากอกปล้องแรก จนถึงปล้องสุดท้าย ด้านหลังของปีกคู่หน้ามีสีเขียวหม่นและค่อยๆจางลงมาทางด้านหน้าของปีก ข้อเข่าของขาคู่หลังมีสีดำและถัดมามีแถบสีเหลืองสลับดำ (Figure 2, 3)

มีรายงานว่าพบแมลงชนิดนี้วางไข่จำนวนมากใต้ผิวดิน ไข่ของตั๊กแตนชนิดนี้จะฟักในบริเวณที่มีแสงแดดส่องถึง โดยมีอุณหภูมิสูงกว่า 32 องศาเซลเซียส ฝักไข่มีขนาดปานกลางยาวประมาณ 23 – 35 มิลลิเมตร แต่ละฝักมีไข่ 19 – 31 ฟอง ตัวอ่อนมี 5 ระยะ (Peng 1958; Roffey, 1979) ตัวเต็มวัยชอบอาศัยอยู่ในพื้นที่ที่มีอากาศค่อนข้างเย็น ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยมีการแพร่กระจายเป็นกลุ่ม ตัวอ่อนในระยะที่ 4 – 5 เริ่มมีการอพยพเคลื่อนย้ายเป็นกลุ่มใหญ่ซึ่งเป็นระยะที่เริ่มสร้างความเสียหายให้กับพืชได้ ระยะตัวเต็มวัยจะสร้างความเสียหายได้กว้างขวางและรุนแรงที่สุด ถึงแม้ขณะนี้ยังไม่มีรายงานการระบาดสร้างความเสียหายภายในประเทศไทย แต่อย่างไรก็ตามตั๊กแตนชนิดนี้อาจจะมีโอกาสเข้ามาแพร่ระบาดสร้างความเสียหายในประเทศไทยได้ ตั๊กแตนไผ่ มีวงจรชีวิตแบ่งเป็น 4 ระยะ คือ ระยะไข่ พบตั๊กแตนชนิดนี้วางไข่ใต้ผิวดินในช่วงเดือนมกราคมถึงเมษายน ระยะตัวอ่อนซึ่งมี 5 ระยะ พบในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงกรกฎาคม ระยะนี้ใช้เวลาประมาณ 46 – 69 วัน หลังจากนั้นจะลอกคราบเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยเริ่มจากเดือนสิงหาคมถึงกันยายน ใช้ระยะเวลาประมาณ 40 วัน และจะกลับมาวางไข่อีกครั้งในเดือนตุลาคมถึงธันวาคม ไข่จะฟักเมื่ออุณหภูมิและสภาวะแวดล้อมเหมาะสม

**นิเวศวิทยาและเขตการแพร่กระจาย**

เขตการแพร่กระจาย ตั๊กแตนชนิดนี้ พบแพร่กระจายอย่างกว้างขวางบริเวณพื้นที่ป่าไผ่ ทางตอนใต้ของประเทศจีน ด้านตะวันออกเฉียงใต้ของมณฑลแจงสี บริเวณทางลาดเชิงเขา มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 300 – 400 เมตร บางครั้งพบในพื้นที่มีความสูงกว่าระดับน้ำทะเลถึง 780 เมตร ตั๊กแตนกลุ่มนี้เป็นแมลงที่ชอบอากาศค่อนข้างเย็น ที่อุณหภูมิสูงกว่า 32 องศาเซลเซียสตัวอ่อนและตัวเต็มวัยจะย้ายไปในที่ร่มเพื่อหลบแสงแดด ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยออกหาอาหารเป็นกลุ่ม ก่อนเข้ามาระบาดใน สปป.ลาวและเวียดนาม Roffey (1979) ได้รายงานเขตการแพร่กระจายของตั๊กแตนชนิดนี้ โดยมีการระบาดในประเทศจีนมณฑลเกียงสู หูเป่ย ซีเกียง ฝูเจียน กวางตุ้ง เกียงสี หูหนาน เสฉวน และบริเวณที่ปลูกไผ่ทางตอนใต้ของแม่น้ำแยงซี ประเทศอินเดีย (เมืองอัสสัม และรัฐมณีปุระ) ในประเทศไทยพบตั๊กแตนชนิดนี้ที่จังหวัดเชียงใหม่และสุพรรณบุรี ตัวอ่อนในระยะสุดท้ายและตัวเต็มวัยเริ่มมีการอพยพเคลื่อนย้ายเป็นกลุ่มใหญ่ซึ่งเป็นระยะที่เริ่มสร้างความเสียหายให้กับพืช ระยะตัวเต็มวัยจะสร้างความเสียหายได้กว้างขวางและรุนแรงที่สุด นอกจากพืชกลุ่มไผ่แล้วแมลงชนิดนี้ยังเป็นศัตรูพืชที่สำคัญของธัญพืช ได้แก่ ข้าว ข้าวโพด ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ลูกเดือย เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถเข้าทำลายพืชตระกูลปาล์มและพืชล้มลุกบางชนิด ถึงแม้ขณะนี้ยังไม่มีรายงานการระบาดสร้างความเสียหายภายในประเทศไทย แต่อย่างไรก็ตามตั๊กแตนชนิดนี้

อาจจะมีโอกาสเข้ามาแพร่ระบาดสร้างความเสียหายในประเทศไทยได้ กรมวิชาการเกษตรจึงได้วางแผนที่จะทำการสำรวจเฝ้าระวังเพื่อกำหนดแนวทางการป้องกันการเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศไทย

**การป้องกันกำจัด**

กรมวิชาการเกษตรได้กำหนดมาตรการ การป้องกันกำจัดตั๊กแตนไผ่ ในกรณีพบระบาดในประเทศไทย กล่าวคือ ดำเนินการวางกับดักเหยื่อพิษ (ประกอบด้วยสารฆ่าแมลง fipronil 5% SC 100 มล. : กากน้ำตาล 100 มล. : น้ำ 1,000 มล.) นำกระดาษกรองขนาดประมาณ 15 x 20 ซม. ชุบสารละลายเหยื่อพิษ ผึ่งลมให้แห้ง แล้วนำไปติดบนใบพืช ถ้าพบว่ามีตั๊กแตนไผ่ในระยะตัวเต็มวัยติดกับดัก จำนวนมากกว่า 10 ตัว/กับดัก ทำการป้องกันกำจัดโดยใช้สารฆ่าแมลงชนิดใดชนิดหนึ่งดังต่อไปนี้ 1) อีโทเฟนพรอกซ์ (Etofenprox ) 20% EC อัตรา 40 มล./น้ำ 20 ลิตร หรือ 2) เดลทาเมทริน (Deltamethrin) 3% EC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร หรือ 3) แลมป์ดาไซฮาโลทริน (Lambda cyhalothrin) 2.5% EC อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร

**รายงานการสำรวจและเฝ้าระวัง**

***Aiolopus thalassinus tamulus***

ประวัติทางอนุกรมวิธาน

urn:lsid:Orthoptera.speciesfile.org:TaxonName:67700

http://orthoptera.speciesfile.org/Common/basic/Taxa.aspx?TaxonNameID=1103315

Synonyms: -

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Description) ลำตัวมีขนาดกลาง ผนังลำตัวเป็นจุดละเอียด หนวดมีลักษณะเป็นเส้นด้าย (filiform) ความยาวหนวดเท่ากับส่วนหัวและส่วนอกรวมกัน ส่วนของหน้าผาก (fatigium vertex) เป็นรูปห้าเหลี่ยมมีความยาว ยาวกว่าความกว้างเล็กน้อย ส่วนของหน้ามนแคบขยายไปถึงทางด้านล่าง ส่วนอกมีลักษณะคล้ายบ้านหน้าจั่วรูปห้าเหลี่ยม อกตอนต้น (prosoma) มีลักษณะแคบเส้นนูนตอนกลางของอกเป็นเส้นตรงโดยมีร่องลึก (sulcus) พาดผ่านขวางตอนต้นเท่านั้น อกปล้องสุดท้ายยาวกว่าอกปล้องแรก ส่วนขอบของอกมีลักษณะมนทำมุมอย่างชัดเจน ปีกคู่หน้าและปีกคู่หลังพัฒนาอย่างสมบูรณ์ Femur ของขาหลังมีลักษณะเรียวยาว ตั๊กแตนชนิดนี้มีสีที่หลากหลายแต่โดยส่วนใหญ่แล้วพบสีน้ำตาลถึงสีน้ำตาลเข้ม บางครั้งก็จะพบว่ามีสีเขียวเกือบทั้งตัว

แหล่งที่เก็บตัวอย่าง (Collected locality) แปลงปลูกอ้อยจังหวัดมหาสารคาม หนองบัวลำภู อุดรธานี ขอนแก่นและจังหวัดกาฬสินธุ์

*Atractomorpha crenulate*

ประวัติทางอนุกรมวิธาน

urn:lsid:Orthoptera.speciesfile.org:TaxonName:38740

http://orthoptera.speciesfile.org/Common/basic/Taxa.aspx?TaxonNameID=1120429

Synonyms:

*consobrina* Saussure, 1862

*obscura* Bolívar, 1917

*porrecta* (Walker, 1859)

*scaber* (Thunberg, 1815)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Description) เป็นตั๊กแตนขนาดกลาง รูปร่างเพรียว หัวมีลักษณะเป็นกรวยหน้ามีลักษณะมนส่วนปลายโค้ง หน้าผากลักษณะสมบูรณ์แต่จะสั้นกว่าความยาวของตารวม ส่วนอกขยายไปถึงทางตอนล่าง ส่วนของเส้นนูนบริเวณกลางอก (medial carina) มองจากด้านบนชัดเจน เส้นนูนด้านข้าง (lateral carina)ชัดเจนน้อยกว่า และมีเส้นพาดขวางถึง 2 เส้น ปีกคู่หน้ายาวแต่โดยส่วนใหญ่แล้วไม่ได้ยาวไปจนถึงขาหลัง หรือมีความยาวมากกว่า 1 ใน 3 ของลำตัว ปีกคู่หลังสมบูรณ์ ส่วนของ femur บนขาคู่หลังมีลักษณะยาวเรียวและข้อเข่า (hind knee) มี 2 lobes โดยทั่วไปตั๊กแตนชนิดนี้มีสีเขียวหรือสีเขียวเข้มจนถึงสีน้ำตาลในทั้งสองเพศ สีเขียวมีอยู่ทั่วไปในประเทศอินเดียและประเทศไทย ลักษณะของตารวมเป็นสีเขียวอ่อน ฐานของปีกคู่หลังเป็นสีชมพูอ่อนจนถึงสีม่วงอ่อนหรือไม่ก็เป็นสีชมพูอ่อนจนถึงสีชมพูชีด

แหล่งที่เก็บตัวอย่าง (Collected locality) แปลงปลูกอ้อยจังหวัดราชบุรี กาญจนบุรี สุพรรณบุรี บุรีรัมย์ ตาก อุดรธานี นครราชสีมา ขอนแก่น มหาสารคาม อุดรธานี

*Ceracris fasciata*

ประวัติทางอนุกรมวิธาน

urn:lsid:Orthoptera.speciesfile.org:TaxonName:52252

http://orthoptera.speciesfile.org/Common/basic/Taxa.aspx?TaxonNameID=1111536

Synonyms: -

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Description) ขนาดกลางค่อนข้างหนา ขนาดความยาวลำตัวจากส่วนหัวถึงส่วนท้องปล้องสุดท้ายโดยเฉลี่ยในเพศผู้มีความยาว 18 – 25 มิลลิเมตร ส่วนเพศเมียมีความยาวลำตัว 31 – 40 มิลลิเมตร เมื่อมองจากด้านข้างลำตัว ส่วนหัวสูงกว่าอกปล้องแรก (Pronotum) เมื่อมองจากด้านบนส่วนหน้าผาก (fastigium vertex) ยื่นไปทางด้านหน้า หนวดไม่พบสีเทาหรือสีขาวทางตอนปลาย ส่วนของอก (prozona) จะพบเส้นนูนอยู่ตรงกลางอกด้านบนซึ่งจะมีร่อง (sulcus) พาดตามขวางเห็นอย่าง

ชัดเจน ปีกคู่หลังมีลักษณะใสขุ่น ส่วนปลายจะมีลักษณะใสส่วนฐานปีกไม่มีลักษณะเป็นสีเข้มถึงน้ำเงิน ตัวผู้แผ่นที่ปิดอวัยวะสืบพันธุ์แหลม อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้เรียวยาวโดยมีความยาว 4 ถึง 5 เท่าของฐาน

แหล่งที่เก็บตัวอย่าง (Collected locality) พบในแปลงปลูกอ้อยจังหวัด จ.ขอนแก่น, จ.อุดรธานี, จ.หนองบัวลำภู, จ.มหาสารคาม

***Cyrtacanthacris tatarica***

ประวัติทางอนุกรมวิธาน

urn:lsid:Orthoptera.speciesfile.org:TaxonName:52369

http://orthoptera.speciesfile.org/Common/basic/Taxa.aspx?TaxonNameID=1111457

Synonyms: -

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Description) .ลำตัวมีขนาดเล็ก รูปร่างเพรียว ผนังลำตัวค่อนข้างหยาบขรุขระ จนถึงเรียบ ลักษณะของหนวดแบนและกว้างมีขนาดสั้นกว่าส่วนหัวและส่วนอกรวมกัน ส่วนหัวมีรูปกรวยยาวกว่าส่วนตา ความยาวของส่วนหัวเท่ากับระยะความยาวของตารวม ส่วนหน้ามีลักษณะบ้านและค่อนข้างมน ส่วนอกมีลักษณะคล้ายบ้านหน้าจั่วห้าเหลี่ยม สันนูนทางตอนบนแหลมคมสันธานตอนข้างแข็งหนาอกส่วนท้ายมีลักษณะยาวกว่าอกส่วนหน้า อกส่วนหลังตรงขอบมีลักษณะแหลมคมเห็นชัดเจน ปีกคู่หน้าและปีกคู่หลังพัฒนาสมบูรณ์ ปีกคู่หลังมีสีน้ำตาลตอนกลางจนถึงฐานปีก สีของลำตัวมีสีเขียวถึงสีเหลืองเข้ม ส่วนท้องตอนต้นมีสีแดง ส่วนอื่นๆค่อนข้างเป็นสีใสหรือสีหม่น

แหล่งที่เก็บตัวอย่าง (Collected locality) แปลงปลูกอ้อยจังหวัดมหาสารคาม และสุโขทัย

***Gesonula mundata*** **(Walker)**

ประวัติทางอนุกรมวิธาน

urn:lsid:Orthoptera.speciesfile.org:TaxonName:47262

http://orthoptera.speciesfile.org/Common/basic/Taxa.aspx?TaxonNameID=1114238

Synonyms: -

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Description) .ตั๊กแตนชนิดนี้มีขนาดเล็กถึงขนาดกลาง รูปร่างเพรียว ผนังลำตัวมีลักษณะขรุขระและเป็นปุ่มเล็กน้อย ผนังมีลักษณะคล้ายตาข่ายร่างแหบางๆ หนวดมีลักษณะเป็นเส้นด้าย (filiform) มีความยาวมากกว่าหัวและอกรวมกัน ลักษณะของหน้ากลมมนมาทางด้านล่าง ส่วนอกมีความยาวเป็นรูปกรวยขยายมาทางตอนล่างเล็กน้อย พบเส้นพาดผ่านบริเวณสันหลังอกไปจนถึงอกปล้องสุดท้าย มีร่อง (sulcus) 3 ร่องพาดผ่านทางตอนกลางเส้นที่ 3 เด่นชัดที่สุด ส่วนของแผ่นแข็งด้านข้างของอก มีลักษณะเป็นร่องลึกใกล้ๆกับขอบส่วนหน้า prosternal tubicle สั้นมีลักษณะรูปกรวยเอนไปทางด้านหลัง ปีกคู่หน้าและปีกคู่หลังพัฒนาอย่างสมบูรณ์มีความยาวไปจนถึงเข่าของขาคู่หลัง

(hind knee) ส่วนของ tibia บริเวณขาหลังมีหนามแหลม 7-9 หนาม ลักษณะสีโดยทั่วไปมีทั้งสีเหลืองเขียวและน้ำตาล พบแถบสีน้ำตาลเข้มแผ่ขยายส่วนด้านข้างของหน้าผากหลังตารวมพาดผ่านส่วนบนของแผ่นแข็งบริเวณอกและรวมถึงส่วนหน้าของปีกคู่หน้า ปีกคู่หลังมีลักษณะเป็นสีใสขุ่น ขาหลังส่วน femur มีสีเหลืองน้ำตาลจนสีเขียวเข้ม ขาหลังมีสีน้ำตาลเข้มจนถึงเหลืองเข้ม

แหล่งที่เก็บตัวอย่าง (Collected locality) แปลงปลูกอ้อยจังหวัดหนองบัวลำภู อุดรธานี ชัยภูมิ

***Locusta migratoria manilensis***

ประวัติทางอนุกรมวิธาน

urn:lsid:Orthoptera.speciesfile.org:TaxonName:52455

http://orthoptera.speciesfile.org/Common/basic/Taxa.aspx?TaxonNameID=1111433

Synonyms: -

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Description) มีขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ โดยมีขนาดเฉลี่ย 36 – 40 เซนติเมตรโดยประมาณ หนวดมีลักษณะสั้น ฐานของหนวดมนและมีขนาดใหญ่ ส่วนหัวมนสมส่วน ส่วนหน้าโค้งมน มีลักษณะเรียวแหลมโดยเฉพาะในตัวเมีย ส่วนอกมีเส้นนูนตามขวาง (lateral carina) 1 เส้น ปีกคู่หน้าและปีกคู่หลังพัฒนาอย่างสมบูรณ์ ส่วนของปีกคู่หน้าแผ่ขยายจนถึงข้อเข่า (hind knee) ของขาคู่หลัง ปีกคู่หลังค่อนข้างสั้นกว่าปีกคู่หน้า ขาคู่หลังในส่วนของ femur เรียวยาวส่วนขอบมีความแข็งและนูนออกมาเล็กน้อย ตั๊กแตนกลุ่มนี้โดยทั่วไปแล้วมีสีเขียวจนถึงสีน้ำตาล ปีกคู่หลังมีสีเหลืองอ่อนจนถึงสีเขียว ส่วนขอบปีกเป็นสีน้ำตาล

แหล่งที่เก็บตัวอย่าง (Collected locality) อ้อย ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ในจังหวัด เชียงใหม่ เชียงราย น่าน แพร่ ลำปาง ชัยภูมิ มหาสารคาม นครปฐม อุดรธานี หนองบัวลำภู บุรีรัมย์ ราชบุรี กาญจนบุรี ตาก นครราชสีมา.สุพรรณบุรี

***Oxya hyla* Serville**

ประวัติทางอนุกรมวิธาน

urn:lsid:Orthoptera.speciesfile.org:TaxonName:47135

http://orthoptera.speciesfile.org/Common/basic/Taxa.aspx?TaxonNameID=1114307

Synonyms:

*acuminata* Willemse, 1925

*ebneri* Willemse, 1925

*multidentata* Willemse, 1925

*viridivitta* (Walker, 1870)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Description) ลำตัวมีขนาดเล็กถึงขนาดกลาง รูปร่างค่อนข้างปราดเปรียว ผนังลำตัวมีลักษณะเป็นจุดประปรายแต่ไม่ลึกมาก หน้าผากสั้นเห็นค่อนข้างชัดเจน และส่วนปลายมีลักษณะเป็นวงรีหนวดมีลักษณะเป็นเส้นด้าย (filiform) หนวดมีความยาวมากกว่าส่วนหัวและส่วนอกรวมกันพบส่วนมากในเพศผู้ เพศเมียหนวดมีความยาวสั้นกว่าส่วนหัวและอกรวมกัน ส่วนของหน้ามนเล็กน้อย ตามีขนาดใหญ่ส่วนของอกมีลักษณะเป็นครึ่งวงรี พบเส้นนูนตรงกลางอก (medial carina) ส่วนบนมองเห็นไม่ชัดเจน ส่วนของเส้นนูนข้างๆไม่ปรากฏ ส่วนบนของอกพาดผ่านด้วยร่อง (sulcus) 3 ร่อง อยู่ทางด้านขอบของส่วนอก ส่วนของ prosternal process หรือ PEG ใหญ่ มีลักษณะเป็นรูปกรวย ส่วนปลายมนและชี้ออก ปีกคู่หน้าสมบูรณ์ ส่วนของ tibia ในขาคู่สุดท้าย ส่วนปลายพบหนามแหลมคม ส่วนของแผ่นแข็งที่ปิดอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้มีลักษณะเป็นกรวยเรียวแหลม ส่วนในอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียเห็นเป็นฟันยาวยื่นออกมาส่วนปลายโค้งเล็กน้อย สีส่วนใหญ่ของตั๊กแตนชนิดนี้ประกอบด้วย 2 สีได้แก่สีเขียวอ่อนและสีน้ำตาลอ่อนนอกจากนี้แล้วยังพบสีเขียวเหลืองเป็นแถบพาดผ่านตรงกลางด้านบนของหัวและของปีกคู่หน้า

แหล่งที่เก็บตัวอย่าง (Collected locality) แปลงปลูกอ้อยและข้าวไร่จังหวัดหนองบัวลำภู กาฬสินธุ์ อุดรธานี ขอนแก่น ชัยภูมิ

***Oxya japonica* (Thunberg)**

ประวัติทางอนุกรมวิธาน

urn:lsid:Orthoptera.speciesfile.org:TaxonName:47046

http://orthoptera.speciesfile.org/Common/basic/Taxa.aspx?TaxonNameID=1114334

Synonyms: *Prospaltella strenua*

*asinensis* Willemse, 1925

*rufostriata* Willemse, 1925

*simplex* (Walker, 1870)

*sinense* (Walker, 1870)

*straminea* (Walker, 1870)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Description) มีลักษณะคล้าย *Oxy hyla* แต่จะมีขนาดใหญ่กว่า ความยาวของปีกคู่หน้าและลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์ที่แตกต่างกัน เพศผู้มีลักษณะที่แตกต่างจากชนิดอื่นโดยสังเกตได้จากบริเวณฐานของแผ่นปิดอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้มีลักษณะพับเป็นครีบ ส่วนในเพศเมียนั้นไม่สามารถเห็นฟันที่ยาวออกมาจากอวัยวะสืบพันธุ์ บริเวณฐานของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียเป็นหนามที่ใหญ่

ตั้งอยู่บริเวณด้านใน นอกจากนี้แล้วส่วนแคบของด้านข้างของแผ่นที่ปิดอวัยวะสืบพันธุ์ไม่มีหนามแหลมไม่เหมือนกับชนิดอื่นๆ ในสกุลนี้

แหล่งที่เก็บตัวอย่าง (Collected locality) แปลงปลูกอ้อยจังหวัดหนองบัวลำภู นครราชสีมา ศรีสะเกษ อุบลราชธานี มหาสารคาม กาฬสินธุ์ อุดรธานี

***Patanga succincta***

ประวัติทางอนุกรมวิธาน

urn:lsid:Orthoptera.speciesfile.org:TaxonName:57144

http://orthoptera.speciesfile.org/Common/basic/Taxa.aspx?TaxonNameID=1108953

Synonyms: -

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Description) มีขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ ผิวบริเวณด้านข้างลำตัวมีลักษณะขรุขระเล็กน้อย และมีจุดบางๆประปราย หนวดมีลักษณะเป็นเส้นด้าย (filiform) ในเพศผู้ความยาวหนวดยาวถึงด้านหลังของอกปล้องสุดท้าย ในเพศเมียยาวไม่น้อยกว่าอกปล้องสุดท้าย ส่วนหัวแคบ ส่วนของหน้าผากไม่ได้ขยายไปจนถึงฐานหนวด หน้าผากมีลักษณะกลมมน ส่วนของอกด้านข้างมีลักษณะพบเส้นนูน (lateral carina) เห็นชัดเจน มีร่อง 2 ร่องพาดผ่าน แต่มองเห็นเฉพาะส่วนบนเท่านั้น ส่วนของปีกคู่หน้าไม่มีแถบสีดำ บริเวณส่วน tibia ของขาหลังเป็นสีซีดและต่อมาเป็นสีน้ำตาลตรงส่วนฐาน ส่วนหนามแหลมมีลักษณะเป็นสีขาวและมีแถบสีดำเห็นได้อย่างชัดเจน

แหล่งที่เก็บตัวอย่าง (Collected locality) พบในแปลงปลูกอ้อยจังหวัด จ.นครราชสีมา, จ.สุพรรณบุรี, จ.หนองบัวลำภู, จ.มหาสารคาม, จ.เชียงใหม่, จ.ลำพูน, และ จ.ลำปาง

***Phlaeoba antennata***

ประวัติทางอนุกรมวิธาน

urn:lsid:Orthoptera.speciesfile.org:TaxonName:52218

http://orthoptera.speciesfile.org/Common/basic/Taxa.aspx?TaxonNameID=1111536

Synonyms: -

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Description) ตั๊กแตนชนิดนี้มีขนาดกลาง ส่วนหัวมีขนาดสั้นกว่าส่วนอก ส่วนของหน้ามีลักษณะค่อนข้างมน หน้าผาก (fastigium vertex) ยาว ส่วนของฐานหนวดแบนความยาวหนวดยาวไปจนถึงส่วนท้ายของอกปล้องสุดท้ายโดยเฉพาะอย่างยิ่งในเพศผู้ ส่วนของอก (prozona, metazoan) เห็นเส้นนูนด้านข้างอย่างชัดเจน ไม่มีร่องพาดตามขวาง เส้นนูนด้านบนอก ส่วนขอบของอกด้านหลังมีลักษณะมนไม่แหลม ปีกคู่หน้าและปีกคู่หลังยาวไปจนถึงส่วนของเข่า (hind knee) ของขาคู่หลัง แผ่นปิดอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้สั้นส่วนปลายป้านไม่แหลม ตั๊กแตนชนิดนี้มีสีค่อนข้างแดงจนถึงสี

เขียวเข้มถึงน้ำตาล พบแถบสีซีดจากส่วนของหน้าผากพาดไปจนถึงส่วนปีกคู่หน้าและสีจะจางลงในเพศผู้มากกว่าเพศเมีย ส่วนหนวดมีสีน้ำตาลเข้มที่ฐาน ส่วนปลายของหนวดพบสีขาวหรือสีขาวอ่อนจนซีด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเพศผู้ ปีกคู่หลังมีสีน้ำเงินเข้มถึงดำที่ส่วนฐานปีก

แหล่งที่เก็บตัวอย่าง (Collected locality) พบในแปลงปลูกอ้อยจังหวัด จ.ขอนแก่น, จ.อุดรธานี, จ.หนองบัวลำภู, จ.มหาสารคาม

***Pseudoxya diminuta***

ประวัติทางอนุกรมวิธาน

urn:lsid:Orthoptera.speciesfile.org:TaxonName:46981

http://orthoptera.speciesfile.org/Common/basic/Taxa.aspx?TaxonNameID=1114397

Synonyms:

*rufipes* (Brunner von Wattenwyl, 1893)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Description) ตั๊กแตนชนิดนี้มีขนาดเล็ก ส่วนหัวมีขนาดสั้นกว่าส่วนอก หนวดมีลักษณะเป็นเส้นด้าย ส่วนของหน้ามีลักษณะโค้งมน ส่วนของหน้าผากจากด้านบนมีลักษณะโค้ง ส่วนร่องด้านข้าง (sulcus) ไม่ปรากฏ ส่วนตรงกลางหน้าเห็นเป็นร่องและมีเส้นนูนข้างๆขนานกัน ตารวมเป็นรูปถ้วย ส่วนอกมีลักษณะเป็นรูปกรวยและแบนทางตอนท้าย อกปล้องสุดท้ายมีลักษณะโค้งนูนออกมามองเห็นเส้นนูนตรงกลาง อกไม่มีเส้นนูน (lateral carina) ด้านข้าง prostenal process หรือ PEG มีลักษณะเป็นรูปกรวยและมนบริเวณตอนปลาย แผ่นแข็งบริเวณด้านข้างของอกมีความกว้างมากกว่าความยาว ปีกคู่หน้าและปีกคู่หลังสมบูรณ์

แหล่งที่เก็บตัวอย่าง (Collected locality) อ้อย ข้าวโพด จังหวัดอุดรธานี นครปฐม สุพรรณบุรี หนองบัวลำภู สุโขทัย นครราชสีมา ขอนแก่น ราชบุรี กำแพงเพชร กาฬสินธุ์ ชัยภูมิ บุรีรัมย์ อุตรดิตถ์

***Spathosternum prasiniferum* (Walker)**

ประวัติทางอนุกรมวิธาน

urn:lsid:Orthoptera.speciesfile.org:TaxonName:48364

http://orthoptera.speciesfile.org/Common/basic/Taxa.aspx?TaxonNameID=1113638

Synonyms:

*caliginosus* (Walker, 1871)

*rectus* (Walker, 1871)

*simplex* (Walker, 1871)

*strigulatus* (Walker, 1871)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Description) ตั๊กแตนชนิดนี้มีขนาดกลางถึงขนาดเล็ก ผนังลำตัวค่อนข้างเรียบ หนวดมีลักษณะเป็นเส้นด้าย สั้นกว่าส่วนหัวและส่วนอกรวมกัน ตารวมมีขนาดใหญ่ หน้าผากสั้น หน้ามีลักษณะแคบป้าน อกทางด้านบนแบนเรียบและมีร่องลึก (sulcus) 3 ร่องพาดผ่าน มีเส้นนูนทางด้านข้างของอกอย่างละ 1 เส้นอกปล้องสุดท้าย (metazoma) สั้นกว่าอกปล้องแรก (prosoma) ลักษณะ prostenal process หรือ PEG มีขนาดใหญ่ ปีกคู่หน้าและปีกคู่หลังพัฒนาอย่างสมบูรณ์หรือในบางชนิดจะสั้น ขาคู่หลังในส่วนของ femur ไม่ได้แบนมีขนาดใหญ่ tibia คู่หลังไม่ได้กว้างแผ่ออก ตั๊กแตนชนิดนี้มีหลายสีส่วนใหญ่แล้วจะมีสีเขียวและสีน้ำตาล ส่วนใบหน้าจะมีสีเขียวซีดและมีแถบสีเขียวเข้มพาดผ่านจากใต้ตารวมไปจนถึงขาคู่กลาง ปีกคู่หน้ามีสีเขียวเข้มถึงน้ำตาลเข้ม ทางด้านกลางปีกคู่หลังมีสีใส femur ในขาคู่หลังมีสีดำหรือสีเขียวเข้มพาดผ่านทางส่วนนอก

แหล่งที่เก็บตัวอย่าง (Collected locality) แปลงปลูกอ้อยจังหวัดหนองบัวลำภู อุดรธานี ชัยภูมิ มหาสารคาม

ผลจากการสำรวจและเฝ้าระวังตั๊กแตนไผ่ *Ceracris kiangsu* Tsai ในพืชอาศัยทุกชนิดที่ทำการสำรวจ ยังไม่ปรากฏพบตั๊กแตนไผ่ *C. kiangsu* Tsai ในประเทศไทย

**สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ**

วัตถุประสงค์หลักของการทดลองนี้ เพื่อทราบสถานภาพ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และแนวทางการวินิจฉัยของตั๊กแตนไผ่ *Ceracris kiangsu* Tsai ในประเทศไทยเนื่องจากมีรายงานการระบาดของตั๊กแตนไผ่ (Yellow-spined bamboo locust): *Ceracris kiangsu* Tsai ในสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว และไม่มีข้อมูลด้านการสำรวจและเฝ้าระวังตั๊กแตนไผ่ในประเทศไทยมากว่า 30 ปี เก็บตัวอย่างตั๊กแตนจากพื้นที่ที่มีแนวโน้มการพบตั๊กแตนไผ่เช่น ในแปลงปลูกพืชไร่ของเกษตรกร บริเวณตะเข็บชายแดนระหว่างประเทศไทยและ สปป.ลาว ได้ตัวอย่างตั๊กแตนทั้งสิ้น 450 ตัวอย่าง วินิจฉัยชนิดของตั๊กแตนได้ 12 ชนิดได้แก่ *Aiolopus thalassinus tamulus, Atractomorpha crenulate, Ceracris fasciata, Cyrtacanthacris tatarica, Gesonula mundata, Locusta migratoria manilensis, Oxya hyla Serville, Oxya japonica, Patanga succincta, Phlaeoba antennata, Pseudoxya diminuta, Pseudoxya diminuta,* และ *Spathosternum prasiniferum* และไม่ปรากฏพบตั๊กแตนไผ่ *Ceracris kiangsu* ในพืชอาศัยทุกชนิดที่ทำการสำรวจ จากการศึกษาครั้งนี้ได้ชุดข้อมูลรายละเอียดของตั๊กแตนไผ่ วงจรชีวิต การแพร่กระจาย อย่างไรก็ตามถึงแม้ไม่มีการค้นพบตั๊กแตนไผ่ในการทดลองครั้งนี้ ได้ดำเนินการถ่ายทอดองค์ความรู้ในการวินิจฉัยชนิด และการป้องกันกำจัดให้เกตรกรรวมถึงนักวิชาการในพื้นที่ที่มีความเสี่ยงเพื่อดำเนินการสำรวจด้วยตนเองถึงแม้การวิจัยจะเสร็จสิ้น เพื่อคอยเฝ้าระวังการระบาดของตั๊กแตนไผ่อีกทางหนึ่ง เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองผลลัพธ์ที่ได้คือ กลุ่มวิจัยกักกันพืชสามารถนำชุดข้อมูล

การวินิจฉัยชนิดของตั๊กแตนไผ่ ใช้ทั้งประกอบการเจรจาการค้าระหว่างประเทศ รวมถึงเป็นข้อมูล ให้หน่วยงานราชการดำเนินการสำรวจ และเฝ้าระวังแมลงศัตรูพืชชนิดนี้ต่อไปในอนาคต ส่งผลกระทบที่สำคัญด้านเศรษฐกิจคือ ได้ฐานข้อมูล การแพร่กระจาย และสถานภาพของตั๊กแตนไผ่ ประกอบการเจรจาการค้าระหว่างประเทศ ทำให้สามารถส่งสินค้าเกษตร หรือต่อรองกับประเทศคู่ค้า สร้างรายได้ทางเศรษฐกิจให้กับประเทศ

## การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

แนวทางการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์เมื่อเสร็จสิ้นโครงการสามารถระบุได้ถึง แนวทางวิธีการถ่ายทอด กลุ่มเป้าหมาย ระยะเวลาในการใช้ประโยชน์ และสถานที่ดังนี้

| วิธีการถ่ายทอด | กลุ่มเป้าหมาย | ระยะเวลา | สถานที่ |
|---|---|---|---|
| 1. ความหลากชนิดของตั๊กแตนไผ่ ศัตรูพืชเฝ้าระวังที่สำคัญของประเทศไทย โดยการเสวนา บรรยายพิเศษ และจัดพิมพ์เอกสารวิชาการประกอบการบรรยาย | นักวิชาการ นักวิชาการด้านกักกันพืช หน่วยงานราชการ เช่น กรมส่งเสริมการเกษตร นิสิตนักศึกษา ประชาชนที่เกี่ยวข้อง | เมื่อสิ้นสุดโครงการ | กรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร มหาวิทยาลัยด้านการเกษตร |
| 2. เว็ปไซด์และฐานข้อมูลแนวทางการวินิจฉัยชนิดของตั๊กแตนไผ่ในประเทศไทย | บุคคลทั่วไป | เมื่อสิ้นสุดโครงการ | กรมวิชาการเกษตร ระบบ on-line |
| 3. จัดทำเป็นหนังสือหรือเอกสารวิชาการ เรื่อง ตั๊กแตนไผ่ศัตรูพืชเฝ้าระวังและการวินิจฉัยชนิด | เกษตรกร นักวิชาการ นักเรียนนักศึกษาและผู้สนใจทั่วไป | เมื่อสิ้นสุดโครงการ | กรมวิชาการเกษตร |
| 4. จัดทำเป็นเอกสารผลงานวิจัยเรื่องเต็ม หรือตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการ | นักวิชาการ นักวิจัย และบุคคลผู้สนใจทั่วไป | เมื่อสิ้นสุดโครงการ | กรมวิชาการเกษตร |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 5. จัดทำเอกสาร แผ่นพับ สรุปและเข้าใจง่าย | เกษตรกร และบุคคลที่สนใจทั่วไป | เมื่อสิ้นสุดโครงการ | กรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร และหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง |
| 6. จัดทำผลงานวิจัยเพื่อนำเสนอในการประชุมวิชาการ | นักวิชาการ นักเรียน นักศึกษา และบุคคลที่สนใจ | เมื่อสิ้นสุดโครงการ | กรมวิชาการเกษตร และหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง |

**เอกสารอ้างอิง**


กองกีฏและสัตววิทยา. 2544. คู่มือตรวจแมลงไรและสัตว์ศัตรูพืชเศษฐกิจ. เอกสารวิชาการ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 275 หน้า

ณัฐกฤติ พิทักษ์. 2547. แมลงศัตรูอ้อยและการป้องกันกำจัด หน้า 57 – 117 *ใน* เฉลิม ไหลรุ่งเรือง อุดม เลียบวัน อรรถลิทธิ์ บุญธรรม ประพันธ์ ประเสริฐศักดิ์ วันทนีย์ อู่วานิชย์ ณัฐกฤติ พิทักษ์ วิลลิภา สุชาโต สมศักดิ์ ทองศรี และตุลย์ อินทรัมพรรย์ *เอกสารวิชาการอ้อย*. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพมหานคร.147 หน้า.

Centre for overseas pest research. 1982. *The Locust and Grasshopper Agricultural Manual.* Hobbs the printers of Southampton, Great Britain, United Kingdom. 690 pp.

Cigliano, M.M., H. Braun, D.C. Eades & D. Otte. Orthoptera Species File. Version 5.0/5.0. Available at: http://orthoptera.speciesfile.org/Common/basic/Taxa.aspx?TaxonNameID =1103966. Access: November 25, 2021

Dirsh V.M. 1965. The African genera of Acridoidea. pp. 559. Anti-Locust research centre, The Cambridge university press, London, UK.

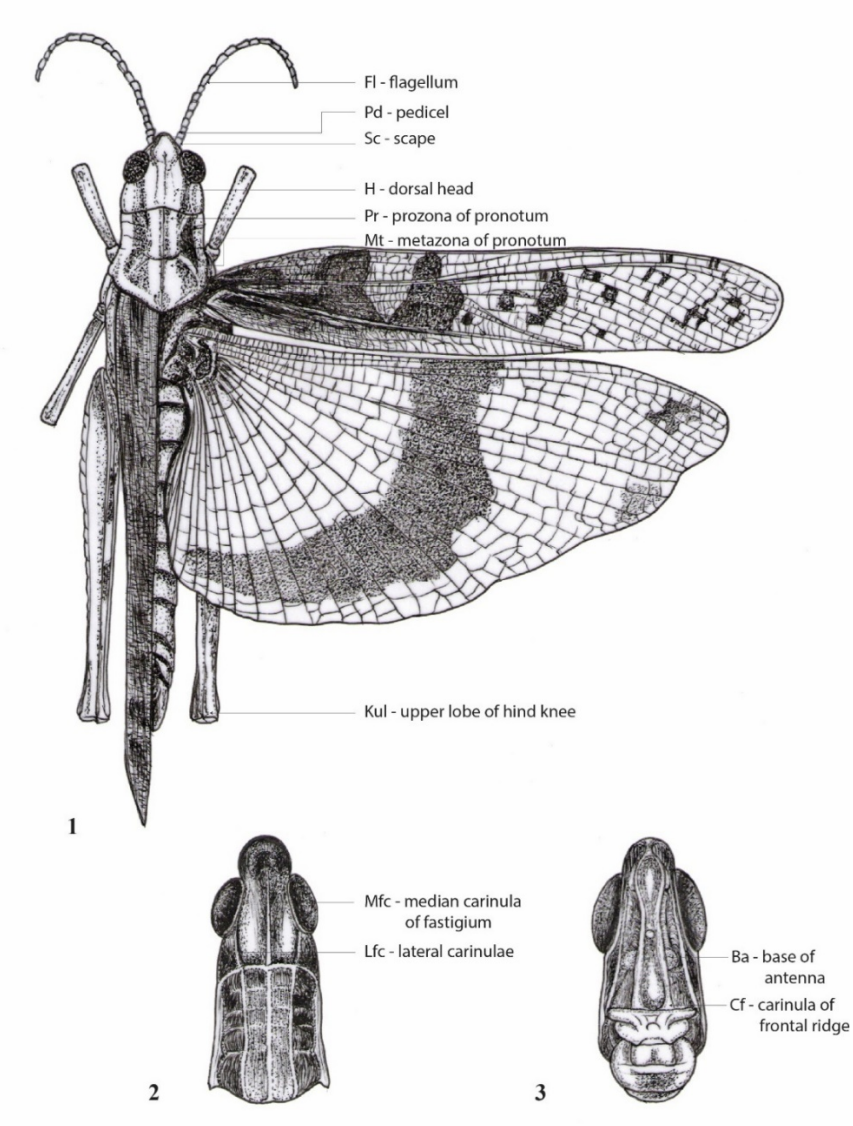
Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2020. Emergency assistance to strengthen regional response in the management of yellow-spined bamboo locust (*Ceracris kiangsu*). Rome, Italy T C P /R AS /3607.

Peng C. W. 1958. Biological note on the bamboo locust (*Ceracris kiangsu* Tsai) of Hunan, Chaina. Acta oecon. ent. sin. 1: 188 – 200.

Pyle, R.L., J.L. Earle and B.D. Greene. 2008. Five new species of the damselfish genus *Chromis* (Perciform es: Labroidei: Pomacentridae) from deep coral reefs in the tropical western Pacific. *Zootaxa.* 1671: 3–31.

Roffey, J. 1979. Locusts and grasshoppers of economic importance in Thailand. *Anti-Locust Mem*. no. 14: 200 pp.

Triplehorn, C.A. and N.F. Johnson. 2005.*Borror and Delong's Introduction of the Study of Insects 7th edition.* United State of America. 864 pp.




**Figures 1 – 3** Grasshopper morphology; dorsal habitus of body and head, for wing venation see Dirsh (1965) in terminological lists. Image modified from Dirsh (1965)

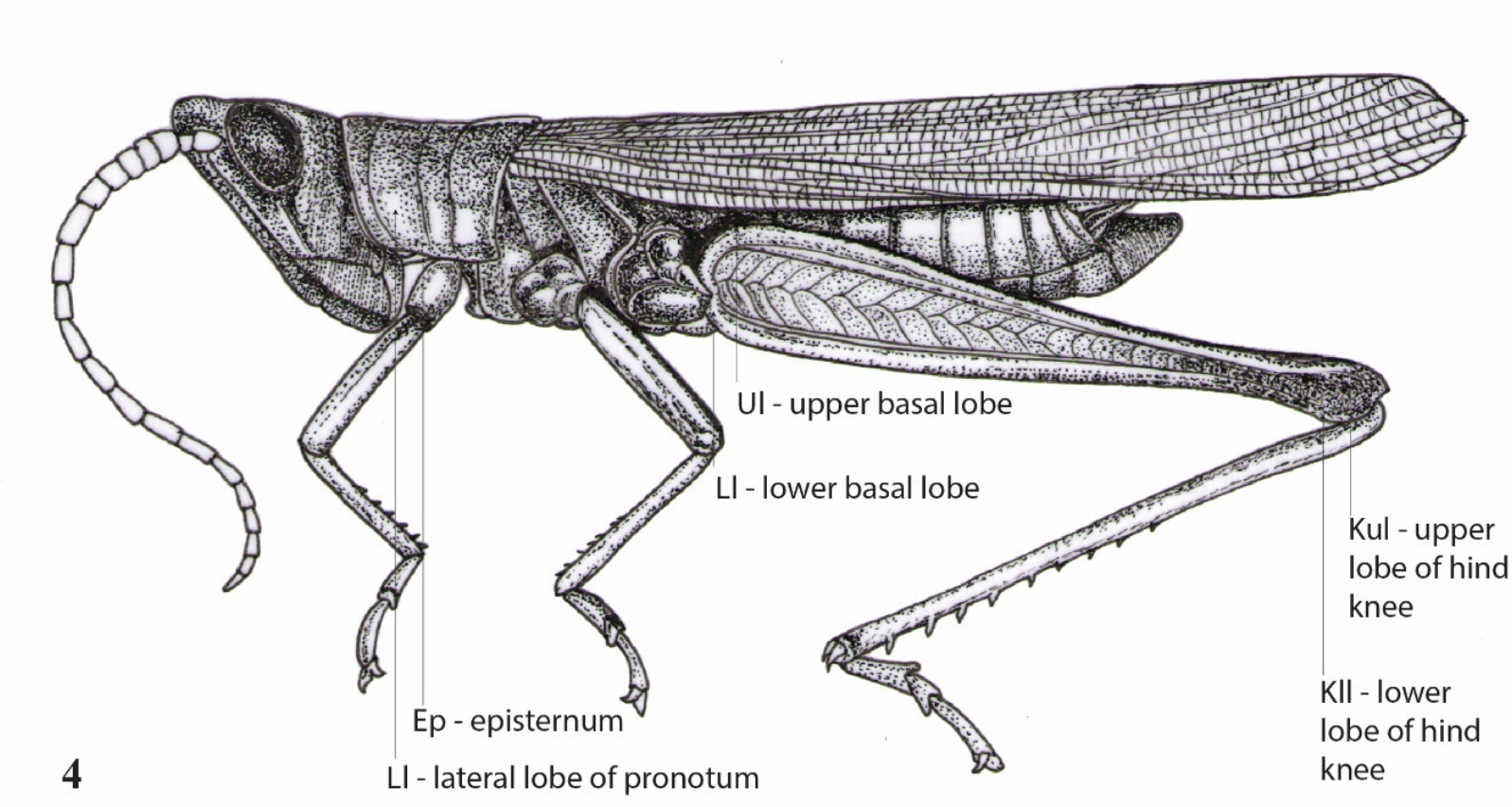



**Figure 4** Grasshopper morphology; lateral habitus of body, Image modified from Dirsh (1965)

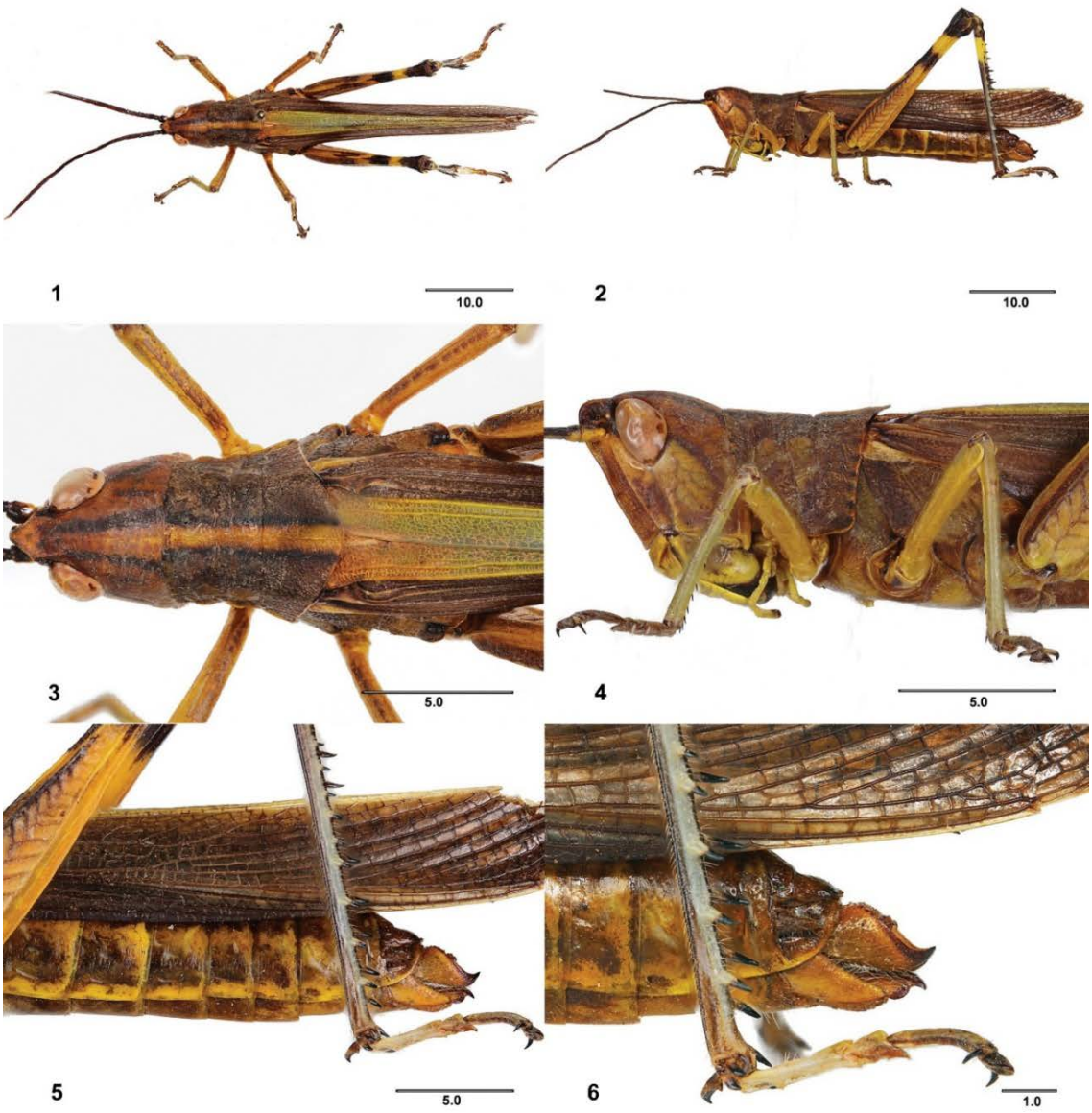
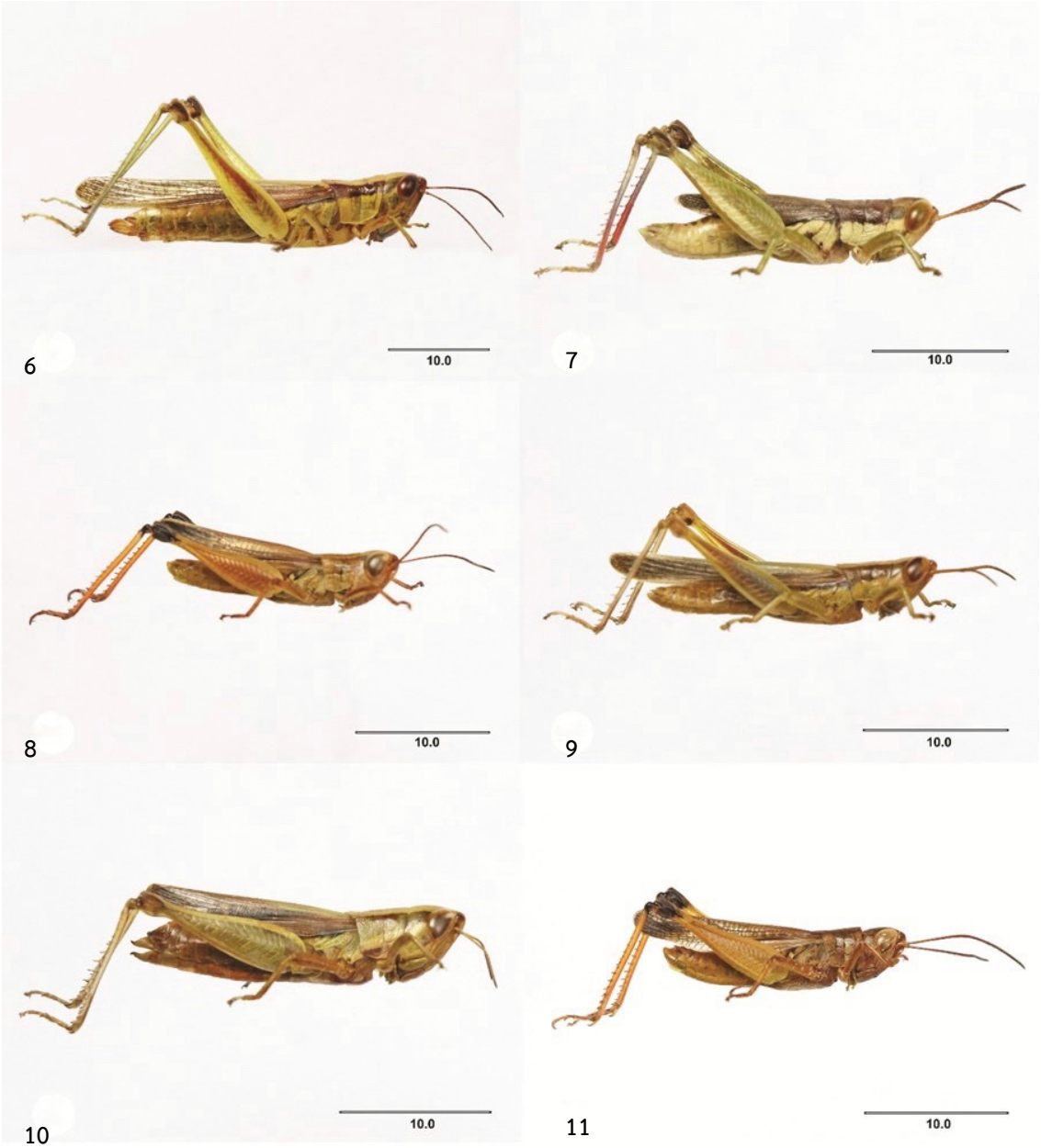



**Figure 5** *Ceracris kiangsu* Tsai, male (EMBT ENT 0006599). 5.1, Dorsal habitus; 5.2, Lateral habitus; 5.3, Head and thorax, dorsal view; 5.4, Head and thorax, lateral view; 5.5, Abdominal segments, lateral view; 5.6, Cercus and subgenital plate, lateral view. Scale bars in millimeters.




**Figures 6 – 11.** Lateral habitus 6, *Oxya japonica* (Thunberg); 7, *Pseudoxya diminuta* (Walker); 8, *Oxya hyla* Serville; 9, *Gesonula mundata* (Walker); 10, *Spathosternum prasiniferum* (Walker); 11, *Phlaeoba antennata* Brunner. Scale bar in millimeters.

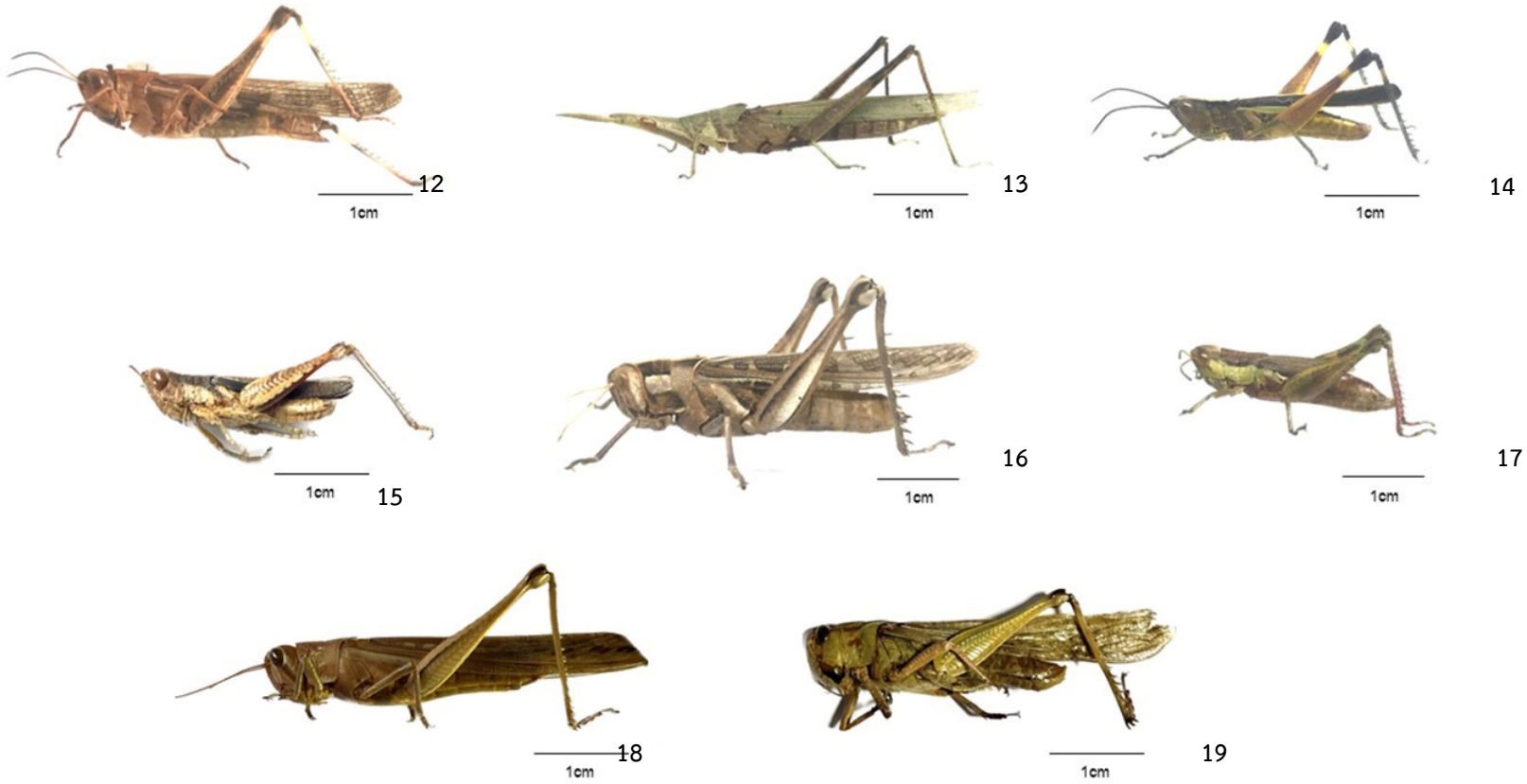



**Figure 12 – 19** Eight species of grasshopper in suborder Caelifera used for nutritional value analysis:

12 = *Aiolopus thalassinus tamulus*, 13 = *Atractomorpha crenulate,* 14 = *Ceracris fasciata,*

15 = *Spathosternum prasiniferum prasiniferum*, 16 = *Cyrtacanthacris tatarica,*

17 = *Pseudoxya diminuta*, 18 = *Patanga succincta,* 19 = *Locusta migratoria manilensis*.

# การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *Raphanus raphanistrum* ในประเทศไทย

# Survey and Surveillance of *Raphanus raphanistrum* in Thailand

**ชุติมา อ้อมกิ่ง[1/] อัณศยา พรมมา[2/] วานิช คำพานิช[1/] ธิดาวรรณ ชมเดช[1/]**
**ดนัย ชัยเรือนแก้ว[1/] พรรณิภา เปชัยศรี[1/]**
**[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
**[2/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุโขทัย สำนักวิจัยพัฒนาการเกษตร เขตที่ 2**

## Abstract

*Raphanus raphanistrum* is an important weed that can damage a variety of plants which may be contaminate to imported vegetable seeds. This weed can grow in temperate and tropical zone. The Department of Agriculture (DOA), as the NPPO of Thailand, has conducted surveillance program for *R. raphanistrum* in line with International Standard for Phytosanitary Measures (ISPM) No. 6 (Surveillance). Survey result of brassica planting plots in October 2021 – March 2025 across all regions of Thailand, amounting to 190 plots in the 19 provinces; Chiang Mai, Chiang Rai, Mae Hong Son, Lamphun, Phayao, Nan, Phrae, Uttaradit, Tak, Phitsanulok, Phetchabun, Kamphaeng Phet, Ratchaburi, Suphan Buri, Kanchanaburi, Nakhon Pathom, Prachuap Khiri Khan, Chaiyaphum and Khon Kaen. The suspected weed samples from the survey and sampling were examined and classified in the laboratory. The results showed that not found *R. raphanistrum* was not present in Thailand. The status of *R. raphanistrum* is a quarantine pest in Thailand.

**Keywords :** Survey, Surveillance, Weed, *Raphanus raphanistrum*

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-11-6

## บทคัดย่อ

วัชพืช *Raphanus raphanistrum* อยู่ในวงศ์ Brassicaceae เป็นวัชพืชที่สำคัญสามารถทำความเสียหายให้กับพืชได้หลายชนิด ซึ่งอาจติดมากับเมล็ดพันธุ์พืชผักที่นำเข้ามาได้ วัชพืชชนิดนี้เป็นวัชพืชที่สามารถเจริญเติบโตได้ในเขตอบอุ่นถึงร้อนชื้น จากการสำรวจและเฝ้าระวังศัตรูพืชในแปลงปลูกกะหล่ำปลีซึ่งเป็นพืชอาศัยหลัก แบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (การเฝ้าระวัง) ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงมีนาคม 2568 จำนวน 190 แปลง ในพื้นที่ปลูก 19 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน ลำพูน พะเยา น่าน แพร่ อุตรดิตถ์ ตาก พิษณุโลก เพชรบูรณ์ กำแพงเพชร ราชบุรี สุพรรณบุรี กาญจนบุรี นครปฐม ประจวบคีรีขันธ์ ชัยภูมิ และจังหวัดขอนแก่น นำตัวอย่างวัชพืชที่สงสัยจากการสำรวจและเก็บตัวอย่าง มาตรวจสอบและจัดจำแนกชนิดของวัชพืชในห้องปฏิบัติการ ผลปรากฏว่าไม่พบวัชพืช *R. raphanistrum* จึงทำให้สถานภาพของศัตรูพืชชนิดนี้ ยังคงเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย


**คำหลัก :** สำรวจ เฝ้าระวัง วัชพืช *Raphanus raphanistrum*

## คำนำ

วัชพืช *R. raphanistrum* (wild radish) ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกัน (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550) อยู่ในวงศ์ Brassicaceae มีพืชอาศัยหลายชนิด เช่น กะหล่ำปลี ผักกาดหัว ยาสูบ เป็นพืชหนึ่งที่เป็นพืชอาศัยหลัก *R. raphanistrum* เป็นฤดูเดียวปีหรือพืชล้มลุก ฐานดอกขนาดใหญ่ ระบบรากเป็นเส้นใยเป็นวงกว้างมาก มีระดับความลึก 20 เซนติเมตร กระจายในแนวนอนในทุกทิศทาง ถึง 80 เซนติเมตร ลำต้นตั้งตรงหรือกระจาย (ในแอฟริกาใต้) มีกิ่งยาว 30 ถึง 100 เซนติเมตร (ยาวถึง 200 เซนติเมตร ในออสเตรเลีย) มีขนสั้นแข็งโดยเฉพาะที่โคน ส่วนใบผิวหยาบขรุขระ ใบล่างห้อยเป็นตุ้ม ส่วนท้ายขยายขึ้นแล้วแคบลง มีรอยบุ๋มเล็กไปความยาว 8 ถึง 20 เซนติเมตร ดอกมีวงกลีบรวมมี 4 กลีบ กลีบดอกสีเหลืองอ่อนไม่ค่อยขาวเส้นเลือดสีม่วง (มีรายงานว่าเป็นสีชมพูหรือสีม่วงอาจเป็นสีฟางในสกอตแลนด์ และสหราชอาณาจักร ก้านดอกขนาด 1 - 2 เซนติเมตร ผลมีลักษณะเป็นฝักเนื้อเป็นรูพรุน ทรงกระบอกยาวแคบ เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 - 10 มิลลิเมตร ความยาว 2 - 7 เซนติเมตร ความกว้างประมาณ 1 - 2 เซนติเมตร จงอยปากแหลมยาว 1 - 2 เซนติเมตร มีเมล็ดจำนวน 2 - 10 เมล็ด ไม่มีผนังกั้นระหว่างเมล็ด ฝักล่างมักจะมีขนาดเล็กและไม่มีเมล็ด ส่วนที่มีเมล็ดแตกออกเมื่อหดตัว เมล็ดมีรูปทรงกลมหรือรูปไข่ สีแดงถึงสีส้มน้ำตาล (สีน้ำตาลเข้มในแอฟริกาใต้) เส้นผ่าศูนย์กลาง 2 - 4 มิลลิเมตร (CABI, 2021)

ประเทศไทยมีพื้นที่การปลูกกะหล่ำปลีจำนวน 45,014 ไร่ จำนวนพื้นที่ปลูก 34 จังหวัด ผลผลิตรวม 109,568 ตัน จังหวัดที่ปลูกกะหล่ำปลีมากที่สุดได้แก่ จังหวัดเพชรบูรณ์ แม่ฮ่องสอน เชียงใหม่ ตาก และพิษณุโลก เป็นต้น (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2562) เนื่องจากประเทศไทยมีความ

จำเป็นต้องนำเข้าเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีเพิ่มปริมาณมากขึ้นทุกๆ ปี ในปี 2562 มีปริมาณการนำเข้า 26.07 ตัน คิดเป็นมูลค่า 78.18 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2562) เพื่อนำมาปลูก จึงทำให้มีความเสี่ยงที่จะมีวัชพืชติดมากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ ทำให้ผลผลิตมีปริมาณลดลงเพราะไปแย่งแสงและสารอาหารจากพืชหลัก เกิดความเสียหายจากการเข้าทำลายของวัชพืช *R. raphanistrum* จึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังศัตรูพืชชนิดนี้ในพื้นที่ปลูกกะหล่ำปลีของประเทศอย่างเป็นระบบ เพื่อเป็นข้อมูลในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชและการรายงานศัตรูพืชอีกด้วย

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ วารสาร ได้แก่ CABI (2021), FAO (2018)

2. อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง เช่น กรรไกร มีด เสียม หรือพลั่ว สำหรับตัด/ขุด ตัวอย่างพืช แผงอัดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมกระดาษฟูก ฟองน้ำและหนังสือพิมพ์ พร้อมเชือกไส้ตะเกียงป้ายชื่อสำหรับผูกตัวอย่างพืช กระดาษติดตัวอย่างพืช เครื่องวัดพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) และสมุดบันทึก

3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น กล้องจุลทรรศน์ ตู้อบลมร้อน ขวดแก้ว น้ำยาสำหรับดองตัวอย่างพืช (หากจำเป็น) น้ำยาชุบตัวอย่างวัชพืช ประกอบด้วย ฟินอล เมอคิวริคคลอไรด์ เอทธิลอัลกอฮอล์

### วิธีการ

**1. สืบค้นข้อมูล**

- สืบค้นข้อมูลลักษณะของวัชพืช *R. raphanistrum* ได้แก่ รายละเอียดของวัชพืช ชื่อพ้องชื่อวิทยาศาสตร์ และลักษณะทางพฤษศาสตร์ การแพร่ระบาด สภาพนิเวศน์ที่มักพบวัชพืชเหล่านี้พร้อมรูปภาพ

- สืบค้นข้อมูลพื้นที่ปลูกกะหล่ำปลีในประเทศ

**2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ**

จัดทำเอกสารคู่มือสำหรับผู้ร่วมงานใช้ในการสำรวจภาคสนาม และสอบถามเกษตรกรในพื้นที่สำรวจ ประกอบภาพ ลักษณะต้น ใบ ดอก และเมล็ด สรุปผลกระทบของพืชนี้ ที่สามารถหาได้จากฐานข้อมูลของต่างประเทศที่สามารถเข้าถึงด้วยระบบเครือข่าย เช่น CABI, Plant Database USDA, invasive.org เป็นต้นตลอดจนรายละเอียดของวัชพืชอื่นๆที่มีลักษณะคล้ายกับวัชพืชเป้าหมาย และจัดทำแบบฟอร์มการสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูลสถานที่ วันที่เก็บ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์

**3. การสำรวจ**

กำหนดพื้นที่ โดยเป็นแหล่งปลูกกะหล่ำปลีในประเทศไทย เช่น ภาคเหนือ (เชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน ลำพูน พะเยา น่าน แพร่ และอุตรดิตถ์) ภาคกลาง (พิษณุโลก เพชรบูรณ์ กำแพงเพชร

สุพรรณบุรี และนครปฐม) ภาคตะวันตก (ตาก ราชบุรี และกาญจนบุรี) ภาคใต้ (ประจวบคีรีขันธ์) และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ชัยภูมิ และขอนแก่น) วางแผนการสำรวจ อย่างมีระบบ สำรวจแบบเฉพาะเจาะจง โดยการสำรวจแบบตรวจหาตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (การเฝ้าระวัง) (International Standard for Phytosanitary Measures; ISPM No.6) ดำเนินการเดินสำรวจในพื้นที่ที่สามารถเข้าถึงด้วยรถยนต์ หรืออยู่ในระยะที่เดินเข้าได้ โดยมีวัชพืช *R. raphanistrum* เป็นพืชเป้าหมาย โดยเดินแบบซิกแซก หรือรูป W ในพื้นที่ไม่น้อยกว่า 10% ของแปลงปลูกที่ทำการสำรวจเก็บตัวอย่างพืชที่พบ หากไม่สามารถระบุชนิดได้ เช่น มีลักษณะไม่ชัดเจน พืชยังไม่มีดอก หรือยังอยู่ในระยะต้นอ่อน เก็บตัวอย่าง นำมาปลูกในเรือนทดลอง จนกว่าจะมีดอกหรือมีลักษณะที่สามารถระบุชนิดได้ ถ่ายภาพและจัดทำตัวอย่างแห้ง เพื่อใช้เป็นหลักฐานและเพื่อการตรวจสอบต่อไป

**4. การตรวจสอบและจำแนกชนิดของวัชพืชที่ได้จากการเก็บตัวอย่าง**

เนื่องจากไม่มีตัวอย่างแห้ง ทำการตรวจสอบตัวอย่างพืชที่รวบรวมได้ในภาคสนาม นำตัวอย่างมาศึกษาลักษณะโดยละเอียด เปรียบเทียบกับภาพ คำอธิบายลักษณะที่สามารถหาได้จากฐานข้อมูลที่สามารถเข้าถึงได้ด้วยระบบเครือข่าย เช่น CABI, USDA Plant Database, Oregon State University เป็นต้น

**5. รวบรวมข้อมูลที่ได้จากการสำรวจ**

การบันทึกข้อมูล โดยเก็บรวบรวมข้อมูลที่ได้ในรูป data sheet เพื่อใช้ในการวิเคราะห์สถานภาพศัตรูพืช จัดทำรายงานผลการวิจัย รวบรวมบันทึกข้อมูลจากการสำรวจและเฝ้าระวังของวัชพืช *R. raphanistrum* ที่ทำการสำรวจในประเทศไทย ดังนี้

- พื้นที่ บันทึก ที่ตั้ง พิกัดภูมิศาสตร์ และระดับความสูงเฉลี่ยเหนือระดับน้ำทะเล สภาพนิเวศน์
- พืชปลูก บันทึกข้อมูล ชนิดของพืช
- ชนิดวัชพืชที่พบ บันทึกประเภท ลักษณะ ระยะการเจริญ การขยายพันธุ์ในพื้นที่ ปริมาณที่พบการกระจายในพื้นที่

**6. สรุปผล และจัดทำรายงาน**

รวบรวมข้อมูลการสำรวจและการจำแนกในห้องปฏิบัติการ วิเคราะห์สถานภาพศัตรูพืช ผลการวิจัยสถานภาพวัชพืช *R. raphanistrum*

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2564 - มีนาคม 2568

สถานที่ 1) ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2) แหล่งปลูกกะหล่ำปลีในประเทศไทย

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. จัดทำคู่มือการสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *R. raphanistrum***

การจัดทำคู่มือการสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *R. raphanistrum* (Figure 1) ได้ให้รายละเอียดลักษณะของลำต้น ใบ ดอก และเมล็ด (Figure 2-5) รวมทั้งรูปแบบการเดินสำรวจในแปลงปลูกพืช (Figure 6)

- จัดทำแบบบันทึกรายงานการสำรวจโดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้ วันเดือนปีที่เก็บสำรวจ สถานที่สำรวจ (หมู่บ้าน ตำบล อำเภอ จังหวัด) พิกัดทางภูมิศาสตร์ ขนาดของพื้นที่ที่ทำการสำรวจ ชื่อผู้สำรวจ จำนวนแปลงที่สำรวจ ชนิดพืชที่สำรวจ

**2. การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืชในแปลงปลูกกะหล่ำปลี**

การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *R. raphanistrum* ในแปลงกะหล่ำปลีเพื่อศึกษาสถานภาพของศัตรูพืชกักกัน *R. raphanistrum* โดยการสำรวจแบบสืบพบ และมีวัชพืชชนิดนี้เป็นพืชเป้าหมายในพื้นที่ 19 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ (37 แปลง) เชียงราย (11 แปลง) แม่ฮ่องสอน (20 แปลง) ลำพูน (4 แปลง) พะเยา (1 แปลง) น่าน (3 แปลง) แพร่ (2 แปลง) อุตรดิตถ์ (1 แปลง) ตาก (12 แปลง) พิษณุโลก (12 แปลง) เพชรบูรณ์ (15 แปลง) กำแพงเพชร (4 แปลง) สุพรรณบุรี (5 แปลง) นครปฐม (19 แปลง) ราชบุรี (1 แปลง) กาญจนบุรี (13 แปลง) ประจวบคีรีขันธ์ (8 แปลง) ชัยภูมิ (7 แปลง) และจังหวัดขอนแก่น (15 แปลง) รวมจำนวนทั้งหมด 190 แปลง นำตัวอย่างวัชพืชที่สงสัยจากการสำรวจและเก็บตัวอย่าง มาตรวจสอบและจัดจำแนกชนิดของวัชพืชในห้องปฏิบัติการ ผลปรากฏว่าไม่พบวัชพืชชนิดนี้ในแปลงปลูกกะหล่ำปลี ซึ่งวัชพืชชนิดนี้ไม่มีรายงานในประเทศไทยและมีการตรวจสอบจากประเทศทางว่าปราศจากวัชพืชชนิดนี้ในพืชวงศ์ผักกาดและภายหลังการนำเข้าจากประเทศที่เป็นแหล่งแพร่กระจายของวัชพืช เช่น สาธารณรัฐประชาชนจีน และอิตาลี ในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ต้องมีการสุ่มตัวอย่างและตรวจสอบเมล็ดพันธุ์อย่างเข้มงวดเพื่อลดการปนเปื้อนวัชพืชชนิดนี้ ประกอบกับการทำการสำรวจและเฝ้าระวังศัตรูพืชอย่างต่อเนื่องอย่างน้อย 3 ปี ทำให้สามารถยืนยันได้ว่า *R. raphanistrum* ไม่ปรากฏพบในประเทศไทย และยังคงเป็นศัตรูพืชกักกัน (quarantine pest) ของประเทศไทย

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจและแหล่งปลูกกะหล่ำปลี เพื่อยืนยันสถานภาพของวัชพืช *R. raphanistrum* ในประเทศไทย แบบเฉพาะเจาะจง ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 6 (surveillance: ISPM No.6) (FAO, 2018) และคำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก (McMaugh, 2008) ในแหล่งปลูกกะหล่ำปลีซึ่งเป็นพืชอาศัยหลักของวัชพืชทั้งหมด 19 จังหวัด จำนวน 190 แปลง ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน ลำพูน พะเยา น่าน แพร่ อุตรดิตถ์ ตาก พิษณุโลก เพชรบูรณ์ กำแพงเพชร ราชบุรี สุพรรณบุรี กาญจนบุรี นครปฐม

ประจวบคีรีขันธ์ ชัยภูมิ และจังหวัดขอนแก่น เมื่อสุ่มเก็บตัวอย่างและนำมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ระหว่างการศึกษาตรวจแล้วไม่พบวัชพืช *R. raphanistrum* ทำให้สามารถยืนยันได้ว่า *R. raphanistrum* ยังคงเป็นศัตรูพืชกักกัน (quarantine pest) ของประเทศไทย แต่อย่างไรก็ตามยังต้องการเฝ้าระวัง *R. raphanistrum* ในพืชอาศัยชนิดอื่น ๆ เช่น หอมหัวใหญ่ เพื่อกำหนดมาตรการเฝ้าระวังและหาแนวทางในการป้องกันกำจัด และลดความเสี่ยงศัตรูพืชและป้องกันผลกระทบทางด้านสุขอนามัยพืชกับการค้าระหว่างประเทศ

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ควรจัดทำมาตรการเฝ้าระวัง และแผนปฏิบัติการฉุกเฉินในกรณีที่พบการระบาดของวัชพืช *R. Raphanistrum* ดังนี้

<u>มาตรการระยะสั้น</u>

1) สร้างการรับรู้ให้แก่เกษตรกรและผู้มีส่วนเกี่ยวข้องได้รู้จักวัชพืช *R. Raphanistrum* ชนิดนี้ และวิธีการป้องกันและกำจัด โดยใช้โปสเตอร์ แผ่นพับ ภาพอินโฟกราฟิก และมอบให้แก่ ภาครัฐ ภาคเอกชน ผู้เกี่ยวข้อง เพื่อประชาสัมพันธ์ และสร้างการรับรู้ให้แก่เกษตรกร รวมทั้งมีการจัดประชุมชี้แจงหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ประกอบด้วย เกษตรกร สมาคม และผู้ประกอบการ เจ้าหน้าที่กรมวิชาการเกษตร เจ้าหน้าที่กรมส่งเสริมการเกษตร เจ้าหน้าที่โครงการหลวง และหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง

2) แจ้งเตือนด่านตรวจพืชเพื่อเฝ้าระวังวัชพืช *R. Raphanistrum* ที่อาจติดมากับสินค้าเกษตรนำเข้าจากประเทศที่มีรายงานการแพร่กระจายของวัชพืชชนิดนี้

<u>มาตรการระยะยาว</u>

1) เฝ้าระวังและเตือนภัยวัชพืช *R. Raphanistrum* อย่างต่อเนื่อง

2) ศึกษาและหาวิธีการพัฒนาการควบคุมวัชพืช *R. Raphanistrum* ให้มีประสิทธิภาพและยั่งยืน

3) แผนปฏิบัติการฉุกเฉินในกรณีที่พบการระบาดของวัชพืชชนิดนี้เมื่อพบการระบาดในพื้นที่สามารถแจ้งข้อมูลมายังสายด่วนเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน กลุ่มงานเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการ เกษตร อีเมล์ ppspq@doa.in.th เพื่อประสานหน่วยงาน ในพื้นที่เข้าติดตามตรวจสอบ และให้คำแนะนำการป้องกันกำจัด รวมทั้งควบคุมการระบาดไม่ให้แพร่กระจายออกไปยังพื้นที่อื่น ๆ ได้

## คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณที่ปรึกษากรมวิชาการเกษตรด้านกักกันพืช และด้านเฝ้าระวังศัตรูพืช ข้าราชการ พนักงานราชการ และพนักงานจ้างเหมาของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช และกลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้คำแนะนำและช่วยเหลือในการทำงานวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2550 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550.

กรมส่งเสริมการเกษตร, 2562. รายงานสถานการณ์การปลูก กะหล่าปลีปี 2562. (ระบบออนไลน์) แหล่งข้อมูล http://www.agriinfo.doae.go.th/ year63/plant/rortor/veget/%e0%b8%81%e0%b8%b0%e0%b8%ab%e0%b8%a5%e0%b9%88%e0%b8%b3%e0% b8%9b%e0% b8%a5%e0%b8%b5.pdf. (1 พฤศจิกายน 2565).

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2562. ข้อมูลมูลค่าการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ควบคุมจำแนกรายพืช. แหล่งข้อมูล https://doa.gdcatalog.go.th/dataset/3fedb433-bd00-476b-99f9-2fcfde9cb0dd/resource/45f1d399-c5da-4666-b805-227bbe9f3 d5e / download/4.1-doa_13_0202.csv (1 พฤศจิกายน 2565).

CABI Compendium. 2021. *Raphanus raphanistrum* (wild radish)). CAB International. (Online). Available. https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium. 467 95. (10 January 2022)

FAO. 2018. Surveillance. International Standards for Phytosanitary Measures; ISPM No.6, FAO, Rome.

McMaugh, T. 2008. คำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก .ACIAR Monograph No. 119c.

**Table 1** Detective survey of *Raphanus raphanistrum* in planting area of cabbage in Thailand (October 2021 to March 2025)

| No. | Location (Provinces) | Number of plot | Survey result |
|---|---|---|---|
| 1 | Chiang Mai | 37 | Not found |
| 2 | Chiang Rai | 11 | Not found |
| 3 | Mae Hong Son | 20 | Not found |
| 4 | Lamphun | 4 | Not found |
| 5 | Phayao | 1 | Not found |
| 6 | Nan | 3 | Not found |
| 7 | Phrae | 2 | Not found |
| 8 | Uttaradit | 1 | Not found |
| 9 | Tak | 12 | Not found |
| 10 | Phitsanulok | 12 | Not found |
| 11 | Phetchabun | 15 | Not found |
| 12 | Kamphaeng Phet | 4 | Not found |
| 13 | Ratchaburi | 1 | Not found |
| 14 | Suphan Buri | 5 | Not found |
| 15 | Kanchanaburi | 13 | Not found |
| 16 | Nakhon Pathom | 19 | Not found |
| 17 | Prachuap Khiri Khan | 8 | Not found |
| 18 | Chaiyaphum | 7 | Not found |
| 19 | Khon Kaen | 15 | Not found |
| | **Total** | **190** | - |

**Figure 1** Survey guideline and survey report form for *Raphanus raphanistrum*

**Figure 2** Botany characters of stem for *Raphanus raphanistrum.*

**Source:** https://species.wikimedia.org/wiki/Raphanus_raphanistrum, https://levypreserve.org/plant-listings/raphanus-raphanistrum/

**Figure 3** Botany characters of leaf for *Raphanus raphanistrum.*

**Source:** https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Raphanus_raphanistrum_leaf1 _ %281494 5086275%29.jpg, https://seedidguide.idseed.org/fact_sheets/raphanus-raphanistrum/

**Figure 4** Botany characters of flower for *Raphanus raphanistrum.*

Source: https://species.wikimedia.org/wiki/Raphanus_raphanistrum, https://gobotany.nativeplanttrust.org/species/raphanus/raphanistrum/

**Figure 5** Botany characters of seed for *Raphanus raphanistrum.*

**Source:** https://seedidguide.idseed.org/fact_sheets/raphanus-raphanistrum/

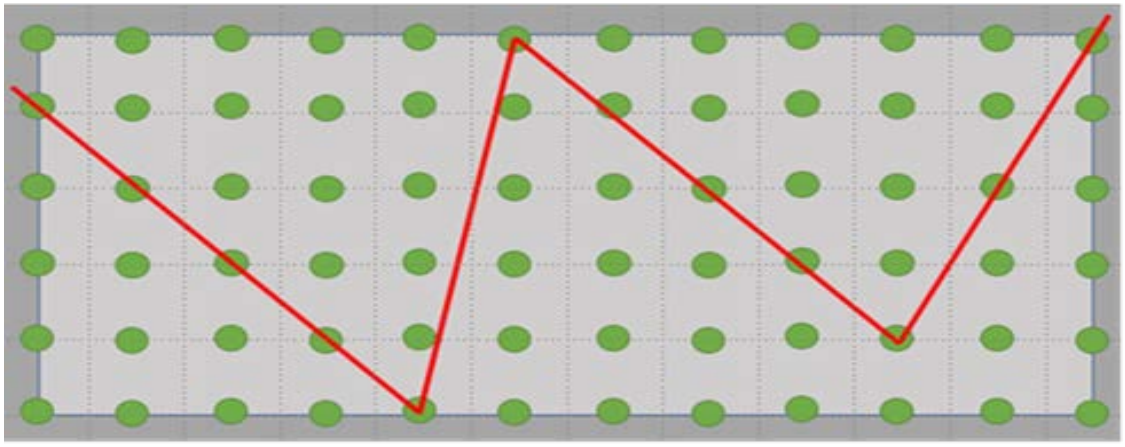


**Figure 6** The survey patterns in *Raphanus raphanistrum* host plants

# การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *Galium aparine* L. ในประเทศไทย

# Survey and Surveillance of *Galium aparine* L. in Thailand

**พรรณิภา เปชัยศรี[1/] วานิช คำพานิช[1/] ธัญชนก ศรีเมือง[2/] จันทร์พิศ เดชหามาตย์[1/]**
**ดนัย ชัยเรือนแก้ว[1/] ธิดาวรรณ ชมเดช[1/] ชุติมา อ้อมกิ่ง[1/]**

**[1/]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
**[2/]กลุ่มวิจัยวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

## Abstract

*Galium aparine* L. is a quarantine pest of Thailand and a weed that causes severe economic damage, especially in the Brassicaceae. Currently, the environment and ecosystem have changed, which may result in new pests and invasive alien plants being introduced into agricultural products. Thailand imports agricultural products from various sources around the world. There is a risk that quarantine weeds may be contaminated with agricultural products and cause damage to Thailand's agricultural and economy, as well as affect agricultural exports to countries with strict phytosanitary measures. This study aimed to confirm the current status of *G. aparine* in Thailand. This survey was conducted by specific surveillance according to the International Standard for Phytosanitary Measures No. 6 (Surveillance) from October 2021 to March 2025 in 29 provinces, covering a total of 576 plantations of Brassicaceae and other host plants. Samples were collected and identified in the laboratory of the Plant Protection Research and Development Office. The results that is absent the *G. aparine*. Therefore, it can be confirmed that Thailand is free area of *G.aparine*.

**Keywords :** surveillance, survey, quarantine pest, weeds, *Galium aparine*

รหัสการทดลอง FF65-55-06-65-00-12-65

## บทคัดย่อ

วัชพืช *Galium aparine* L. จัดเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย และเป็นวัชพืชที่สร้างความเสียหายรุนแรงระดับเศรษฐกิจโดยเฉพาะอย่างยิ่งในพืชวงศ์ผักกาด ปัจจุบันสภาพแวดล้อมและระบบนิเวศของโลกเกิดการเปลี่ยนแปลงไปจากอดีต ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดศัตรูพืชชนิดใหม่และพืชรุกรานต่างถิ่นติดเข้ามากับสินค้าเกษตรด้านพืช โดยประเทศไทยมีการนำเข้าสินค้าเกษตรด้านพืชจากแหล่งต่าง ๆ ทั่วโลก จึงมีความเสี่ยงที่วัชพืชที่เป็นศัตรูพืชกักกันติดมากับสินค้าเกษตรด้านพืชจนสร้างความเสียหายแก่ภาคการเกษตรและเศรษฐกิจของประเทศไทย ตลอดจนส่งผลกระทบต่อการส่งออกสินค้าเกษตรไปยังประเทศที่มีความเข้มงวดด้านมาตรการสุขอนามัยพืช การศึกษานี้วัตถุประสงค์เพื่อยืนยันสถานภาพที่เป็นปัจจุบันของวัชพืช *G. aparine* ในประเทศไทย โดยดำเนินการเฝ้าระวังศัตรูพืชแบบเฉพาะเจาะจงตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (การเฝ้าระวัง)ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - มีนาคม 2568 ในแหล่งปลูกพืชวงศ์ผักกาด และแปลงปลูกพืชอาศัยอื่น จำนวน 29 จังหวัด รวม 576 แปลง และเก็บตัวอย่างวัชพืชมาตรวจจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ผลการศึกษาไม่ปรากฏพบวัชพืช *G. aparine* ดังนั้นจึงสามารถยืนยันได้ว่าประเทศไทยเป็นพื้นที่ปลอดวัชพืช *G. aparine*


**คำหลัก :** เฝ้าระวัง, สำรวจ, ศัตรูพืชกักกัน, วัชพืช *Galium aparine* L.

## คำนำ

ประเทศไทยในฐานะสมาชิกขององค์การการค้าโลกต้องปฏิบัติตามเงื่อนไขอนุสัญญาว่าด้วยการอารักขาพืชระหว่างประเทศ (International Plant Protection Convention; IPPC) กรมวิชาการเกษตรในฐานะองค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization; NPPO) ต้องดำเนินการตามความตกลงว่าด้วยการใช้บังคับมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช การกำหนดมาตรการใด ๆ ต้องอยู่บนพื้นฐานของมาตรฐานระหว่างประเทศที่ทุกประเทศสมาชิกต่างให้การยอมรับ หรือต้องมีเหตุผลทางวิทยาศาสตร์ที่ผ่านขั้นตอนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช มีการดำเนินการเกี่ยวกับการเฝ้าระวังตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช (International Standard for Phytosanitary Measure; ISPM) ฉบับที่ 6 (การเฝ้าระวัง) เป็นกิจกรรมหลักอย่างหนึ่งขององค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ โดยการเฝ้าระวังนั้นเป็นกระบวนการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งในพื้นที่ โดยจะเป็นพื้นฐานทางด้านเทคนิคแก่องค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ สำหรับกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชหลายประการ เช่น ข้อกำหนดการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืช พื้นที่ปลอดศัตรูพืช การรายงานศัตรูพืช การกำจัดให้หมดสิ้น และสถานภาพของศัตรูพืชในพื้นที่ ตลอดจนมีข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืชระยะเริ่มแรก การรักษาสถานภาพพื้นที่ปลอดศัตรูพืช การรับรองแหล่งผลิตที่ปลอดศัตรูพืช หรือการรับรองพื้นที่ที่มีความแพร่หลายของศัตรูพืชต่ำ และมีขอบเขตของพื้นที่ในเชิงภูมิศาสตร์และในระบบของการผลิตพืช

วัชพืช *Galium aparine* L. อยู่ในวงศ์ Rubiaceae จัดเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550) และเป็นศัตรูพืชกักกันและศัตรูพืชร้ายแรงในหลายประเทศทั่วโลก ซึ่งเป็นปัญหาในพืชผัก ไม้ผล พืชไร่ และธัญพืช ส่งผลกระทบทำให้ผลผลิตลดลง รบกวนการเก็บเกี่ยว รวมทั้งเป็นแหล่งอาศัยของโรคและแมลงศัตรูพืช วัชพืชชนิดนี้การขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด สามารถเติบโตได้ในดินและสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย (Malik and Vanden Born, 1988) เมล็ดวัชพืชถูกแพร่กระจายโดยลม น้ำ สัตว์ มนุษย์ เครื่องจักรกลการเกษตร หรือปนเปื้อนบรรจุภัณฑ์ พืชและผลผลิตพืช ผลของวัชพืช มีลักษณะเป็นขนงุ้ม สามารถยึดเกาะกับพื้นผิวได้ดี ซึ่งทำให้วัชพืชสามารถแพร่กระจายไปยังแหล่งอื่นได้อย่างมีประสิทธิภาพ (CABI, 2021) มีรายงานว่าวัชพืช *G. aparine* สามารถเจริญเติบโตแข่งขันกับพืชปลูกได้อย่างมีประสิทธิภาพ สามารถทำให้พืชประธานเกิดการยุบตัว ขัดขวางการเก็บเกี่ยว และส่งผลให้ผลผลิตลดลงได้ 30-60 เปอร์เซ็นต์ (Rola, 1969) และในยุโรปส่งผลให้ผลผลิตของชูการ์บีทและข้าวโพดลดลง (Rottele, 1980) ในโปแลนด์ *G. aparine* เป็นวัชพืชที่แพร่หลายในข้าวบาร์เลย์และข้าวสาลี (Pawlowski and Wszolek, 1978) และในญี่ปุ่นพบเป็นวัชพืชร้ายแรงในข้าว (Noda et al, 1965) อีกทั้งเมล็ดของวัชพืชมียังขนาดเล็กยากต่อการตรวจพบจึงมีความเสี่ยงที่จะปนเปื้อนมากับผลผลิตพืชที่นำเข้า โดยการนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศมีโอกาสที่ศัตรูพืชหลายชนิดจะติดมากับสินค้านำเข้าทั้งที่เป็นศัตรูพืชทั่วไปหรือศัตรูพืชกักกันหรือศัตรูพืชร้ายแรงที่ยังไม่มีรายงานปรากฏในประเทศไทย จากการตรวจเอกสารพบว่ามีรายงานการตรวจพบวัชพืช *G. aparine* ติดมากับเมล็ดข้าวสาลี (นงพร และคณะ, 2556) เมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียว (นงพร และคณะ, 2558) เมล็ดพันธุ์ผักชี (วานิช และคณะ, 2565) จากต่างประเทศติดเข้ามาในประเทศไทย และตรวจพบเมล็ดวัชพืช *Galium* spp. ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกวางตุ้งนำเข้า (จันทร์พิศ และคณะ, 2565) ด้วยสภาพแวดล้อมและระบบนิเวศมีการเปลี่ยนแปลงไปอาจส่งผลให้เกิดศัตรูพืชชนิดใหม่และพืชรุกรานต่างถิ่นที่ติดเข้ามากับสินค้าเกษตรด้านพืชสามารถดำรงชีวิตอยู่รอด เจริญเติบโตและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศจนก่อให้เกิดผลกระทบต่อการเกษตรของประเทศไทย รวมทั้งส่งผลกระทบต่อการส่งออกสินค้าเกษตรไปยังประเทศที่มีความเข้มงวดด้านมาตรการสุขอนามัยพืช ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อยืนยันสถานภาพที่เป็นปัจจุบันของวัชพืช *Galium aparine* L. ในประเทศไทย สำหรับใช้เป็นข้อมูลประกอบการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช จัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช และสนับสนุนการออกประกาศพื้นที่ปลอดศัตรูพืชโดยองค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. แผงอัดพันธุ์ไม้ แผ่นฟองน้ำ กระดาษอัดพันธุ์ไม้ และป้ายกระดาษสำหรับผูกพันธุ์ไม้
2. กรรไกรตัดกิ่ง กรรไกรชัก หรือขวาน มีดพับ พลั่ว หรือเสียม

3. ถุงพลาสติกและยางสำหรับรัดปากถุง
4. ถุงกระดาษสำหรับเก็บและรักษาตัวอย่าง
5. กระดาษหนังสือพิมพ์
6. ขวดดองตัวอย่าง
7. เอทิลแอลกอฮอล์ 70% ใช้สำหรับดองตัวอย่าง
8. การบูรสำหรับป้องกันแมลง
9. ตู้ลมร้อน
10. เครื่องบันทึกพิกัด
11. กล้องถ่ายรูป
12. กล้องสเตอริโอ ไมโครสโคป

**วิธีการ**

**1. สืบค้นข้อมูล**

ตรวจสอบและสืบค้นข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับวัชพืช *Galium aparine* L. ได้แก่ รายละเอียดของวัชพืช ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ข้อมูลชีววิทยา การแพร่ระบาด และผลกระทบ พร้อมรูปภาพของวัชพืช *G. aparine* รวมทั้งรายละเอียดของพืชอาศัย ชื่อ วงจรชีวิต การแพร่กระจาย จากฐานข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์ เอกสาร งานวิจัย หรือตำราวิชาการ

**2. สำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *Galium aparine* L.**

วางแผนการสำรวจตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (การเฝ้าระวัง) (FAO, 2018) ในแปลงปลูกพืช โดยดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อระบุว่ามีศัตรูพืชปรากฏอยู่หรือไม่ในพื้นที่ที่ดำเนินการสำรวจ (McMaugh, 2008) ตามขั้นตอนต่อไปนี้

2.1 จัดทำคู่มือการสำรวจและแบบฟอร์มรายละเอียดข้อมูล โดยรวบรวมข้อมูลลักษณะของวัชพืช *G. aparine* พร้อมรูปภาพประกอบ เช่น ลักษณะต้น ใบ และดอก ตลอดจนรายละเอียดของลักษณะวัชพืชอื่น ๆ ที่มีลักษณะคล้ายกับวัชพืชเป้าหมาย เพื่อจัดทำเอกสารคู่มือสำหรับผู้ร่วมงานใช้ในการสำรวจภาคสนาม จัดทำแบบฟอร์มการสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูล เช่น ชื่อพืช ชื่อเกษตรกรเจ้าของแปลง สถานที่ วันที่สำรวจ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์ เป็นต้น

2.2 กำหนดพื้นที่สำรวจในแหล่งปลูกพืชอาศัยหลักในพืชวงศ์ผักกาด (กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก ผักกาดเขียว ผักกาดขาว ผักกาดหัว คะน้า กวางตุ้ง บร็อกโคลี่) และแปลงปลูกพืชอาศัยอื่น (ผักชี ขึ้นฉ่าย พริก มะเขือ มะเขือเทศ มันฝรั่ง) ทั่วทั้งประเทศ แบ่งเป็นพื้นที่ภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง เชียงราย แม่ฮ่องสอน น่าน และแพร่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดเลย นครราชสีมา ขอนแก่น อุดรธานี สกลนคร นครพนม หนองคาย บึงกาฬ และหนองบัวลำภู ภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดตาก กาญจนบุรี ราชบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ภาคกลาง ได้แก่จังหวัดสุโขทัย

เพชรบูรณ์ พิษณุโลก สมุทรสงคราม นครปฐม ปทุมธานี ภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดสระแก้ว และภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดชุมพร และสุราษฎร์ธานี

2.3 วางแผนการสำรวจ ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 โดยดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง เพื่อตรวจหาว่ามีศัตรูพืชปรากฏอยู่หรือไม่ โดยมีวัชพืช *G. aparine* ซึ่งเป็นศัตรูพืชเป้าหมายปรากฏอยู่หรือไม่ ทำการเดินสุ่มสำรวจแบบซิกแซก รูปตัว W หรือรูปตัว U ตามความเหมาะสมกับพื้นที่ปลูกพืช เพื่อตรวจหาศัตรูพืชหรือเก็บตัวอย่างในพื้นที่แปลงปลูกพืช โดยมีพื้นที่สำรวจไม่น้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ ทั้งนี้การเดินสำรวจวัชพืชในแปลงปลูกพืชสามารถปรับได้ตามความเหมาะสมของสภาพพื้นที่และขนาดพื้นที่แปลงปลูก ตลอดจนรูปแบบการปลูกพืช หรือใช้หลายรูปแบบปนกันตามพื้นที่ปลูกโดยเน้นการสังเกตแบบละเอียดในบริเวณที่เอื้อต่อการเกิดวัชพืชเป้าหมาย เพื่อให้การตรวจประเมินศัตรูพืชในแปลงปลูกได้รับการสำรวจศัตรูพืชอย่างทั่วถึงครอบคลุมทั้งแปลง (National Seed Health System, 2019) เมื่อพบวัชพืชเป้าหมายในแปลงปลูก ให้ขยายขอบเขตการสำรวจออกไปยังพื้นที่ใกล้เคียง เพื่อให้ทราบขอบเขตการระบาดของวัชพืชในแหล่งปลูกนั้น

2.4 การเก็บและรวบรวมตัวอย่างวัชพืชที่มีลักษณะคล้ายหรือใกล้เคียงกับวัชพืชเป้าหมาย โดยเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจ บันทึกรายละเอียดตามแบบฟอร์มการสำรวจ ได้แก่ สถานที่หรือพิกัดภูมิศาสตร์ที่พบ สภาพนิเวศ ลักษณะของวัชพืชที่เก็บตัวอย่าง ชนิดพืชปลูกหลัก วัน/เดือน/ปีที่เก็บตัวอย่าง แมลงและศัตรูธรรมชาติ ที่พบในพื้นที่ที่สำรวจ พร้อมภาพถ่าย และเก็บตัวอย่างวัชพืชมาจัดทำตัวอย่างแห้ง (herbarium) เก็บวัชพืชที่มีใบและดอกสมบูรณ์ ไม่ถูกแมลงทำลาย หากพืชมีขนาดเล็ก ควรมีราก ต้น ใบดอก ครบถ้วน หากเป็นพืชไร้ดอก ควรมีส่วนที่ใช้ในการขยายพันธุ์ หรือลักษณะอื่นที่สามารถใช้ในการตรวจวิเคราะห์ชนิดได้ อัดในแผงอัดพรรณไม้ ขนาดประมาณ 50 x 30 เซนติเมตร อย่างน้อยชนิดละ 2 ตัวอย่าง เมื่อแห้งแล้วติดลงบนกระดาษขาว ขนาด 45 x 30 เซนติเมตร พร้อมติดป้าย ระบุ ชื่อวัชพืช สถานที่ นิเวศน์ พืชอาศัย วัน-เวลา ชื่อผู้เก็บ เก็บรักษา ณ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร หากพบพืชที่ไม่สามารถระบุชนิดได้ และมีลักษณะคล้ายพืชในสกุล *Galium* เก็บตัวอย่างวัชพืชใส่ถุงหรือกระถางนำมาปลูกในเรือนทดลอง เพื่อศึกษารายละเอียดต่าง ๆ ของพืช แต่หากพืชนั้นมีดอกและลักษณะอื่นครบถ้วนที่จะสามารถใช้ตรวจสอบชนิดได้ ให้เก็บตัวอย่างเพื่อจัดทำตัวอย่างแห้ง และนำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการว่าใช่วัชพืชเป้าหมายหรือไม่

**3. การตรวจสอบและจำแนกชนิดวัชพืช**

นำตัวอย่างวัชพืชที่รวบรวมได้ในภาคสนาม มาศึกษาลักษณะและตรวจสอบขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ตรวจดูลักษณะภายนอกด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (stereo microscope) ถ่ายภาพ บันทึกรายละเอียด เช่น ลักษณะต้น ใบ ดอก และสี เปรียบเทียบกับรูปภาพ คำอธิบายลักษณะจากฐานข้อมูล และเอกสารคู่มือต่าง ๆ เช่น Weeds of Australia (keyserver . lucidcentral.org/) e-flora (efloras.org), Plantwise Knowledge Bank, CAB International, weed

identification guide of Oregon State University, USDA Plant Database หรือเทียบตัวอย่างวัชพืชกับตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ อาคารพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร กรมวิชาการเกษตร หอพรรณไม้ กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช และองค์การสวนพฤกษศาสตร์ เป็นต้น พร้อมทั้งจัดเก็บตัวอย่างเอาไว้เป็นหมวดหมู่ในพิพิธภัณฑ์ตามหลักสากล

**4. การเก็บรวบรวมข้อมูลและสรุปผลสถานภาพของวัชพืช *Galium aparine* L.**

รวบรวมข้อมูลพื้นที่และผลการสำรวจวัชพืช พร้อมทั้งทำการสรุปผลการศึกษาสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช เพื่อนำไปใช้ในการจัดทำรายงานสถานภาพของวัชพืช *G. aparine* ในประเทศไทย

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2564 - มีนาคม 2568

สถานที่ 1) ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนปลูกพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2) พื้นที่ทำการเกษตรในภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก และภาคใต้

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**ข้อมูลของวัชพืช *Galium aparine* L.**

การจำแนกพืช

Domain: Eukaryota

Kingdom: Plantae

Phylum: Spermatophyta

Subphylum: Angiospermae

Class: Dicotyledonae

Order: Gentianales

Family: Rubiaceae

Genus: Galium

Species: *Galium aparine*

วัชพืช *Galium aparine* L. จัดเป็นศัตรูพืชกักกันพืชของประเทศไทย ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 โดยมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์เป็นไม้ล้มลุก อายุหลายปี ใบเลี้ยงมีก้านใบเป็น

รูปไข่ มักมีรอยหยักที่ปลายใบ ด้านบนค่อนข้างหยาบ ยาว 8 - 15 มิลลิเมตร และกว้าง 6 - 9 มิลลิเมตร ลำต้นมีสีเขียวอ่อน แตกกิ่งก้านอิสระและจำนวนมาก อ่อนแอ กิ่งล้มหรือเลื้อยขึ้นไปเกาะหรือนอนอยู่บนพืชที่อยู่บริเวณใกล้เคียง ยาวได้ถึง 120 เซนติเมตร หน้าตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยม มีซี่โครงที่เด่นชัดตั้งขึ้นหนาแน่นด้วยหนามแหลมโค้งกลับ มีข้อต่อ แตกกิ่งที่ข้อแรก ข้อแรกมักจะมีหนามแหลมหนาแน่น แต่บางครั้งก็มีเพียงเล็กน้อย ใบออกเป็นกลุ่ม 4 - 8 ใบเรียงเป็นวงรอบข้อของลำต้น ใบเดี่ยว ลักษณะแคบ รูปหอกแกมรูปไข่ มีเส้นใบ 1 เส้น ยาว 30 - 60 มิลลิเมตร กว้าง 3 - 8 มิลลิเมตร มักมีสีเขียวเข้ม มีเมือก ขอบใบเป็นขุยเล็กน้อย ผิวด้านบนมีขน ผิวด้านล่างมีหนามเรียงเป็นแถวตามแนวเส้นกลางใบ หนามชี้ไปด้านหน้า ดอกมีสีเขียวอ่อนหรือสีขาวขนาดเล็กขึ้นที่ซอกใบหรือที่ปลายยอด ช่อดอกแต่ละช่อมี 3 - 5 ดอก แต่ละดอกมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 - 3 มิลลิเมตร มีกลีบดอก 4 กลีบที่เชื่อมติดกันใกล้ฐานและไม่มีกลีบเลี้ยง มีเกสรตัวผู้ 4 อัน และก้านช่อดอกสองแฉก โดยแต่ละแฉกจะมียอดเกสรตัวเมียที่โค้งมน ผลหุ้มเมล็ดมีลักษณะทรงกลมหรือรูปไต แบ่งเป็นสองแฉก และเมื่อแก่จะแตกออกเป็น 2 ส่วนที่มีเมล็ดเดียว ผลมีขนาด 2 - 4 มิลลิเมตร ไม่รวมหนาม มีขนงุ้มปกคลุมหนาแน่นอยู่บนฐานที่มีตุ่มพอง ซึ่งมักจะเกิดจากตุ่มเล็ก ๆ ที่เกิดจากพื้นผิวของผลที่ยกขึ้น ผลบางครั้งมีหนามประปรายและไม่ค่อยเรียบหรือมีตุ่ม มีรอยแผลเป็นที่ค่อนข้างยาวรี ผลอ่อนจะมีสีเขียวหรือเขียวอมม่วง และจะเปลี่ยนเป็นสีเทา น้ำตาลเทา หรือน้ำตาลในภายหลังเมื่อแก่ เมล็ดมีลักษณะกลมหรือรูปไต มีเนื้อหยาบ และเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 - 4 มิลลิเมตร พืชหนึ่งต้นสามารถผลิตเมล็ดได้ 300 - 400 เมล็ด หรือสามารถผลิตได้มากกว่านี้ ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด เมล็ดเหล่านี้แพร่กระจายโดยน้ำ ลม และเครื่องจักร และปนเปื้อนไปกับผลิตผลทางการเกษตร ดิน และขยะในสวนที่ถูกทิ้ง เนื่องจากผลของวัชพืชชนิดนี้มีขนงุ้มที่เกี่ยวติดไปกับผลไม้ เสื้อผ้าและสัตว์ และสิ่งของอื่น ๆ ได้ง่ายมาก (Malik and Vanden Born, 1998) (Figure 1)

*G. aparine* เป็นพืชที่เจริญเติบโตได้ในแหล่งที่อยู่อาศัยที่หลากหลายและในแหล่งที่อยู่อาศัยที่มีความชื้น ดินมีความอุดมสมบูรณ์ จะเจริญเติบโตได้ดีทั้งในดินร่วนและดินร่วนปนทราย โดยมีลักษณะเด่นคือเป็นพืชล้มลุกในฤดูหนาว และเป็นวัชพืชที่ทนต่อฤดูหนาวได้ดีที่สุดชนิดหนึ่ง โดยเจริญเลื้อยพันปกคลุมเหนือยอดพืชปลูก มีขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดเมล็ดมีการพักตัวเล็กน้อยสามารถงอกในช่วงอุณหภูมิที่กว้าง (5 - 20 องศาเซลเซียส) และในที่ไม่มีแสง มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างของดิน (pH) ของดินมีผลเพียงเล็กน้อยต่อการงอก พบได้ในพื้นที่เพาะปลูกพืชหลากหลายชนิด เช่น แปลงปลูกพืชพืชวงศ์ผักกาด หัวใหญ่ มะเขือเทศ มันฝรั่งข้าว ข้าวบาร์เลย์ ข้าวไรย์ ข้าวสาลี บีทรูท ถั่วเหลือง ฝ้าย กาแฟ ทานตะวัน อ้อย เป็นต้น รวมทั้งพื้นที่ป่าและพื้นที่รกร้าง เมล็ดวัชพืชถูกแพร่กระจายไปโดยลม น้ำสัตว์ เครื่องจักรกลการเกษตร หรือปนเปื้อนในเมล็ดพืช ผลของวัชพืชชนิดนี้มีขนที่โค้งงอซึ่งเป็นกลไกในการยึดติดกับขนสัตว์ หรือเสื้อผ้าและกระเป๋าของมนุษย์ อีกทั้งผลยังมีช่องว่างใกล้กับจุดยึดระหว่างสองซีกทำให้ลอยน้ำได้ หรืออาจแพร่กระจายไปกับฟางและปุ๋ยคอกที่ปนเปื้อน และระหว่างการเคลื่อนย้ายเครื่องจักรกลการเกษตร พบได้ทั่วไปในเขตอากาศอบอุ่นของทุกทวีปและในพื้นที่สูงในเขตร้อน ในยุโรปพบตั้งแต่โปรตุเกสทางตะวันตกไปจนถึงรัสเซียทางตะวันออก และจากสหราช

อาณาจักรทางเหนือไปจนถึงอิตาลีทางใต้ พบในอลาสก้า ย้ายไปทั่วเขตการปลูกข้าวสาลีในแคนาดาและทั่วสหรัฐอเมริกา *G. aparine* เป็นวัชพืชที่เป็นปัญหาในอาร์เจนตินา ชิลี และอุรุกวัย และในเอเชีย พบตั้งแต่ปากีสถานไปจนถึงสาธารณรัฐประชาชนจีน และจากญี่ปุ่นไปจนถึงนิวซีแลนด์ พบได้น้อยกว่าในแอฟริกา ซึ่งเป็นวัชพืชในธัญพืชในตูนิเซีย และพบได้ในพื้นที่สูงในเอธิโอเปีย นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าวัชพืชชนิดนี้มีแหล่งแพร่กระจายในหลายประเทศทั่วโลก ได้แก่ ทวีปแอฟริกา (เอธิโอเปีย เรอูนียง ตูนิเซีย) ทวีปเอเชีย (อัฟกานิสถาน ภูฏาน จีน ฮ่องกง อินเดีย อิสราเอล ญี่ปุ่น เกาหลีเหนือ ปากีสถาน ตุรกี) ทวีปยุโรป (เบลเยียม บัลแกเรีย เช็กเกีย ยูโกสลาเวีย ฟินแลนด์ ฝรั่งเศส เยอรมนี กรีซ ฮังการี ไอซ์แลนด์ อิตาลี นอร์เวย์ โปแลนด์ โปรตุเกส โรมาเนีย รัสเซีย สเปน สวาลบาร์ดและยานไมเอน สวีเดน สวิตเซอร์แลนด์ สหราชอาณาจักร) ทวีปออสเตรเลีย (เซาท์ออสเตรเลีย วิกตอเรีย เวสเทิร์นออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ ทวีปอเมริกาเหนือ (แคนาดา สหรัฐอเมริกา โอเชียเนีย) และทวีปอเมริกาใต้ (อาร์เจนตินา บราซิล ชิลี อุรุกวัย) (CABI, 2021)

*G. aparine* เป็นวัชพืชร้ายแรงหรือวัชพืชหลักในหลายประเทศทั่วโลก โดยมักพบในพืชผักธัญพืช ไร่องุ่น พืชไร่ ข้าว และทุ่งหญ้า เนื่องจากทำให้ผลผลิตพืชลดลงอย่างมาก ขัดขวางการเก็บเกี่ยวด้วยเครื่องจักร เนื่องจากวัชพืชจะเลื้อยพันปกคลุมเหนือยอดพืชปลูก (Froud-Williams, 1985) ทำให้พืชปลูกล้ม สำหรับธัญพืช Rola (1969) รายงานว่าทำให้ผลผลิตอาจลดลง 30 - 60 เปอร์เซ็นต์ งานวิจัยในสหราชอาณาจักรพบว่าสูญเสียปริมาณข้าวสาลีมากถึง 0.8 - 4.9 ตัน/เฮกตาร์ (Wilson and Wright, 1987) นอกจากจะลดผลผลิตอย่างรุนแรงแล้ว G. aparine ยังมีผลกระทบทางเศรษฐกิจที่สำคัญอื่น ๆ อีกด้วย โดยสารสกัดของ G. aparine มีสารอัลลิโลพาธิกที่มีผลต่อการงอกของต้นโอ๊ค (Mateev and Timoteev, 1965) และยังผลิตสาร anthraquinones ที่เป็นพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม อาจทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง (Batra, 1984) และเมื่อสัตว์กินเข้าไปอาจมีฤทธิ์ขับปัสสาวะ (Long, 1960) วัชพืชร้ายแรงหลายชนิดสามารถสร้างเมล็ดจำนวนมาก เมล็ดมีการพักตัวเมื่อสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม หรือมีอายุยาว นอกจากนี้หลายชนิดยังมีขนาดเล็ก ยากต่อการตรวจสอบหรือมีขนาดใกล้เคียงกับเมล็ดพืชปลูก ทำให้แยกออกจากเมล็ดพันธุ์พืชปลูกได้ยาก (Muenscher, 1980) รวมทั้งเป็นแหล่งอาศัยของโรคและแมลงศัตรูพืชอีกด้วย

**สำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *Galium aparine* L.**

แบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *G. aparine* และคู่มือการสำรวจในแปลงปลูกพืช ประกอบด้วย

- ข้อมูลพื้นฐานของวัชพืช *G. aparine* และภาพตัวอย่างรายละเอียดของวัชพืช ลักษณะต้น ใบ ดอก ผล และลักษณะทางพฤกษศาสตร์ รวมทั้งลักษณะของวัชพืชชนิดอื่นที่มีความคล้ายคลึงเมื่อเปรียบเทียบกับวัชพืชเป้าหมายที่ทำการสำรวจ

- แบบบันทึกรายงานการสำรวจโดยมีรายละเอียด วันเดือนปีที่สำรวจ สถานที่สำรวจ (ตำบล อำเภอ จังหวัด) พิกัดทางภูมิศาสตร์ ขนาดของพื้นที่ที่ทำการสำรวจ ชื่อผู้สำรวจ จำนวนแปลงที่สำรวจ ชื่อพืชที่ทำการสำรวจ และพืชอื่นที่อยู่ข้างเคียงแปลงปลูก

- รูปแบบการเดินสำรวจ สุ่มเดินสำรวจแบบซิกแซก รูปตัว W หรือรูปตัว U ตามความเหมาะสมกับพื้นที่ปลูกพืช เพื่อตรวจหาศัตรูพืชหรือเก็บตัวอย่างในพื้นที่แปลงปลูกพืช มีพื้นที่สำรวจไม่น้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่โดยมีวัชพืช *G. aparine* เป็นวัชพืชเป้าหมาย

- การเก็บตัวอย่างวัชพืชมาจัดทำตัวอย่างแห้ง (herbarium) เพื่อใช้เป็นหลักฐานและเพื่อการตรวจสอบและจำแนกชนิดต่อไปในห้องปฏิบัติการ หากไม่สามารถระบุชนิดได้ เช่น มีลักษณะไม่ชัดเจน พืชยังไม่มีดอก หรือยังอยู่ในระยะต้นอ่อน เก็บตัวอย่าง นำมาปลูกในโรงเรือนทดลอง จนกว่าจะมีดอก หรือมีลักษณะที่สามารถระบุชนิดได้ ถ่ายภาพและจัดทำตัวอย่างแห้ง เพื่อใช้เป็นหลักฐานและตรวจสอบจำแนกชนิดต่อไปในห้องปฏิบัติการ

จากการสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *G. aparine* แบบเฉพาะเจาะจง ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (การเฝ้าระวัง) ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - มีนาคม 2568 ในแหล่งปลูกพืชผักวงศ์ผักกาด ได้แก่ กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก ผักกาดเขียว ผักกาดขาว ผักกาดหัว คะน้า กวางตุ้ง บร็อกโคลี่ จำนวน 265 แปลง และแปลงปลูกพืชอาศัยอื่น ได้แก่ ผักชี ขึ้นฉ่าย พริก มะเขือ มะเขือเทศ มันฝรั่ง จำนวน 311 แปลง ใน พื้นที่ภาคเหนือ (จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง เชียงราย แม่ฮ่องสอน น่าน และแพร่) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (จังหวัดเลย นครราชสีมา ขอนแก่น อุดรธานี สกลนคร นครพนม หนองคาย บึงกาฬ และหนองบัวลำภู) ภาคตะวันตก (จังหวัดตาก กาญจนบุรี ราชบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ภาคกลาง จังหวัดสุโขทัย เพชรบูรณ์ พิษณุโลก สมุทรสงคราม นครปฐม ปทุมธานี ภาคตะวันออก จังหวัดสระแก้ว) และภาคใต้ จังหวัด (ชุมพร และสุราษฎร์ธานี)

**การตรวจสอบและจำแนกชนิดวัชพืช**

จากการสำรวจวัชพืชในพื้นที่ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก และภาคใต้ ในแหล่งปลูกพืชวงศ์ผักกาดและแปลงปลูกพืชอาศัยอื่น และเก็บตัวอย่างวัชพืชมาจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการไม่ปรากฏพบวัชพืช *G. aparine* โดยวัชพืชที่พบในการสำรวจเป็นวัชพืชทั่วไปที่มีรายงานพบในประเทศไทย แต่ในพื้นที่ตำบลบ้านหลวง อำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ บริเวณริมถนนป่ารกร้าง พบวัชพืชที่มีลักษณะใกล้เคียงกับ *G. aparine* คือ *Galium asperifolium* Wall. และ *Galium elegans* Wall.ซึ่งเป็นวัชพืชที่รายงานพบในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย

*Galium asperifolium* Wall. เป็นไม้ล้มลุกอายุหลายปี ลำต้นอ่อนแอเป็นรูปสี่เหลี่ยม มักเลื้อยหรือล้ม แตกกิ่งก้านมาก ลำต้นสูง 20 -70 เซนติเมตร ส่วนใหญ่ไม่มีขน ใบมีสีเขียวเข้มด้านบนและเป็นมันเงา ด้านข้างซีดกว่า มีลักษณะคล้ายรูปหอก โคนแคบ ปลายแหลม ขอบใบและเส้นกลางใบด้านล่างเป็นสะเก็ด (มีหนามกลับด้าน) ก้านใบสั้น ออกเป็นกลุ่ม 6 - 8 ใบ เรียงเป็นวงรอบข้อของลำต้น ออกดอกเป็นช่อ กลีบดอกมีสีขาวเป็นรูปสามเหลี่ยม ปลายแหลม กลีบดอกหมุน ผลประกอบด้วยเนื้อเยื่อหุ้มเมล็ด 2 ชิ้น มีลักษณะกลม ไม่มีขน แต่ละเนื้อเยื่อหุ้มเมล็ดมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 มิลลิเมตร (Figure 2) มักพบในพื้นที่หญ้าเปิดโล่ง ในเขตภูเขาตอนบนหรือบริเวณขอบของป่าฝนภูเขา

ตอนบน ความสูง 2,100 - 2,500 เมตร และรายงานพบในพื้นที่ตำบลบ้านหลวง อำเภอจอมทอง และตำบลเชียงดาว อำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ (Flora of Thailand, 2021a)

*Galium elegans* Wall. เป็นไม้ล้มลุกอายุหลายปี ที่มีรากไม้เล็กน้อย ลำต้นยาว 30 เซนติเมตร มีขนยาวสีขาว ใบเป็นรูปวงรี 4 ใบ รูปไข่กลับแกมรูปหอก ขนาด 0.8 - 1.8 x 0.3 - 0.9 เซนติเมตร โคนใบแคบลงอย่างรวดเร็ว ปลายใบมน เส้นกลางใบและเส้นใบด้านข้าง 1 คู่เห็นได้ชัดเจน พื้นผิวทั้งสองด้านปกคลุมด้วยขนยาวสีขาว ก้านใบมักจะไม่แก่ก่อนวัย บางครั้งยาว 4 - 5 มิลลิเมตร ช่อดอกมีหลายดอก ดอกมี 4 กลีบ สีขาวถึงขาวอมเหลือง กลีบดอกหมุน เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 มิลลิเมตร ผลหุ้มเมล็ดมีลักษณะรูปไต แบ่งเป็นสองผล ที่ปกคลุมด้วยขนยาวสีขาวหนาแน่น แต่ละผลมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 - 1.5 มิลลิเมตร ไม่มีรวมขน (Figure 3) มักพบในพื้นที่บนสันเขาหิน บางครั้งในพุ่มไม้บนภูเขา ความสูง 1,800 - 2,250 เมตร และรายงานพบในพื้นที่ตำบลเชียงดาว อำเภอเชียงดาว จังหวัดชียงใหม่ และตำบลภูคา อำเภอปัว จังหวัดน่าน (Flora of Thailand, 2021b)

อย่างไรก็ตามการสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *G. aparine* ต้องดำเนินการสำรวจอย่างต่อเนื่อง เพื่อป้องกันประเทศไม่ให้พืชต่างถิ่นที่รุกรานที่เข้ามาในประเทศ เนื่องจากมีรายงานพบวัชพืชในสกุลเดียวกัน จึงมีความเสี่ยงที่วัชพืชชนิด *G. aparine* จะสามารถเข้ามาดำรงชีวิตอยู่รอด เจริญเติบโตและแพร่พันธุ์ได้ จนก่อให้เกิดผลกระทบต่อการเกษตรของประเทศไทย

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *Galium aparine* L. ในประเทศไทย โดยดำเนินการเฝ้าระวังศัตรูพืชแบบเฉพาะเจาะจง ตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 6 (การเฝ้าระวัง) ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - มีนาคม 2568 ผลการสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืชในพื้นที่ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก และภาคใต้ ในแหล่งปลูกพืชวงศ์ผักกาด จำนวน 265 แปลง และแปลงปลูกพืชอาศัยอื่น จำนวน 311 แปลง และเก็บตัวอย่างวัชพืชมาจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ผลการศึกษาไม่ปรากฏพบวัชพืช *G. aparine* ดังนั้นจึงสามารถยืนยันได้ว่าประเทศไทยเป็นพื้นที่ปลอดวัชพืช *G. aparine* อย่างไรก็ตาม การสำรวจและเฝ้าระวังวัชพืช *G. aparine* ต้องดำเนินการสำรวจอย่างต่อเนื่อง เพื่อเป็นการยืนยันสถานภาพของศัตรูพืชที่เป็นปัจจุบันของประเทศไทย สำหรับใช้เป็นข้อมูลประกอบการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช จัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชและสนับสนุนการออกประกาศพื้นที่ปลอดศัตรูพืชโดยองค์กรอารักขาพืชแห่งชาติต่อไป

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ควรจัดทำมาตรการเฝ้าระวัง และแผนปฏิบัติการฉุกเฉินในกรณีที่พบการระบาดของวัชพืช *G. aparine* ดังนี้

มาตรการระยะสั้น

1) สร้างการรับรู้ให้แก่เกษตรกรและผู้มีส่วนเกี่ยวข้องได้รู้จักวัชพืช *G. aparine* และวิธีการป้องกันและกำจัด โดยใช้โปสเตอร์ แผ่นพับ ภาพอินโฟกราฟิก และมอบให้แก่ ภาครัฐ ภาคเอกชน ผู้เกี่ยวข้อง เพื่อประชาสัมพันธ์ และสร้างการรับรู้ให้แก่เกษตรกร รวมทั้งมีการจัดประชุมชี้แจงหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ประกอบด้วย เกษตรกร สมาคม และผู้ประกอบการ เจ้าหน้าที่กรมวิชาการเกษตร เจ้าหน้าที่กรมส่งเสริมการเกษตร เจ้าหน้าที่โครงการหลวง และหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง

2) แจ้งเตือนด่านตรวจพืชเพื่อเฝ้าระวังวัชพืช *G. aparine* ที่อาจติดมากับสินค้าเกษตรนำเข้าจากประเทศที่มีรายงานการแพร่กระจายของวัชพืชชนิดนี้

มาตรการระยะยาว

1) เฝ้าระวังและเตือนภัยวัชพืช *G. aparine* อย่างต่อเนื่อง

2) ศึกษาและหาวิธีการพัฒนาการควบคุมวัชพืช *G. aparine* ให้มีประสิทธิภาพและยั่งยืน

3) จัดทำแผนปฏิบัติการฉุกเฉินในกรณีที่พบการระบาดของวัชพืชชนิดนี้เมื่อพบการระบาดในพื้นที่สามารถแจ้งข้อมูลมายังสายด่วนเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน กลุ่มงานเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการ เกษตร อีเมล์ ppspq@doa.in.th เพื่อประสานหน่วยงาน ในพื้นที่เข้าติดตามตรวจสอบ และให้คำแนะนำการป้องกันกำจัด รวมทั้งควบคุมการระบาดไม่ให้แพร่กระจายออกไปยังพื้นที่อื่น ๆ ได้

## คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณข้าราชการ พนักงานราชการ และจ้างเหมาของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ที่ให้คำแนะนำและช่วยเหลือในการปฏิบัติงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ประกาศ ณ วันที่ 26 เมษายน 2550 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. ลงวันที่ 1 มิถุนายน 2550.

จันทร์พิศ เดชหามาตย์ ปรียพรรณ พงศาพิชณ์ โสภา มีอำนาจ พรรณิภา เปชัยศรี และ จรัญญา ปิ่นสุภา. 2565. ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักชีนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา. หน้า 119-120. *ใน*: รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 15. 22-24 พฤศจิกายน 2565. โรงแรมรามาการ์เด้นส์ กรุงเทพฯ

นงพร มาอยู่ดี ชลธิชา รักใคร่ จรรยา มณีโชติ ธีระ รัตนพันธ์ สุทัศน์ แก้วสะอาด. 2556. การศึกษาชนิดของศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดข้าวสาลีที่นำเข้าจากต่างประเทศ. หน้า 1825-1833.

*ใน*: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2555. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

นงพร มาอยู่ดี ชลธิชา รักใคร่ และ ทัศนีย์ ศรีโสภา. 2558. การศึกษาชนิดของศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวที่นำเข้าจากต่างประเทศ. หน้า 1542-1552. *ใน*: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2557. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

วานิช คำพานิช จันทร์พิศ เดชหามาตย์ สุรศักดิ์ แสนโคตร โสภา มีอำนาจ วันเพ็ญ ศรีชาติ พรรณิภา เปชัยศรี ชลธิชา รักใคร่ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และสิริชัย สาธุวิจารณ์. 2565. ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักชีนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา. หน้า การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 15. หน้า 115-116. *ใน*: รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 15. 22-24 พฤศจิกายน 2565. โรงแรมรามาการ์เด้นส์ กรุงเทพฯ

CABI. 2 0 21. *Galium aparine* (cleavers). Centre for Agriculture and Bioscience International. (Online). Available. https://doi.org/10.1079/cabicompendium.24772. (8 December 2023).

Flora of Thailand. 2021a. Rubiaceae: Galium: *Galium asperifolium* Wall. Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation. Vol. 15(1) Page 195.

Flora of Thailand. 2021b. Rubiaceae: Galium: *Galium elegans* Wall. Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation. Vol. 15(1) Page 195.

FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations). 2018. ISPM 6 Surveillance. International Plant Protection Convention (IPPC), FAO, Rome, Italy. 18 p.

Froud-Williams, R. J. 1985. The biology of cleavers (*Galium aparine*). Aspects of Applied Biology 1985 No.9 pp.189-195.

Long, H. C. 1960. Weeds of arable land. Bull. 108, Ministry of Agriculture and Fisheries, London, U.K.

Malik, N. and Vanden Born, W.H. 1998. The biology of Canadian weeds. 86. *Galium aparine* L. and *Galium spurium* L. Can J Plant Sci. 68:481-499.

Mateev, M. M. and Timoteev, P. O. 1965. Effect of water-soluble exudates of certain forest and forest-weed species on one-year oak seedlings. Ukr. Bot. Zh. 22(4): 28-32. in Weed Abstr. 1966, l5(4): 1225.

McMaugh, T. 2008. คำแนะนำในการสำรวจศัตรูพืชในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก. ACIAR Monograph. No. 119c, 199 หน้า

Muenscher, W. C. 1980. Weeds. 2nd edition. Cornell University Press, Ithaca and London.

National Seed Health System. 2019. Phytosanitary Field Inspection Procedures. National Seed Health System. 6 p

Rola, J. 1969. Causes and effects of weed compensation in crops. Biuletyn Instytutu Ochrony Roslin, No. 44, 409-24.

Rottele, M. A. 1980. Population dynamics of cleavers (*Galium aparine* L.). Dissertation. University of Hohenheim (1980) 133 pp. 1n Weed Abstr. 1981, 30(6): 2129.

Pawlowski, F. and Wszolek, M. 1978. [Weediness of the summer barley and winter wheat grain on loess and chernozem soils in the Hrubieszow region.] Roczniki Nauk Rolniczych, A (1978) 103(2) 131-145. Instytut Uprawy Roli i ruslin Akad. Roln. W. Lublinie, Ul. Akademica 15, Lublin, Poland. 1n Weed Abstr. 1979,28(11): 3603.

Noda, K.,Ibaraki, D., Eguchi, W. and Ozawa, K. 1965. Studies on ecological characteristics of the annual weed cleaver and its chemical control on drained paddy fields for wheat plants in temperate Japan. Bull. Kushu Agric. Exp. Sta. 11:345-374

Wilson B.J. and Wright K.J. 1987. Variability in the growth of cleavers (*Galium aparine*) and their effect on wheat yield. Proceedings 1987 British Crop Protection Conference, Weeds, Vol.3:1051-1058.

Mateev M.M. and Timoteev P.O. 1965. Effects of water soluble exudates of certain forest and forest weed species on one year old oak seedlings. CABI Digital Library, Centre for Agriculture and Biosciences International (CABI).

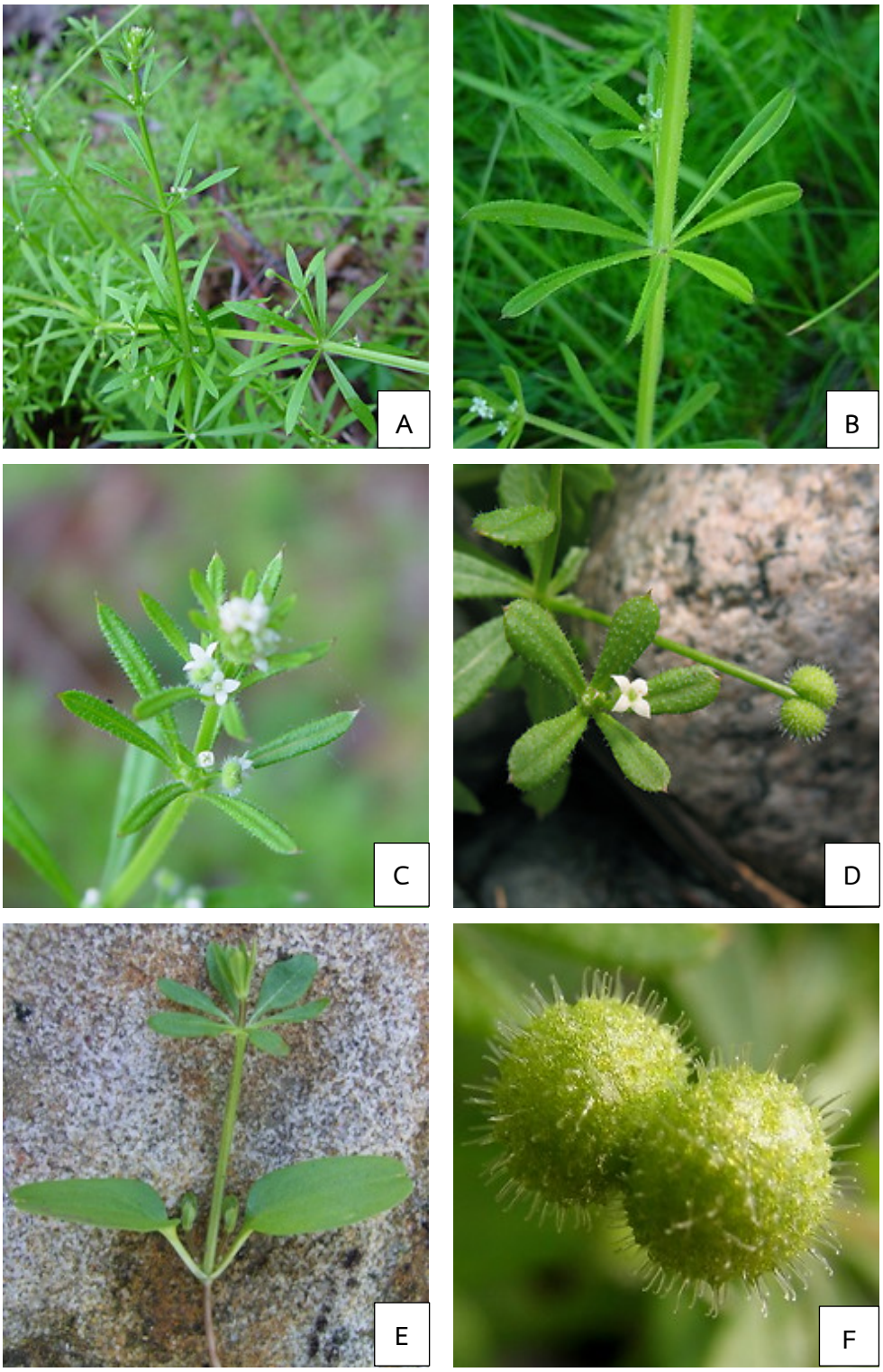



**Figure 1** Characteristics of *Galium aparine* L. from searching information abroad.
A. *Galium aparine* L. plant, B. Stem and Whorled leaves, C. Flowers,
D. Leaves in whorls and fruit forming, E. Seedling, F. fruits
Source: https://gobotany.nativeplanttrust.org/species/galium/aparine

**Figure 2** Habit of *Galium asperifolium* Wall. in northern Thailand

**Figure 3** Habit of *Galium elegans* Wall. in northern Thailand

# การใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ร่วมกับสารป้องกำจัดแมลงในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน

# Application of *Bacillus thuringiensis* with Insecticides for Controlling Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) on Sweet Corn

**อิศเรส เทียนทัด อนุสรณ์ พงษ์มี**
**กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

## Abstract

A study on the use of *Bacillus thuringiensis* in combination with insecticides to control the fall armyworm in sweet corn was conducted during October 2022 - September 2023 at the Entomology and Zoology Laboratory, Plant Protection Research and Development Office. The objective was to study the method of using *Bacillus thuringiensis* in combination with insecticides in various forms and methods to prevent and control the fall army worm. From the results of the study, it was found that the most effective insecticide in the study was chlorantraniliprole at the rate of 20 ml/20 liters of water and flubendiamide at the rate of 10 g/20 liters of water, which can be used with Bt bacteria in both forms: after the application of Btk or mixed with Btk. And when tested for efficacy in field conditions using a mixed form with *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Btk), the experiment was conducted between June-July 2024 in a sweet corn plot, Tha Muang District, Kanchanaburi Province. It was found that the use of Btk at the rate of 40-80 ml/20 liters of water mixed with chlorantraniliprole at the rate of 20 ml./20 liters of water can effectively control the fall army worm in field conditions.

**Keywords :** fall army worm, Btk, *Bacillus thuringiensis*

รหัสการทดลอง FF65-55-07-65-01-03-66

## บทคัดย่อ

การศึกษาการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ร่วมกับสารเคมีกำจัดแมลงในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวานดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2565 - กันยายน 2566 ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาอารักขาพืช โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ร่วมกับสารเคมีกำจัดแมลงในรูปแบบและวิธีการต่างๆเพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด จากผลการศึกษา พบว่าสารเคมีกำจัดแมลงที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการศึกษาคือ chlorantraniliprole อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร และ flubendiamide อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ซึ่งสามารถนำมาใช้ร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย Bt ได้ทั้งสองรูปแบบ คือ ให้ตามหลังการใช้เชื้อแบคทีเรีย Bt หรือใช้ผสมกับเชื้อแบคทีเรีย Bt และเมื่อนำมาทำการทดสอบประสิทธิภาพในสภาพไร่โดยใช้รูปแบบการผสมกับเชื้อแบคทีเรีย *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki* (Btk) โดยดำเนินการทดลองระหว่างเดือนมิถุนายน-กรกฎาคม 2567 ในแปลงข้าวโพดหวาน อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี พบว่าการใช้ Btk อัตรา 40-80 มล./น้ำ 20 ลิตร ผสมกับ chlorantraniliprole อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร สามารถการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในสภาพไร่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ


**คำหลัก :** หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด, แบคทีเรีย Bt

## คำนำ

หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด; *Spodoptera frugiperda* (JE. Smith) เป็นศัตรูสำคัญของข้าวโพดพบระบาดในพื้นที่ เขตร้อนและกึ่งเขตร้อนของทวีปอเมริกา วงจรชีวิตของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดใช้เวลา 30-40 วัน เมื่อผสมพันธุ์แล้ว ผีเสื้อเพศเมียจะวางไข่ในเวลากลางคืน โดยวางไข่เป็นกลุ่ม ประมาณ 100-200 ฟอง มีขนปกคลุมไข่ ผีเสื้อเพศเมียหนึ่งตัววางไข่ได้ประมาณ 1,500-2,000 ฟอง ระยะไข่ 2-3 วัน หนอนมี 6 วัย ระยะหนอน 14-22 วัน หนอนที่โตเต็มที่มีขนาดลำตัวยาว 3.2-4.0 เซนติเมตร จะทิ้งตัวลงดินเพื่อเข้าดักแด้ ระยะดักแด้ 7-13 วัน จึงเป็นตัวเต็มวัย มีชีวิต 10-21 วัน ตัวเต็มวัยบินได้ไกล เฉลี่ย 100 กิโลเมตรต่อคืน (FAO, 2019a)

การจำแนกชนิดหนอนกระทู้ข้าวโพด ในระยะหนอน ส่วนบนของหัวมีแถบสีขาวเป็นรูปตัว Y หัวกลับ หลังและด้านข้างมีแถบสีขาวตามยาวลำตัว ปล้องท้องก่อนปล้องสุดท้ายมีจุดสีดำ 4 จุด (Passoa, 1991) และตัวเต็มวัย มีขนาด 3.2-4.0 ซม. มีแถบสีขาวที่ขอบปีกคู่หน้า กลางปีกมีแถบลักษณะเป็นวงรีสีน้ำตาล เพศเมียสีและลวดลายจางกว่าเพศผู้ (OEPP/EPPO, 2015)

ผีเสื้อหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด เป็นผีเสื้อกลางคืนในวงศ์ผีเสื้อหนอนกระทู้ (Family Noctuidae) สกุล *Spodoptera* และมีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) ซึ่งสมาชิกในสกุลเดียวกันนี้ที่เป็นชนิดพื้นถิ่นของประเทศไทย และเป็นแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญทาง

เศรษฐกิจ ได้แก่ ผีเสื้อหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* (Fabricius) และผีเสื้อหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* (Hübner) (Hill, 2008)

การทำลายพืชเข้าทำลายในระยะที่เป็นตัวหนอน โดยหนอนจะเข้าทำลายข้าวโพดตั้งแต่อายุประมาณ 7 วัน จนกระทั่งออกฝัก โดยกัดกินยอดและใบข้าวโพดเว้าแหว่งหรือกัดกินทั้งแผ่นใบ ทำลายช่อดอกตัวผู้ กัดกินไหม ฝัก เมล็ด และจะพบตัวหนอนหลบซ่อนอยู่ในยอดหรือโคนกาบใบข้าวโพด ความเสียหายเห็นได้ชัดคือ ในระยะต้นอ่อนทำให้พืชตาย ระยะต้นแก่พืชจะไม่เจริญเติบโต ฝักลีบเล็กไม่สมบูรณ์ หากระบาดรุนแรงจะทำให้ผลผลิตเสียหาย 73% ของพื้นที่ (FAO, 2019a)

หนอนชนิดนี้พืชอาหารมากกว่า 80 ชนิด ซึ่งนอกจากข้าวโพดแล้วยังมีพืชอาศัยอื่นที่เป็นแหล่งอาหาร เช่น ข้าว อ้อย ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี มะเขือเทศ มันฝรั่ง ยาสูบ ฝ้าย ทานตะวัน กล้วย กระเทียม ขิง มันเทศ พริกหยวก พืชวงศ์กะหล่ำ พืชวงศ์แตง พืชวงศ์ถั่ว พืชวงศ์หญ้า และพืชผักอีกหลายชนิด (CABI, 2019)

หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดที่ระบาดข้ามพรมแดนเข้ามาได้ทำความเสียหายต่อข้าวโพดในประเทศไทยได้อย่างรวดเร็วและรุนแรง เนื่องจากแมลงชนิดนี้สามารถขยายพันธุ์อย่างรวดเร็วและบินได้ไกล เกษตรกรไม่สามารถใช้วิธีการป้องกันกำจัดแบบเดิมในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ จำเป็นต้องพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงเพิ่มขึ้น และบ่อยครั้ง ทำให้ต้นทุนสูงขึ้น แม้ว่าสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ได้ดำเนินการทดลองอย่างเร่งด่วนเพื่อให้คำแนะนำในการป้องกันกำจัด ในปี 2562 โดยการใช้สารป้องกันกำจัดแมลง แต่ส่วนใหญ่เป็นชนิดที่มีราคาสูง เกษตรกรจึงนิยมใช้สารที่มีราคาถูกเพียงชนิดเดียว และใช้บ่อยครั้ง อาจก่อให้เกิดปัญหาตามมา เช่น ปัญหาศัตรูพืชต้านทานสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช การตกค้าง (residue) ในผลผลิตและสภาพแวดล้อม จำเป็นต้องศึกษาหาวิธีการป้องกันกำจัดเพื่อใช้เป็นทางเลือกเพิ่มเติม อีกทั้งในการส่งออกข้าวโพดโดยเพาะการส่งออกไปยังกลุ่มสหภาพยุโรป มีข้อกำหนดการปนเปื้อนของสารและสิ่งต้องห้ามไปกับผลผลิตข้าวโพด สินค้าต้องเป็นไปตามเงื่อนไขสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช ซึ่งประเทศคู่ค้าใช้เป็นข้อกีดกันทางการค้า เพื่อลดปัญหาเหล่านี้ จึงได้ทำการศึกษาโดยนำเอาแมลงศัตรูธรรมชาติ และชีวภัณฑ์ที่มีศักยภาพ เช่น มวนพิฆาต แมลงหางหนีบ และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema carpocapsae* มาใช้ร่วมกันตามความเหมาะสมกับระยะการเจริญเติบโตของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด รวมทั้งนำเอาชีวภัณฑ์ที่มีศักยภาพ เช่น แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ไวรัส NPV ของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (SfNPV) มาใช้ร่วมกับการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงตามหลักวิชาการ เพื่อเพิ่มทางเลือกในการป้องกันกำจัดที่มีประสิทธิภาพให้กับเกษตรกร ซึ่งองค์ความรู้และเทคโนโลยีการจัดการหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดจากงานวิจัย สามารถใช้เป็นคำแนะนำถ่ายทอดให้แก่ เกษตรกร นักวิชาการ เจ้าหน้าที่ในหน่วยงานภาครัฐที่เกี่ยวข้อง ภาคเอกชน และผู้ส่งออกที่เกี่ยวข้อง จะช่วยลดความเสียหายของผลผลิตข้าวโพด ลดปริมาณศัตรูพืชไม่ให้ปนเปื้อนติดไปกับผลผลิต

ผลผลิตมีปริมาณและคุณภาพเป็นไปตามความต้องการบริโภคทั้งภายในประเทศและส่งออก ลดการกีดกันทางการค้า สามารถสร้างมูลค่าและเพิ่มโอกาสทางการตลาดได้ ส่งผลให้เกษตรกรมีชีวิตความเป็นอยู่และมีคุณภาพชีวิตดีขึ้น

## วิธีดำเนินการ

**อุปกรณ์**

1. หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด
2. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*
3. abamectin 1.8 % W/V EC
4. cypermethrin 35 % W/V EC
5. chlorantraniliprole 5.17 % W/V SC
6. thiodicarb 75 % WP
7. deltamethrin 3 % W/V EC 20ml / 20 l
8. flubendiamide 20 % WG
9. อาหารเทียมเลี้ยงแมลง
10. micropipette
11. eppendrop tube, ถ้วยพลาสติกขนาด 2 ออนซ์

**วิธีการ**

**1. การทดลองในห้องปฏิบัติการ (ปี 2566)**

**<u>ขั้นตอนที่ 1</u>** ศึกษาประสิทธิภาพใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Btk) และสารเคมีกำจัดแมลงชนิดต่างๆกับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด

วางแผนการทดลองแบบ CRD 3 ซ้ำ 9 กรรมวิธี ดังนี้

1. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 40 ml/20 l
2. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 80 ml/20 l
3. abamectin 1.8% W/V EC อัตรา 20 ml/20 l
4. cypermethrin 35% W/V EC อัตรา 30 ml/20 l
5. chlorantraniliprole 5.17%W/V SC อัตรา 20 ml/20 l
6. thiodicarb 75 % WP อัตรา 10 g/20 l
7. deltamethrin 3 % W/V EC อัตรา 20ml/20 l

8. flubendiamide 20 % WG อัตรา 10 g/20 l
9. ไม่ใส่สาร

ทำการทดลองด้วยวิธี diet surface contamination method บนผิวหน้าอาหารเทียมที่บรรจุในถ้วยพลาสติกขนาด 2 ออนซ์ หยดสารแต่ละกรรมวิธีด้วยเครื่องหยดสารละลาย อัตรา 30 ไมโครลิตรต่อถ้วย จากนั้นใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมหมุนวนบนผิวหน้าของอาหารเทียม เพื่อให้สารทดลองเคลือบทั่วผิวหน้าอาหารปล่อยทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที เพื่อให้ผิวหน้าของอาหารเทียมแห้ง ใช้พู่กันเขี่ยหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัย 3 ใส่ถ้วยละ 1 ตัว ใช้หนอนจำนวน 10 ตัวต่อซ้ำ ตรวจนับและบันทึกผลการตายของหนอนทุก 24 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน

**ขั้นตอนที่ 2** ศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดแมลงชนิดต่างๆ กับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดหลังได้รับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*

โดยแบ่งหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัย 3 ที่นำมาใช้ในการทดลองออกเป็น 2 ชุด ชุดละ 300 ตัว ทำการ infect เชื้อแบคทีเรีย *B. thuringiensis* ลงในอาหารเทียมเลี้ยงแมลงด้วยอัตราต่าง ๆ ดังนี้

ชุดที่ 1 infect *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 80 ml/20 l

ชุดที่ 2 infect *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 40 ml/20 l

ปล่อยให้หนอนกินอาหารเทียมที่ infect เชื้อแบคทีเรีย *B. thuringiensis* อัตราต่าง ๆ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นย้ายหนอนทดลองทั้ง 2 ชุด มายังถ้วยอาหารเทียมที่เคลือบด้วยสารเคมีกำจัดแมลงชนิดต่าง ๆ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี ใช้หนอน 10 ตัวต่อซ้ำ ดังนี้

1. abamectin 1.8% W/V EC อัตรา 20 ml/20 l
2. cypermethrin 35% W/V EC อัตรา 30 ml/20 l
3. chlorantraniliprole 5.17%W/V SC อัตรา 20 ml/20 l
4. thiodicarb 75 % WP อัตรา 10 g/20 l
5. deltamethrin 3 % W/V EC อัตรา 20ml/20 l
6. flubendiamide 20 % WG อัตรา 10 g/20 l
7. ไม่ใส่สาร

ทำการทดลองด้วยวิธี diet surface contamination method บนผิวหน้าอาหารเทียมที่บรรจุในถ้วยพลาสติกขนาด 2 ออนซ์ หยดสารแต่ละกรรมวิธีด้วยเครื่องหยดสารละลาย อัตรา 30 ไมโครลิตรต่อถ้วย จากนั้นใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมหมุนวนบนผิวหน้าของอาหารเทียม เพื่อให้สารทดลองเคลือบทั่วผิวหน้าอาหารปล่อยทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที เพื่อให้ผิวหน้าของอาหารเทียมแห้ง ใช้พู่กันเขี่ยหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัย 3 ใส่ถ้วยละ 1 ตัว ใช้หนอนจำนวน 10 ตัวต่อซ้ำ ตรวจนับและบันทึกผลการตายของหนอนทุก 24 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน

**ขั้นตอนที่ 3** ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *B. thuringiensis* ที่ผสมด้วยสารเคมีกำจัดแมลงชนิดต่างๆ วางแผนการทดลองแบบ CRD 3 ซ้ำ 15 กรรมวิธี ดังนี้

1. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 80 ml/20 l
2. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 80 ml/20 l ผสมกับ abamectin 1.8% W/V EC อัตรา 20 ml/20 l
3. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 80 ml/20 l ผสมกับ cypermethrin 35% W/V EC อัตรา 30 ml/20 l
4. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 80 ml/20 l ผสมกับ chlorantraniliprole 5.17%W/V SC อัตรา 20 ml/20 l
5. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 80 ml/20 l ผสมกับ thiodicarb 75 % WP อัตรา 10 g/20 l
6. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 80 ml/20 l ผสมกับ deltamethrin 3 % W/V EC อัตรา 20ml/20 l
7. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 80 ml/20 l ผสมกับ flubendiamide 20 % WG อัตรา 10 g/20 l
8. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 40 ml/20 l
9. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 40 ml/20 l ผสมกับ abamectin 1.8% W/V EC อัตรา 20 ml/20 l
10. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 40 ml/20 l ผสมกับ cypermethrin 35% W/V EC อัตรา 30 ml/20 l
11. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 40 ml/20 l ผสมกับ chlorantraniliprole 5.17%W/V SC อัตรา 20 ml/20 l
12. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* อัตรา 40 ml/20 l ผสมกับ thiodicarb 75 % WP อัตรา 10 g/20 l
13. *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki* อัตรา 40 ml/20 l ผสมกับ deltamethrin 3 % W/V EC อัตรา 20ml/20 l
14. *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki* อัตรา 40 ml/20 l ผสมกับ flubendiamide 20 % WG อัตรา 10 g/20 l
15. ไม่ใส่สาร

ทำการทดลองด้วยวิธี diet surface contamination method บนผิวหน้าอาหารเทียมที่บรรจุในถ้วยพลาสติกขนาด 2 ออนซ์ หยดสารแต่ละกรรมวิธีด้วยเครื่องหยดสารละลาย อัตรา 30 ไมโครลิตรต่อถ้วย จากนั้นใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมหมุนวนบนผิวหน้าของอาหารเทียม เพื่อให้สารทดลองเคลือบทั่วผิวหน้าอาหารปล่อยทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที เพื่อให้ผิวหน้าของอาหารเทียมแห้ง ใช้พู่กันเขี่ยหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัย 3 ใส่ถ้วยละ 1 ตัว ใช้หนอนจำนวน 10 ตัวต่อซ้ำ ตรวจนับและบันทึกผลการตายของหนอนทุก 24 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน

**2. การทดลองในสภาพไร่ (ปี 2567)**

เมื่อได้ข้อมูลประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงจากทดลองในห้องปฏิบัติการแล้ว นำไปขยายผลในสภาพไร่ ในแปลงปลูกข้าวโพดหวาน

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u>

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดังนี้

| | |
|---|---|
| กรรมวิธีที่ 1 *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* | อัตรา 40 มิลลิลิตร/20 ลิตรผสมกับ chlorantraniliprole 5.17%W/V SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/20 ลิตร |
| กรรมวิธีที่ 2 *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* | อัตรา 80 มิลลิลิตร/20 ลิตรผสมกับ chlorantraniliprole 5.17%W/V SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/20 ลิตร |
| กรรมวิธีที่ 3 *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* | อัตรา 40 มิลลิลิตร/20 ลิตรผสมกับ flubendiamide 20 % WG อัตรา 10 กรัม/20 ลิตร |
| กรรมวิธีที่ 4 *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* | อัตรา 80 มิลลิลิตร/20 ลิตรผสมกับ flubendiamide 20 % WG อัตรา 10 กรัม/20 ลิตร |
| กรรมวิธีที่ 5 *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* | อัตรา 80 มิลลิลิตร/20 ลิตร |
| กรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นสาร | |

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

เตรียมแปลงปลูกข้าวโพดหวาน ขนาดแปลงย่อยไม่ต่ำกว่า 30 ตารางเมตร จำนวน 24 แปลงย่อย ทำการพ่นครั้งแรกเมื่อพบระดับการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดเฉลี่ยที่ระดับ 4 ทำการพ่นสารทดลองทุก 7 วัน ตรวจนับจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด และตรวจนับระดับการทำลายของ

หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ก่อนพ่นสารและหลังพ่นสาร 7 วัน โดยสุ่มตรวจนับจากข้าวโพดไม่น้อยกว่า 20 ต้นต่อแปลงย่อยใน 4 แถวกลาง ตรวจนับจำนวน 3 ใบต่อยอด ให้คะแนนโดยอ้างอิงจาก Davis scale (Davis and Williams, 1992) โดยแบ่งเป็น 9 ระดับ นำระดับการทำลายที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การทำลายโดยใช้สูตรของ Townsend-Heuberger (1943)

$$\text{การทำลาย (\%)} = \frac{\sum(nv)}{NV} \times 100$$

n = จำนวนต้นในแต่ละระดับการทำลาย  v = คะแนนระดับการทำลาย

N = จำนวนต้นทั้งหมดที่สุ่มนับ  V= คะแนนระดับการทำลายสูงสุด

นำข้อมูลจำนวน ระดับการทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด น้ำหนักผลผลิตของข้าวโพดหวานแบบที่ยังไม่ได้ลอกเปลือก น้ำหนักข้าวโพดหวานที่ลอกเปลือกแล้ว และน้ำหนักของข้าวโพดหวานที่มีคุณภาพในระยะส่งตลาดและน้ำหนักผลผลิตที่มีรอยทำลายในทุกกรรมวิธี มาวิเคราะห์ผลโดยวิธีทางสถิติที่เหมาะสม

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2565 – กันยายน 2567

สถานที่ ห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชและแปลงข้าวโพดของเกษตรกรในพื้นที่ จ.กาญจนบุรี

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. การทดลองในห้องปฏิบัติการ (ปี 2566)**

**ขั้นตอนที่ 1** ศึกษาประสิทธิภาพใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* และสารเคมีกำจัดแมลงชนิดต่างๆกับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (Table 1)

จากผลการทดลองเมื่อให้หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัย 2 ได้รับสารทดลองต่างๆ พบว่า ในกรรมวิธี cypermetrin 30 มล./น้ำ 20 ลิตร, chlorantraniliprole 20 มล./น้ำ 20 ลิตร และ flubendiamide 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทำให้หนอนตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 7 วัน

**ขั้นตอนที่ 2** ศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดแมลงชนิดต่างๆ กับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดหลังได้รับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis*

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดแมลงชนิดต่างๆ กับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดหลังได้รับเชื้อแบคทีเรีย Bt อัตรา 40 มล./น้ำ 20 ลิตร ไปแล้ว 24 ชั่วโมง พบว่า กรรมวิธี chlorantraniliprole 20 มล./น้ำ 20 ลิตร และ flubendiamide 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทำให้หนอนตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 7 วัน (Table 2)

และจากการศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดแมลงชนิดต่างๆ กับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด หลังได้รับเชื้อแบคทีเรีย Bt อัตรา 80 มล./น้ำ 20 ลิตร ไปแล้ว 24 ชั่วโมง พบว่า กรรมวิธี chlorantraniliprole 20 มล./น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพสูงสุดทำให้หนอนตาย 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธี flubendiamide 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ที่ทำให้หนอนตาย 97.37 เปอร์เซ็นต์ (Table 3)

**ขั้นตอนที่ 3** ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *B. thuringiensis* ที่ผสมด้วยสารเคมีกำจัดแมลงชนิดต่างๆ (Table 4)

จากการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย Bt ที่ผสมด้วยสารป้องกันกำจัดแมลงชนิดต่างๆ พบว่า กรรมวิธี Btk 80 มล./น้ำ 20 ลิตร+ chlorantraniliprole 20 มล./น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธี Btk 40 มล./น้ำ 20 ลิตร+ chlorantraniliprole 20 มล./น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพสูงสุดทำให้หนอนตาย 97.50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธี Btk 80 มล./น้ำ 20 ลิตร + flubendiamide 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ที่ทำให้หนอนตาย 95 เปอร์เซ็นต์

**2. การทดลองในสภาพไร่ (ปี 2567)**

ทำการทดลองที่ ต.เขาน้อย อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี ระหว่างเดือนกรกฎาคม-สิงหาคม 2567 จากผลการทดลองพบว่า (Table 5)

ก่อนพ่นสารทดลอง พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดอยู่ระหว่าง 1.16 – 2.33 เปอร์เซ็นต์

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 พบว่ากรรมวิธีการพ่น Btk 40 มล./น้ำ 20 ลิตร+ chlorantraniliprole 20 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธี Btk 80 มล./น้ำ 20 ลิตร+ chlorantraniliprole 20 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธี Btk 40 มล./น้ำ 20 ลิตร+ flubendiamide 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธี Btk 80 มล./น้ำ 20 ลิตร+ flubendiamide 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การทำลาย 0.73, 0.50, 0.64 และ 0.51 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีเปอร์เซ็นต์การทำลายน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธี Btk 80 มล./น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีไม่พ่นสารซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การทำลาย 1.70 และ 2.58 เปอร์เซ็นต์

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 พบว่าในกรรมวิธีพ่นสารทดลองมีเปอร์เซ็นต์การทำลายอยู่ระหว่าง 0.32 – 1.77 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารที่มีเปอร์เซ็นต์การทำลาย 3.22 เปอร์เซ็นต์ โดยกรรมวิธี Btk 80 มล./น้ำ 20 ลิตร+ chlorantraniliprole 20 มล./น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การทำลายน้อยที่สุดคือ 0.32 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธี Btk 40 มล./น้ำ 20 ลิตร+ chlorantraniliprole 20 มล./น้ำ 20 ลิตร ที่มีเปอร์เซ็นต์การทำลาย 0.59 เปอร์เซ็นต์ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธี Btk 40 มล./น้ำ 20 ลิตร+ flubendiamide 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธี Btk 80 มล./น้ำ 20 ลิตร+ flubendiamide 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธี Btk 80 มล./น้ำ 20 ลิตร ที่มีเปอร์เซ็นต์การทำลาย 0.88, 1.07 และ 1.77 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

หลังพ่นสารครั้งที่ 3 พบว่าในกรรมวิธีพ่นสารทดลองมีเปอร์เซ็นต์การทำลายอยู่ระหว่าง 0.43 – 1.61 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารที่มีเปอร์เซ็นต์การทำลาย 4.49 เปอร์เซ็นต์ โดยกรรมวิธี Btk 80 มล./น้ำ 20 ลิตร+ flubendiamide 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การทำลายน้อยที่สุดคือ 0.43 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธี Btk 40 มล./น้ำ 20 ลิตร+ chlorantraniliprole 20 มล./น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธี Btk 80 มล./น้ำ 20 ลิตร+ chlorantraniliprole 20 มล./น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธี Btk 40 มล./น้ำ 20 ลิตร+ flubendiamide 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การทำลาย 0.50, 0.54 และ 0.91 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธี Btk 80 มล./น้ำ 20 ลิตร ที่มีเปอร์เซ็นต์การทำลาย 1.61 เปอร์เซ็นต์

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาการใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. thuringiensis* ร่วมกับสารเคมีกำจัดแมลงในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน พบว่าสารเคมีกำจัดแมลงที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการศึกษาคือ chlorantraniliprole อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร และ flubendiamide อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และเมื่อนำมาทำการทดสอบประสิทธิภาพในสภาพไร่โดยใช้รูปแบบการผสมกับเชื้อแบคทีเรีย *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Btk) พบว่าการใช้ Btk อัตรา 40-80 มล./น้ำ 20 ลิตร ผสมกับ chlorantraniliprole อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในสภาพไร่ได้ดี ซึ่งสามารถนำมาใช้ร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย Bt ได้ทั้งสองรูปแบบ คือให้ตามหลังการใช้เชื้อแบคทีเรีย Bt หรือใช้ผสมกับเชื้อแบคทีเรีย Bt

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณมยุรา พงษ์ชวาล คุณปานนภา ภู่ทอง คุณจิราพร เอี่ยมงาม คุณอำไพ หาญมนตรี และผู้ร่วมงานทุกท่าน ที่ให้ความร่วมมือและช่วยปฏิบัติงานทดลองครั้งนี้เป็นอย่างยิ่ง

## เอกสารอ้างอิง

CABI (CAB International). 2019. *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm). CAB International. (Online). Available: https://www.cabi.org/isc/datasheet/29810. (January 20, 2019).

FAO. 2019. Detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 in Thailand. (Online). Available: https://www.ippc.int/en/countries/thailand/pestreports/2019/11/detection-of-fusarium-oxysporum-f-sp-cubense-tropical-race-4-in-thailand/. (December 20, 2019).

FAO. 2019(a). Integrated management of the Fall Armyworm on maize. (Online). Available: http://www.fao.org/3/I8665EN/i8665en.pdf. (January 25, 2019).

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

OEPP/EPPO. 2015. PM 7/124 (1) *Spodoptera littoralis, Spodoptera litura, Spodoptera frugiperda, Spodoptera eridania* (Online). Available: https://onlinelibrary.wiley.com /doi/abs/10.111/epp.12258. (January 21, 2019).

Passoa, S. 1991. Color identification of economically important *Spodoptera* larvae in Honduras (Lepidoptera: Noctuidae). Insecta. Mundi. 414. (Online). Available: https://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1413&context=insect amundi. (January 25, 2019)

**Table 1** Percentage of mortality of fall armyworm treated with *B. thuringiensis* and various insecticides

| Treatment | Mortality (%) |
|---|---|
| 1. Btk 40 ml/water 20 L | 10.00 |
| 2. Btk 80 ml / water 20 L | 7.50 |
| 3. abamectin 20 ml /water 20 L | 7.50 |
| 4. cypermetrin 30 ml /water 20 L | 100.00 |
| 5. chlorantraniliprole 20 ml /water 20 L | 100.00 |
| 6. thiodicarb 10 g/water 20 L | 37.50 |
| 7. deltamethrin 20 ml /water 20 L | 60.00 |
| 8. flubendiamide 10 g/water 20 L | 100.00 |
| 9. control | 0 |

**Table 2** Efficiency of various insecticides against the fall armyworm after being treated with *B. thuringiensis* at a rate of 40 g/20 liters of water for 24 hours.

| Treatment | Mortality (%) |
|---|---|
| 1. abamectin 20 ml / 20 L | 0 |
| 2. cypermetrin 30 ml / 20 L | 55.27 |
| 3. chlorantraniliprole 20 ml / 20 L | 100.00 |
| 4. thiodicarb 10 g/ 20 L | 34.21 |
| 5. deltamethrin 20 ml / 20 L | 13.16 |
| 6. flubendiamide 10 g/ 20 L | 100.00 |
| 7. control | 5.00 |

**Table 3** Efficiency of various insecticides against the fall armyworm after being treated with *B. thuringiensis* at a rate of 80 g/20 liters of water for 24 hours

| Treatment | Mortality (%) |
|---|---|
| 1. abamectin 20 ml/ 20 L | 13.16 |
| 2. cypermetrin 30 ml / 20 L | 68.43 |
| 3. chlorantraniliprole 20 ml / 20 L | 100.00 |
| 4. thiodicarb 10 g/ 20 L | 47.37 |
| 5. deltamethrin 20 ml/ 20 L | 18.43 |
| 6. flubendiamide 10 g/ 20 L | 97.37 |
| 7. control | 5.00 |

**Table 4** Percentage of mortality of fall armyworm treated with *B. thuringiensis* mixed with various insecticides

| Treatment | Mortality (%) |
|---|---|
| 1. Btk 80 ml/20 L | 2.50 |
| 2. Btk 80 ml/20 L+ abamectin 20 ml/20 L | 7.50 |
| 3. Btk 80 ml/20 L+ cypermetrin 30 ml/20 L | 72.50 |
| 4. Btk 80 ml/20 L+ chlorantraniliprole 20 ml/20 L | 97.50 |
| 5. Btk 80 ml/20 L+ thiodicarb 10 g/20 L | 32.50 |
| 6. Btk 80 ml/20 L+ deltamethrin 20 ml/20 L | 22.50 |
| 7. Btk 80 ml/20 L+ flubendiamide 10 g/20 L | 95.00 |
| 8. Btk 40 ml/20 L | 2.50 |
| 9. Btk 40 ml/20 L+ abamectin 20 ml/20 L | 5.00 |
| 10. Btk 40 ml/20 L+ cypermetrin 30 ml/20 L | 75.00 |
| 11. Btk 40 ml/20 L+ chlorantraniliprole 20 ml/20 L | 97.50 |
| 12. Btk 40 ml/20 L+ thiodicarb 10 g/20 L | 55.00 |
| 13.Btk 40 ml/20 L+ deltamethrin 20 ml/20 L | 30.00 |
| 14. Btk 40 ml/20 L+ flubendiamide 10 g/20 L | 92.50 |
| 15. control | 0 |

**Table 5** Percentage of damage of fall armyworm in a test of the efficacy of *B. thuringiensis* mixed with insecticides for controlling fall armyworm in sweet corn

| Treatment | Percentage of damage | | | |
|---|---|---|---|---|
| | before spray | after spray 1st | after spray 2nd | after spray 3rd |
| 1. Btk 40 ml/20 L+ chlorantraniliprole 20 ml/20 L | 1.59 ab | 0.73 a[1/] | 0.59 ab | 0.50 a |
| 2. Btk 80 ml/20 L+ chlorantraniliprole 20 ml/20 L | 2.33 c | 0.50 a | 0.32 a | 0.54 a |
| 3. Btk 40 ml/20 L+ flubendiamide 10 g/20 L | 1.26 ab | 0.64 a | 0.88 b | 0.91 ab |
| 4. Btk 80 ml/20 L+ flubendiamide 10 g/20 L | 1.75 b | 0.51 a | 1.07 bc | 0.43 a |
| 5. Btk 80 ml/20 L | 1.16 a | 1.70 b | 1.77 c | 1.61 b |
| 6. control | 1.18 a | 2.58 b | 3.22 d | 4.49 c |
| **CV (%)** | **20.8** | **36.7** | **27.7** | **44.9** |

[1/] Means followed by the same letter in the same column are not significantly different at the 95% confidence level by the DMRT comparison method.

# ศึกษารูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน

# Integration of insect natural enemies and biopesticides to control the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) in sweet corn

**พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์ สุพรรณี ภูคะฮาด ประภัสสร เชยคำแหง สาทิพย์ มาลี ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์ ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ นันทนัช พินศรี**

**กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

## Abstract

The Research on Integration of insect natural enemies and biopesticides to control the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) in sweet corn aimed to compare the effectiveness of insect natural enemies and biopesticides for controlling fall armyworm with the farmer practices. The study was conducted in two locations in different years. First location, the research was carried out the sweet corn field at Samchuk district, Suphan Buri province, during April - June 2023. Second location, the research was conducted the sweet corn field at Uthai Thani Agricultural Research and Development Center, Nong Chang district, Uthai Thani province, during June - August 2024.

The results found that sweet corn plantation at Sam Chuk District, the level of leaf damage of both practices was no significant difference. The number of fall armyworms found in the plots of both practices was no significant difference. The level of corn ear damage was low in both practices. The sweet corn yield from both practices was no significant difference. In the sweet corn plantation at Uthai Thani Agricultural Research and Development Center, the level of leaf damage of both practices was significant difference at the beginning. Later on, the third and fourth inspections found that they were no significant difference. The number of fall armyworm found in the plots of both practices in the fourth inspection was no significant difference. The level of corn ear damage was low in both practices. The sweet corn yield from both practices was no significant difference.

รหัสการทดลอง FF65-55-07-65-01-04-66

Therefore, to control the fall armyworm in sweet corn, can be choose the method that is appropriate for the various factors in the planting. The use of biological control agents can control the fall armyworm to a low level, similar to using chemicals.

**Keywords :** insect natural enemies, biopesticides, fall armyworm, sweet corn

## บทคัดย่อ

การศึกษารูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบเปรียบเทียบระหว่างรูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติและชีวภัณฑ์ที่เหมาะสมสำหรับการควบคุมหนอนแต่ละระยะการเจริญเติบโตกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกรในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ดำเนินการทดสอบที่แปลงข้าวโพดหวานของเกษตรกร อำเภอสามชุก จังหวัดสุพรรณบุรี ตั้งแต่เดือนเมษายน – เดือนมิถุนายน 2566 และแปลงข้าวโพดหวานภายในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอุทัยธานี ตั้งแต่เดือนมิถุนายน - เดือนสิงหาคม 2567

ผลการดำเนินงานพบว่า ในแปลงข้าวโพดหวานอำเภอสามชุก พบระดับการทำลายใบข้าวโพดของทั้ง 2 วิธีการ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ จำนวนหนอนที่พบในแปลงของทั้ง 2 วิธีการไม่แตกต่างกัน ระดับการทำลายฝักข้าวโพดอยู่ในระดับเล็กน้อยทั้ง 2 วิธีการ และผลผลิตข้าวโพดที่ได้จากทั้ง 2 วิธีการไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในแปลงข้าวโพดหวานภายในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอุทัยธานี พบว่า ระดับการทำลายใบข้าวโพดของทั้ง 2 วิธีการแตกต่างกันทางสถิติในช่วงแรก ต่อมาการตรวจในครั้งที่ 3 และ 4 พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ จำนวนหนอนที่พบในแปลงของทั้ง 2 วิธีการในการตรวจนับครั้งที่ 4 ไม่แตกต่างกัน ระดับการทำลายฝักข้าวโพดอยู่ในระดับต่ำทั้ง 2 วิธีการ และผลผลิตข้าวโพดที่ได้จากทั้ง 2 วิธีการไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ดังนั้นในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวานสามารถเลือกใช้วิธีการที่เหมาะสมกับสภาพปัจจัยต่างๆ ในการปลูก โดยการใช้ชีวภัณฑ์แต่ละชนิดสามารถควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดให้อยู่ในระดับต่ำได้เช่นเดียวกับการใช้สารเคมี

**คำหลัก :** แมลงศัตรูธรรมชาติ, ชีวภัณฑ์, หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด, ข้าวโพดหวาน

## คำนำ

หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดเป็นแมลงศัตรูพืชสำคัญของข้าวโพดในประเทศไทยมาอย่างต่อเนื่องตั้งแต่เดือนธันวาคม ปี พ.ศ. 2561 เป็นแมลงศัตรูพืชต่างถิ่นที่เข้ามาทำลายข้าวโพดและพืชอาหารอื่นๆ ในประเทศไทยอีกหลายชนิด เช่น ข้าวฟ่าง ปอเทือง ขิง ถั่วลิสง และผักชีฝรั่ง (ดนัย และคณะ, 2565) และสามารถทำลายพืชอื่นๆ ทั่วโลกได้กว่า 353 ชนิดพืช (Montezano *et al*., 2018) อย่างไรก็ตามหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดสามารถควบคุมกำจัดได้ด้วยแมลงห้ำ แมลงเบียน รวมถึงจุลินทรีย์และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงซึ่งรวมแล้วพบว่ามีกว่า 290 ชนิด (Chen *et al*., 2019a, b)

เพื่อใช้ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดแบบยั่งยืนในระยะยาวและปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม ดังนั้นการนำชีวภัณฑ์ที่มีในประเทศไทยมาทำการเลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณและนำไปใช้ควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดจึงสามารถดำเนินการได้ทันทีและทำได้อย่างต่อเนื่อง

ในการเลือกใช้แมลงศัตรูธรรมชาติหรือชีวภัณฑ์ชนิดใดชนิดหนึ่งกำจัดแมลงศัตรูพืชนั้น พบว่าไม่สามารถควบคุมแมลงศัตรูพืชได้ทุกระยะการเจริญเติบโต เนื่องจากกลไกทางธรรมชาติของชีวภัณฑ์แต่ละชนิดเลือกที่จะเข้าทำลายระยะที่แตกต่างกันของแมลงศัตรูพืช ดังนั้นในการควบคุมกำจัดแมลงศัตรูพืชให้ได้เบ็ดเสร็จและรวดเร็วทันสถานการณ์ก่อนจะเกิดการระบาดจึงจำเป็นต้องเลือกใช้ชีวภัณฑ์หลายๆ ชนิดที่เหมาะสมในการกำจัดระยะต่างๆ ของแมลงศัตรูพืชไปพร้อมๆ กัน

จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่ามีแมลงศัตรูธรรมชาติและจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถเข้าทำลายหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ (พฤทธิชาติ และคณะ, 2565) ในการทดลองนี้จึงได้เลือกมวนพิฆาต บีทีและไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ไปใช้ในการควบคุมกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด โดยได้กำหนดช่วงเวลาในการปล่อยแมลงศัตรูธรรมชาติและพ่นชีวภัณฑ์ไว้ในระยะเวลาของพืชที่ถูกหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดลงทำลาย โดยเน้นการวิจัยในข้าวโพดหวาน ซึ่งเป็นข้าวโพดฝักสดที่ใช้บริโภคเป็นอาหาร เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคและเกษตรกรผู้ปลูก รวมถึงสภาพแวดล้อม

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษารูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์เปรียบเทียบกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกรในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในแปลงปลูกข้าวโพดหวาน

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน แปซิฟิก ไฮบริกซ์ 81
2. ศัตรูธรรมชาติ ได้แก่ มวนพิฆาต *Eocanthecona furcellata* (Wolff), ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema carpocapsae*, แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ *aizawai*
3. สารเคมีกำจัดแมลง ได้แก่ emamectin benzoate 5%WG, imidacloprid 70%WG และ chlorantraniliprole 5.17% W/V SC
4. สารเคมีกำจัดวัชพืช ได้แก่ acetochlor 50% W/V EC
5. สารเคมีกำจัดโรคพืช ได้แก่ dimethomorph 50% W/V SC, difenoconazole 12.5% + azoxystrobin 20% W/V
6. ปุ๋ยเคมี สูตร 46-0-0 และ 15-15-15
7. เครื่องพ่นสารสะพายหลังแบบใช้แบตเตอรี่
8. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก มีดคัตเตอร์ กรรไกรตัดกิ่ง ซองกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง ถังรักษาความเย็น แว่นขยาย ที่นับแมลง

9. อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล ได้แก่ แบบฟอร์มใช้บันทึกในการสำรวจ สมุด ปากกา ดินสอ ยางลบ กล้องถ่ายรูป และปากกาเคมี

10.อุปกรณ์อื่นๆ ได้แก่ เชือกฟาง เทปวัดความยาว และป้ายปักแปลง

**วิธีการ**

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u>

เปรียบเทียบ 2 วิธี ระหว่างวิธีการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติและชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด กับวิธีปฏิบัติของเกษตรกร

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

1. ทำการเพาะขยายปริมาณแมลงศัตรูธรรมชาติ ได้แก่ มวนพิฆาต และจัดเตรียม บีที (Bt) สายพันธุ์ *aizawai* และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง เพื่อใช้ควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ให้ได้ปริมาณเพียงพอตามแผนการทดลอง

2. ดำเนินการทดสอบ**ในแปลงข้าวโพดหวานอำเภอสามชุก** แบ่งออกเป็น 2 แปลงๆ ละ 2 งาน ทั้ง 2 แปลงเว้นระยะพื้นที่แปลงห่างกัน 10 เมตร ปลูกข้าวโพดในแปลงย่อยขนาด 30 ตารางเมตร จำนวน 20 แปลงย่อย ระยะปลูก 0.75 x 0.25 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1 เมตร ส่วนการดำเนินการทดสอบ**ในแปลงข้าวโพดหวานภายในศูนย์วิจัยฯ** แบ่งออกเป็น 2 แปลงๆ ละ 2 งาน ทั้ง 2 แปลงเว้นระยะพื้นที่แปลงห่างกัน 340 เมตร ปลูกข้าวโพดในแปลงย่อยขนาด 30 ตารางเมตร จำนวน 20 แปลงย่อย ระยะปลูก 0.75 x 0.25 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1 เมตร

3. ปลูกข้าวโพดหวาน จำนวน 2 เมล็ดต่อหลุม ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ สำหรับรองพื้น เมื่อข้าวโพดอายุ 1 สัปดาห์หลังงอก ทำการถอนให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุม ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 46-0-0 แปลงละ 25 กิโลกรัม และใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อีกครั้ง จำนวน 50 กิโลกรัม เมื่อข้าวโพดอายุ 35 และ 42 วันหลังงอก ใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ โรคพืช และวัชพืชเช่นเดียวกันทั้ง 2 กรรมวิธี (ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร)

4. เมื่อต้นข้าวโพดอายุ 7 วันหลังงอก ตรวจนับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด จำนวน 20 ต้นต่อแปลงย่อย จำนวน 5 แปลงย่อย (ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร)

5. เมื่อพบไข่หรือหนอนในแปลงปลูกข้าวโพดหวาน ดำเนินการดังนี้

**ในแปลงข้าวโพดหวานอำเภอสามชุก**

<u>ในแปลงทดสอบชีวภัณฑ์</u> พ่นบีที ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง และปล่อยมวนพิฆาต ดังนี้

1) พ่นบีที สายพันธุ์ *aizawai* อัตรา 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (จำนวน 320 กรัม/น้ำ 80 ลิตร/ไร่) ครั้ง ที่ 7 14 และ 21 วันหลังข้าวโพดงอก
2) พ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* อัตรา 50 ล้านตัว/น้ำ 20 ลิตร (จำนวน 300 ล้านตัว/น้ำ 120 ลิตร/ไร่) จำนวน 1 ครั้ง ที่ 28 วันหลังงอก ลงตรงกลางที่กรวยยอด
3) ปล่อยมวนพิฆาต อัตรา 500 ตัว/ไร่ จำนวน 2 ครั้ง ที่ 35 และ 42 วันหลังงอก

ในแปลงเกษตรกร ปฏิบัติตามกรรมวิธีของเกษตรกร ดังนี้

1) พ่นสาร emamectin benzoate 5%WG อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (จำนวน 80 กรัม/น้ำ 80 ลิตร/ไร่) จำนวน 4 ครั้ง ที่ 7 14 21 และ 28 วัน หลังข้าวโพดงอก
2) พ่นสาร imidacloprid 70%WG อัตรา 4 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (จำนวน 16 กรัม/น้ำ 80 ลิตร/ไร่) จำนวน 1 ครั้ง ที่ 35 วัน หลังข้าวโพดงอก
3) พ่นสาร chlorantranilliprole 5.17% W/V SC อัตรา 15 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (จำนวน 60 มิลลิลิตร/น้ำ 80 ลิตร/ไร่) จำนวน 1 ครั้ง ที่ 42 วัน หลังข้าวโพดงอก

**ในแปลงข้าวโพดหวานภายในศูนย์วิจัยฯ** ดำเนินการดังนี้

ในแปลงทดสอบชีวภัณฑ์ พ่นบีที ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง และปล่อยมวนพิฆาต ดังนี้

1) พ่นบีที สายพันธุ์ *aizawai* อัตรา 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (จำนวน 320 กรัม/น้ำ 80 ลิตร/ไร่) จำนวน 2 ครั้ง ที่ 7 และ 14 วันหลังข้าวโพดงอก
2) พ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* (รูปแบบผง) อัตรา 50 ล้านตัว/น้ำ 20 ลิตร (จำนวน 300 ล้านตัว/น้ำ 120 ลิตร/ไร่) จำนวน 1 ครั้ง ที่ 21 วันหลังงอก ลงตรงกลางที่กรวยยอด
3) ปล่อยมวนพิฆาต อัตรา 500 ตัว/ไร่ จำนวน 1 ครั้ง ที่ 35 วันหลังงอก

ในแปลงเกษตรกร ปฏิบัติตามกรรมวิธีของเกษตรกร ดังนี้

1) พ่นสาร imidacloprid 70% WG อัตรา 4 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (จำนวน 16 กรัม/น้ำ 80 ลิตร/ไร่) + emamectin benzoate 5% WG อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (จำนวน 80 กรัม/น้ำ 80 ลิตร/ไร่) จำนวน 1 ครั้ง ที่ 7 วันหลังงอก
2) พ่นสาร emamectin benzoate 5% WG อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (จำนวน 80 กรัม/น้ำ 80 ลิตร/ไร่) + difenoconazole 12.5% + azoxystrobin 20% W/V อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร (จำนวน 40 มิลลิลิตร/น้ำ 80 ลิตร/ไร่) จำนวน 2 ครั้ง ที่ 14 และ 21 วันหลังงอก
3) พ่นสาร chlorantraniliprole 5.17% W/V SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร (จำนวน 60 มิลลิลิตร/น้ำ 80 ลิตร/ไร่) + dimethomorph 50% W/V SC อัตรา 12 มล./น้ำ 20 ลิตร (จำนวน 48 มิลลิลิตร/น้ำ 80 ลิตร/ไร่) จำนวน 2 ครั้ง ที่ 28 และ 35 วันหลังงอก

6. ประเมินระดับการทำลายใบข้าวโพดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ทุก 7 วัน โดยให้คะแนน 0 - 9 ตาม วิธีการของ Davis and Williams (1992) (ภาคผนวก) นำระดับการทำลายที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การทำลายโดยใช้สูตรของ Townsend-Heuberger (1943)

$$\text{การทำลาย (\%)} = \frac{\sum (nv)}{NV} \times 100$$

โดยที่ n = จำนวนต้นในแต่ละระดับการทำลาย

v = คะแนนระดับการทำลาย

N = จำนวนต้นทั้งหมดที่สุ่มนับ

V = คะแนนระดับการทำลายสูงสุด

นำข้อมูลระดับการทำลายใบข้าวโพดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด และหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดที่มีชีวิต น้ำหนักผลผลิตที่มีคุณภาพในระยะส่งตลาด และน้ำหนักผลผลิตที่มีรอยทำลาย มาวิเคราะห์ผลเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย T-test ด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics 26

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. ระดับการทำลายใบข้าวโพดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด
2. จำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดก่อนและหลังพ่นบีที ไส้เดือนฝอย และปล่อยมวนพิฆาต
3. ระดับการทำลายฝักข้าวโพดหวาน และน้ำหนักผลผลิตก่อนปอกเปลือกและหลังปอกเปลือก

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2565 – กันยายน 2567

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
แปลงข้าวโพดหวานของเกษตรกร อำเภอสามชุก จังหวัดสุพรรณบุรี
แปลงข้าวโพดหวานในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอุทัยธานี จังหวัดอุทัยธานี

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการดำเนินงานทดสอบรูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติและชีวภัณฑ์ควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน เปรียบเทียบกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกร

**ในแปลงข้าวโพดหวานอำเภอสามชุก** พบว่ารอยทำลายบนใบข้าวโพดที่เกิดจากหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดลงทำลายตั้งแต่หลังข้าวโพดงอก 7 วัน คิดเป็น 30.25 และ 27.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และตรวจนับทุกๆ 7 วัน หลังการทดสอบทั้ง 2 กรรมวิธี จนกระทั่งข้าวโพดอายุ 42 วัน พบรอยทำลายบนใบข้าวโพดคิดเป็น 24.40 30.00 7.87 44.00 51.75 และ 41.16 เปอร์เซ็นต์ และ 22.40 24.67 9.43 42.13 47.33 และ 8.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติแล้วพบว่าก่อนทดสอบและทุกๆ 7 วันหลังทดสอบรอยทำลายที่พบบนใบข้าวโพดไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่หลังทดสอบครั้งที่ 5 และ 6 พบรอยทำลายบนใบข้าวโพดในกรรมวิธีการใช้ชีวภัณฑ์สูงกว่ากรรมวิธีปฏิบัติของเกษตรกรแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดที่ตรวจพบตั้งแต่หลังข้าวโพดงอก 7 วัน คือ 1.40 และ 1.20 ตัว/20 ต้น และตรวจนับทุกๆ 7 วัน หลังการทดสอบทั้ง 2 กรรมวิธี จนกระทั่งข้าวโพดอายุ 42 วัน คือ 4.00 7.80 1.20 10.20 6.60 1.80 และ 1.20 4.80 2.80 12.20 0.20 1.00 ตัว/20 ต้น ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติระหว่างกรรมวิธีแล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของจำนวนหนอนที่ตรวจนับครั้งที่ 1 และ 2 หลังพ่นบีที (Table 1) โดยหนอนที่พบส่วนใหญ่เป็นวัย 3-4 ส่วนจำนวนหนอนในการตรวจนับครั้งที่ 3 และ 4 ทั้ง 2 กรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อวิเคราะห์จำนวนหนอนแล้วพบว่ามีอัตราการลดลงในครั้งที่ 3 และเพิ่ม

สูงขึ้นในครั้งที่ 4 ไปแนวทางเดียวกัน โดยครั้งที่ 4 เป็นผลจากการใช้ไส้เดือนฝอยในการควบคุมหนอนซึ่งระยะนี้หนอนอยู่ในวัย 5-6 จะเข้าไปอยู่ภายในกรวยใบของต้นข้าวโพด การใช้ไส้เดือนฝอยซึ่งมีลักษณะพิเศษสามารถเคลื่อนที่เข้าหาแมลงอาศัยหรือหนอนได้จึงเหมาะกับการใช้ควบคุมหนอนในช่วงเวลานี้ ต่อมาในการตรวจนับหนอนครั้งที่ 5 จำนวนหนอนลดลงอย่างชัดเจนโดยเฉพาะวิธีปฏิบัติของเกษตรกรลดลงเหลือ 0.2 ตัว/20 ต้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีการใช้ชีวภัณฑ์

สำหรับรอยทำลายฝักข้าวโพด พบว่ารอยทำลายของฝักข้าวโพดกรรมวิธีใช้ชีวภัณฑ์อยู่ในระดับ 2 มากกว่ารอยทำลายฝักข้าวโพดกรรมวิธีปฏิบัติของเกษตรกร ส่วนน้ำหนักฝักข้าวโพด 20 ฝักก่อนปอกเปลือกกรรมวิธีปฏิบัติของเกษตรกรคือ 7.564 กิโลกรัม มากกว่ากรรมวิธีการใช้ชีวภัณฑ์คือ 7.435 กิโลกรัม แต่เมื่อปอกเปลือกของข้าวโพดทั้ง 20 ฝักในแต่ละกรรมวิธีพบว่ากรรมวิธีปฏิบัติของเกษตรกรคือ 5.203 กิโลกรัม น้อยกว่ากรรมวิธีการใช้ชีวภัณฑ์คือ 5.246 กิโลกรัม ซึ่งทั้ง 3 ส่วนไม่แตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี (Table 2)

**ในแปลงข้าวโพดหวานภายในศูนย์วิจัยฯ** รอยทำลายบนใบข้าวโพดที่เกิดจากหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดลงทำลายตั้งแต่หลังข้าวโพดงอก 7 วัน คิดเป็น 13.50 และ 7.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และตรวจนับทุกๆ 7 วัน หลังการทดสอบทั้ง 2 กรรมวิธี จนกระทั่งข้าวโพดอายุ 35 วัน พบรอยทำลายบนใบข้าวโพดคิดเป็น 30.00 18.86 12.38 และ 14.57 เปอร์เซ็นต์ และ 11.33 12.80 16.86 และ 10.71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติทุกๆ 7 วันหลังทดสอบรอยทำลายที่พบบนใบข้าวโพดในกรรมวิธีการใช้ชีวภัณฑ์สูงกว่ากรรมวิธีปฏิบัติของเกษตรกรแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งในครั้งที่ 1 และอย่างมีนัยสำคัญในครั้งที่ 2 สำหรับการตรวจนับในครั้งที่ 3 และ 4 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดที่ตรวจพบตั้งแต่หลังข้าวโพดงอก 7 วัน คือ 4.60 และ 1.00 ตัว/20 ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และเมื่อตรวจนับทุกๆ 7 วัน หลังการทดสอบทั้ง 2 กรรมวิธี จนกระทั่งข้าวโพดอายุ 35 วัน คือ 5.00 5.60 1.80 และ 2.20 และ 2.00 5.00 4.40 และ 1.40 ตัว/20 ต้น ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติระหว่างกรรมวิธีแล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของจำนวนหนอนที่ตรวจนับครั้งที่ 1 และ 3 ส่วนครั้งที่ 2 และ 4 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 3) เมื่อตรวจนับหนอนที่ 42 49 56 63 และ 70 วัน ไม่พบหนอนกระทู้ข้าวโพดจากการสุ่มตรวจนับในทั้ง 2 กรรมวิธี ซึ่งอาจเป็นผลมาจากจำนวนหนอนที่ลดลงจากการใช้ไส้เดือนฝอยและการปล่อยมวนพิฆาต รวมถึงแปลงเกษตรกรมีการฉีดพ่นสารเคมีอย่างต่อเนื่อง อีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญคือช่วงที่ปลูกข้าวโพดหวานเป็นช่วงฤดูฝน มีฝนตกอย่างสม่ำเสมอทำให้ต้นข้าวโพดหวานโตไวและสูงใหญ่ จำนวนประชากรหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดหยุดชะงักการแพร่ขยายปริมาณในแปลงข้าวโพดหวาน

สำหรับรอยทำลายฝักข้าวโพด พบว่ารอยทำลายของฝักข้าวโพดกรรมวิธีใช้ชีวภัณฑ์อยู่ในระดับ 2 มากกว่ารอยทำลายฝักข้าวโพดกรรมวิธีปฏิบัติของเกษตรกรซึ่งอยู่ในระดับ 1 ส่วนน้ำหนักฝักข้าวโพด 20 ฝักก่อนปอกเปลือกกรรมวิธีการใช้ชีวภัณฑ์คือ 8.508 กิโลกรัม มากกว่ากรรมวิธีปฏิบัติของเกษตรกรคือ 8.328 กิโลกรัม และเมื่อปอกเปลือกของข้าวโพดทั้ง 20 ฝักในแต่ละกรรมวิธีพบว่า

กรรมวิธีการใช้ชีวภัณฑ์คือ 6.407 กิโลกรัม มากกว่า กรรมวิธีปฏิบัติของเกษตรกรคือ 6.296 กิโลกรัม ซึ่งทั้ง 2 กรรมวิธีไม่แตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี (Table 4)

เทคนิคการใช้ชีวภัณฑ์แต่ละชนิดให้เหมาะสมกับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดและปัจจัยต่างๆ ในสภาพแวดล้อม รวมถึงระยะการเจริญเติบโตของข้าวโพดมีส่วนสำคัญอย่างยิ่งต่อการเลือกใช้ชีวภัณฑ์ในแต่ละช่วงเวลา เช่น การใช้บีทีควบคุมระยะหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในระยะหนอนวัยเล็ก (1-3) ซึ่งมักพบหนอนตั้งแต่ข้าวโพดงอกได้ 7 วัน บีทีในท้องตลาดมีจำหน่ายอย่างแพร่หลายสามารถจัดหาได้ง่ายและสะดวกต่อการใช้ควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ส่วนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงควรใช้กำจัดหนอนเมื่อหนอนเริ่มลงไปอาศัยภายในกรวยยอดของต้นข้าวโพด เนื่องจากไส้เดือนฝอยมีคุณลักษณะที่สามารถเคลื่อนที่เข้าหาหนอนที่หลบซ่อนอยู่ภายในส่วนต่างๆ ของพืชได้ แต่ปัจจุบันยังหาใช้ได้ยาก การใช้ชีวภัณฑ์บีทีและไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงควรพ่นให้ถูกเป้าหมายตรงจุดที่หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดลงทำลายคือที่ใบและกรวยใบของต้นข้าวโพด และควรพ่นในช่วงเย็นเพื่อหลีกเลี่ยงแสงแดดซึ่งมีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืช สำหรับพฤติกรรมของมวนพิฆาตชอบกินหนอนวัยใหญ่ (วัย 5-6) มากกว่าหนอนวัยเล็ก (1-3) และสามารถเคลื่อนที่ไปตามต้นข้าวโพดหรือพืชที่มีใบพื้นที่ใบซ้อนทับหรือติดกันเพื่อไปยังต้นอื่นๆ ช่วยให้มวนพิฆาตสามารถเข้าทำลายหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ง่ายและต่อเนื่องเป็นบริเวณกว้าง ทั้งนี้ไส้เดือนฝอยและมวนพิฆาตยังมีต้นทุนสูง ดังนั้นการใช้ชีวภัณฑ์ให้ถูกต้องเหมาะสมในการควบคุมกำจัดแมลงศัตรูพืช นอกจากส่งเสริมประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในการกำจัดแมลงศัตรูพืชแล้ว ยังเป็นการประหยัดเวลาการทำงาน ไม่เปลืองแรงงาน ที่สำคัญคือช่วยลดต้นทุนการผลิตได้

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลอง **ในแปลงข้าวโพดหวานอำเภอสามชุก** ระดับการทำลายใบข้าวโพดของทั้ง 2 วิธีการ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ จำนวนหนอนที่พบในแปลงของทั้ง 2 วิธีการไม่แตกต่างกัน ระดับการทำลายฝักข้าวโพดอยู่ในระดับต่ำทั้ง 2 วิธีการ และผลผลิตข้าวโพดที่ได้จากทั้ง 2 วิธีการไม่แตกต่างกันทางสถิติ **ในแปลงข้าวโพดหวานภายในศูนย์วิจัยฯ** พบว่า ระดับการทำลายใบข้าวโพดของทั้ง 2 วิธีการแตกต่างกันทางสถิติในช่วงแรก ต่อมาการตรวจในครั้งที่ 3 และ 4 พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ จำนวนหนอนที่พบในแปลงของทั้ง 2 วิธีการในการตรวจนับครั้งที่ 4 ไม่แตกต่างกัน ระดับการทำลายฝักข้าวโพดอยู่ในระดับต่ำทั้ง 2 วิธีการ และผลผลิตข้าวโพดที่ได้จากทั้ง 2 วิธีการไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ดังนั้นในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวานสามารถเลือกใช้วิธีการที่เหมาะสมกับสภาพปัจจัยต่างๆ ในการปลูก โดยการใช้ชีวภัณฑ์แต่ละชนิดสามารถควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดให้อยู่ในระดับการทำลายเล็กน้อยได้เช่นเดียวกับการใช้สารเคมี แต่เมื่อเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตแล้วพบว่า การใช้ชีวภัณฑ์หลายชนิดมีต้นทุนในแต่ละชนิดชีวภัณฑ์แตกต่างกันและมีราคาสูงกว่าการใช้สารเคมี ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาหาวิธีการที่สามารถลดต้นทุนในการใช้ชีวภัณฑ์ เช่นในกรณีที่พบการทำลายใบข้าวโพดน้อยกว่าระดับ 4 จึงยังไม่จำเป็นต้องใช้สารชีวภัณฑ์ในการ

ควบคุม และควรหมั่นสำรวจแปลงข้าวโพดอย่างสม่ำเสมอเพื่อให้สามารถเลือกใช้ชีวภัณฑ์ที่เหมาะสมกับระยะการเจริญเติบโตของหนอนบนต้นข้าวโพดและลดการระบาดได้อย่างทันท่วงที

**คำขอบคุณ**

ขอขอบคุณ นางสาวอุณากุล จันทร์ภู่ นางสาวกุลธิดา ทองสิน นางสาวปฏิมา ประกายทอง นายชัชวาลย์ แย้มสุวรรณ และเกษตรกรเจ้าของแปลงข้าวโพดหวาน และผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอุทัยธานี เจ้าหน้าที่ของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอุทัยธานี นางสุภาพร สุขโต นางสาวกมลพรรณ สุขกลาง และนายกำพลศักดิ์ สุขโต ที่ให้ความอนุเคราะห์และช่วยปฏิบัติงานการทดลองครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

**เอกสารอ้างอิง**

ดนัย ชัยเรือนแก้ว ชลธิชา รักใคร่ สุนัดดา เชาวลิต อาทิตย์ รักกสิกร ธิดาวรรณ ชมเดช พรรณิภา เปชัยศรี อนุสรณ์ พงษ์มี. 2565. การสำรวจการระบาดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) และทดสอบพืชอาหารในประเทศไทย. *วารสารกรมวิชาการเกษตร.* 40:1: 72-80.

พฤทธิชาติ ปุญวัฒโท ชลธิชา รักใคร่ เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ อุราพร หนูนารถ สุนัดดา เชาวลิต วิภาดา ปลอดครบุรี ประภัสสร เชยคำแหง สาทิพย์ มาลี อิศเรส เทียนทัด ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ นันทนัช พินศรี ภัททิรา ศาตร์วงษ์ อนุสรณ์ พงษ์มี อาทิตย์ รักกสิกร ยุวรินทร์ บุญทบ ดนัย ชัยเรือนแก้ว ธิดาวรรณ ชมเดช นลินา ไชยสิงห์ สุชาดา สุพรศิลป์ วรวิช สุดจริต ธรรมจริยางกูร สุภางคนา ถิรวุธ วาเลนไทน์ เจือสกุล วีระสิงห์ แสงวรรณ ชนิตา ทองแซม วิชชุตา ควรหัตร์ เพ็ญลักษณ์ ชูดี ศิวิไล ลาภบรรจบ พยุดา จันทร์เกื้อ วินิภา ชาลีคาร สุวิมล วงศ์พลัง เมธาสิทธิ์ คนการ พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ ศรุต สุทธิอารมณ์ ลมัย ชูเกียรติวัฒนา. 2565. โครงการวิจัยและพัฒนาวิธีการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด. *รายงานผลวิจัยเรื่องเต็ม. เงินรายได้จากการดำเนินงานวิจัยด้านการเกษตร* กรมวิชาการเกษตร. 173 หน้า.

Chen W.B., Y.Y. Li, M.Q. Wang, C.X. Liu, J.J. Mao, H.Y. Chen and L.S. Zhang. 2019a. Natural enemy insect resources of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* their application status and existing problems and suggestions. *Chin J. Biol. Control*. 35: 658-673.

Chen W.B., Y.Y. Li, M.Q. Wang, C.X. Liu, J.J. Mao, H.Y. Chen and L.S. Zhang. 2019b. Entomopathogen resources of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* and their application status. *Plant Prot*. 45: 1-9.

Davis, F.M. and W.P. Williams. 1992. Visual rating scales for screening whorl-stage corn for resistance to fall armyworm. *Mississippi Agricultural and Forestry Experiment Station, Technical Bulletin 186.* Mississippi State University, MS39762, USA.

Montezano D.G., A. Specht, D.R. Sosa-Gomez, V.F. Roque-Specht, J.C. Sousa-Silva, S.V. Paula-Moraes, J.A. Peterson and T.E. Hunt. 2018. Host plant of *Spodoptera frugiperda* (Leplidoptera: Noctuidae) in the Americas. *Afr. Entomol.* 26: 286-300.

Townsend-Heuberger. 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experi ments. *The Plant Disease Reporter*, 27, 340-343.

**Table 1** Percent of leaf damage by fall armyworm and number of fall armyworm in sweet corn plant at Samchuk district Suphanburi province during April – June 2023

| Details | Treatment | Percent leaf damage and mean number of fall armyworm [1/ 2/] | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Before treatment | After treatment every 7 days | | | | | |
| | | | 1st | 2nd | 3rd | 4th | 5th | 6th |
| % leaf damage | Biopesticides Practice | 30.25 | 24.40 | 30.00 | 7.87 | 44.00 | 51.75 | 41.16 |
| | Farmer Practice | 27.75 | 22.40 | 24.67 | 9.43 | 42.13 | 47.33 | 8.10 |
| | T-test | 0.504 | 0.644 | 0.974 | 0.107 | 0.301 | 3.653 | 7.045 |
| | | ns | ns | ns | ns | ns | ** | ** |
| No. of fall armyworm /20 plants | Biopesticides Practice | 1.40 | 4.00 | 7.80 | 1.20 | 10.20 | 6.60 | 1.80 |
| | Farmer Practice | 1.20 | 1.20 | 4.80 | 2.80 | 12.20 | 0.20 | 1.00 |
| | T-test | 0.000 | 2.333 | 2.249 | -1.890 | -1.276 | 4.524 | 0.000 |
| | | ns | * | * | ns | ns | ** | ns |

[1/] mean number of fall armyworm from 20 plants/plot (5 plots)

[2/] statistically significant at 95%

**Table 2** Yield of sweet corn from the field trial at Samchuk district Suphanburi province during April – June 2023

| Treatment | Yield of sweet corn[1/ 2/] | | |
|---|---|---|---|
| | Rating ear damage | Weight before remove husk (Kg) | Weight after remove husk (Kg) |
| Biopesticide Practice | 2 (Low) | 7.435 | 5.246 |
| Farmer Practice | 1 (Low) | 7.564 | 5.203 |
| T-test | 1.699 | -0.623 | 0.298 |
| | ns | ns | ns |

[1/] mean weigh of corn ear from first corn ear of each 20 plants/plot (5 plots)

[2/] statistically significant at 95%

**Table 3** Percent of leaf damage by fall armyworm and number of fall armyworm in sweet corn plant at Uthai Thani Agricultural Research and Development Center during June - August 2024

| Details | Treatment | Percent leaf damage and mean number of fall armyworm [1/ 2/] | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Before treatment | After treatment every 7 days | | | |
| | | | 1st | 2nd | 3rd | 4th |
| % leaf damage | Biopesticides Practice | 13.50 | 30.00 | 18.86 | 12.38 | 14.57 |
| | Farmer Practice | 7.50 | 11.33 | 12.80 | 16.86 | 10.71 |
| | T-test | 1.664 | 5.864 | 2.685 | -0.645 | 0.938 |
| | | ns | ** | * | ns | ns |
| No. of fall armyworm /20 plants | Biopesticides Practice | 4.60 | 5.00 | 5.60 | 1.80 | 2.20 |
| | Farmer Practice | 1.00 | 2.00 | 5.00 | 4.40 | 1.40 |
| | T-test | 1.863 | 2.602 | 0.370 | -2.310 | 0.748 |
| | | ns | * | ns | * | ns |

[1/] mean number of fall armyworm from 20 plants/plot (5 plots)

[2/] statistically significant at 95%

**Table 4** Yield of sweet corn from the field trial at Uthai Thani Agricultural Research and Development Center during June - August 2024

| Treatment | Yield of sweet corn[1/ 2/] | | |
|---|---|---|---|
| | Rating ear damage | Weight before remove husk (Kg) | Weight after remove husk (Kg) |
| Biopesticide Practice | 2 (Low) | 8.508 | 6.407 |
| Farmer Practice | 1 (Low) | 8.328 | 6.296 |
| T-test | 2.163 | 1.510 | 1.253 |
| | ns | ns | ns |

[1/] mean weigh of corn ear from first corn ear of each 20 plants/plot (5 plots)

[2/] statistically significant at 95%

## ภาคผนวก

**ตารางภาคผนวกที่ 1** ต้นทุนคำนวณจากแปลงข้าวโพดหวานทดสอบที่ อ.สามชุก จ.สุพรรณบุรี ระหว่างเดือนเมษายน - เดือนมิถุนายน 2566

**ต้นทุนการผลิตของแปลงทดสอบชีวภัณฑ์**

| รายการ | บาท/ไร่ | รายละเอียด |
|---|---|---|
| **ค่าแรง** | | |
| -เตรียมพื้นที่ไถดะ | 500 | -ไถดะ ไร่ละ 500 บาท |
| -ไถแปร | 350 | -ไถแปร ไร่ละ 350 บาท |
| -ค่าปั่นโรตารี่ | 350 | -ค่าปั่นโรตารี่ ไร่ละ 350 บาท |
| -ค่ายกร่อง | 250 | -ค่ายกร่อง ไร่ละ 250 บาท |
| -ค่าปลูก | 300 | -ค่าปลูกหยอดเมล็ด ไร่ละ 300 บาท |
| -ค่าใส่ปุ๋ย | 300 | -ค่าใส่ปุ๋ย 3 ครั้ง (100 บาท/ไร่) |
| -ค่าพ่นชีวภัณฑ์ | 400 | -ค่าจ้างพ่นชีวภัณฑ์ (100 บาท/ไร่)<br>(พ่นบีที 3 ครั้ง, พ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 1 ครั้ง) |
| -ค่าพ่นสารเคมีกำจัดโรค,วัชพืช | 100 | -ค่าจ้างพ่นสารเคมี (100 บาท/ไร่) |
| -ค่าเก็บเกี่ยว | 600 | -ค่าจ้างเก็บเกี่ยวผลผลิตข้าวโพดหวาน (300 บาท/ไร่)<br>(เก็บเกี่ยว 2 ครั้ง) |
| **ค่าวัสดุ** | | |
| -เมล็ดพันธุ์ | 1,485 | -เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน แปซิฟิค ไฮ-บริกซ์81 ราคา 990 บาท/กิโลกรัม (ใช้ 1.5 กิโลกรัม/ไร่) |
| -ชีวภัณฑ์บีที<br>*Bacillus thuringiensis* | 1,056 | -พ่นบีที พ่นอัตรา 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร/ไร่ ราคาบีทีกระป๋องละ 550 บาท/500 กรัม พ่น 3 ครั้ง |
| -ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง<br>*Steinernema carpocapsae* | 900 | -พ่นไส้เดือนฝอย อัตรา 300 ล้านตัว/น้ำ 120 ลิตร/ไร่ ราคาไส้เดือนฝอย 50 ล้านตัว/150 บาท พ่น 1 ครั้ง |
| -มวนพิฆาต<br>*Eocanthecona furcellata* | 2,000 | -ปล่อยมวนพิฆาต อัตรา 500 ตัว/ไร่ มวนพิฆาต ตัวละ 2 บาท ปล่อย 2 ครั้ง |
| -ปุ๋ยเคมี 46-0-0 | 400 | -ปุ๋ย 46-0-0 ราคา 800 บาท/50 กิโลกรัม<br>ครั้งที่ 1 ใส่ปุ๋ย 25 กิโลกรัม |
| -ปุ๋ยเคมี 15-15-15 | 2,600 | -ปุ๋ย 15-15-15 ราคา 1,300 บาท/50 กิโลกรัม<br>ครั้งที่ 1 ใส่ปุ๋ยพร้อมหยอดเมล็ด 50 กิโลกรัม<br>ครั้งที่ 2 ใส่ปุ๋ย 50 กิโลกรัม |
| -ค่าสารเคมีกำจัดเพลี้ยไฟ | 64 | -imidacloprid 70% WG อัตรา 4 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ราคา 200 บาท/100 กรัม พ่น 2 ครั้ง |
| -ค่าสารเคมีกำจัดวัชพืช | 263.4 | -mesotrione + atrazine 2.5% + 2.5% W/V SC อัตรา 150 มล./น้ำ 20 ลิตร ราคา 439 บาท/ลิตร พ่น 1 ครั้ง |
| **รวมต้นทุนทั้งหมด** | **11,918.4** | |

**ตารางภาคผนวกที่ 1** ต้นทุนคำนวณจากแปลงข้าวโพดหวานทดสอบที่ อ.สามชุก จ.สุพรรณบุรี ระหว่างเดือนเมษายน - เดือนมิถุนายน 2566 (ต่อ)

**ต้นทุนการผลิตของแปลงทดสอบตามวิธีปฏิบัติของเกษตรกร**

| รายการ | บาท/ไร่ | รายละเอียด |
|---|---|---|
| **ค่าแรง** | | |
| -เตรียมพื้นที่ไถดะ | 500 | -ไถดะ ไร่ละ 500 บาท |
| -ไถแปร | 350 | -ไถแปร ไร่ละ 350 บาท |
| -ค่าปั่นโรตารี่ | 350 | -ค่าปั่นโรตารี่ ไร่ละ 350 บาท |
| -ค่ายกร่อง | 250 | -ค่ายกร่อง ไร่ละ 250 บาท |
| -ค่าปลูก | 300 | -ค่าปลูกหยอดเมล็ด ไร่ละ 300 บาท |
| -ค่าใส่ปุ๋ย | 300 | -ค่าใส่ปุ๋ย 3 ครั้ง (100 บาท/ไร่) |
| -ค่าพ่นชีวภัณฑ์ | 400 | -ค่าจ้างพ่นชีวภัณฑ์ (100 บาท/ไร่)<br>(พ่นบีที 3 ครั้ง, พ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 1 ครั้ง) |
| -ค่าพ่นสารเคมีกำจัดโรค, วัชพืช | 100 | -ค่าจ้างพ่นสารเคมี (100 บาท/ไร่) |
| -ค่าเก็บเกี่ยว | 600 | -ค่าจ้างเก็บเกี่ยวผลผลิตข้าวโพดหวาน (300 บาท/ไร่)<br>(เก็บเกี่ยว 2 ครั้ง) |
| **ค่าวัสดุ** | | |
| -เมล็ดพันธุ์ | 1,485 | -เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน แปซิฟิค ไฮ-บริกซ์81 ราคา 990 บาท/กิโลกรัม (ใช้ 1.5 กิโลกรัม/ไร่) |
| **-สารเคมีป้องกันกำจัดแมลง** | | |
| -emamectin benzoate 5% WG | 272 | -emamectin benzoate 5% WG ใช้อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ราคา 85 บาท/100 กรัม พ่น 4 ครั้ง |
| -imidacloprid 70% WG | 32 | - imidacloprid 70% WG อัตรา 4 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ราคา 200 บาท/100 กรัม พ่น 1 ครั้ง |
| -chlorantraniliprole 5.17% W/V SC | 127 | -chlorantraniliprole 5.17% W/V SC 15 มล./น้ำ 20 ลิตร ราคา 1,059 บาท/500 มล. พ่น 1 ครั้ง |
| **-สารเคมีกำจัดวัชพืช** | | |
| - mesotrione + atrazine 2.5% + 2.5% W/V SC | 263.4 | -mesotrione + atrazine 2.5% + 2.5% W/V SC อัตรา 150 มล./น้ำ 20 ลิตร ราคา 439 บาท/ลิตร พ่น 1 ครั้ง |
| -ปุ๋ยเคมี 46-0-0 | 400 | -ปุ๋ย 46-0-0 ราคา 800 บาท/50 กิโลกรัม ครั้งที่ 1 ใส่ปุ๋ย 25 กิโลกรัม |
| -ปุ๋ยเคมี 15-15-15 | 2,600 | -ปุ๋ย 15-15-15 ราคา 1,300 บาท/50 กิโลกรัม ครั้งที่ 1 ใส่ปุ๋ยพร้อมหยอดเมล็ด 50 กิโลกรัม ครั้งที่ 2 ใส่ปุ๋ย 50 กิโลกรัม |
| **รวมต้นทุนทั้งหมด** | **8,329.40** | |

**ตารางภาคผนวกที่ 1** ต้นทุนคำนวณจากแปลงข้าวโพดหวานทดสอบที่ อ.สามชุก จ.สุพรรณบุรี ระหว่างเดือนเมษายน - เดือนมิถุนายน 2566 (ต่อ)

**ผลผลิต รายได้ ต้นทุนการผลิตและกำไร**

| รายการ | แปลงชีวภัณฑ์ | แปลงเกษตรกร |
|---|---|---|
| ผลผลิต (กิโลกรัม/ไร่) | 2,997 | 2,972 |
| รายได้ (บาท/ไร่) | 27,212 | 26,986 |
| ต้นทุนการผลิต (บาท/ไร่) | 11,918 | 8,329 |
| กำไร (บาท/ไร่) | 15,294 | 18,657 |

**หมายเหตุ** ราคาขายข้าวโพดหวาน 9.08 บาท/กิโลกรัม (ราคาตลาดไท 11.50 บาท/กิโลกรัม ณ เดือนมิถุนายน 2566)

**ตารางภาคผนวกที่ 2** ต้นทุนคำนวณจากแปลงข้าวโพดหวานทดสอบในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอุทัยธานี จังหวัดอุทัยธานี ระหว่างเดือนมิถุนายน - เดือนสิงหาคม 2567

**ต้นทุนการผลิตของแปลงทดสอบชีวภัณฑ์**

| **รายการ** | **บาท/ไร่** | **รายละเอียด** |
|---|---|---|
| **ค่าแรง** | | |
| -ค่าเตรียมพื้นที่ไถดะ | 500 | -ไถดะ ไร่ละ 500 บาท/ไร่ |
| -ค่าไถแปร | 500 | -ไถแปร ไร่ละ 500 บาท/ไร่ |
| -ค่ายกร่อง | 500 | -ค่ายกร่อง ไร่ละ 500 บาท/ไร่ |
| -ค่าปลูก | 300 | -ค่าปลูกหยอดเมล็ด (300 บาท/ไร่) |
| -ค่าใส่ปุ๋ย | 300 | -ค่าใส่ปุ๋ย 3 ครั้ง (100 บาท/ไร่) |
| | 100 | -ค่าพ่นปุ๋ยทางใบ 1 ครั้ง |
| -ค่าพ่นชีวภัณฑ์ | 300 | -ค่าจ้างพ่นชีวภัณฑ์ (100 บาท/ไร่) (พ่นบีที 2 ครั้ง, พ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 1 ครั้ง) |
| -ค่าพ่นสารเคมีกำจัดโรค, วัชพืช | 400 | -ค่าจ้างพ่นสารเคมี พ่น 4 ครั้ง (100 บาท/ไร่) |
| -ค่าเก็บเกี่ยว | 600 | -ค่าจ้างเก็บเกี่ยวผลผลิตข้าวโพดหวาน ไร่ละ 300 บาท (เก็บเกี่ยว 2 ครั้ง) |
| **ค่าวัสดุ** | | |
| -เมล็ดพันธุ์ | 1,350 | -เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน แปซิฟิค ไฮ-บริกซ์81 ราคา 900 บาท/กิโลกรัม (ใช้ 1.5 กิโลกรัม/ไร่) |
| -ชีวภัณฑ์บีที *Bacillus thuringiensis* | 704 | -พ่นบีที พ่นอัตรา 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร/ไร่ ราคาบีที กระป๋องละ 550 บาท/500 กรัม พ่น 2 ครั้ง |
| -ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema carpocapsae* | 900 | -พ่นไส้เดือนฝอย อัตรา 300 ล้านตัว/น้ำ 120 ลิตร/ไร่ ราคาไส้เดือนฝอย 50 ล้านตัว/150 บาท พ่น 1 ครั้ง |
| -มวนพิฆาต | 1,000 | |

| | | |
|---|---|---|
| *Eocanthecona furcellata* | | -ปล่อยมวนพิฆาต อัตรา 500 ตัว/ไร่ มวนพิฆาต ตัวละ 2 บาท ปล่อย 1 ครั้ง |
| -ปุ๋ยเคมี 46-0-0 | 392.5 | -ปุ๋ย 46-0-0 ราคา 785 บาท/50 กิโลกรัม |
| -ปุ๋ยเคมี 15-15-15 | 2,100 | ครั้งที่ 1 ใส่ปุ๋ย 25 กิโลกรัม<br>-ปุ๋ย 15-15-15 ราคา 1,050 บาท/50 กิโลกรัม |
| -ปุ๋ยทางใบ | 1.32 | ครั้งที่ 1 ใส่ปุ๋ยพร้อมหยอดเมล็ด 50 กิโลกรัม<br>ครั้งที่ 2 ใส่ปุ๋ย 50 กิโลกรัม<br>-พ่นทางใบธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริม ราคา 55 บาท/ |
| -ค่าสารเคมีกำจัดเพลี้ยไฟ | 64 | 500 กรัม ใช้อัตรา 3 กรัม/น้ำ 20 ลิตร พ่น 1 ครั้ง<br>-imidacloprid 70% WG อัตรา 4 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ราคา |
| -ค่าสารเคมีกำจัดวัชพืช | 128 | 200 บาท/100 กรัม พ่น 2 ครั้ง<br>-acetochlor 50% W/V EC อัตรา 100 มล./น้ำ 20 ลิตร |
| -ค่าสารเคมีกำจัดโรคพืช | 76.8 | ราคา 320 บาท/ลิตร พ่น 1 ครั้ง<br>-dimethomorph 50% W/V SC อัตรา 12 มล./น้ำ 20 ลิตร ราคา 800 บาท/500 มล. พ่น 1 ครั้ง |
| **รวมต้นทุนทั้งหมด** | **10,216.62** | |

**ตารางภาคผนวกที่ 2** ต้นทุนคำนวณจากแปลงข้าวโพดหวานทดสอบในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอุทัยธานี จังหวัดอุทัยธานี ระหว่างเดือนมิถุนายน - เดือนสิงหาคม 2567 (ต่อ)

**ต้นทุนการผลิตของแปลงทดสอบตามวิธีปฏิบัติของเกษตรกร**

| รายการ | บาท/ไร่ | รายละเอียด |
|---|---|---|
| **ค่าแรง** | | |
| -เตรียมพื้นที่ไถดะ | 500 | -ไถดะ ไร่ละ 500 บาท/ไร่ |
| -ไถแปร | 500 | -ไถแปร ไร่ละ 500 บาท/ไร่ |
| -ค่ายกร่อง | 500 | -ค่ายกร่อง ไร่ละ 500 บาท/ไร่ |
| -ค่าปลูก | 300 | -ค่าปลูกหยอดเมล็ด (300 บาท/ไร่) |
| -ค่าใส่ปุ๋ย | 300 | -ค่าใส่ปุ๋ย 3 ครั้ง (100 บาท/ไร่) |
| | 100 | -ค่าพ่นปุ๋ยทางใบ 1 ครั้ง |
| -ค่าพ่นสารกำจัดแมลง,โรคพืช,วัชพืช | 600 | -ค่าจ้างพ่นสารเคมี 6 ครั้ง (100 บาท/ไร่) |
| -ค่าเก็บเกี่ยว | 600 | -ค่าจ้างเก็บเกี่ยวผลผลิตข้าวโพดหวาน ไร่ละ 300 บาท (เก็บเกี่ยว 2 ครั้ง) |
| **ค่าวัสดุ** | | |
| -เมล็ดพันธุ์ | 1,350 | -เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน แปซิฟิค ไฮ-บริกซ์81 ราคา 900 บาท/กิโลกรัม (ใช้ 1.5 กิโลกรัม/ไร่) |
| **-สารเคมีป้องกันกำจัดแมลง** | | |
| - emamectin benzoate 5% WG | 136 | - emamectin benzoate 5% WG อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ราคา 85 บาท/100 กรัม พ่น 2 ครั้ง |

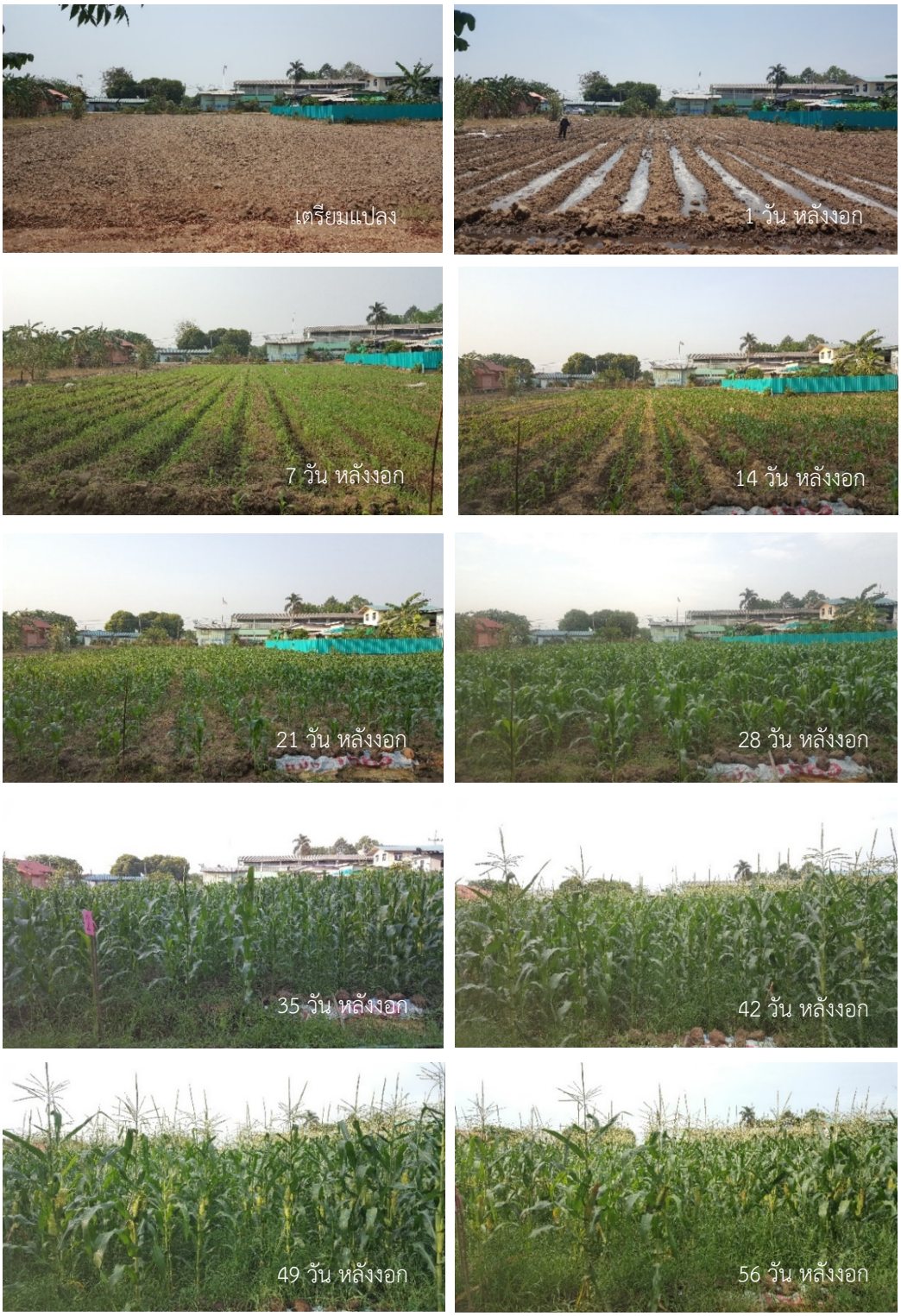
| | | |
|---|---|---|
| - imidacloprid 70% WG | 64 | - imidacloprid 70% WG อัตรา 4 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ราคา 200 บาท/100 กรัม พ่น 1 ครั้ง |
| - chlorantraniliprole 5.17% W/V SC | 254 | - chlorantraniliprole 5.17% W/V SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร ราคา 1,059 บาท/500 มล. พ่น 2 ครั้ง |
| **-สารเคมีกำจัดวัชพืช** | | |
| - acetochlor 50% W/V EC | 128 | - acetochlor 50% W/V EC อัตรา 100 มล./น้ำ 20 ลิตร ราคา 320 บาท/ลิตร พ่น 1 ครั้ง |
| **-สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช** | | |
| - dimethomorph 50% W/V SC | 76.8 | - dimethomorph 50% W/V SC อัตรา 12 มล./น้ำ 20 ลิตร ราคา 800 บาท/500 มล. พ่น 1 ครั้ง |
| - difenoconazole 12.5% + azoxystrobin 20% W/V | 75.12 | - difenoconazole 12.5% + azoxystrobin 20% W/V อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร ราคา 939 บาท/500 มล. พ่น 2 ครั้ง |
| -ปุ๋ยเคมี 46-0-0 | 392.5 | -ปุ๋ย 46-0-0 ราคา 785 บาท/50 กิโลกรัม ครั้งที่ 1 ใส่ปุ๋ย 25 กิโลกรัม |
| -ปุ๋ยเคมี 15-15-15 | 2,100 | -ปุ๋ย 15-15-15 ราคา 1,050 บาท/50 กิโลกรัม ครั้งที่ 1 ใส่ปุ๋ยพร้อมหยอดเมล็ด 50 กิโลกรัม ครั้งที่ 2 ใส่ปุ๋ย 50 กิโลกรัม |
| -ปุ๋ยทางใบ | 1.32 | -พ่นทางใบธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริม ใช้อัตรา 3 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ราคา 55 บาท/500 กรัม พ่น 1 ครั้ง |
| **รวมต้นทุนทั้งหมด** | **7,977.74** | |

**ตารางภาคผนวกที่ 2** ต้นทุนคำนวณจากแปลงข้าวโพดหวานทดสอบในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอุทัยธานี จังหวัดอุทัยธานี ระหว่างเดือนมิถุนายน - เดือนสิงหาคม 2567 (ต่อ)

**ผลผลิต รายได้ ต้นทุนการผลิตและกำไร**

| รายการ | การใช้ชีวภัณฑ์ | วิธีปฏิบัติของเกษตรกร |
|---|---|---|
| ผลผลิต (กิโลกรัม/ไร่) | 3,505 | 3,445 |
| รายได้ (บาท/ไร่) | 33,227 | 32,658 |
| ต้นทุนการผลิต (บาท/ไร่) | 10,216 | 7,978 |
| กำไร (บาท/ไร่) | 23,011 | 24,680 |

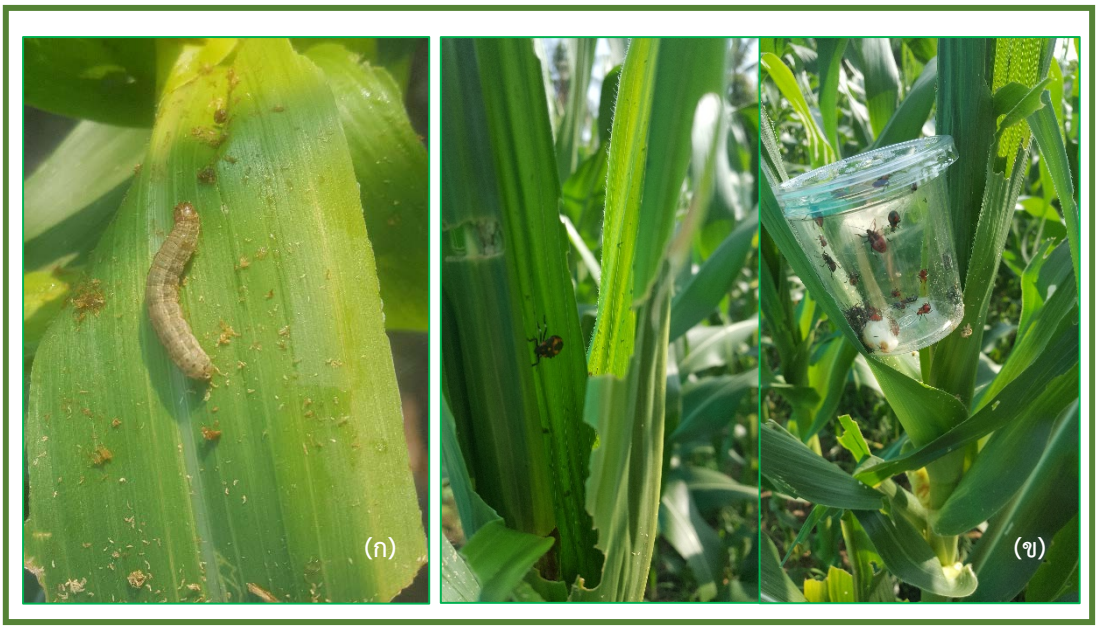
**หมายเหตุ** ราคาขายข้าวโพดหวาน 9.48 บาท/กิโลกรัม (ราคาตลาดไท 11.95 บาท/กิโลกรัม ณ เดือนสิงหาคม 2567)




**ภาพที่ 1** แปลงทดสอบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน ที่อำเภอสามชุก จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนเมษายน – เดือนมิถุนายน 2566

**ภาพที่ 2** ผลผลิตข้าวโพดหวานจากแปลงทดสอบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน ที่อำเภอสามชุก จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนเมษายน – เดือนมิถุนายน 2566

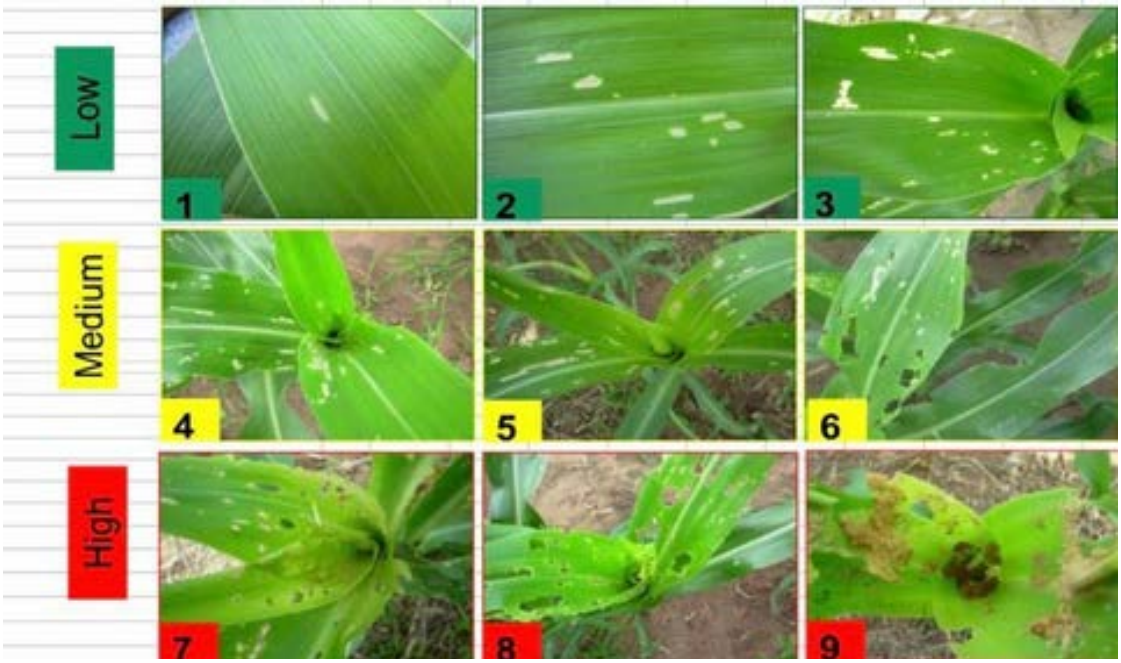
**ภาพที่ 3** รอยทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดที่ต้นข้าวโพดอายุต่างๆ กัน ในแปลงทดสอบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน ที่อำเภอสามชุก จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนเมษายน – เดือนมิถุนายน 2566




**ภาพที่ 4** หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (ก) และปล่อยมวนพิฆาตกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (ข) ในแปลงทดสอบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน ที่อำเภอสามชุก จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนเมษายน – เดือนมิถุนายน 2566

**ภาพที่ 5** ลักษณะข้าวโพดหวานก่อนและหลังปอกเปลือก จากแปลงปลูกทดสอบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดหวาน ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอุทัยธานี จังหวัดอุทัยธานี ระหว่างเดือนมิถุนายน - เดือนสิงหาคม 2567

**วิธีการประเมินระดับการทำลายใบข้าวโพดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลาย**
**โดยให้คะแนน 0-9 (Davis and Williams, 1992)**




ระดับความเสียหายของใบข้าวโพด

| | |
|---|---|
| ระดับ 0 | ไม่พบร่องรอยการทำลาย |
| ระดับ 1 | พบร่องรอยทำลายเป็นรูเล็กๆ |
| ระดับ 2 | พบร่องรอยทำลายเป็นรูเล็กๆ และรูกลมๆขนาดใหญ่ขึ้น |
| ระดับ 3 | พบร่องรอยทำลายเป็นรูเล็กๆ และมีแผลกลมจำนวนเล็กน้อย รวมถึงรอยแทะบนผิวใบยาวเป็นขีด ขนาดยาวไม่เกิน 1.3 เซนติเมตร |
| ระดับ 4 | พบรอยแทะบนผิวใบยาวเป็นขีด ขนาดยาว 1.3 – 2.5 เซนติเมตร จำนวนเพิ่มมากขึ้น |
| ระดับ 5 | พบรอยแทะบนผิวใบยาวเป็นขีด ขนาดยาวมากกว่า 2.5 เซนติเมตร ขึ้นไปจำนวนเล็กน้อย และเริ่มมีรอยกัดกินทะลุเนื้อใบ |
| ระดับ 6 | พบทั้งรอยแทะบนผิวใบยาวเป็นขีด และรอยกัดกินทะลุเนื้อใบขนาดใหญ่เพิ่มมากขึ้น รอยกัดกินมีรูปร่างที่ไม่แน่นอน |
| ระดับ 7 | พบรอยแทะบนผิวใบยาวเป็นขีดทุกขนาดเป็นจำนวนมาก และพบรอยกัดกินทะลุเนื้อใบขนาดใหญ่เพิ่มมากขึ้น รอยกัดกินมีรูปร่างที่ไม่แน่นอน |
| ระดับ 8 | พบทั้งรอยแทะบนผิวใบเป็นขีดยาวทุกขนาดจำนวนมาก และพบรอยกัดกินทะลุเนื้อใบขนาดกลางและใหญ่เกือบหมดทั้งใบ |
| ระดับ 9 | ใบถูกทำลายเกือบทั้งหมด |

ระดับความรุนแรงความเสียหายของใบข้าวโพด

| | |
|---|---|
| ระดับ 0-4 | ระดับเล็กน้อย (พบรอยทำลายที่ใบเล็กน้อย รอยขีดยาวไม่เกิน 2.5 ซม.) |
| ระดับ 5-7 | ระดับปานกลาง (พบรอยแทะผิวใบเป็นขีดยาวเกิน 2.5 ซม. และทะลุเป็นรูรูปร่างไม่แน่นอน) |
| ระดับ 8-9 | ระดับรุนแรง (พบรอยแทะผิวใบเป็นขีดยาวทุกขนาดจำนวนมาก และทะลุเป็นรูเกือบหมดทั้งใบ) |

ระดับความเสียหายของฝักข้าวโพด

| | |
|---|---|
| ระดับ 1 | ไม่พบการทำลายที่ฝัก |
| ระดับ 2 | ปลายฝักพบรอยทำลาย 1-3 ฝัก |
| ระดับ 3 | ปลายฝักพบรอยทำลาย 4-7 ฝัก |
| ระดับ 4 | พบรอยทำลายที่ปลายฝัก 7 ฝักหรือมากกว่า และพบรอยทำลาย 1-3 เมล็ดจากปลายฝัก 1-3 ฝัก |
| ระดับ 5 | พบรอยทำลายที่ปลายฝัก 7 ฝักหรือมากกว่า และพบรอยทำลาย 1-3 เมล็ดจากปลายฝัก 4-6 ฝัก |
| ระดับ 6 | พบรอยทำลายที่ปลายฝัก 7-10 ฝัก และพบรอยทำลาย 1-4 เมล็ดจากปลายฝัก 7-10 ฝัก |
| ระดับ 7 | พบรอยทำลายที่ปลายฝัก 7-10 ฝัก และพบรอยทำลาย 4-6 เมล็ด จาก 7-8 ฝัก |
| ระดับ 8 | พบรอยทำลายที่ปลายฝักทุกฝัก และพบรอยทำลาย 4-6 เมล็ด จาก 7-8 ฝัก |
| ระดับ 9 | พบรอยทำลายที่ปลายฝักทุกฝัก และพบรอยทำลาย 5 เมล็ด หรือมากกว่า จาก 9-10 ฝัก |

ระดับความรุนแรงความเสียหายของฝักข้าวโพด

| | |
|---|---|
| ระดับ 1-4 | ระดับเล็กน้อย (ไม่พบรอยทำลาย-พบรอยทำลายที่ปลายฝัก 7 ฝัก และเมล็ด 1-3 เมล็ด จาก 1-3 ฝัก) |
| ระดับ 5-7 | ระดับปานกลาง (พบรอยทำลายที่ปลายฝัก 7-10 ฝัก และเมล็ด 1-6 เมล็ด จาก 4-10 ฝัก) |
| ระดับ 8-9 | ระดับรุนแรง (พบรอยทำลายที่ปลายฝักทุกฝัก และพบรอยทำลาย 4-6 เมล็ด จาก 7-10 ฝัก |

# ศึกษารูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดฝักอ่อน

# The combination of insect natural enemies and biopesticides to control the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) in baby corn

**สุพรรณี ภูคะฮาด พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์ ภัทรพร สรรพนุเคราะห์**
**นันทนัช พินศรี สาทิพย์ มาลี ณัฏฐิณี ศิริมาจันทร์**
**กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

## Abstract

The study on the use of insect natural enemies and biopesticides for controlling fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in baby corn aimed to compare the effectiveness of insect natural enemies and biopesticides with the farmer practices. The study was conducted two years. In year 1, the trial was carried out at Suphan Buri field crops research center, Suphan Buri province, during October - December 2023. The biopesticide treatment involved spraying *Bacillus thuringiensis* (Bt) strain *aizawai* at 80 g/20 L water when 1-3 instar larvae were found, applying entomopathogenic nematodes *Steinernema carpocapsae* at 50 million/20 L water when larvae were in 4-6 instars, and releasing stink bugs at a rate of 500 insects/rai when the corn plants were over 28-30 days old. In year 2, the trial was conducted at Uthai Thani Agricultural Research and Development Center, Uthai Thani province, during June - July 2024, using the same treatment protocol, excluding the release of stink bugs. Damage assessment, and larval counts were conducted every 7 days until harvest.

The results showed that the fall armyworm larvae began damaging the baby corn leaves 7 days after germination. In year 1, the infestation was severe (63.00%), while in year 2, it was moderate (30.67%). After applying biopesticides, the damage percentage and larvae count decreased in Year 1, and continued to decrease steadily in Year 2. When comparing the baby corn yields of fields using biopesticides and those following farmer practices in year 1 and year 2 (of each testing round), no statistically significant

รหัสการทดลอง FF65-55-07-65-01-05-66

was found. Therefore, biopesticides should be used when the infestation level is not severe, as an alternative control method that reduces chemical residue and conserves insect natural enemies. However, using only biopesticides may incur higher costs, and integrating cultivation, biopesticides, and chemicals may reduce costs in controlling the fall armyworm.

**Keywords :** insect natural enemies, biopesticides, fall armyworm, baby corn

**บทคัดย่อ**

การศึกษารูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (*Spodoptera frugiperda*) ในข้าวโพดฝักอ่อน มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบเปรียบเทียบระหว่างรูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติและชีวภัณฑ์ที่เหมาะสมสำหรับควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกร ดำเนินการทดสอบ 2 ปี ปีที่ 1 ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนตุลาคม - ธันวาคม 2566 ได้ทำการทดสอบรูปแบบการใช้ชีวภัณฑ์โดยเมื่อพบหนอนวัย 1-3 พ่นบีทีสายพันธุ์ *aizawai* อัตรา 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร เมื่อพบหนอนวัย 4-6 พ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* อัตรา 50 ล้านตัว/น้ำ 20 ลิตร และปล่อยมวนพิฆาต อัตรา 500 ตัว/ไร่ เมื่อต้นข้าวโพดอายุ 28-30 วันขึ้นไป ปีที่ 2 ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอุทัยธานี จ.อุทัยธานี ระหว่างเดือนมิถุนายน - กรกฎาคม 2567 ได้ทำการทดสอบรูปแบบการใช้ชีวภัณฑ์เช่นเดียวกันกับปีที่ 1 แต่ไม่มีการปล่อยมวนพิฆาต ประเมินรอยทำลาย และตรวจนับจำนวนหนอนทุกๆ 7 วันจนกระทั่งเก็บเกี่ยวข้าวโพด

ผลการดำเนินงานพบว่าหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดลงทำลายใบข้าวโพดตั้งแต่ 7 วันหลังงอก โดยในปีที่ 1 การระบาดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดอยู่ในระดับรุนแรง (63.00%) ส่วนปีที่ 2 การระบาดอยู่ในระดับปานกลาง (30.67%) ภายหลังการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด เปอร์เซ็นต์การลงทำลายใบ และจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดมีแนวโน้มลดลงในปีที่ 1 ส่วนในปีที่ 2 สามารถควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดโดยมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อนจากแปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์และแปลงที่ใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกรในปีที่ 1 และ 2 (ของแต่ละรอบการทดสอบ) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้น ในการใช้ชีวภัณฑ์ควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดควรใช้เมื่อการระบาดของหนอนอยู่ในระดับไม่รุนแรง สามารถใช้เป็นทางเลือกในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้อีกวิธีหนึ่ง ซึ่งเป็นการลดการตกค้างของสารเคมี และเป็นการอนุรักษ์แมลงศัตรูธรรมชาติ ทั้งนี้การใช้ชีวภัณฑ์เพียงวิธีเดียวอาจมีต้นทุนสูง ดังนั้นอาจใช้ทั้งการเขตกรรม ชีวภัณฑ์ และเคมีหลายๆ วิธีร่วมกันเพื่อประหยัดต้นทุนในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด

**คำหลัก :** แมลงศัตรูธรรมชาติ ชีวภัณฑ์ หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ข้าวโพดฝักอ่อน

## คำนำ

หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (fall armyworm) *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของข้าวโพด พบระบาดในพื้นที่เขตร้อนและกึ่งเขตร้อนของทวีปอเมริกา (Prasanna *et al*., 2018) ขยายพันธุ์ได้รวดเร็วมากจำนวน 30-40 วันต่อรุ่น เมื่อผสมพันธุ์แล้วผีเสื้อเพศเมียจะวางไข่ในเวลากลางคืน โดยวางไข่เป็นกลุ่มประมาณ 100-200 ฟอง และมีขนสีน้ำตาลอ่อนปกคลุม ผีเสื้อเพศเมียหนึ่งตัววางไข่ได้ประมาณ 1,500-2,000 ฟอง ระยะไข่ 2-3 วัน หนอนมี 6 วัย ระยะหนอน 14 - 22 วัน หนอนที่โตเต็มที่มีขนาดลำตัวยาว 3.2 - 4.0 เซนติเมตร หนอนจะทิ้งตัวลงดินเพื่อเข้าดักแด้ ระยะดักแด้ 7 - 13 วัน จึงเป็นตัวเต็มวัย ซึ่งมีชีวิต 10 - 21 วัน พืชอาหารมีมากกว่า 80 ชนิด เช่น ข้าวโพด ข้าว อ้อย ข้าวฟ่าง พืชตระกูลถั่ว มะเขือเทศ มันฝรั่ง ยาสูบ ฝ้าย ทานตะวัน กล้วย กระเทียม ขิง มันเทศ พริก พืชตระกูลกะหล่ำ พืชตระกูลแตง และพืชผักหลายชนิด เป็นต้น (CABI, 2019)

ระยะที่เป็นตัวหนอนจะเข้าทำลายข้าวโพดตั้งแต่อายุประมาณ 7 วัน จนกระทั่งออกฝัก โดยกัดกินยอดและใบข้าวโพดเว้าแหว่งหรือกัดกินทั้งแผ่นใบ ทำลายช่อดอกตัวผู้ กัดกินไหม ฝัก เมล็ด และจะพบตัวหนอนหลบซ่อนอยู่ในยอดหรือโคนกาบใบข้าวโพด ความเสียหายเห็นได้ชัดคือ ในระยะต้นอ่อนทำให้พืชตาย ระยะต้นแก่พืชจะไม่เจริญเติบโต ฝักลีบเล็กไม่สมบูรณ์ หากระบาดรุนแรงจะทำให้ผลผลิตเสียหาย 73% ของพื้นที่ (FAO, 2019b) หลังการระบาดอย่างรุนแรงในทวีปอเมริกา มีรายงานพบการระบาดครั้งแรกในภาคกลางและภาคตะวันตกของทวีปแอฟริกา ในช่วงต้นปี 2559 สร้างความเสียหายได้อย่างรวดเร็วและเป็นวงกว้าง โดยหลังการพบการระบาดครั้งแรกเพียง 2 ปี ก็สามารถเข้าระบาดได้ในทุกพื้นที่ที่มีการปลูกข้าวโพดในทวีปแอฟริกา สำหรับในทวีปเอเชียมีรายงานพบการระบาดครั้งแรกในเดือนพฤษภาคม ปี 2561 พบเข้าทำลายข้าวโพดในเขต Chikkaballapur รัฐ Karnataka ของประเทศอินเดีย และหลังจากนั้นเพียง 5 เดือนก็พบการระบาดใน 4 รัฐที่เป็นแหล่งปลูกข้าวโพดสำคัญในอินเดีย ได้แก่ รัฐ Tamil Nadu Telangana Andhra Pradesh และ West Bengal (FAO, 2018) ประเทศไทยได้รับการแจ้งเตือนจาก FAO เรื่องการระบาดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ซึ่งเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญที่สามารถระบาดข้ามพรหมแดนได้ กรมวิชาการเกษตรในฐานะ NPPO ได้ดำเนินการเฝ้าระวังหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด และได้พบการระบาดครั้งแรกเมื่อวันที่ 14 ธันวาคม 2561 ในจังหวัดกาญจนบุรี และตาก ซึ่งตรงกับช่วงที่ข้าวโพดเป็นพืชนโยบายส่งเสริมให้ปลูกเป็นพืชหลังนา จึงทำให้การระบาดเป็นไปอย่างรวดเร็ว และพบในทุกภาคของประเทศในระยะเวลาเพียงไม่กี่เดือน ซึ่งทำให้วิธีการป้องกันกำจัดแบบเดิมของเกษตรกรไม่ได้ผล (FAO, 2019a) สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ได้แก้ปัญหาโดยเร่งดำเนินการทดลองเพื่อให้คำแนะนำในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดดังกล่าว เพื่อใช้เป็นคำแนะนำอย่างเป็นทางการให้กับเกษตรกร เจ้าหน้าที่ ผู้เกี่ยวข้องทั้งภาครัฐและเอกชน

การทดลองนี้เป็นการศึกษารูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ ได้แก่ มวนพิฆาต แบคทีเรีย Bt และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดใน

ข้าวโพดฝักอ่อน เปรียบเทียบกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกรซึ่งใช้สารเคมีกำจัดแมลง เพื่อแก้ปัญหาการเข้าทำลายข้าวโพดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดแบบบูรณาการเพื่อความยั่งยืนต่อไป

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดฝักอ่อน
2. ศัตรูธรรมชาติ ได้แก่ มวนพิฆาต *Eocanthecona furcellata* (Wolff), ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema carpocapsae*, แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ *aizawai*
3. สารเคมีกำจัดแมลง ได้แก่ emamectin benzoate 5%WG, imidacloprid 70%WG และ chlorantraniliprole 5.17% W/V SC, diflubenzuron 25% WP
4. สารเคมีกำจัดวัชพืช ได้แก่ acetochlor 50% W/V EC
5. สารเคมีกำจัดโรคพืช ได้แก่ dimethomorph 50% W/V SC
6. ปุ๋ยเคมี สูตร 46-0-0 และ 15-15-15
7. เครื่องพ่นสารสะพายหลังแบบใช้แบตเตอรี่
8. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก มีดคัตเตอร์ กรรไกรตัดกิ่ง ซองกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง ถังรักษาความเย็น แว่นขยาย ที่นับแมลง
9. อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล ได้แก่ แบบฟอร์มใช้บันทึกในการสำรวจ สมุด ปากกา ดินสอ ยางลบ กล้องถ่ายรูป และปากกาเคมี
10. อุปกรณ์อื่นๆ ได้แก่ เชือกฟาง เทปวัดความยาว และป้ายปักแปลง

### วิธีการ

### แบบและวิธีการทดลอง

เปรียบเทียบการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด 2 วิธี ระหว่างวิธีการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติและชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด กับวิธีปฏิบัติของเกษตรกร ในปีที่ 1 (2566) และปีที่ 2 (2567)

ปีที่ 1 (2566) ในแปลงข้าวโพดฝักอ่อน ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ จังหวัดสุพรรณบุรี

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

1. เพาะเลี้ยงขยายแมลงศัตรูธรรมชาติ ได้แก่ มวนพิฆาต และจัดเตรียม บีที (Bt) สายพันธุ์ *aizawai* และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง เพื่อใช้ควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดให้ได้ปริมาณเพียงพอตามแผนการทดลอง

2. ดำเนินการทดสอบในแปลงข้าวโพดฝักอ่อน โดยแบ่งออกเป็น 2 แปลงๆ ละ 1 งาน ในพื้นที่ห่างกัน 3 เมตร ในแต่ละแปลงแบ่งเป็น 5 แปลงย่อย ขนาด 20 ตารางเมตร ระยะปลูก 0.75 x 0.25 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1 เมตร ให้น้ำแบบปล่อยตามร่องสัปดาห์ละครั้งจนกระทั่งเก็บเกี่ยว

3. ปลูกข้าวโพดฝักอ่อน จำนวน 2 เมล็ดต่อหลุม ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ สำหรับรองก้นหลุม เมื่อข้าวโพดอายุ 1 สัปดาห์หลังงอก ทำการถอนให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุม ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 46-0-0 อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ และใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อีกครั้ง อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อข้าวโพดอายุ 25 และ 35 วันหลังงอก

4. พ่นสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช dimethomorph 50% W/V SC สารควบคุมวัชพืช acetochlor 50% W/V EC ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร

5. เมื่อข้าวโพดอายุ 7 วันหลังงอก สุ่มตรวจนับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด จำนวน 20 ต้นต่อแปลงย่อย (ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร) จำนวน 5 แปลงย่อย รวมเป็น 100 ต้นต่อแปลง

6. เมื่อพบหนอนในแปลงจึงพ่นบีที ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง และปล่อยมวนพิฆาต ดำเนินการ ดังนี้

1) พ่นบีทีสายพันธุ์ *aizawai* อัตรา 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง ที่ 7 14 และ 21 วันหลังงอก

2) พ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* อัตรา 50 ล้านตัว/น้ำ 20 ลิตร จำนวน 1 ครั้ง ที่ 28 วัน หลังงอก ลงตรงกลางที่กรวยยอด

3) ปล่อยมวนพิฆาต อัตรา 500 ตัว/ไร่ จำนวน 2 ครั้ง ที่ 35 และ 42 วันหลังงอก

ในแปลงเกษตรกร ปฏิบัติตามกรรมวิธีของเกษตรกร ดังนี้

1) พ่นสาร emamectin benzoate 5%WG อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร + diflubenzuron 25% WP อัตรา 25 กรัม/น้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง ที่ 14 และ 21 วัน หลังงอก

2) พ่นสาร chlorantranilliprole 5.17% W/V SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร จำนวน 1 ครั้ง ที่ 42 วันหลังงอก

ปีที่ 2 (2567) ในแปลงข้าวโพดฝักอ่อน ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอุทัยธานี จ.อุทัยธานี

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

1. เพาะเลี้ยงขยายแมลงศัตรูธรรมชาติ ได้แก่ มวนพิฆาต และจัดเตรียม บีที (Bt) สายพันธุ์ *aizawai* และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง เพื่อใช้ควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดให้ได้ปริมาณเพียงพอตามแผนการทดลอง

2. ดำเนินการทดสอบในแปลงข้าวโพดฝักอ่อน โดยแบ่งออกเป็น 2 แปลงๆ ละ 2 งาน ในพื้นที่ห่างกัน 340 เมตร เตรียมแปลงปลูกแบบยกร่อง ระยะปลูก 0.75 x 0.20 เมตร พร้อมวางระบบการให้น้ำแบบน้ำหยด ในแต่ละแปลงแบ่งเป็น 5 แปลงย่อย ขนาด 20 ตารางเมตร

3. ปลูกข้าวโพดฝักอ่อน จำนวน 2 เมล็ดต่อหลุม ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ สำหรับรองพื้น เมื่อข้าวโพดอายุ 1 สัปดาห์หลังงอก ทำการถอนให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุม ใส่ปุ๋ยเคมี

สูตร 46-0-0 อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ และใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อีกครั้ง อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อข้าวโพดอายุ 25 และ 35 วันหลังงอก

4. พ่นสารกำจัดเพลี้ยไฟ imidacloprid 70%WG เมื่อข้าวโพดอายุ 7 วันหลังงอก เนื่องจากพบการระบาดของเพลี้ยไฟ พ่นสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช dimethomorph 50% W/V SC สารควบคุมวัชพืช acetochlor 50% W/V EC ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร

5. สุ่มตรวจนับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดเมื่อข้าวโพดอายุ 7 วันหลังงอก จำนวน 20 ต้นต่อแปลงย่อย (ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร) จำนวน 5 แปลงย่อย รวมเป็น 100 ต้นต่อแปลง

6. เมื่อพบหนอนในแปลงจึงพ่นบีที และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ดำเนินการ ดังนี้

1) พ่นบีทีสายพันธุ์ *aizawai* อัตรา 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง ที่ 14 และ 21 วันหลังงอก

2) พ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* อัตรา 50 ล้านตัว/น้ำ 20 ลิตร จำนวน 1 ครั้ง ที่ 28 วันหลังงอก ลงตรงกลางที่กรวยยอด

ในแปลงเกษตรกร ปฏิบัติตามกรรมวิธีของเกษตรกร ดังนี้

1) พ่นสาร imidacloprid 70% WG อัตรา 4 กรัม/น้ำ 20 ลิตร + emamectin benzoate 5% WG อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร จำนวน 1 ครั้ง ที่ 7 วันหลังงอก

2) พ่นสาร emamectin benzoate 5% WG อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร + difenoconazole 12.5% + azoxystrobin 20% W/V อัตรา 10 cc/น้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง ที่ 14 และ 21 วันหลังงอก

3) พ่นสาร chlorantraniliprole 5.17% W/V SC 15 cc/น้ำ 20 ลิตร + dimethomorph 50% W/V SC อัตรา 12 cc/น้ำ 20 ลิตร จำนวน 1 ครั้ง ที่ 28 วันหลังงอก

7. ประเมินระดับการทำลายใบข้าวโพดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ทุก 7 วัน จนถึงอายุเก็บเกี่ยวข้าวโพดฝักอ่อน ในปีที่ 1 และ 2 ที่อายุ 49 และ 45 วัน ตามลำดับ โดยให้คะแนน 0-9 ตามวิธีการของ Davis and Williams (1992) (ภาคผนวก)

นำระดับการทำลายที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การทำลายโดยใช้สูตรของ Townsend-Heuberger (1943)

$$\text{การทำลาย (\%)} = \frac{\sum (nv)}{NV} \times 100$$

โดยที่

n = จำนวนต้นในแต่ละระดับการทำลาย v = คะแนนระดับการทำลาย

N = จำนวนต้นทั้งหมดที่สุ่มนับ V = คะแนนระดับการทำลายสูงสุด

นำข้อมูลระดับการทำลายใบข้าวโพดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด และหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดที่มีชีวิต จำนวนแมลงศัตรูธรรมชาติที่พบ น้ำหนักผลผลิตที่มีคุณภาพในระยะส่งตลาด และน้ำหนักผลผลิตที่มีรอยทำลาย มาวิเคราะห์ผลเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างวิธีการใช้แมลงศัตรู

ธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด กับวิธีปฏิบัติของเกษตรกร ด้วย T-test

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. ระดับการทำลายใบข้าวโพดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด
2. จำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดก่อนและหลังพ่นบีที ไส้เดือนฝอย และปล่อยมวนพิฆาต
3. จำนวนแมลงศัตรูธรรมชาติอื่นที่พบในแปลงข้าวโพด
4. ระดับการทำลายฝักข้าวโพด และน้ำหนักผลผลิตก่อนปอกเปลือกและหลังปอกเปลือก

**เวลาและสถานที่**

| | |
|---|---|
| เวลา | ตุลาคม 2565 – กันยายน 2567 |
| สถานที่ | ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช<br>แปลงข้าวโพดฝักอ่อน ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี อ.อู่ทอง จ.สุพรรณบุรี<br>แปลงข้าวโพดฝักอ่อน ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอุทัยธานี อ.หนองฉาง จ.อุทัยธานี |

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**ปีที่ 1 (2566) ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนตุลาคม - ธันวาคม 2566**

ผลการดำเนินงานทดสอบรูปแบบการใช้แมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดฝักอ่อน (การใช้ชีวภัณฑ์) เปรียบเทียบกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกร ในปีที่ 1 พบว่าหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดลงทำลายใบข้าวโพดตั้งแต่ 7 วันหลังงอก คิดเป็น 63.00 และ 65.57 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ และตรวจนับทุกๆ 7 วันหลังการทดสอบทั้ง 2 วิธี จนกระทั่งข้าวโพดอายุ 42 วัน พบรอยทำลายบนใบข้าวโพด คิดเป็น 58.71 43.63 43.43 34.14 และ 35.67 เปอร์เซ็นต์ และ 70.83 19.71 31.86 47.86 และ 32.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติพบว่า การตรวจนับครั้งที่ 1 รอยทำลายใบข้าวโพดในแปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับแปลงที่ใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกร และรอยทำลายใบข้าวโพดในแปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์มีแนวโน้มลดลงในการตรวจนับครั้งที่ 2 3 และ 4 แต่ยังมากกว่าและแตกต่างกันทางสถิติกับแปลงที่ใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกร ส่วนในการตรวจนับครั้งที่ 5 รอยทำลายใบของแปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับแปลงที่ใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกร (ตารางที่ 1) สำหรับจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดของการทดสอบทั้ง 2 วิธี ที่ตรวจพบหลังข้าวโพดงอก 7 วัน เท่ากับ 27.00 และ 45.20 ตัว/20 ต้น ตามลำดับ และตรวจนับทุกๆ 7 วันหลังการทดสอบทั้ง 2 วิธี จนกระทั่งข้าวโพดอายุ 42 วัน พบจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดเท่ากับ 15.40 12.60 6.40 8.60 และ 1.20 ตัว/20 ต้น และ 11.40 4.20 6.80 6.00 และ 0.60 ตัว/20 ต้น ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ

พบว่า ก่อนการทดสอบแปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์มีจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดน้อยกว่าและมีความแตกต่างกันทางสถิติกับแปลงที่ใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกร ภายหลังการทดสอบทุกๆ 7 วัน จำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในแปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์ และแปลงที่ใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกรไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในการตรวจนับครั้งที่ 1 3 4 และ 5 โดยจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง (ตารางที่ 1) แปลงทดสอบในปีที่ 1 มีระยะเวลาทดสอบช่วงเดือนตุลาคม-ธันวาคม 2566 ซึ่งเป็นช่วงหน้าแล้ง อากาศเย็น ข้าวโพดมีระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ 49 วัน พบหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดระบาดหนักทั้งในแปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์ และแปลงที่ใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกร จึงทำให้ใบข้าวโพดมีรอยทำลายรุนแรง อย่างไรก็ตามการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดแม้ไม่ได้ลดการระบาดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดให้อยู่ในระดับต่ำ (น้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์) แต่ก็สามารถทำให้การระบาดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดมีแนวโน้มลดลง

สำหรับแมลงศัตรูธรรมชาติที่ตรวจพบในแปลงข้าวโพดฝักอ่อนในปีที่ 1 ได้แก่ แมลงหางหนีบ ด้วงเต่า (ด้วงเต่าลายจุด ด้วงเต่าสีส้ม และด้วงเต่าลายหยัก) และมวนพิฆาต โดยแปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์ พบแมลงหางหนีบในการตรวจนับครั้งที่ 3 4 และ 5 จำนวน 0.40 0.60 และ 5.00 ตัว/20 ต้น ตามลำดับ พบด้วงเต่าในการตรวจนับครั้งที่ 2 3 4 และ 5 พบด้วงเต่าจำนวน 1.20 0.20 0.20 0.40 ตัว/20 ต้น และพบมวนพิฆาตในการตรวจนับครั้งที่ 4 และ 5 จำนวน 0.20 และ 0.60 ตัว/20 ต้น ตามลำดับ ในขณะที่แปลงที่ใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกรพบแมลงหางหนีบ และด้วงเต่า แต่ไม่พบมวนพิฆาต โดยแมลงหางหนีบ พบในการตรวจนับครั้งที่ 2 3 4 และ 5 จำนวน 0.40 0.40 2.00 และ 3.40 ตัว/20 ต้น ตามลำดับ และด้วงเต่าพบในการตรวจนับครั้งที่ 1 2 4 และ 5 จำนวน 0.20 1.40 0.40 และ 0.60 ตัว/20 ต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 3) จากการปล่อยมวนพิฆาตในแปลงชีวภัณฑ์พบว่า มวนพิฆาตสามารถดำรงชีวิตรอดในแปลงข้าวโพดฝักอ่อน จึงตรวจพบมวนพิฆาตในการตรวจนับครั้งที่ 4 และ 5 และพบมวนพิฆาตในแปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์เท่านั้น ไม่พบในแปลงที่ใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกรแม้มีพื้นที่ทดสอบห่างกันเพียง 3 เมตร

จากการเก็บเกี่ยวข้าวโพดฝักอ่อน จำนวน 20 ฝัก/แปลงย่อย ทั้งหมด 5 แปลงย่อย/แปลง (รวม 100 ฝัก/แปลง) ไม่พบร่องรอยการทำลายฝักของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดของทั้งสองแปลง โดยแปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์ได้น้ำหนักข้าวโพดฝักอ่อนก่อนปอกเปลือกเท่ากับ 1.058 กิโลกรัม/20 ฝัก และน้ำหนักข้าวโพดฝักอ่อนหลังปอกเปลือกเท่ากับ 0.229 กิโลกรัม/20 ฝัก ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับแปลงข้าวโพดฝักอ่อนที่ใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกร โดยมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักก่อนปอกเปลือกและหลังปอกเปลือก เท่ากับ 1.059 และ 0.214 กิโลกรัม/20 ฝัก ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

จากการทดสอบการใช้ชีวภัณฑ์ควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดฝักอ่อนเปรียบเทียบกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกรในปีที่ 1 จะเห็นว่าแปลงข้าวโพดที่ใช้ชีวภัณฑ์ให้ผลผลิตไม่แตกต่างจากแปลงที่ใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกร ซึ่งแปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์มีรูปแบบการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด โดยพ่นบีที เมื่อตรวจพบหนอนวัยเล็ก (1-3) ในขณะที่ต้นข้าวโพดยังเล็ก เมื่อต้นข้าวโพดมีอายุมากขึ้น จะเริ่มสร้างกรวยยอดที่ใหญ่ขึ้น หนอนที่พบในข้าวโพดระยะนี้ส่วนใหญ่จะเป็น

วัยโต (4-6) จึงทำการพ่นไส้เดือนฝอย และเมื่อข้าวโพดเจริญเติบโตประมาณ 28-30 วันขึ้นไป ทำการปล่อยมวนพิฆาต ถึงแม้ว่าการควบคุมโดยใช้ชีวภัณฑ์ดังรูปแบบดังกล่าว จะไม่สามารถควบคุมแปลงที่มีหนอนกระทู้โพดลายจุดที่ระบาดหนักให้อยู่ในระดับต่ำ (น้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์) ได้ แต่ก็มีแนวโน้มลดลง ซึ่งสามารถควบคุมได้ไม่ต่างจากการใช้วิธีปฏิบัติของเกษตร

**ปีที่ 2 (2567) ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอุทัยธานี จ.อุทัยธานี ระหว่างเดือนมิถุนายน - กรกฎาคม 2567**

ผลการดำเนินงานทดสอบรูปแบบการใช้ชีวภัณฑ์ควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดฝักอ่อน (การใช้ชีวภัณฑ์) เปรียบเทียบกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกรในปีที่ 2 พบว่าหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดลงทำลายใบข้าวโพดตั้งแต่ 7 วันหลังงอก คิดเป็น 30.67 และ 23.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ และตรวจนับทุกๆ 7 วันหลังการทดสอบทั้ง 2 วิธี จนกระทั่งข้าวโพดอายุ 35 วัน พบรอยทำลายบนใบข้าวโพด คิดเป็น 30.33 36.14 28.38 และ 7.29 เปอร์เซ็นต์ และ 16.00 28.50 21.88 และ 4.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติพบว่า การตรวจนับครั้งที่ 1 และ 2 รอยทำลายใบข้าวโพดในแปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์มากกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแปลงที่ใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกร ส่วนในครั้งที่ 3 และ 4 รอยทำลายใบข้าวโพดของแปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับแปลงที่ใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกร (ตารางที่ 2) สำหรับจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดของการทดสอบทั้ง 2 วิธี ที่ตรวจพบหลังข้าวโพดงอก 7 วัน เท่ากับ 7.60 และ 7.40 ตัว/20 ต้น ตามลำดับ และตรวจนับทุกๆ 7 วันหลังการทดสอบทั้ง 2 วิธี จนกระทั่งข้าวโพดอายุ 35 วัน พบจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดเท่ากับ 6.20 7.40 0.80 และ 0.20 ตัว/20 ต้น และ 3.80 5.80 2.00 และ 0.00 ตัว/20 ต้น ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ก่อนการทดสอบและหลังการทดสอบทุกๆ 7 วัน จำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในแปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์ และแปลงที่ใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกรไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 2) ในการทดสอบครั้งนี้ได้พ่นบีทีหลังจากตรวจพบรอยทำลายหลังข้าวโพดงอกที่ 14 และ 21 วัน ระยะนี้ต้นข้าวโพดมีขนาดเล็กและกรวยยอดยังไม่คลี่ หนอนที่พบเป็นวัยเล็ก (1-3) เมื่อต้นข้าวโพดอายุ 28 วัน ได้พ่นไส้เดือนฝอยลงกลางกรวยยอดของต้นข้าวโพด หนอนที่พบเป็นหนอนโตอยู่ในช่วงวัย 4-6 ในการตรวจนับครั้งที่ 4 จำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในแปลงชีวภัณฑ์ลดลงอย่างเห็นได้ชัด และจำนวนหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในการตรวจนับครั้งที่ 2-4 ลดลงอย่างต่อเนื่องรอยทำลายใบอยู่ในระดับต่ำ จึงไม่พ่นชีวภัณฑ์หรือปล่อยมวนพิฆาตอีก

สำหรับแมลงศัตรูธรรมชาติที่ตรวจพบในแปลงข้าวโพดฝักอ่อนในปีที่ 2 ได้แก่ แมลงหางหนีบ และด้วงเต่า (ด้วงเต่าสีส้ม และด้วงเต่าลายหยัก) โดยแปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์ พบแมลงหางหนีบ และด้วงเต่า ในการตรวจนับครั้งที่ 3 จำนวน 0.25 และ 0.40 ตัว/20 ต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

จากการเก็บเกี่ยวข้าวโพดฝักอ่อน จำนวน 20 ฝักต่อแปลงย่อย ทั้งหมด 5 แปลงย่อยต่อแปลง (รวม 100 ฝัก/แปลง) ไม่พบร่องรอยการทำลายฝักข้าวโพดฝักอ่อนของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดของทั้งสองแปลง โดยแปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์ให้น้ำหนักข้าวโพดฝักอ่อนก่อนปอกเปลือกและหลังปอกเปลือกเท่ากับ

1.037 และ 0.184 กิโลกรัม/20 ฝัก ตามลำดับ สำหรับแปลงที่ใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกร น้ำหนักข้าวโพดก่อนปอกเปลือกและหลังปอกเปลือก เท่ากับ 1.003 และ 0.193 กิโลกรัม/20 ฝัก ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า น้ำหนักข้าวโพดฝักอ่อนก่อนปอกเปลือกและหลังปอกเปลือกของแปลงที่ใช้ชีวภัณฑ์กับแปลงที่ใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกรไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 6)

การทดสอบการใช้ชีวภัณฑ์ควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในข้าวโพดฝักอ่อนในปีที่ 2 ดำเนินการในช่วงเดือนมิถุนายน – กรกฎาคม 2567 ซึ่งเป็นช่วงหน้าฝน ข้าวโพดมีอายุเก็บเกี่ยวประมาณ 45 วัน ซึ่งสั้นกว่าอายุเก็บเกี่ยวในปีที่ 1 พบรอยทำลายใบข้าวโพดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด 30.67 เปอร์เซ็นต์ จึงได้ใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในรูปแบบเดียวกันกับปีที่ 1 เปรียบเทียบกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกร พบว่าสามารถควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกร ดังนั้น การใช้ชีวภัณฑ์จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด โดยก่อให้เกิดผลดี คือ ตัวเกษตรกรลดความเสี่ยงที่จะได้รับสารพิษจากสารกำจัดแมลง ลดการตกค้างของสารเคมีในสภาพแวดล้อม และเป็นการอนุรักษ์แมลงศัตรูธรรมชาติ แต่ชีวภัณฑ์บางอย่างมีราคาค่อนข้างแพง จากการทดสอบการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดตามรูปแบบข้างต้นควรใช้ชีวภัณฑ์เมื่อการระบาดอยู่ในระดับไม่รุนแรง จึงจะสามารถควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ และยังสามารถประหยัดต้นทุนในการใช้ชีวภัณฑ์อีกด้วย FAO (2019a) กล่าวว่า ในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดต้องใช้หลายๆ วิธีร่วมกัน ตามหลักการบริหารศัตรูพืช (Integrated Pest Management) เช่น ใช้วิธีเขตกรรม ไถพรวนกำจัดดักแด้ในดิน หมั่นสำรวจแปลง ประเมินการเข้าทำลายด้วยการสุ่มตรวจนับการเข้าทำลาย การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดชนิดต่างๆ โดยการพ่นทางใบ การใช้เชื้อจุลินทรีย์ การใช้ศัตรูธรรมชาติ เช่น ตัวห้ำ ตัวเบียน เป็นต้น

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด เปรียบเทียบกับการใช้วิธีปฏิบัติของเกษตรกร ในปีที่ 1 และ 2 พบว่าหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดลงทำลายข้าวโพดตั้งแต่ 7 วันหลังงอก โดยในปีที่ 1 การระบาดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดอยู่ในระดับรุนแรง (63.00%) ส่วนปีที่ 2 พบการระบาด 30.67 เปอร์เซ็นต์ ได้ทำการทดสอบรูปแบบการใช้ชีวภัณฑ์โดยเมื่อพบหนอนวัย 1-3 ใช้บีทีสายพันธุ์ *aizawai* ในอัตรา 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร เมื่อพบหนอนวัย 4-6 ใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* อัตรา 50 ล้านตัว/น้ำ 20 ลิตร และใช้มวนพิฆาต อัตรา 500 ตัว/ไร่ เมื่อต้นข้าวโพดอายุ 28-30 วันขึ้นไป จากผลการทดสอบพบว่า ในปีที่ 1 รอยทำลายใบข้าวโพดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดมีแนวโน้มลดลง แต่ไม่สามารถควบคุมให้อยู่ในระดับต่ำได้ (น้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์) ส่วนปีที่ 2 สามารถควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ และได้ผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อนไม่แตกต่างกันทางสถิติกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกร ดังนั้น ในการใช้ชีวภัณฑ์ควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดควรใช้เมื่อการระบาดของหนอนไม่รุนแรง สามารถใช้เป็นทางเลือกในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้อีกวิธีหนึ่ง ซึ่งเป็นการ

ลดการตกค้างของสารเคมี และเป็นการอนุรักษ์แมลงศัตรูธรรมชาติ ทั้งนี้ การใช้ชีวภัณฑ์เพียงวิธีเดียวอาจมีต้นทุนที่สูง เกษตรกรอาจใช้ทั้งชีวภัณฑ์และเคมีและหลายๆ วิธีร่วมกันเพื่อประหยัดต้นทุนในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณผู้อำนวยศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอุทัยธานีที่ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่ในการทำแปลงทดลอง ขอขอบคุณนายสุวัฒน์ พูลพาน นางสุภาพร สุขโต นางสาวกมลพรรณ สุขกลาง และนายกำพลศักดิ์ สุขโต ที่ช่วยปฏิบัติงานการทดลองครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

CABI. 2019. *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm). CAB International. (Online). Available: https://www.cabi.org/isc/datasheet/29810. (20 January 2019)

Davis, F.M. and W.P. Williams. 1992. Visual rating scales for screening whorl-stage corn for resistance to fall armyworm. Mississippi Agricultural and Forestry Experiment Station, *Technical Bulletin 186.* Mississippi State University, MS39762, USA.

FAO. 2018. *Briefing note on fall armyworm (FAW) in Africa*. 16 February 2018, 7 pp. (Online). Available: https://www.fao.org/3/a-bt415e.pdf. (20 January 2019)

FAO. 2019a. *First detection of Fall Armyworm on the border of Thailand*. [Online]. Available.https://www.ippc.int/en/countries/thailand/pestreports/2018/12/first-detection-of-fall-army-worm-on-the-border-of-thailand/. (25 January, 2019).

FAO. 2019b. *Integrated management of the Fall Armyworm on maize*. [Online]. Available. http://www.fao.org/3/I8665EN/i8665en.pdf. (25 January, 2019).

Prasanna, B.M., J.E. Huesing, R. Eddy and V.M. Peschke. 2018. Fall armyworm in Africa: *a guide for integrated pest management*. 109 pages. Mexico, CDMX. CIMMYT.

Townsend, G.R. and J.W. Heuberger. 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *The Plant Disease Reporter*, 27, 340-343.

**Table 1** Percent of leaf damage by fall armyworm and number of fall armyworm in baby corn at Suphan Buri field crops research center, Suphan Buri province during October – December 2023 (1st year)

| Details | Treatment | Percent leaf damage and mean number of fall armyworm | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Before treatment | After treatment every 7 days[1/ 2/] | | | | |
| | | | 1st | 2nd | 3rd | 4th | 5th |
| % leaf damage | Biopesticide Practice | 63.00 | 58.71 | 43.63 | 43.43 | 34.14 | 35.67 |
| | Famer Practice | 65.57 | 70.83 | 19.71 | 31.86 | 47.86 | 32.17 |
| | T-test | -0.785 | -0.629 | 5.965 | 2.319 | -2.816 | 0.653 |
| | | ns | ns | ** | * | ** | ns |
| No. of fall armyworm/20 plants | Biopesticide Practice | 27.00 | 15.40 | 12.60 | 6.40 | 8.60 | 1.20 |
| | Famer Practice | 45.20 | 11.40 | 4.20 | 6.80 | 6.00 | 0.60 |
| | T-test | -4.527 | 1.406 | 5.399 | -0.279 | 1.551 | 0.919 |
| | | ** | ns | ** | ns | ns | ns |

[1/] mean number of fall armyworm 5 plots (20 plants/plot)

[2/] statistically significant at 95%

**Table 2** Percent of leaf damage by fall armyworm and number of fall armyworm in baby corn at Uthai Thani Agricultural Research and Development Center, Uthai Thani province during June – July 2024 (2nd year)

| Details | Treatment | Percent leaf damage and mean number of fall armyworm | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Before treatment | After treatment every 7 days[1/ 2/] | | | |
| | | | 1st | 2nd | 3rd | 4th |
| % leaf damage | Biopesticide Practice | 30.67 | 30.33 | 36.14 | 28.38 | 7.29 |
| | Famer Practice | 23.75 | 16.00 | 28.50 | 21.88 | 4.14 |
| | T-test | -0.165 | 3.985 | 0.230 | 1.292 | 1.051 |
| | | ns | ** | * | ns | ns |
| No. of fall armyworm/20 plants | Biopesticide Practice | 7.60 | 6.20 | 7.40 | 0.80 | 0.20 |
| | Famer Practice | 7.40 | 3.80 | 5.80 | 2.00 | 0.00 |
| | T-test | -0.423 | 1.825 | 0.120 | -1.666 | 1.000 |
| | | ns | ns | ns | ns | ns |

[1/] mean number of fall armyworm 5 plots (20 plants/plot)

[2/] statistically significant at 95%

**Table 3** Mean number of natural enemies in baby corn at Suphan Buri field crops research center, Suphan Buri province during October – December 2023 (1st year)

| Treatment | Mean number of natural enemies | | | | | | Natural enemies |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Before treatment | After treatment every 7 days | | | | | |
| | | 1st | 2nd | 3rd | 4th | 5th | |
| Biopesticide Practice | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.40 | 0.60 | 5.00 | earwigs |
| | 0.00 | 0.00 | 1.20 | 0.20 | 0.20 | 0.40 | ladybird |
| | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.20 | 0.60 | stink bugs |
| Famer Practice | 0.00 | 0.00 | 0.40 | 0.40 | 2.00 | 3.40 | earwigs |
| | 0.00 | 0.20 | 1.40 | 0.00 | 0.40 | 0.60 | ladybird |
| | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | stink bugs |

**Table 4** Mean number of natural enemies in baby corn at Uthai Thani Agricultural Research and Development Center, Uthai Thani province during June – July 2024 (2nd year)

| Treatment | Mean number of natural enemies | | | | | Natural enemies |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Before treatment | After treatment every 7 days | | | | |
| | | 1st | 2nd | 3rd | 4th | |
| Biopesticide Practice | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.25 | 0.00 | earwigs |
| | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.40 | 0.00 | ladybird |
| Famer Practice | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | earwigs |
| | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.20 | 0.00 | ladybird |

**Table 5** Yield of baby corn from the treated field trial at Suphan Buri field crops research center, Suphan Buri province during October – December 2023 (1st year)

| Treatment | Yield of baby corn[1/ 2/] | | |
|---|---|---|---|
| | Rating ear damage | Weight before remove husk (Kg) | Weight after remove husk (Kg) |
| Biopesticide practice | 1 (no damage) | 1.058 | 0.229 |
| Farmer practice | 1 (no damage) | 1.059 | 0.214 |
| T-test | | -0.029 | 1.832 |
| | | ns | ns |

[1/] mean weight of corn ear from first ear of each 20 corn plants/plot (5 plots)

[2/] statistically significant at 95%

**Table 6** Yield of baby corn from the treated field trial at Uthai Thani Agricultural Research and Development Center, Uthai Thani province during June – July 2024 (2nd year)

| Treatment | Yield of baby corn[1/ 2/] | | |
|---|---|---|---|
| | Rating ear damage | Weight before remove husk (Kg) | Weight after remove husk (Kg) |
| Biopesticide practice | 1 (no damage) | 1.037 | 0.184 |
| Farmer practice | 1 (no damage) | 1.003 | 0.193 |
| T-test | | 1.569 | -1.767 |
| | | ns | ns |

[1/] mean weight of corn ear from first ear of each 20 corn plants/plot (5 plots)

[2/] statistically significant at 95%

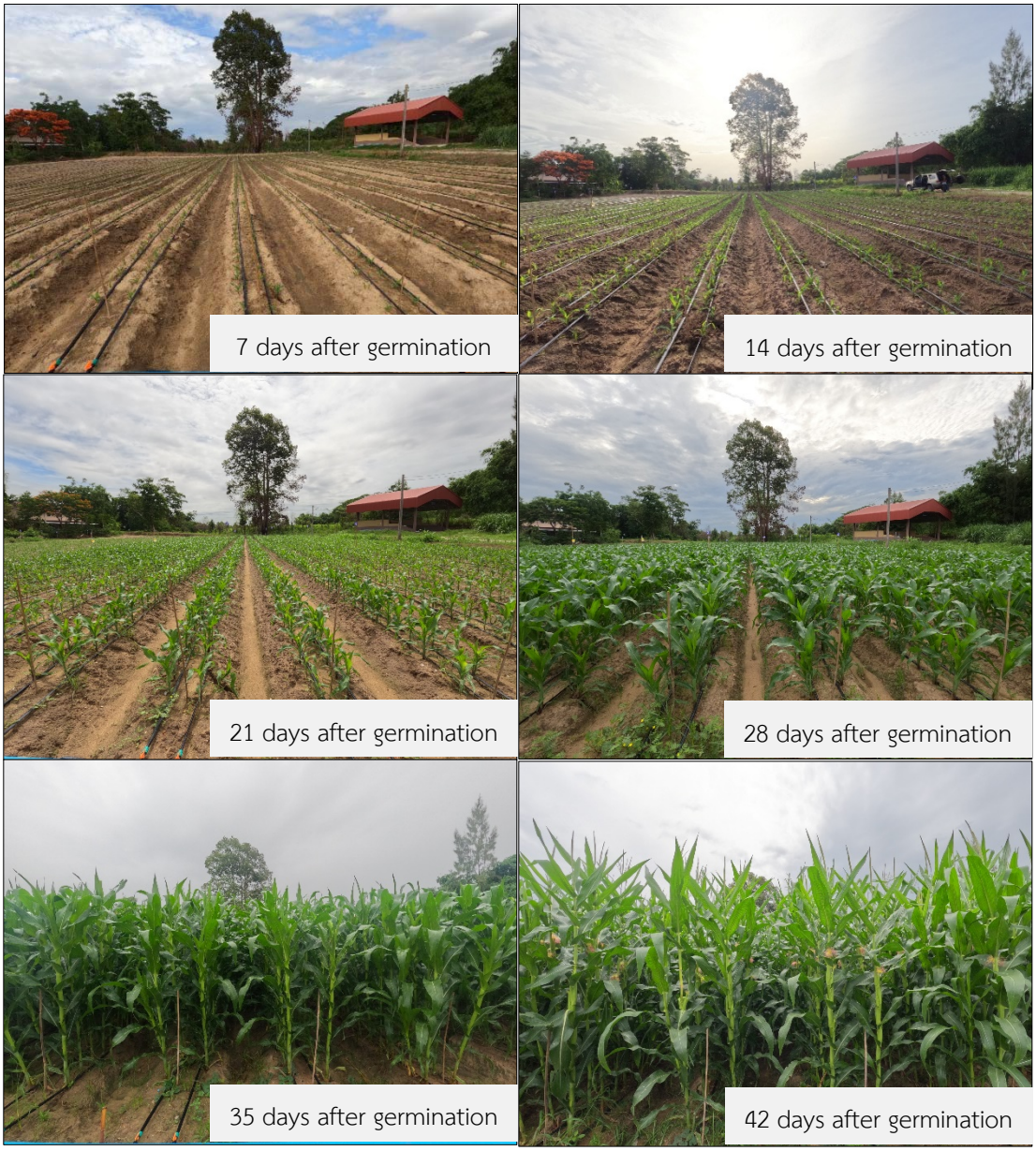



**Figure 1** The treated field trial using insect natural enemies and biopesticides for controlling fall armyworm in baby corn at Uthai Thani Agricultural Research and Development Center, Uthai Thani province during June – July 2024 (2nd year)

**Figure 2** The treated field trial using insecticides for controlling fall armyworm in baby corn at Uthai Thani Agricultural Research and Development Center, Uthai Thani province during June – July 2024 (2nd year)

## ภาคผนวก

**ตารางภาคผนวกที่ 1** ต้นทุนการผลิตของแปลงทดสอบแมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในแปลงข้าวโพดฝักอ่อน ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอุทัยธานี จ.อุทัยธานี ระหว่างเดือนมิถุนายน - เดือนกรกฎาคม 2567 (ปีที่ 2)

| รายการ | บาท/ไร่ | รายละเอียด |
|---|---|---|
| **ค่าแรง** | | |
| -ค่าเตรียมพื้นที่ไถดะ | 500 | -ไถดะ ไร่ละ 500 บาท/ไร่ |
| -ค่าไถแปร | 500 | -ไถแปร ไร่ละ 500 บาท/ไร่ |
| -ค่ายกร่อง | 500 | -ค่ายกร่อง ไร่ละ 500 บาท/ไร่ |
| -ค่าปลูก | 300 | -ค่าปลูกหยอดเมล็ด (300 บาท/ไร่) |
| -ค่าใส่ปุ๋ย | 300 | -ค่าใส่ปุ๋ย 3 ครั้ง (100 บาท/ไร่) |
| | 100 | -ค่าพ่นปุ๋ยทางใบ 1 ครั้ง |
| -ค่าพ่นชีวภัณฑ์ | 300 | -ค่าจ้างพ่นชีวภัณฑ์ (100 บาท/ไร่)<br>(พ่นบีที 2 ครั้ง, พ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 1 ครั้ง) |
| -ค่าพ่นสารเคมีกำจัดโรค, วัชพืช | 400 | -ค่าจ้างพ่นสารเคมี พ่น 4 ครั้ง (100 บาท/ไร่) |
| -ค่าเก็บเกี่ยว | 900 | -ค่าจ้างเก็บเกี่ยวผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อน ไร่ละ 300 บาท<br>(เก็บเกี่ยว 3 ครั้ง) |
| **ค่าวัสดุ** | | |
| -เมล็ดพันธุ์ | 1,289 | -เมล็ดข้าวโพดฝักอ่อน แปซิฟิก 571 ราคา 1,289 บาท/5 กิโลกรัม<br>(ใช้ 5 กิโลกรัม/ไร่) |
| -ชีวภัณฑ์บีที<br>*Bacillus thuringiensis* | 704 | -พ่นบีที พ่นอัตรา 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร/ไร่ ราคาบีทีกระป๋องละ<br>550 บาท/500 กรัม พ่น 2 ครั้ง |
| -ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง<br>*Steinernema carpocapsae* | 900 | -พ่นไส้เดือนฝอย อัตรา 300 ล้านตัว/น้ำ 120 ลิตร/ไร่ ราคาไส้เดือนฝอย 50 ล้านตัว/150 บาท พ่น 1 ครั้ง |
| -ปุ๋ยเคมี 46-0-0 | 392.5 | -ปุ๋ย 46-0-0 ราคา 785 บาท/50 กิโลกรัม<br>ครั้งที่ 1 25 กิโลกรัม |
| -ปุ๋ยเคมี 15-15-15 | 2,100 | -ปุ๋ย 15-15-15 ราคา 1,050 บาท/50 กิโลกรัม<br>ครั้งที่ 1 ใส่ปุ๋ยพร้อมหยอดเมล็ด 50 กิโลกรัม<br>ครั้งที่ 2 ใส่ปุ๋ย 50 กิโลกรัม |
| -ปุ๋ยทางใบ | 1.32 | -พ่นทางใบธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริม ราคา 55 บาท/500 กรัม ใช้อัตรา 3 กรัม/น้ำ 20 ลิตร พ่น 1 ครั้ง |
| -ค่าสารเคมีกำจัดเพลี้ยไฟ | 64 | -imidacloprid 70% WG อัตรา 4 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ราคา 200 บาท/100 กรัม พ่น 2 ครั้ง |
| -ค่าสารเคมีกำจัดวัชพืช | 128 | -acetochlor 50% W/V EC อัตรา 100 มล./น้ำ 20 ลิตร ราคา 320 บาท/ลิตร พ่น 1 ครั้ง |
| -ค่าสารเคมีกำจัดโรคพืช | 76.8 | -dimethomorph 50% W/V SC อัตรา 12 มล./น้ำ 20 ลิตร ราคา 800 บาท/500 มล. พ่น 1 ครั้ง |
| **รวมต้นทุนทั้งหมด** | **9,455.62** | |

**ตารางภาคผนวกที่ 2** ต้นทุนการผลิตของแปลงทดสอบตามวิธีปฏิบัติของเกษตรกรในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในแปลงข้าวโพดฝักอ่อน ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอุทัยธานี จ.อุทัยธานี ระหว่างเดือนมิถุนายน - เดือนกรกฎาคม 2567 (ปีที่ 2)

| รายการ | บาท/ไร่ | รายละเอียด |
|---|---|---|
| **ค่าแรง** | | |
| -เตรียมพื้นที่ไถดะ | 500 | -ไถดะ ไร่ละ 500 บาท/ไร่ |
| -ไถแปร | 500 | -ไถแปร ไร่ละ 500 บาท/ไร่ |
| -ค่ายกร่อง | 500 | -ค่ายกร่อง ไร่ละ 500 บาท/ไร่ |
| -ค่าปลูก | 300 | -ค่าปลูกหยอดเมล็ด (300 บาท/ไร่) |
| -ค่าใส่ปุ๋ย | 300 | -ค่าใส่ปุ๋ย 3 ครั้ง (100 บาท/ไร่) |
| | 100 | -ค่าพ่นปุ๋ยทางใบ 1 ครั้ง |
| -ค่าพ่นสารกำจัดแมลง,โรคพืช,วัชพืช | 700 | -ค่าจ้างพ่นสารเคมี 7 ครั้ง (100 บาท/ไร่) |
| -ค่าเก็บเกี่ยว | 900 | -ค่าจ้างเก็บเกี่ยวผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อน ไร่ละ 300 บาท (เก็บเกี่ยว 3 ครั้ง) |
| **ค่าวัสดุ** | | |
| -เมล็ดพันธุ์ | 1,289 | -เมล็ดข้าวโพดฝักอ่อน แปซิฟิก 571 ราคา 1,289 บาท/5 กิโลกรัม (ใช้ 5 กิโลกรัม/ไร่) |
| **-สารเคมีป้องกันกำจัดแมลง** | | |
| - emamectin benzoate 5% WG | 136 | - emamectin benzoate 5% WG ใช้อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ราคา 85 บาท/100 กรัม พ่น 2 ครั้ง |
| - imidacloprid 70% WG | 64 | - imidacloprid 70% WG อัตรา 4 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ราคา 200 บาท/100 กรัม พ่น 2 ครั้ง |
| - chlorantraniliprole 5.17% W/V SC | 254 | - chlorantraniliprole 5.17% W/V SC อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร ราคา 1,059 บาท/500 cc พ่น 2 ครั้ง |
| **-สารเคมีกำจัดวัชพืช** | | |
| - acetochlor 50% W/V EC | 128 | - acetochlor 50% W/V EC อัตรา 100 มล./น้ำ 20 ลิตร ราคา 320 บาท/ลิตร พ่น 1 ครั้ง |
| **-สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช** | | |
| - dimethomorph 50% W/V SC | 76.8 | - dimethomorph 50% W/V SC อัตรา 12 cc/น้ำ 20 ลิตร ราคา 800 บาท/500 มล. พ่น 1 ครั้ง |
| - difenoconazole 12.5% + azoxystrobin 20% W/V | 75.12 | - difenoconazole 12.5% + azoxystrobin 20% W/V อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร ราคา 939 บาท/500 มล. พ่น 2 ครั้ง |
| -ปุ๋ยเคมี 46-0-0 | 392.5 | -ปุ๋ย 46-0-0 ราคา 785 บาท/50 กิโลกรัม ครั้งที่ 1 25 กิโลกรัม |
| -ปุ๋ยเคมี 15-15-15 | 2,100 | -ปุ๋ย 15-15-15 ราคา 1,050 บาท/50 กิโลกรัม ครั้งที่ 1 ใส่ปุ๋ยพร้อมหยอดเมล็ด 50 กิโลกรัม ครั้งที่ 2 ใส่ปุ๋ย 50 กิโลกรัม |
| -ปุ๋ยทางใบ | 1.32 | -พ่นทางใบธาตุอาหารรอง ธาตุอาหารเสริม ราคา 55 บาท/500 กรัม ใช้อัตรา 3 กรัม/น้ำ 20 ลิตร พ่น 1 ครั้ง |
| **รวมต้นทุนทั้งหมด** | **8,316.74** | |

**ตารางภาคผนวกที่ 3** ผลผลิต รายได้ ต้นทุนการผลิตและกำไรของแปลงทดสอบชีวภัณฑ์และแปลงทดสอบตามวิธีปฏิบัติของเกษตรกรในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอุทัยธานี จ.อุทัยธานี ระหว่างเดือนมิถุนายน - เดือนกรกฎาคม 2567 (ปีที่ 2

| รายการ | การใช้ชีวภัณฑ์ | วิธีปฏิบัติของเกษตรกร |
|---|---|---|
| ผลผลิต (กิโลกรัม/ไร่) | 401 | 421 |
| รายได้ (บาท/ไร่) | 13,702 | 14,386 |
| ต้นทุนการผลิต (บาท/ไร่) | 9,456 | 8,317 |
| กำไร (บาท/ไร่) | 4,246 | 6,069 |

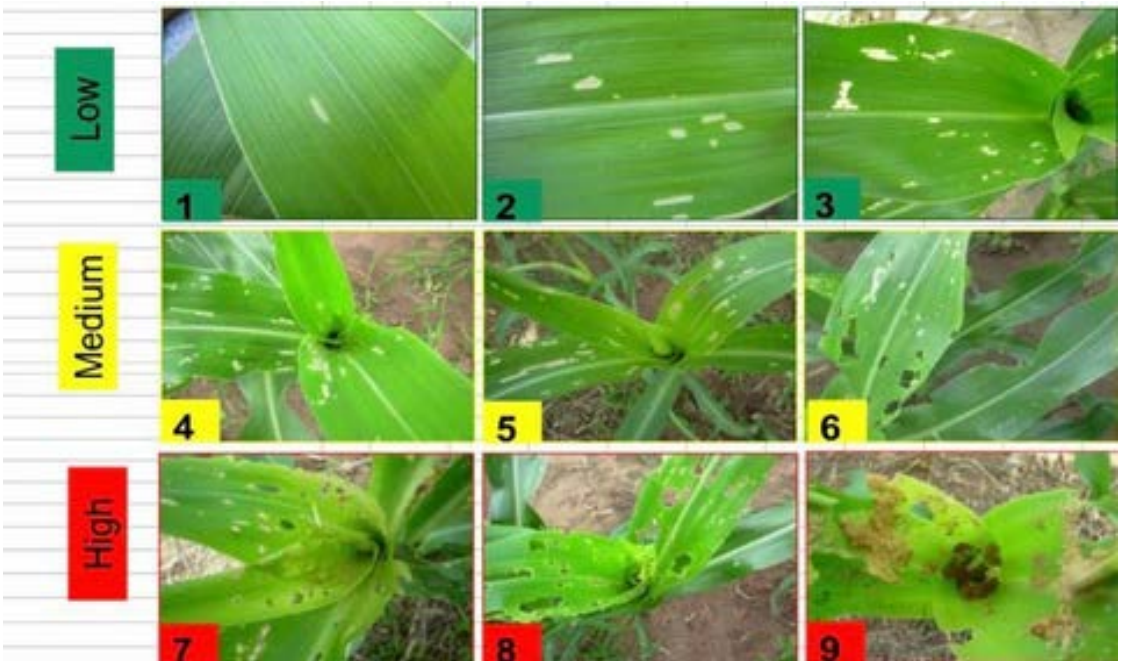
**หมายเหตุ** ราคาขายข้าวโพดฝักอ่อน 34.17 บาท/กิโลกรัม (ราคาตลาดไท 50 บาท/กิโลกรัม ณ กรกฎาคม 2567)

**ผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อน**

**ภาพที่ 1** ผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อนของแปลงทดสอบแมลงศัตรูธรรมชาติร่วมกับชีวภัณฑ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในแปลงข้าวโพดฝักอ่อน ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอุทัยธานี จ.อุทัยธานี ระหว่างเดือนมิถุนายน - เดือนกรกฎาคม 2567 (ปีที่ 2)

**ภาพที่ 2** ผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อนของแปลงทดสอบตามวิธีปฏิบัติของเกษตรกรในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในแปลงข้าวโพดฝักอ่อน ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอุทัยธานี จ.อุทัยธานี ระหว่างเดือนมิถุนายน - เดือนกรกฎาคม 2567 (ปีที่ 2)

**วิธีการประเมินระดับการทำลายใบข้าวโพดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลาย**
**โดยให้คะแนน 0-9 (Davis and Williams, 1992)**




ระดับความเสียหายของใบข้าวโพด

| | |
|---|---|
| ระดับ 0 | ไม่พบร่องรอยการทำลาย |
| ระดับ 1 | พบร่องรอยทำลายเป็นรูเล็กๆ |
| ระดับ 2 | พบร่องรอยทำลายเป็นรูเล็กๆ และรูกลมๆขนาดใหญ่ขึ้น |
| ระดับ 3 | พบร่องรอยทำลายเป็นรูเล็กๆ และมีแผลกลมจำนวนเล็กน้อย รวมถึงรอยแทะบนผิวใบยาวเป็นขีด ขนาดยาวไม่เกิน 1.3 เซนติเมตร |
| ระดับ 4 | พบรอยแทะบนผิวใบยาวเป็นขีด ขนาดยาว 1.3 – 2.5 เซนติเมตร จำนวนเพิ่มมากขึ้น |
| ระดับ 5 | พบรอยแทะบนผิวใบยาวเป็นขีด ขนาดยาวมากกว่า 2.5 เซนติเมตร ขึ้นไปจำนวนเล็กน้อย และเริ่มมีรอยกัดกินทะลุเนื้อใบ |
| ระดับ 6 | พบทั้งรอยแทะบนผิวใบยาวเป็นขีด และรอยกัดกินทะลุเนื้อใบขนาดใหญ่เพิ่มมากขึ้น รอยกัดกินมีรูปร่างที่ไม่แน่นอน |
| ระดับ 7 | พบรอยแทะบนผิวใบยาวเป็นขีดทุกขนาดเป็นจำนวนมาก และพบรอยกัดกินทะลุเนื้อใบขนาดใหญ่เพิ่มมากขึ้น รอยกัดกินมีรูปร่างที่ไม่แน่นอน |
| ระดับ 8 | พบทั้งรอยแทะบนผิวใบเป็นขีดยาวทุกขนาดจำนวนมาก และพบรอยกัดกินทะลุเนื้อใบขนาดกลางและใหญ่เกือบหมดทั้งใบ |
| ระดับ 9 | ใบถูกทำลายเกือบทั้งหมด |

ระดับความรุนแรงความเสียหายของใบข้าวโพด

| | |
|---|---|
| ระดับ 0-4 | ระดับเล็กน้อย (พบรอยทำลายที่ใบเล็กน้อย รอยขีดยาวไม่เกิน 2.5 ซม.) |
| ระดับ 5-7 | ระดับปานกลาง (พบรอยแทะผิวใบเป็นขีดยาวเกิน 2.5 ซม. และทะลุเป็นรูรูปร่างไม่แน่นอน) |
| ระดับ 8-9 | ระดับรุนแรง (พบรอยแทะผิวใบเป็นขีดยาวทุกขนาดจำนวนมาก และทะลุเป็นรูเกือบหมดทั้งใบ) |

ระดับความเสียหายของฝักข้าวโพด

| | |
|---|---|
| ระดับ 1 | ไม่พบการทำลายที่ฝัก |
| ระดับ 2 | ปลายฝักพบรอยทำลาย 1-3 ฝัก |
| ระดับ 3 | ปลายฝักพบรอยทำลาย 4-7 ฝัก |
| ระดับ 4 | พบรอยทำลายที่ปลายฝัก 7 ฝักหรือมากกว่า และพบรอยทำลาย 1-3 เมล็ดจากปลายฝัก 1-3 ฝัก |
| ระดับ 5 | พบรอยทำลายที่ปลายฝัก 7 ฝักหรือมากกว่า และพบรอยทำลาย 1-3 เมล็ดจากปลายฝัก 4-6 ฝัก |
| ระดับ 6 | พบรอยทำลายที่ปลายฝัก 7-10 ฝัก และพบรอยทำลาย 1-4 เมล็ดจากปลายฝัก 7-10 ฝัก |
| ระดับ 7 | พบรอยทำลายที่ปลายฝัก 7-10 ฝัก และพบรอยทำลาย 4-6 เมล็ด จาก 7-8 ฝัก |
| ระดับ 8 | พบรอยทำลายที่ปลายฝักทุกฝัก และพบรอยทำลาย 4-6 เมล็ด จาก 7-8 ฝัก |
| ระดับ 9 | พบรอยทำลายที่ปลายฝักทุกฝัก และพบรอยทำลาย 5 เมล็ด หรือมากกว่า จาก 9-10 ฝัก |

ระดับความรุนแรงความเสียหายของฝักข้าวโพด

| | |
|---|---|
| ระดับ 1-4 | ระดับเล็กน้อย (ไม่พบรอยทำลาย-พบรอยทำลายที่ปลายฝัก 7 ฝัก และเมล็ด 1-3 เมล็ด จาก 1-3 ฝัก) |
| ระดับ 5-7 | ระดับปานกลาง (พบรอยทำลายที่ปลายฝัก 7-10 ฝัก และเมล็ด 1-6 เมล็ด จาก 4-10 ฝัก) |
| ระดับ 8-9 | ระดับรุนแรง (พบรอยทำลายที่ปลายฝักทุกฝัก และพบรอยทำลาย 4-6 เมล็ด จาก 7-10 ฝัก |

# การศึกษาชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย TR4 ในกล้วยคาเวนดิชของประเทศไทย

# The study and classification of the causal agent of TR4 wilt disease in Cavendish banana in Thailand

ชนินทร ดวงสอาด[1/] มะโนรัตน์ สุดสงวน[1/] วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ[1/] สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ[1/]
อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว[1/] ธารทิพย ภาสบุตร[1/] สุทธินี ลิขิตตระกูลรุ่ง[2/]
[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1

## Abstract

Panama disease, a tropical race 4 (TR4) disease, is the causal agent of Cavendish banana wilt, which is a major disease that causes damage to the banana industry worldwide. The fungi infect the banana plants through the roots, then the xylem, which causes the death of tissue and presents discoloration and dieback when severely infected. From the Capacity development on diagnostic and surveillance system of banana Fusarium wilt disease TCP/RAS/3619 project by FAO, the TR4 was found in Cavendish planted in Chiang Rai province, which has been declared as a pest control area. This area has been subject to pest control and eradication since 2019. No additional reports of the appearance of the TR4 fungus have been found in other areas of Thailand. The purpose of this study is to identify the current scientific name of the TR4 fungi. During October 2021 - March 2025, samples of *Fusarium* which caused wilt disease if banana were collected from the Thai Plant Pathology Herbarium, the Culture Collection of the Plant Pathology Research Group, the Plant Protection Research and Development Office, as well as the sample cultures from the TR4 pest control area. The sample cultures were tested using the specific primers to TR4. There were only *Fusarium* cultures obtained from the infected Cavendish planted in the pest control area that tested positive for TR4. Ten isolates of positive TR4 samples were identified using phylogenetic reconstruction with the dataset of the translation elongation factor 1-alpha (*tef1*) and RNA polymerase II subunit B (*rpb2*). It was found that the *Fusarium* obtained from the wilted Cavendish collected from

รหัสการทดลอง FF65-55-07-65-02-01-65

the pest control area, which was eradicated, agreed with the same clade as *F. odoratissimum*. *Fusarium odoratissimum* is the current scientific name of TR4. The results of this study are beneficial to taxonomic work in the current classification of species. Including supporting the determination of guidelines for prevention, elimination, plant breeding, and also potential for plant quarantine work and negotiating agricultural products according to sanitary and phytosanitary measures.

**Keywords :** Panama disease TR4, identification, Cavendish banana

**บทคัดย่อ**

โรคปานามาสายพันธุ์ tropical race 4 สาเหตุของโรคเหี่ยวหรือตายพรายของกล้วยคาเวนดิช เป็นโรคที่สำคัญที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่ออุตสาหกรรมผลิตกล้วยทั่วโลก เชื้อราเข้าสู่พืชทางราก และท่อลำเลียงน้ำ ทำให้เกิดอาการเนื้อเยื่อของลำต้นเทียมตายเป็นสีน้ำตาลและลุกลามขึ้นสู่ก้านใบ และยืนต้นตายเมื่อเป็นโรคอย่างรุนแรง จาก โครงการ Capacity development on diagnostic and surveillance system of banana Fusarium wilt disease TCP/RAS/3619 โดย FAO ทำให้พบโรคปานามาสายพันธุ์ tropical race 4 ของกล้วยคาเวนดิช ในพื้นที่ จ.เชียงราย ซึ่งได้ประกาศเป็นเขตควบคุมศัตรูพืชในและพื้นที่ดังกล่าวถูกดำเนินการควบคุมและกำจัดศัตรูพืชแล้วเมื่อปี พ.ศ. 2562 โดยไม่พบรายงานการปรากฏเพิ่มเติมของเชื้อรา Foc TR4 ในพื้นที่อื่นของประเทศไทย เพื่อให้สามารถระบุชนิดหรือจำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบันของเชื้อรา Foc TR4 ที่พบด้วยวิธีการมาตรฐานและเป็นสากล ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - มีนาคม 2568 โดยรวบรวมตัวอย่างโรคตายพรายของกล้วยจากพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช และเชื้อรา *Fusarium* จากตัวอย่างโรคตายพรายกล้วยจาก Culture Collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และตัวอย่างเชื้อรา *Fusarium* จากเขตควบคุมศัตรูพืชดังกล่าว มาทดสอบด้วยไพร์เมอร์จำเพาะต่อ FocTR4 พบเพียงตัวอย่างเชื้อราจากเขตควบคุมศัตรูพืชที่ให้ผลเป็นบวก และนำตัวแทนเชื้อราจำนวน 10 ตัวอย่าง มาจำแนกชนิดด้วยข้อมูลความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยใช้ข้อมูลพันธุกรรมของยีนตำแหน่ง the translation elongation factor 1-alpha (*tef1*) และ RNA polymerase II subunit B (*rpb2*) พบว่าเชื้อรา *Fusarium* จากตัวอย่างกล้วยคาเวนดิชที่เก็บจากเขตควบคุมศัตรูพืชดังกล่าว จัดอยู่ใน clade เดียวกับเชื้อรา *Fusarium odoratissimum* ซึ่งเป็นชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบันของ Foc TR4 ผลจากการศึกษานี้เป็นประโยชน์ต่องานด้านอนุกรมวิธานในการจำแนกชนิดที่เป็นปัจจุบันต่อไป รวมถึงสนับสนุนการกำหนดแนวการการป้องกันกำจัด การปรับปรุงพันธุ์ ศักยภาพงานด้านกักกันพืช และการเจรจาสินค้าเกษตรตามมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช

**คำหลัก :** โรคตายพราย TR4, การจำแนกชนิด, กล้วยคาเวนดิช

## คำนำ

กล้วย (*Musa* spp.) เป็นพืชที่นิยมปลูกทั่วโลกโดยเฉพาะในเขตร้อนชื้น มีพื้นที่ปลูกมากกว่า 37.62 ล้านไร่ และให้ผลผลิตมากกว่า 125 ล้านตัน โดยพื้นที่ปลูกประมาณ 47 เปอร์เซ็นต์เป็นพื้นที่ปลูกกล้วยคาเวนดิช (Cavendish) (FAO, 2019) สำหรับประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกกล้วยในปี 2561-2562 ประมาณ 5 แสนไร่ พื้นที่ปลูกกว่า 68 เปอร์เซ็นต์ หรือ ประมาณ 3.28 แสนไร่ เป็นพื้นที่ปลูกกล้วยน้ำว้า รองลงมาคือกล้วยหอม กล้วยไข่ กล้วยตานี กล้วยเล็บมือนาง กล้วยหิน และมีพื้นที่ปลูกกล้วยคาเวนดิชเพียง 0.14 เปอร์เซ็นต์ หรือ 700 ไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2562; สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2562)

โรคตายพราย หรือ โรคเหี่ยวกล้วย (Panama disease หรือ Fusarium wilt) มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* หรือ Foc สามารถเข้าทำลายและก่อให้เกิดความเสียหายต่อกล้วย และพืชสกุล *Heliconia* เชื้อจะเข้าทำลายและก่อให้เกิดความเสียหายต่อระบบท่อลำเลียงของพืช การเข้าทำลายส่วนใหญ่มักจะเข้าทางราก เจริญขึ้นไปตามท่อน้ำ (xylem) เริ่มจากบริเวณกาบใบด้านนอกของส่วนลำต้น (Warman and Aitken, 2018) โรคนี้เป็นโรคที่สำคัญต่อการปลูกกล้วย ซึ่งทำความเสียหายให้กับผลผลิตกล้วยอย่างรุนแรง และเป็น soil borne สามารถคงอยู่ได้ในดินในรูแปของ chlamydospore ได้นานกว่า 20 ปี ตั้งแต่ตอนต้นศตวรรษที่ 1900 โรคตายพรายที่เกิดจากเชื้อรา Foc สายพันธุ์ race 1 ทำความเสียหายให้กับกล้วยสายพันธุ์ Gros Michel ซึ่งเป็นกล้วยที่มีความสำคัญทางการค้าในภูมิภาคลาตินอเมริกาซึ่งเป็นแหล่งปลูกกล้วยสำคัญของโลก ทำให้มีการพัฒนากล้วยพันธุ์ที่ต้านทานต่อ Foc Race 1 ขึ้น พบว่า กล้วยพันธุ์คาเวนดิช (Cavendish) สามารถทดแทน กล้วยสายพันธุ์ Gros Michel ได้และเริ่มปลูกทดแทน ในช่วงปี 1960 อย่างไรก็ตาม หลังจากนั้นต่อมา ในช่วง 20 ปีที่ผ่านมากลับพบว่า พันธุ์กล้วยต้านทานโรคอย่างคาเวนดิช ที่ปลูกในพื้นที่เขตร้อนกลับอ่อนแอและเกิดโรคตายพรายได้ ซึ่งเมื่อจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุแล้วพบว่า เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) สายพันธุ์ใหม่ที่ยังไม่เคยพบมาก่อน คือ เชื้อรา Foc Tropical Race 4 หรือ Foc TR4

สายพันธุ์ของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc)

1. *F. oxysporum* f.sp. *cubense* Race 1 เข้าทำลายกล้วยเช่น พันธุ์ Gros Michel (กล้วยหอมทองgenome type AAA) Pisang Awak (กล้วยน้ำว้า genome type ABB) เป็นต้น

2. *F. oxysporum* f.sp. *cubense* Race 2 เข้าทำลายกล้วยเช่น พันธุ์ Bluggoe (กล้วยหักมุก genome type ABB) เป็นต้น

3. *F. oxysporum* f.sp. *cubense* Race 3 เข้าทำลายพืชในกลุ่ม Heliconia species

4. *F. oxysporum* f.sp. *cubense* Race 4 เข้าทำลายกล้วยพันธุ์ Cavendish (กล้วยหอมเขียวgenome type AAA) Foc Race 4 แยกออกได้เป็น 2 strain คือ Subtropical Race 4 (Foc SR4) พบการระบาดเฉพาะในเขต subtropics และ Tropical Race 4 (Foc TR4) พบในเขต Tropics และกำลังระบาดและทำความเสียหายแก่อุตสาหกรรมการผลิตกล้วยทั่วโลกอยู่ในขณะนี้

*F. oxysporum* f.sp. *cubense* race 1 เข้าทำลายกล้วยเช่น พันธุ์ Gros Michel หรือ กล้วยหอมทองซึ่งมี genome type AAA พันธุ์ Pisang Awak หรือ กล้วยน้ำว้า genome type ABB

ในภูมิภาคเอเชีย พบรายงานครั้งแรกในปี 1980 ที่ประเทศไต้หวัน หลังจากปี 1990 เริ่มพบรายงานการแพร่ระบาดไปยังประเทศอินโดนีเซีย มาเลเซีย จีน ฟิลิปปินส์ ลาว เวียดนาม รวมถึงประเทศอื่นๆ เช่น ประเทศในแถบลาตินอเมริกา จอร์แดน โมซัมบิค ปากีสถาน เลบานอน โอมาน ในปี 1997 พบการระบาดของ Foc TR4 ที่มี vegetative compatibility group (VCG) 01213/16 ระบาดอย่างรุนแรงในรัฐ Northern Territory บริเวณเมือง Darwin ซึ่งส่งผลต่ออุตสาหกรรมการผลิตกล้วยของประเทศออสเตรเลียอย่างรุนแรง โดยไม่สามารถปลูกกล้วยคาเวนดิชบนพื้นที่ที่มีการระบาดได้อีก (Conde and Pitkethley, 2001)

การจำแนกชนิดสายพันธุ์ของ Foc ไม่สามารถใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจัดจำแนก เนื่องจากมีความแตกต่างไม่เพียงพอ อีกทั้งการจัดกลุ่ม vegetative compatibility groups หรือ VCGs ที่ออกแบบโดย Cove (1976) และ Puhalla (1985) ค่อนข้างยุ่งยากเนื่องมีข้อจำกัดมากมาย เช่น ต้องมี Foc จากแต่ละกลุ่ม VCGs เพื่อใช้ในการทดสอบซึ่งมีเพียงห้องปฏิบัติการไม่กี่แห่ง ที่มี Foc สำหรับการทดสอบ VCGs อีกทั้งการจัดจำแนกด้วย VCGs ใช้เวลาค่อนข้างนาน ทำให้ไม่ทันการณ์ต่อการตรวจสอบชนิดของเชื้อรา Foc ปัจจุบัน จึงมีผู้คิดค้นวิธีการชีวโมเลกุล โดยออกแบบไพร์เมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา Foc TR4 เพื่อให้สามารถใช้ตรวจสอบชนิดของรา Foc ได้ทันการณ์ (Bentley *et al*., 2001; Dita *et al*., 2010; Dita *et al*., 2011; Fraser-Smith *et al*., 2014)

การระบาดของโรคปานามาที่เกิดจากเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ *F. oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 (Foc TR4 หรือ TR4) เป็นศัตรูพืชชนิดร้ายแรงที่มีความสำคัญทางด้านกักกันพืช กำลังทำความเสียหายและแพร่ระบาดในพื้นที่ปลูกกล้วยคาเวนดิชในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ FAO ได้จัดทำโครงการความร่วมมือในภูมิภาคเพื่อเฝ้าระวังการแพร่กระจายและการวินิจฉัยชนิดที่ถูกต้องของเชื้อรา Foc TR4 ผลจากการดำเนินงาน พบการปรากฏของเชื้อราชนิดนี้ในแปลงผลิตกล้วยคาเวนดิช ที่อำเภอพญาเม็งราย และอำเภอเชียงของ จังหวัดเชียงราย โดยได้มีการกำหนดมาตรการเพื่อเฝ้าระวังสาเหตุและป้องกันกำจัด และได้ดำเนินการตามมาตรการเพื่อควบคุมการแพร่กระจายไปยังพื้นที่ที่ยังปลอดโรค อย่างไรก็ตามในประเทศไทยยังไม่มีการจำแนกชนิดของ Foc ที่พบเข้าทำลายกล้วยคาเวนดิช

ดังนั้นงานวิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อรา โรคปานามาสายพันธุ์ tropical race 4 ที่พบกล้วยคาเวนดิชในประเทศไทย เพื่อให้สามารถระบุชนิดหรือจำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบัน ด้วยวิธีการมาตรฐานและเป็นสากล เพื่อนำไปใช้ในการหาแนวทางป้องกันกำจัดที่ถูกต้องเหมาะสมและมีประสิทธิภาพ และเป็นข้อมูลสำคัญในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับเปิดตลาดสินค้าเกษตร การเจรจาการค้าระหว่างประเทศ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวนี้ เกษตรกร เอกชน และหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง สามารถนำเทคโนโลยี ระบบการผลิตพืชไปใช้ประโยชน์ ในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืชมีความมั่นคงด้านอาหารและพลังงานอย่างยั่งยืน

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงพลาสติก ถุงกระดาษ กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ไม้ทับตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์ ซองกระดาษสำหรับเก็บและรักษาตัวอย่าง

2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่

- เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (microcentrifuge)
- Thermal cyclers
- เครื่องเขย่า Vortex
- Tissue Lyser
- Gel electrophoresis ( gel tank เครื่องกำเนิดกระแสไฟ gel plate comb)
- เครื่องถ่ายภาพเจล
- microwave
- micropipette ขนาด 10 100 200 และ 1000 ไมโครลิตร
- กล้องจุลทรรศน์แบบ compound
- กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo
- dry heat block
- water bath

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

4. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ บิกเกอร์ ขวดดูแรน กระบอกตวง ตะเกียงแอลกอฮอล์ plate

5. สารเคมี ได้แก่

- Green Hot Start PCR Master Mix (biotechrabbit™)
- Lysing Enzymes from *Trichoderma harzianum* (Glucanex®)
- Lithium Borate buffer (LB)
- PureDireX Genomic DNA Isolation Kit
- QIAquick Gel Extraction Kit
- SERVA HiSens Stain G
- Nuclease-Free Water
- อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ potato dextrose agar (PDA)
- ไพร์เมอร์ ได้แก่

| | |
|---|---|
| FocTR4-F | CACGTTTAAGGTGCCATGAGAG (Dita *et al*., 2010) |
| FocTR4-R1 | CGCACGCCAGGACTGCCTCGTGA (Dita *et al*., 2010) |

FocTR4-R2 GCCAGGACTGCCTCGTGA (Dita *et al*., 2010)

EF-1 ATGGGTAAGGARGACAAGAC (O'Donnell *et al*., 1998)

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

RPB2-5f2 (O'Donnell *et al*., 2010)

RPB2-7cr (O'Donnell *et al*., 2010)

6. Sequence assemble programs เช่น Geneious Prime 2022

**วิธีการ**

**1. รวบรวมตัวอย่าง**

รวบรวมตัวอย่างโรคตายพราย TR4 ที่ได้จากโครงการ "Capacity development on diagnostic and surveillance system of banana *Fusarium* wilt disease (TCP/RAS/3619)" ทั้งที่เป็นตัวอย่าง เนื้อเยื่อลำต้นและ culture

**2. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช**

แยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชจากตัวอย่างเนื้อเยื่อลำต้น

แยกเชื้อราโดยวิธี tissue transplanting นำตัวอย่างส่วนของท่อน้ำท่ออาหารของต้นกล้วยที่มีสีน้ำตาลแซ่ในสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซับบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง ตัดเป็นเส้นเล็ก ๆ แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ ห้องปฏิบัติการ นาน 7-21 วัน แยกราให้บริสุทธิ์ และเลี้ยงบนอาหาร PDA

แยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชจาก culture collection

เขี่ยเส้นใยของเชื้อรามาวางลงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ ห้องปฏิบัติการ นาน 7-21 วัน

แยกเชื้อให้บริสุทธิ์

แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ โดยวิธี single spore isolation ย้ายสปอร์เดี่ยวของเชื้อรา Foc เลี้ยงลงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ ห้องปฏิบัติการ นาน 7-21 วัน หากไม่มีการปนเปื้อน สามารถดำเนินการสกัดดีเอ็นเอ เชื้อที่เจริญจากสปอร์เดี่ยว จะทำการแยกเลี้ยงบนอาหาร PDA จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

**3. สกัดดีเอ็นเอ**

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

**4. ตรวจสอบชนิดเบื้องต้นของเชื้อราสาเหตุโรคปานามาของกล้วยสายพันธุ์ tropical race 4**

ตรวจสอบชนิดเบื้องต้นของเชื้อราแต่ละไอโซเลท โดยทำ PCR ด้วยไพร์เมอร์จำเพาะ FocTR4-F/FocTR4-R2 (Dita *et al*., 2010) โดยมี EF-1/EF-2 (Czislowski *et al.*, 2017) เป็น internal control กำหนด annealing temperature ที่ 60 องศาเซลเซียส

**5. จำแนกชนิดของราโดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม**

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมาย

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่างและผ่านการตรวจชนิดเบื้องต้น มาทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายของ *Fusarium* spp. ตำแหน่ง the RNA polymerase largest subunit gene (*rpb1*) ด้วยไพร์เมอร์ ตำแหน่ง the RNA polymerase second largest subunit gene (*rpb2*) ด้วยไพร์เมอร์ RPB2-5f2/RPB2-7cr (O'Donnell *et al*., 2010) และ the translation elongation factor 1-alpha gene (*tef1*) (O'Donnell *et al*., 1998) กำหนด annealing temperature ของแต่ละตำแหน่งที่ 56 องศาเซลเซียส ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ Taq DNA Polymerase ใช้ cycling และ condition ของปฏิกิริยาตามที่ผู้ผลิตแนะนำ

การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR

ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR โดยตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ต้องการ ด้วยวิธี อิเล็กโทรโฟรีซิส (Electrophoresis) ทำการผสมผลิตภัณฑ์ PCR ด้วย loading dye และ stain ในปริมาตร 4 1 และ 1 ไมโครลิตร ตามลำดับ ผสมให้เข้ากันจากนั้นหยอดลงใน agarose gel ที่ความเข้มข้น 1% ให้ผลิตภัณฑ์ PCR เคลื่อนที่ผ่านสารละลาย Lithium Borate buffer (LB buffer) ส่งผลิตภัณฑ์ PCR ไปยัง บริษัท Macrogen Korea เพื่อทำให้ผลิตภัณฑ์ PCR บริสุทธิ์ และหาลำดับนิวคลีโอไทด์

การวิเคราะห์ และตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์

นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequence) มาทำการวิเคราะห์ โดยนำ forward sequence และ reverse sequence ที่ได้มาเปรียบเทียบเทียบกัน โดยใช้โปรแกรม Geneious Prime 2022 (http://www.geneious.com; Kearse *et al*., 2012) บันทึกข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ในรูปแบบไฟล์ชนิด fasta ทำการตรวจสอบความถูกต้องของชนิดของจุลินทรีย์ที่ทำการศึกษากับฐานข้อมูลทางพันธุกรรม เช่น GenBank, Mycobank, Fusarium MLST DATABASE และ Fusarium-ID

การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์

นำ contig ของลำดับนิวคลีโอไทด์ (consencus sequence ที่บันทึกไว้ในรูปแบบ fasta ไฟล์) มาจัดเรียง (align) ด้วยโปรแกรม MAFFT 6.611 (Katoh and Toh, 2008) จากนั้นตรวจสอบการจัดเรียง (alignment) โดยวิธี MUSCLE ในโปรแกรม the MEGA (Kumar *et al*., 2016) จากนั้นใช้โปรแกรม Gblocks (Talavera and Castresana, 2007) ทำการรวมชุดข้อมูลของดีเอ็นเอตำแหน่ง *rpb2* และ *tef1* เป็น combined dataset บันทึกชุด alignment ในรูปแบบไฟล์ .nexus หรือ .nex โดยใช้โปรแกรม Mesquite

วิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการเพื่อการจัดจำแนก

ประมวลผลและวิเคราะห์ข้อมูล ใช้สองเกณฑ์มาตรฐานคือ Maximum Likelihood และ Bayesian Inference เตรียมชุดของข้อมูลที่จะใช้ในการวิเคราะห์ในแต่ละวิธี ดังนี้

Maximum Likelihood (ML) เตรียมไฟล์ .phy ใช้โปรแกรม RAxML v8.1.15 (Stamatakis, 2014) ในการวิเคราะห์ กำหนดค่า model of evolution แบบ GTRGAMMA วิเคราะห์ด้วย rapid bootstrap (command –f a) เริ่มวิเคราะห์จาก random starting tree และ กำหนดค่า 1000 ซ้ำ สำหรับ maximum likelihood bootstrap ประมวลผลและวิเคราะห์ข้อมูล ใช้สองเกณฑ์มาตรฐานคือ Maximum Likelihood ใช้โปรแกรม RAxML v8.1.15 (Stamatakis, 2014)

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกข้อมูล DNA sequence ในรูปแบบของ FASTA ไฟล์

2. บันทึกข้อมูลของดีเอ็นเอต้นแบบ ประกอบด้วยพิกัดทางภูมิศาสตร์ วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวชนิดของตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

3. จัดเก็บดีเอ็นเอต้นแบบไว้ที่อุณหภูมิ –40 องศาเซลเซียส ณ พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2564 – มีนาคม 2568

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. การเก็บรวบรวมตัวอย่าง การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช และจำแนกชนิดเบื้องต้น**

เก็บรวบรวมตัวอย่างโรคตายพรายกล้วยจากพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช และตัวอย่าง เชื้อรา *Fusarium* จากตัวอย่างโรคตายพรายกล้วยจาก Culture Collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ตัวอย่างเชื้อรา *Fusarium* จากโครงการ Capacity development on diagnostic and surveillance system of banana Fusarium wilt disease TCP/RAS/3619 โดย FAO ซึ่งเป็นตัวอย่างจากเขตควบคุมศัตรูพืชและพื้นที่ดังกล่าวถูกดำเนินการควบคุมและกำจัดศัตรูพืชแล้วเมื่อปี พ.ศ. 2562 (FAO, 2019) โดยไม่พบรายงานการปรากฏเพิ่มเติมของเชื้อรา Foc TR4 ในพื้นที่อื่นของประเทศไทย นอกจากนี้ได้สำรวจและเก็บตัวอย่างเพิ่มเติมโดยเก็บเนื้อเยื่อสีน้ำตาลจากต้นกล้วยที่แสดงอาการโรคตายพราย และดินบริเวณรอบราก ดำเนินการแยกเชื้อจากตัวอย่าง 180 ตัวอย่าง และแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ ตรวจสอบด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าได้เชื้อรา *Fusarium* จำนวน 145 ไอโซเลท จำแนกชนิดเพิ่มเติมด้วยรูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจดูลักษณะเส้นใย conidiophore conidia ขนาด สี และโครงสร้างอื่นๆ ของเชื้อรา โดยอ้างอิงข้อมูลของ Booth (1971) และ Brayford (1992) พบว่า

เป็นเชื้อรา *F. oxysporum* จำนวน 95 ไอโซเลท และเป็น *Fusarium* spp. อื่นๆ อีก 50 ไอโซเลท เช่น *F. sonali F. incarnatum F. equiseti* และ *F. fujikuroi*

**2. การตรวจสอบชนิดเบื้องต้นของเชื้อราสาเหตุโรคปานามาของกล้วยสายพันธุ์ tropical race 4**

สกัดดีเอ็นเอของตัวอย่างที่มีลักษณะพ้องกับเชื้อรา *F. oxysporum* จำนวน 95 ตัวอย่าง มาตรวจสอบด้วยไพร์เมอร์จำเพาะ FocTR4-F/FocTR4-R2 (Dita *et al*., 2010) พบว่าได้ตัวอย่างที่ให้ผลเป็นบวกต่อไพรเมอร์จำเพาะต่อ TR4 จำนวน 10 ตัวอย่าง (Figure 1)

**3. จำแนกชนิดของราโดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม**

นำดีเอ็นเอของเชื้อรา *F. oxysporum* จำนวน 95 ตัวอย่าง มาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีนตำแหน่ง *tef1* ด้วยเทคนิค PCR และดำเนินการ sequencing นำข้อมูล sequence ที่ได้ทำการตรวจสอบ forma specialis ด้วยวิธี phylogenetic reconstruction เปรียบเทียบกับข้อมูล type sequences ของ *Fusarium* พบว่าจัดอยู่ใน forma specialis *cubense* (Foc) จำนวน 70 ไอโซเลท และมีความใกล้เคียงกับ forma specialis *melonis* และ forma specialis *lycopersici* จำนวน 25 ไอโซเลท นอกจากนี้เมื่อนำ *Fusarium* spp. ที่ได้จากการศึกษา นอกเหนือจาก *F. oxysporum* มาทำการวิเคราะห์เพิ่มเติม สามารถยืนยันได้ว่าเชื้อรา *Fusarium* spp. จำนวน 25 ไอโซเลทอื่นๆ ที่พบนั้น จัดอยู่ในกลุ่มของ *F. sonali* complex, *F. incarnatum-equiseti* complex และ *F. fujikuroi* complex (Figure 2)

จากนั้นนำดีเอ็นเอของตัวอย่างเชื้อรา Foc ซึ่งให้ผลเป็นลบเมื่อทดสอบด้วยไพร์เมอร์จำเพาะต่อ TR4 จำนวน 60 ไอโซเลท และ ดีเอ็นเอของตัวอย่างเชื้อรา Foc ที่ให้ผลเป็นบวกต่อไพรเมอร์จำเพาะต่อ TR4 จำนวน 10 ตัวอย่าง รวมจำนวน 70 ไอโซเลท มาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีนตำแหน่ง *rpb2* ด้วยเทคนิค PCR จากนั้นดำเนินการทำ sequencing นำข้อมูล sequence ที่ได้มาจัดทำเป็น concatenate dataset ของยีนตำแหน่ง the translation elongation factor 1-alpha (*tef1*) และ RNA polymerase II subunit B (*rpb2*) รวมกับ type sequence ของ *F. oxysporum* f. sp. *cubense* race ต่าง ๆ (Table 1) เพื่อจำแนกชนิดพบว่าเชื้อรา *Fusarium* จากตัวอย่างกล้วยคาเวนดิชที่เก็บจากเขตควบคุมศัตรูพืชและพื้นที่ดังกล่าวถูกดำเนินการควบคุมและกำจัดศัตรูพืชแล้วเมื่อปี พ.ศ. 2562 จัดอยู่ใน clade เดียวกับเชื้อรา *Fusarium odoratissimum* N. Maryani, L. Lombard, Kema & Crous ซึ่งเป็นชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบันของ Foc TR4 โดยตัวอย่างเชื้อรา Foc จำนวน 60 ไอโซเลทที่ให้ผลเป็นลบเมื่อทดสอบด้วยไพร์เมอร์จำเพาะต่อ TR4 นั้นจัดอยู่ในกลุ่มของ *F. oxysporum* f. sp. *cubense* race 1 (Figure 3)

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย TR4 ในกล้วยคาเวนดิชของประเทศไทย พบว่ามีเพียงตัวอย่างจากตัวอย่างกล้วยคาเวนดิชที่เก็บจากเขตควบคุมศัตรูพืชและพื้นที่ดังกล่าวถูกดำเนินการควบคุมและกำจัดศัตรูพืชแล้วเมื่อปี พ.ศ. 2562 ที่แสดงผลผลเป็นบวกเมื่อตรวจสอบเบื้องต้นด้วยไพรเมอร์จำเพาะต่อ TR4 และเมื่อจำแนกชนิดโดยละเอียดพบว่าจัดอยู่ใน clade เดียวกับ

เชื้อรา *F. odoratissimum* ซึ่งเป็นชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบันของ Foc TR4 นอกจากนี้ยังพบอีกว่าเชื้อรา Foc ที่พบว่าเป็นเชื้อสาเหตุของโรคตายพรายกล้วยในประเทศไทยจัดอยู่ใน race 1 ดังนั้นจากการศึกษาครั้งนี้สามารถเป็นข้อมูลสนับสนุนได้ว่า วิธีการตรวจสอบและจำแนกชนิดของ TR4 สามารถใช้เป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพในการตรวจติดตามและเฝ้าระวังศัตรูพืชการพบเชื้อรา TR4 หรือ *F. odoratissimum* ของประเทศ

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร. ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช ที่ให้คำแนะนำในการทดลอง ขอขอบคุณ ดร.พรพิมล อธิปัญญาคม คุณศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช อดีตผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช สมาชิก เพื่อน พี่น้อง ในกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช ที่ให้ความร่วมมือ และช่วยเหลือในการดำเนินการทดลอง และการเก็บข้อมูล รวมถึงกำลังใจที่มีให้กันเสมอมา

## เอกสารอ้างอิง

Bentley S, N.Y. Moore and J. Pattemore. 2001. *Fusarium wilt diagnostics laboratory manual*. CRC for Tropical Plant Protection, Brisbane.

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.

Cove, D.J. 1976. Chlorate toxicity in *Aspergillus nidulans*: the selection and characterization of chlorate resistant mutants. *Heredity* 36, 191-203.

Dita, M.A., C. Waalwijk, I.W. Buddenhagen, M.T. Jr Souza and G.H. Kema. 2010. A molecular diagnostic for tropical race 4 of the banana fusarium wilt pathogen. *Plant Pathololog*y 59: 348–357.

Dita, M.A., C. Waalwijk, I.W. Buddenhagen, M.T. Jr Souza and G.H. Kema. 2011. Corrigendum. *Plant Pathology* 60: 384.

Doungsa-ard, C., A.R. McTaggart, A.D.W. Geering, T.U. Dalisay, J. Ray and R.G. Shivas. 2015. *Uromycladium falcatarium* sp. nov., the cause of gall rust on *Paraserianthes falcataria* in south-east Asia. *Australasian Plant Pathology* 44: 25-30.

Fraser-Smith, S., E. Czislowski, R.A. Meldrum, M. Zander, G.R. Balali and E.A.B. Aitken. 2014. Sequence variation in the putative effector gene SIX8 facilitates

molecular differentiation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Plant Pathology* 63: 1044 –1052. doi: 10.1111/ppa.12184.

Katoh, K. and H. Toh. 2008. Recent developments in the MAFFT multiple sequence alignment program. *Briefings in Bioinformatics* 9: 286-298.

Kearse, M., R. Moir, A. Wilson, S. Stones-Havas, M. Cheung, S. Sturrock, S. Buxton, A. Cooper, S. Markowitz, C. Duran, T. Thierer, B. Ashton, P. Mentjies and A. Drummond. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics 28*(12): 1647-1649.

Kumar, S., G. Stecher and K. Tamura. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33: 1870-1874. doi: 10.1093/molbev/msw054.

Maryani N., L. Lombard, Y.S. Poerba, S. Subandiyah, P.W. Crous P.W. and G.H.J. Kema. 2019. Phylogeny and genetic diversity of the banana Fusarium wilt pathogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* in the Indonesian centre of origin. *Studies in Mycology* 92: 155-194.

O'Donnell, K., H.C. Kistler, E. Cigelnik and R.C. Ploetz. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95: 2044–2049.

O'Donnell, K., D.A. Sutton, M.G. Rinaldi MG, B.A Sarver, S.A. Balajee, H.J. Schroers, R.C. Summerbell, V.A. Robert, P.W. Crous, N. Zhang, T. Aoki, K. Jung, J. Park, Y.H. Lee, S. Kang, B. Park and D.M. Geiser. 2010. Internet-accessible DNA sequence database for identifying fusaria from human and animal infections. *Journal of Clinical Microbiology* 48(10): 3708-3718. doi: 10.1128/JCM.00989-10.

Puhalla, J.E. 1985. Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Canadian Journal of Botany* 63: 179–183.

Stamatakis, A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30: 1312-1313.

Talavera, G. and J. Castresana. 2007. Improvement of phylogenies after removing divergent and ambiguously aligned blocks from protein sequence alignments. *Systematic Biology* 56: 564-577.

Warman, N.M. and E.A.B. Aitken. 2018. The movement of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Sub-Tropical Race 4) in susceptible cultivars of banana. *Frontiers in Plant Science* 9: 1-9.

**Table 1** List of taxa for *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* used in this study

| *Fusarium* | | Accession number | GenBank number | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | *tef1* | *rpb2* | *rpb1* |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Race 1 (a) | INACC F835 | LS479764 | LS479315 | LS479567 |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Race 1 (a) | **INACC F916*** | LS479688 | LS479239 | LS479495 |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Race 1 (a) | INACC F921 | LS479694 | LS479245 | LS479500 |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Race 1 (a) | INACC F979 | LS479749 | LS479300 | LS479553 |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Race 1 (b) | **INACC F833** | LS479744 | LS479295 | LS479548 |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Race 1 (b) | InaCC F848 | LS479786 | LS479338 | LS479588 |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Race 1 (b) | InaCC F854 | LS479793 | LS479345 | LS479591 |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Race 1 (b) | InaCC F884 | LS479824 | LS479382 | LS479616 |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Race 1 (c) | **INACC F866** | LS479805 | LS479359 | na |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Race 1 (d) | **INACC F971** | LS479741 | LS479292 | LS479545 |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Race 1 (d) | INACC F844 | LS479783 | LS479334 | LS479585 |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Race 1 (e) | **INACC F886** | LS479827 | LS479385 | na |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Race 1 (e) | INACC F966 | LS479735 | LS479286 | LS479539 |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Race 1 (e) | LC13681 | MW580548 | MW474494 | MW024536 |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Race 1 (f) | **INACC F958** | LS479729 | LS479280 | LS479534 |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Race 1 (g) | **NRRL 36113** | LS479665 | LS479217 | LS479474 |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Race 2 | **INACC F984** | LS479757 | LS479308 | LS479560 |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Race 2 | INACC F983 | LS479756 | LS479307 | LS479559 |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Race 3 | CAV1788 | FJ664919 | na | na |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Race 3 | Foc807 | KY436227 | na | na |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Race 3 | Race 3 | KC889021 | na | na |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Tropical Race 4 | **INACC F822** | LS479828 | LS479386 | LS479618 |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Tropical Race 4 | VCG 01213 | MG211817 | na | na |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Tropical Race 4 | INACC F899 | LS479842 | LS479402 | LS479632 |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Non Race | **INACC F917** | LS479690 | LS479241 | LS479497 |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Non Race | INACC F918 | LS479691 | LS479242 | na |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Non Race | INACC F922 | LS479695 | LS479246 | na |
| *F. oxysporum* f.sp. *cubense* | Non Race | **INACC F960** | LS479732 | LS479283 | LS479537 |
| *F. oxysporum* f. sp. *batatas* | | NRRL 26360 | AY527522 | na | na |
| *F. fujikuroi* | | CBS 221.76 | MN534010 | KU604255 | MW402640 |
| *F. sacchari* | | LC13681 | MW580548 | MW474494 | MW024536 |

* Type

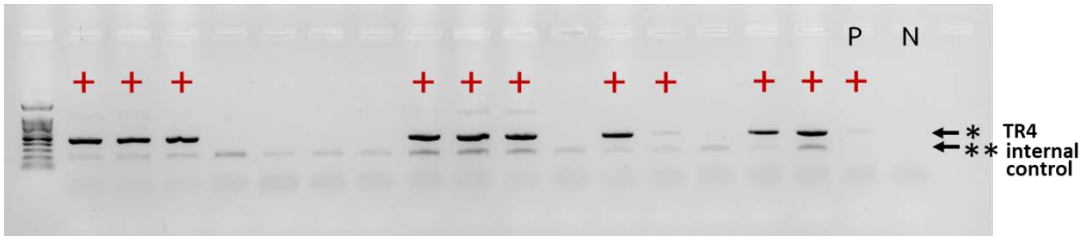



**Figure 1** DNA obtained from *Fusarium* isolates had been detected for FocTR4 with specific primers for FocTR4 (the upper bands showed specificity to FocTR4).

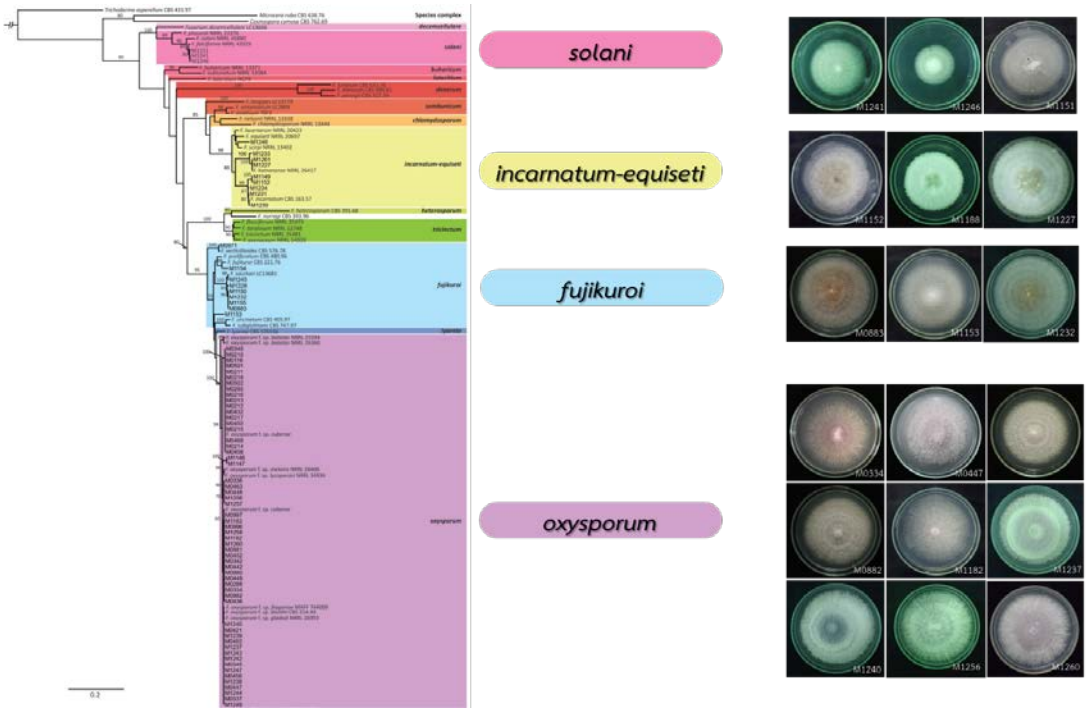



**Figure 2** Phylogram of *Fusarium* obtained in a ML search of the dataset of *tef1* locus. Bootstrap support (≥70%) values from 1000 replicates above nodes

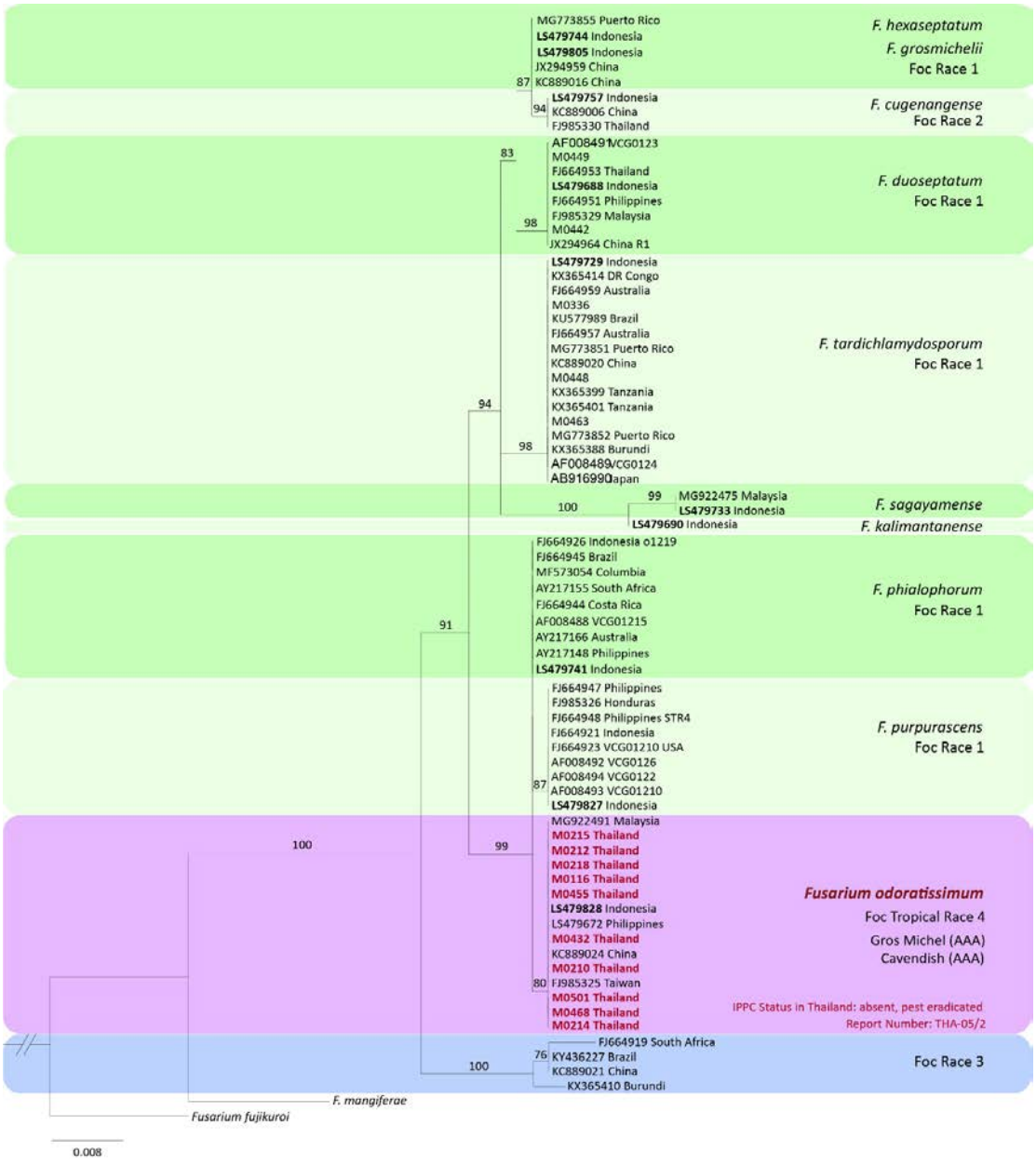



**Figure 3** Phylogram of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* obtained in a ML search of the concatenated dataset of *tef1-rpb2* loci. Bootstrap support (≥70%) values from 1000 replicates above nodes

# การตรวจสอบเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย TR4 กล้วยในประเทศไทยด้วยเทคนิค *SIX* genes

# Detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* TR4 Causing Panama Diseases in Thailand by *SIX* Genes Technique

**วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ[1/] ชนินทร ดวงสอาด[1/] มะโนรัตน์ สุดสงวน[1/] สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ[1/]**
**อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว[1/] สุทธินี ลิขิตตระกูลรุ่ง[2/]**
**[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
**[2/]กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1**

## Abstract

*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), causes banana Fusarium wilt, also known as Panama disease. This pathogen poses a significant threat to the global banana industry. Diagnosis of Foc based solely on morphological characteristics is insufficient; therefore, a molecular diagnostic assay must also be employed. This study aimed to detect the causal fungus of Fusarium wilt in bananas in Thailand based on conventional PCR targeting the secreted in xylem (*SIX*) gene. A total of 72 fungal isolates were obtained from banana stem tissue specimens and Foc cultures from the Capacity Development on Diagnostic and Surveillance System of Banana Fusarium Wilt Disease (TCP/RAS/3619) project and Foc cultures from the Plant Pathology Research Group, Department of Agriculture. The results revealed 30 isolates of Foc tropical race 4, 39 isolates of Foc race 1, and 3 isolates of Foc non-race. This detection method allows for rapid, effective, and accurate identification of the banana Fusarium wilt pathogen at the race level. This diagnostic procedure is the best option for monitoring the banana Fusarium wilt pathogen for pest management and supporting quarantine strategies.

**Keywords :** Banana, Panama disease, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, *SIX* gene, TR4

รหัสการทดลอง FF65-55-07-65-02-02-65

## บทคัดย่อ

โรคเหี่ยวกล้วย หรือ โรคตายพราย (Fusarium wilt หรือ Panama disease) มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) พบทำความเสียหายต่อพื้นที่ปลูกกล้วยทั่วโลก ในการระบุชนิดของเชื้อรา Foc หากใช้ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวยังไม่เพียงพอในการระบุชนิด จึงต้องมีการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลร่วมด้วย การศึกษาครั้งนี้จึงดำเนินการทดสอบวิธีการตรวจสอบเชื้อราสาเหตุโรคตายพรายของกล้วยในประเทศไทยด้วยเทคนิค *SIX* genes โดยรวบรวมเชื้อราที่แยกจากตัวอย่างเนื้อเยื่อลำต้น และ Foc culture collection จากโครงการ “Capacity development on diagnostic and surveillance system of banana Fusarium wilt disease (TCP/RAS/3619)” และ Foc culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร ได้เชื้อรา *Fusarium* spp. รวมจำนวน 72 ไอโซเลท เมื่อนำมาตรวจสอบด้วยเทคนิค *SIX* genes พบว่าเป็นเชื้อรา Foc tropical race 4 จำนวน 30 ไอโซเลท Foc race1 จำนวน 39 ไอโซเลท และ Foc non-race จำนวน 3 ไอโซเลท โดยวิธีการตรวจสอบดังกล่าวสามารถให้ผลการตรวจสอบเชื้อราสาเหตุโรคตายพรายในระดับ race ที่รวดเร็ว มีประสิทธิภาพ และแม่นยำ ซึ่งจะช่วยให้สามารถวางแนวทางการป้องกันกำจัดโรคได้อย่างถูกต้อง ในกรณีที่เกิดสถานการณ์การแพร่ระบาดของโรคตายพรายในประเทศไทย อีกทั้งยังช่วยสนับสนุนงานด้านการกักกันพืชและการเจรจาการค้าระหว่างประเทศ


**คำหลัก :** กล้วย, โรคตายพราย, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, *SIX* gene, TR4

## คำนำ

โรคตายพราย หรือ โรคเหี่ยวกล้วย (Panama disease หรือ Fusarium wilt) มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) โดยเฉพาะเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 (TR4) เป็นศัตรูพืชชนิดร้ายแรงและทำความเสียหายต่อพื้นที่ปลูกกล้วยทั่วโลก เชื้อราชนิดนี้มีต้นกำเนิดจากแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ปัจจุบันกำลังแพร่ระบาดและทำความเสียหายแก่พื้นที่ปลูกกล้วยคาเวนดิชของประเทศจีน ฟิลิปปินส์ และเริ่มพบรายงานในประเทศลาว พม่า และเวียดนาม โดยทำให้เกิดอาการเหี่ยวอย่างรุนแรงและยืนต้นตาย สร้างความเสียหายมูลค่านับหมื่นล้านบาทต่อการผลิตกล้วยหอมเขียวหรือกล้วยคาเวนดิช หลังจากพบต้นที่เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อรา Foc TR4 เพียงต้นเดียว เชื้อสามารถลุกลามและทำลายต้นกล้วยหอมเขียวในพื้นที่ขนาดหลายพันไร่ในเวลาเพียง 2-3 ปี และทำให้พื้นที่นั้นไม่สามารถปลูกกล้วยคาเวนดิชได้อีกแม้จะสลับด้วยการปลูกพืชหมุนเวียน เพื่อเป็นการลดความเสียหายและความรุนแรงที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา Foc TR4 ต่ออุตสาหกรรมกล้วย FAO ได้จัดทำโครงการเพื่อทำการเฝ้าระวังการแพร่กระจายและการวินิจฉัยชนิดที่ถูกต้องของเชื้อราสาเหตุ เพื่อเฝ้าระวัง ควบคุมการระบาด การแพร่กระจายไปยังพื้นที่ที่ยังปลอดโรค ภายใต้โครงการ “Capacity development on diagnostic and surveillance system

of banana Fusarium wilt disease (TCP/RAS/3619)" เพื่อสร้างความตระหนักและเฝ้าระวัง และการเตรียมการรับมือกับการแพร่กระจายของโรคด้วยการวินิจฉัยที่ถูกต้องและการจัดการที่เหมาะสม โดยกำหนดมีเป้าหมายของการเฝ้าระวังในพื้นที่ปลูกกล้วยคาเวนดิช จากการดำเนินงานพบการปรากฏของเชื้อรา Foc TR4 ในแปลงผลิตกล้วยคาเวนดิช ที่อำเภอพญาเม็งรายและอำเภอเชียงของ จังหวัดเชียงราย โดยได้มีการกำหนดมาตรการเพื่อเฝ้าระวังและป้องกันกำจัด ซึ่งได้ดำเนินการตามมาตรการเพื่อควบคุมการแพร่กระจายไปยังพื้นที่ที่ยังปลอดโรค (กรมวิชาการเกษตร, 2562)

การจำแนกชนิดสายพันธุ์ของเชื้อรา Foc ไม่สามารถใช้เพียงลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจัดจำแนกได้ เนื่องจากมีความแตกต่างไม่เพียงพอ อีกทั้งการจัดกลุ่ม vegetative compatibility groups หรือ VCGs มีข้อจำกัด ใช้เวลาค่อนข้างนาน ในการตรวจสอบชนิดของเชื้อรา Foc ปัจจุบันสามารถตรวจสอบชนิดได้อย่างรวดเร็วโดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อรา Foc TR4 ถึงแม้การใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อ TR4 สูง แต่ยังไม่สามารถจำแนกเชื้อรา subtropical race 4 (STR4) ที่มีความใกล้เคียงกันได้ ดังนั้นจึงควรมีการพัฒนาและเพิ่มเทคนิคการตรวจสอบที่เหมาะสม

การทดลองนี้จึงดำเนินการทดสอบวิธีการตรวจสอบเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย TR4 กล้วยในประเทศไทยด้วยเทคนิค *SIX* genes วิธีการนี้จะสามารถจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุของโรคตายพรายที่เกิดจากเชื้อรา Foc race 1 STR4 และ TR4 รวมถึงเชื้อรา Foc ในกลุ่ม VCG 0121 และ VCG 0122 ได้ ซึ่งกลุ่ม VCG 0121 และ VCG 0122 เป็น Foc ที่ยังไม่มีข้อสรุปว่าจัดเป็น tropical race หรือ subtropical race 4 ซึ่งการระบุชนิดหรือจำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบัน ด้วยวิธีการมาตรฐานและเป็นสากล สามารถนำไปสู่การหาแนวทางป้องกันกำจัดที่ถูกต้องเหมาะสมและมีประสิทธิภาพ และเป็นข้อมูลสำคัญในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับเปิดตลาดสินค้าเกษตรการเจรจาการค้าระหว่างประเทศต่อไป

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงพลาสติก ถุงกระดาษ กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ไม้ทับตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์ ซองกระดาษสำหรับเก็บและรักษาตัวอย่าง

2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (centrifuge) เครื่อง Polymerase chain reaction (PCR machine) เครื่องเขย่า (vortex) เครื่อง tissue lyser gel tank เครื่องกำเนิดกระแสไฟ gel plate comb เครื่องถ่ายภาพเจล microwave micropipette ขนาด 10 100 200 และ 1000 ไมโครลิตร กล้องจุลทรรศน์แบบ compound กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ water bath และ heat block

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

4. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ บีกเกอร์ ขวดดูแรน กระบอกตวง ตะเกียงแอลกอฮอล์ plate

5. สารเคมี ได้แก่ เอนไซม์สำหรับทำปฏิกิริยา *Taq* DNA Polymerase Phusion High-Fidelity DNA Polymerase Proteinase K enzyme Lithium Borate buffer (LB) ชุดสำหรับการสกัดดีเอ็นเอ ได้แก่ Microbial DNA Isolation Kit Power Plant Isolation Kit ชุดสำหรับการสกัดเจล ชุดสำหรับทำความสะอาดดีเอ็นเอ Stain G loading dye agarose gel (PCR grade) PCR water DNA ladder อาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น potato dextrose agar (PDA) และ ไพรเมอร์ *SIX* genes (Carvalhais *et al.*, 2019) ดังนี้

SIX9_Foc_F/ SIX9_Foc_F, SIX6b_210_F/ SIX6b_210_R, SIX1a_266_F/ SIX1a_266_R, SIX8b_206_F/SIX8b_206_R, SIX10a_309_F/ SIX10a_309_R, SIX13c_343_F/ SIX13c_343_R และ EF1/EF2 (O'Donnell *et* al., 1998)

restriction digestions enzymes *Hpy*AV (New England Biolabs) และ *Eag*I (*Eco*521) (New England Biolabs)

6. Sequence assemble programs เช่น Geneious Prime 2020

**วิธีการ**

**1. รวบรวมตัวอย่าง**

รวบรวมตัวอย่างโรคตายพราย TR4 ที่ได้จากโครงการ "Capacity development on diagnostic and surveillance system of banana *Fusarium* wilt disease (TCP/RAS/3619)" ทั้งที่เป็นตัวอย่าง เนื้อเยื่อลำต้น และ culture รวมถึง Foc race 1 จากพิพิธภัณฑ์โรคพืช และ culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

**2. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช**

<u>แยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชจากตัวอย่างเนื้อเยื่อลำต้น</u>

แยกเชื้อราโดยวิธี tissue transplanting นำตัวอย่างส่วนของท่อน้ำท่ออาหารของต้นกล้วยที่มีสีน้ำตาลแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.6 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซับบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ และเลี้ยงบนอาหาร PDA

<u>แยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชจาก culture collection</u>

เขี่ยเส้นใยของเชื้อรามาวางลงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ

<u>แยกเชื้อให้บริสุทธิ์</u>

แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ โดยวิธี single spore isolation ย้ายสปอร์เดี่ยวของเชื้อรา Foc เลี้ยงลงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ หากไม่มีการปนเปื้อน สามารถดำเนินการสกัดดีเอ็นเอเชื้อราที่เจริญจากสปอร์เดี่ยว เก็บรักษาเชื้อราโดยเลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

**3. สกัดดีเอ็นเอ**

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

**4. ตรวจสอบชนิดเบื้องต้นของเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย TR4**

ตรวจสอบชนิดเบื้องต้นของเชื้อราแต่ละไอโซเลท โดยทำ PCR ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ FocTR4-F/FocTR4-R2 (Dita *et al*., 2010) โดยมี EF-1/EF-2 (O'Donnell *et* al., 1998) เป็น internal control

**5. จำแนกชนิดของเชื้อราโดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม**

<u>เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมาย</u>

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่างของเชื้อรามาทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายของ *Fusarium* spp. ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ Taq DNA Polymerase ใช้ cycling และ condition ของปฏิกิริยาตามที่ผู้ผลิตแนะนำ โดยใช้ไพร์เมอร์จำนวน 6 คู่ สำหรับ *SIX genes* ดังนี้ SIX9_Foc_F/SIX9_Foc_F, SIX6b_210_F/ SIX6b_210_R, SIX1a_266_F/ SIX1a_266_R, SIX8b_206_F/SIX8b_206_R, SIX10a_309_F/ SIX10a_309_R และSIX13c_343_F/ SIX13c_343_R ทุกปฏิกิริยา PCR ยกเว้นปฏิกิริยาที่ต้องนำ PCR product ไปทำ restriction digestion (Carvalhais *et al.*, 2019) ใช้ the translation elongation factor 1-alpha gene (*tef1*) EF-1/EF-2 (O'Donnell *et* al., 1998) เป็น internal control (Table 1)

<u>Restriction digestions</u>

นำ PCR product ที่ได้จากยีนตำแหน่ง *SIX1* มาทำ restriction digestions ด้วย enzymes HpyAV (New England Biolabs) และ ตำแหน่ง *SIX13* ทำ restriction digestions ด้วย enzymes EagI (Eco521) (New England Biolabs) ชนิดละ 0.4 units (U) บ่มที่อุณหภูมิ 37 $^{O}$C นาน 1.5 ชั่วโมง และหยุดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

<u>การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR</u>

ตรวจสอบผลของปฏิกิริยา PCR โดยนำมาแยกขนาดด้วย agarose gel ในสารละลาย 0.5X TBE ที่ผสมสารละลาย SERVA™ DNA Stain G ด้วยเครื่อง electrophoresis ใช้ความต่างศักย์คงที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที นำไปตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสง Ultraviolet ด้วยเครื่อง UVITEC Gel Documentation Systems

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2564 – มีนาคม 2568

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**1. การรวบรวมตัวอย่างและแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืช**

รวบรวมตัวอย่างโรคตายพรายทั้งที่เป็น culture collection และตัวอย่างเนื้อเยื่อลำต้นกล้วยของกลุ่มวิจัยโรคพืชมาแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชและเลี้ยงให้บริสุทธิ์ ได้เชื้อรา จำนวน 72 ไอโซเลท เมื่อนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเป็นเชื้อรา *Fusarium* spp. (Figure 1) และสกัดดีเอ็นเอเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

**2. ตรวจสอบชนิดเบื้องต้นของเชื้อราสาเหตุโรคตายพราย TR4**

ตรวจสอบชนิดของเชื้อรา *Fusarium* spp. ทั้ง 72 ไอโซเลท ด้วยไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะ (specific primer) ต่อเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 (Foc TR4) พบว่าเชื้อรา จำนวน 30 ไอโซเลท เป็นเชื้อรา Foc TR4 (Figure 2)

**3. จำแนกชนิดของเชื้อราโดยใช้ข้อมูลพันธุกรรม**

เชื้อรา *Fusarium* spp. ทั้ง 72 ไอโซเลท นำมาจำแนกชนิดในระดับ race ด้วยเทคนิค *SIX* gene โดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีนตำแหน่ง *SIX1* ด้วยเทคนิค PCR และตรวจสอบขนาดของแถบดีเอ็นเอด้วยวิธี Electrophoresis ปรากฏแถบดีเอ็นเอของเชื้อรา *Fusarium* spp. จำนวน 30 ไอโซเลท ที่ขนาด ~266 bp (Figure 3) เมื่อนำ PCR product ของเชื้อรา *Fusarium* spp. ทั้ง 30 ไอโซเลท มาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction digestions) *HpyAV* และนำมาตรวจสอบขนาดของแถบดีเอ็นเอด้วยวิธี Electrophoresis พบว่าเอนไซม์ดังกล่าวสามารถตัดดีเอ็นเอของ PCR product ได้ โดยปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ขนาด ~124 และ 142 bp ซึ่งสามารถจำแนกชนิดในระดับ Race เป็นเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 (Figure 4)

นำเชื้อรา *Fusarium* spp. จำนวน 42 ไอโซเลท ที่ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอจากการตรวจสอบยีนตำแหน่ง *SIX1* มาทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีนตำแหน่ง *SIX6* ด้วยเทคนิค PCR เมื่อนำมาตรวจสอบขนาดของแถบดีเอ็นเอด้วยวิธี Electrophoresis ปรากฏแถบดีเอ็นเอของเชื้อรา *Fusarium* spp. จำนวน 39 ไอโซเลท ที่ขนาด ~210 bp ซึ่งสามารถจำแนกชนิดในระดับ Race เป็นเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* Race 1 (Figure 5)

เชื้อรา *Fusarium* spp. จำนวน 3 ไอโซเลท ที่ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอจากการตรวจสอบยีนตำแหน่ง *SIX1* และ *SIX6* เมื่อนำมาทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีนตำแหน่ง *SIX8* ด้วยเทคนิค PCR และตรวจสอบขนาดของแถบดีเอ็นเอด้วยวิธี Electrophoresis พบว่าเชื้อรา *Fusarium* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ขนาด ~206 bp (STR4)

เมื่อนำมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีนตำแหน่ง *SIX9/SIX10* ด้วยเทคนิค PCR ตรวจสอบขนาดของแถบดีเอ็นเอด้วยวิธี Electrophoresis พบว่าเชื้อรา *Fusarium* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ขนาด ~260 bp (All *Foc*) แต่ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ขนาด ~309 bp (R4 VCG0121) และเมื่อนำเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลท มาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีนตำแหน่ง *SIX13* ด้วยเทคนิค PCR ตรวจสอบ

ขนาดของแถบดีเอ็นเอด้วยวิธี Electrophoresis ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ขนาด ~343 bp (R4 VCG0122) จึงจำแนกชนิดในระดับ Race เป็นเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* non-race

จากการตรวจสอบเชื้อรา Foc ที่พบในประเทศไทย ด้วยเทคนิค *SIX* gene พบว่าสามารถตรวจพบเชื้อรา Foc race 1 และ TR4 และยังไม่พบเชื้อรา Foc STR4, R4 VCG0121 และ R4 VCG0122 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Somrith *et al*. (2011) ที่ได้ศึกษา Vegetative compatibility groups (VCGs) ของเชื้อรา Foc ที่เก็บตัวอย่างจาก 25 จังหวัด ครอบคลุม 5 ภาคของประเทศไทย นำมาแยกเชื้อราได้จำนวน 117 ไอโซเลท สามารถแบ่งเชื้อรา Foc ออกเป็น 6 VCGs ได้แก่ VCG 0123, VCG 0124, VCG 0125, VCG 0124/0125, VCG01218 และ VCG 01221 โดยพบ VCG 0123 มากถึง 76% นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ วนารัตน์ และคณะ (2564) ที่รวบรวมตัวอย่างกล้วยที่แสดงอาการของโรคตายพรายในพื้นที่จังหวัดสกลนคร ศรีสะเกษ สุรินทร์ นครพนม นครราชสีมา และหนองคาย แยกเชื้อราได้ จำนวน 49 ไอโซเลท เมื่อตรวจสอบด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงพบว่าเป็น Foc race 1 ทั้งหมด ขณะที่เชื้อรา Foc TR4 ยังไม่เคยมีรายงานในพื้นที่อื่นของประเทศไทยนอกเหนือจากรายงานของ กรมวิชาการเกษตร (2562) ซึ่งพบในแปลงผลิตกล้วยคาเวนดิช ที่อำเภอพญาเม็งรายและอำเภอเชียงของ จังหวัดเชียงราย ซึ่งได้ดำเนินการตามมาตรการเพื่อควบคุมการแพร่กระจายไปยังพื้นที่ที่ยังปลอดโรคจนไม่พบเชื้อราดังกล่าวเรียบร้อยแล้ว นอกจากนี้ตัวอย่างที่นำมาศึกษายังไม่พบเชื้อรา Foc R4 VCG 0121 และ 0122

อย่างไรก็ตามยังควรมีการสำรวจและตรวจสอบชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคตายพรายในประเทศไทยอย่างต่อเนื่อง เพื่อติดตามสถานการณ์การแพร่ระบาดของโรค ซึ่งจะช่วยให้สามารถวางแนวทางในการป้องกันกำจัดโรคได้อย่างทันถ่วงทีต่อไป

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการตรวจสอบเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* สาเหตุโรคตายพรายกล้วยในประเทศไทย ด้วยเทคนิค *SIX* gene พบว่าสามารถระบุชนิดของเชื้อราได้ในระดับ race ซึ่งจากการตรวจสอบเชื้อราที่แยกได้จากตัวอย่างโรคตายพราย TR4 ภายใต้โครงการ “Capacity development on diagnostic and surveillance system of banana *Fusarium* wilt disease (TCP/RAS/3619)” ทั้งที่เป็นตัวอย่าง เนื้อเยื่อลำต้น และ culture รวมถึง culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช รวมจำนวน 72 ไอโซเลท สามารถระบุชนิดของเชื้อราได้ในระดับ race ว่าเป็นเชื้อรา *Foc* tropical race 4 (TR4) จำนวน 30 ไอโซเลท Foc race1 จำนวน 39 ไอโซเลท และ Foc non-race จำนวน 3 ไอโซเลท โดยวิธีการตรวจสอบดังกล่าวสามารถให้ผลการตรวจสอบเชื้อราสาเหตุโรคตายพรายในระดับ race ที่รวดเร็ว มีประสิทธิภาพ และแม่นยำ ซึ่งจะช่วยให้สามารถวางแนวทางการป้องกันกำจัดโรคได้อย่างเหมาะสม ในกรณีที่เกิดสถานการณ์การแพร่

ระบาดของโรคตายพรายในประเทศไทย อีกทั้งข้อมูลที่ได้จากการศึกษายังช่วยสนับสนุนงานด้านการกักกันพืชและการเจรจาการค้าระหว่างประเทศต่อไป

**คำขอบคุณ**

ขอขอบคุณ ดร. ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช ดร. พรพิมล อธิปัญญาคม และคุณศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช อดีตผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช ที่ให้คำแนะนำในการทดลอง สมาชิกห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างและดำเนินการทดลอง

**เอกสารอ้างอิง**

กรมวิชาการเกษตร. 2562. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง กำหนดเขตควบคุมศัตรูพืช พ.ศ. 2562 ประกาศ ณ วันที่ 12 กรกฎาคม 2562 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 136 ตอนพิเศษ 178 ง ลงวันที่ 11 กรกฎาคม 2562.

Carvalhais, L.C., J. Henderson, V.A. Rincon-Florez, C. O'Dwyer, E. Czislowski, E.A.B. Aitken and A. Drenth. 2019. Molecular diagnostics of banana Fusarium wilt targeting secreted-in-xylem genes. *Frontiers in plant science*: 10: 547. doi: 10.3389/fpls.2019.00547.

Dita, M.A., C. Waalwijk, I.W. Buddenhagen, M.T. Jr Souza and G.H. Kema. 2010. A molecular diagnostic for tropical race 4 of the banana fusarium wilt pathogen. *Plant Pathololog*y 59: 348–357.

Doungsa-ard, C., A.R. McTaggart, A.D.W. Geering, T.U. Dalisay, J. Ray and R.G. Shivas. 2015. *Uromycladium falcatarium* sp. nov., the cause of gall rust on *Paraserianthes falcataria* in south-east Asia. *Australasian Plant Pathology* 44: 25-30.

O'Donnell, K., H.C. Kistler, E. Cigelnik and R.C. Ploetz. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95: 2044–2049.

Somrith, A., N. Singburaudom and O. Piasai. 2011. *Vegetative compatibility groups of Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Kasetsart Journal (Natural Science)* 45 : 451-460.

วนารัตน์ นาติโน ธัญญ์วนิช ธัญสิริวรรธน์ อภิเดช แสงดี ราตรี บุญเรืองรอด และประภาษ กาวิชา. 2564. การตรวจสอบความผันแปรทางพันธุกรรมของรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* สาเหตุโรคตายพรายกล้วยด้วยเครื่องหมาย ISSP. *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์* 8(2): 97-114.

**Table 1** Primers used in this study

| Gene | Primer name | Sequence (5' to 3') | Annealing Temp. | Product size (bp) | Race | Reference |
|---|---|---|---|---|---|---|
| IGS | Foc TR4-F | CACGTTTAAGGTGCCATGAGAG | 60 | 463 | TR4 | Dita *et al*. (2010) |
| | Foc TR4-R2 | GCCAGGACTGCCTCGTGA | | | | |
| *tef1* | EF-1 | ATGGGTAAGGARGACAAGAC | - | 650 | All Foc | O'Donnell *et al*. (1998) |
| | EF-2 | GGARGTACCAGTSATCATGTT | | | | |
| *SIX1a* | SIX1a_266_F | GTGACCAGAACTTGCCCACA | 55 | 266 | TR4 | Carvalhais *et al.* (2019) |
| | SIX1a_266_2_R | CTTTGATAAGCACCATCAA | | | | |
| *SIX6b* | SIX6b_210_F | ACGCTTCCCAATACCGTCTGT | 55 | 210 | R1 | Carvalhais *et al.* (2019) |
| | SIX6b_210_R | AAGTTGGTGAGTATCAATGC | | | | |
| *SIX8b* | SIX8b_206_F | GCCTGCATAACAGGTGCCGGT | 62 | 206 | STR4 | Carvalhais *et al.* (2019) |
| | SIX8b_206_R | TTCCTCACCTCACCCGGCAGGATTC | | | | |
| *SIX9a* | SIX9_Foc_F | ATCGCTGAAGCCCAGAACAA | 58 | 260 | All Foc | Carvalhais *et al.* (2019) |
| | SIX9_Foc_R | TTCTGTCCGTCGATCGTTCC | | | | |
| *SIX10a* | SIX10a_309_F | CCACTGGCACCAAAGACTTG | 58 | 309 | R4 VCG 0121 | Carvalhais *et al.* (2019) |
| | SIX10a_309_R | CGATGCGGAGTACTGGTTGA | | | | |
| *SIX13c* | SIX13c_343_F | CAGCCTCCTAGCGTCGAAAA | 57 | 343 | R4 VCG 0122 | Carvalhais *et al.* (2019) |
| | SIX13c_343_R | CCGTGATGGGGTACGTTGTA | | | | |

(-) internal control

**Figure 1** Colonies of *Fusarium* spp. on PDA (A), Specimens of banana vascular tissue (B), macroconidia and microconidia of *Fusarium* spp. (C)

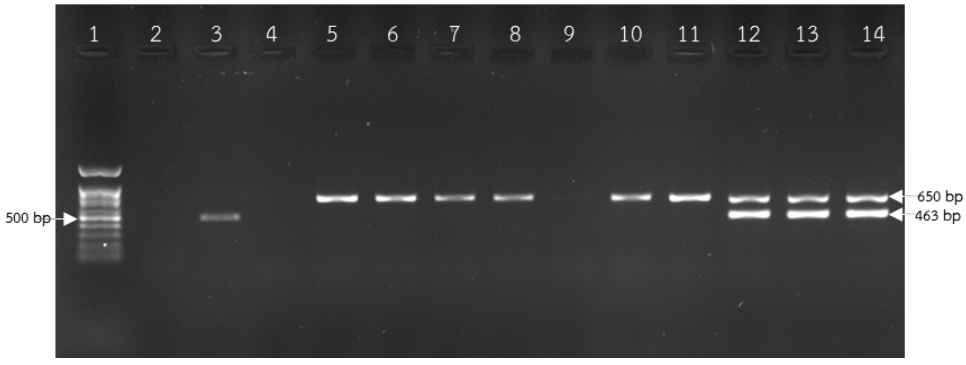



**Figure 2** PCR amplification analyses of *Fusarium* spp. isolates using a specific primer (FocTR4-F/FocTR4-R2) and internal control (EF-1/EF-2), only tropical race 4 isolates showed an amplicon of approximately 463 bp. Lane 1: 100 bp ladder, 2: $dH_2O$ (Negative control), 3: TR4 plasmid (positive control) and 4-14: banana Fusarium wilt pathogen

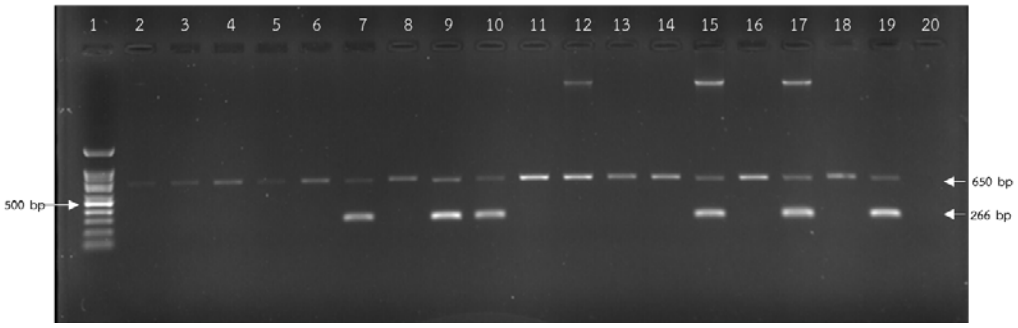



**Figure 3** PCR amplification analyses of *Fusarium* spp. isolates using primer SIX1a_266_F/SIX1a_266_2_R and internal control (EF-1/EF-2), positive showed an amplicon of approximately 266 bp. Lane 1: 100 bp ladder, 2-19: banana Fusarium wilt pathogen and 20: $dH_2O$ (Negative control)

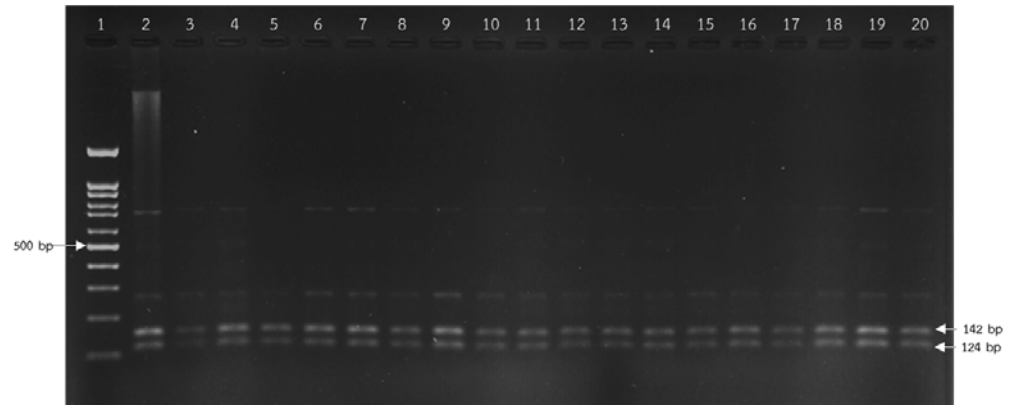



**Figure 4** Agarose gel showing HpyAV restriction enzyme digested 266 bp amplification product obtained with the primer SIX1a_266_F/ SIX1a_266_2_R. Lane 1: 100 bp ladder and 2-20: Foc 266 bp *SIX1* gene amplicon.

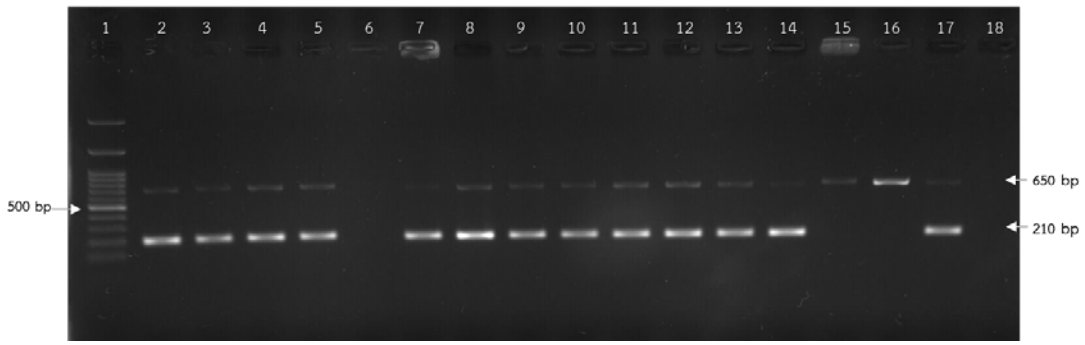



**Figure 5** PCR amplification analyses of *Fusarium* spp. isolates using primer SIX6b_210_F/SIX6b_210_R and internal control (EF-1/EF-2), positive showed an amplicon of approximately 210 bp. Lane 1: 100 bp ladder, 2-17: banana Fusarium wilt pathogen and 18: $dH_2O$ (Negative control)

# การศึกษาปฏิกิริยาของสายพันธุ์/พันธุ์กล้วยต่อการเข้าทำลายของ เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4

# Studies on the Pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 to Banana Lines and Varieties

**วันวิสาข์ เพ็ชรอำไพ[1/] ราตรี บุญเรืองรอด[2/] สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ[1/]**
**อารยา อาจเจริญ เทียนหอม[3/] ประภาษ กาวิชา[4/]**
**ธัญญ์วนิช ธัญสิริวรรธน์[4/] มณฑา วงศ์มณีโรจน์[2/]**
**[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
**[2/]มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน**
**[3/]มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน**
**[4/]มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ**

## Abstract

Fusarium wilt of bananas (Panama disease) caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), which is widespread in banana plantations around the world. Foc tropical race 4 (TR4) is causing significant damage to the banana production industry due to its high level of aggressiveness to cultivars of banana, and this pathogen is a quarantined pest in many countries. The most effective disease management practice is the resistant varieties of banana to the wilt disease. The objective of this study is to determine the pathogenicity of Foc TR4 to banana lines/varieties in Thailand. A total of 60 banana lines/varieties were used to inoculate with Foc TR4 in greenhouse conditions. Four weeks after inoculation, evaluated symptoms, and analysed the disease severity index (DSI), which was then used to classify the disease reaction groups based on internal symptoms. It was found that 56 banana lines/varieties were classified as highly susceptible (DSI = 51.7-100%). Two banana lines/varieties were classified as susceptible (DSI = 40.91-50%). One banana line/variety, HB002 (Pa Doi Muser) was classified as intermediate resistant (DSI = 11.11%), and one banana line/variety, HB038 (Rose) was classified as immune (DSI = 0%). The result of this study will support banana breeding programs for

รหัสการทดลอง FF65-55-07-65-02-03-65

developing banana cultivars resistant to Foc TR4 and contribute to pest management strategies in Thailand.

**Keywords :** Banana, Panama disease, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, TR4

## บทคัดย่อ

โรคเหี่ยว (Fusarium wilt) หรือ โรคตายพราย (Panama disease) ของกล้วย มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) ซึ่งพบแพร่ระบาดในแปลงปลูกกล้วยทั่วโลก โดยเฉพาะเชื้อรา Foc TR4 ที่ทำความเสียหายอย่างมาก สามารถเข้าทำลายกล้วยได้หลากหลายพันธุ์ และเป็นศัตรูพืชกักกันของหลายประเทศที่เป็นแหล่งผลิตกล้วยที่สำคัญ การใช้พันธุ์ต้านทานนับว่าเป็นอีกหนึ่งวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคตายพรายของกล้วย การศึกษานี้จึงได้ทดสอบปฏิกิริยาของสายพันธุ์/พันธุ์กล้วย 60 สายพันธุ์/พันธุ์ ที่มีการรวบรวมในประเทศไทย เมื่อประเมินลักษณะอาการของกล้วยหลังจากปลูกเชื้อ 4 สัปดาห์ นำมาคำนวณดัชนีความรุนแรงของโรค (Disease severity index; DSI) จัดระดับความต้านทานจากลักษณะอาการภายใน พบว่ากล้วยจำนวน 56 สายพันธุ์/พันธุ์ มีความต้านทานต่อเชื้อรา Foc TR4 ในระดับ Highly Susceptible (HS) มีดัชนีความรุนแรงของโรค 51.7-100% ระดับ Susceptible จำนวน 2 สายพันธุ์/พันธุ์ มีดัชนีความรุนแรงของโรค 40.91-50% ระดับ Intermediate Resistant (IR) จำนวน 1 สายพันธุ์/พันธุ์ คือ HB002 (Pa Doi Muser) มีดัชนีความรุนแรงของโรค 11.11% และ ระดับ Immune (I) จำนวน 1 สายพันธุ์/พันธุ์ คือ HB038 (Rose) มีดัชนีความรุนแรงของโรค 0% ข้อมูลระดับการเข้าทำลายของเชื้อรา Foc TR4 ต่อกลุ่มตัวอย่างกล้วยสายพันธุ์/พันธุ์ ที่ทำการทดสอบปฏิกิริยาพันธุ์ จะช่วยสนับสนุนงานด้านการปรับปรุงพันธุ์กล้วยให้ต้านทานต่อเชื้อรา Foc TR4 และการบริหารศัตรูพืชของประเทศไทยในอนาคต

**คำหลัก :** กล้วย โรคกล้วย *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* TR4 ปฏิกิริยาพันธุ์

## คำนำ

กล้วยเป็นพืชที่ขึ้นในเขตร้อนชื้นแนวเส้นศูนย์สูตรแถบอเมริกากลาง อเมริกาใต้ แอฟริกา และเอเชีย โดยเฉพาะเอเชียตอนใต้รวมถึงประเทศไทย จัดเป็นแหล่งกำเนิดกล้วยด้วย (เบญจมาศ, 2545)

ปัจจุบันพันธุ์กล้วยในประเทศไทย พบว่ามีอยู่ 71 พันธุ์ รวมทั้งกล้วยป่าและกล้วยประดับ จำแนกชนิดตามจีโนม (สารานุกรมไทย, ม.ป.ท.) ดังนี้

1. กลุ่ม AA ที่พบในประเทศไทยมี กล้วยป่า กลุ่มนี้มีขนาดเล็ก รสหวาน กลิ่นหอม รับประทานสด ได้แก่ กล้วยไข่ กล้วยเล็บมือนาง กล้วยหอมจันทร์ กล้วยไข่ทองร่วง กล้วยไข่จีน กล้วยน้ำนม กล้วยไล กล้วยสา กล้วยหอม กล้วยหอมจำปา กล้วยทองกาบดำ

2. กลุ่ม AAA กลุ่มนี้มีจำนวน โครโมโซม 2n = 33 ผลจึงมีขนาดใหญ่กว่ากลุ่มแรก รูปร่างผลเรียวยาว มีเนื้อนุ่ม รสหวาน กลิ่นหอม รับประทานสดเช่นกัน ได้แก่ กล้วยหอมทอง กล้วยนาก กล้วยครั่ง กล้วยหอมเขียว กล้วยกุ้งเขียว กล้วยหอมแม้ว กล้วยไข่พระตะบอง กล้วยคลองจัง

3. กลุ่ม BB ในประเทศไทยจะมีแต่กล้วยตานี ซึ่งเป็นกล้วยป่าชนิดหนึ่ง แต่ไม่ได้มีถิ่นกำเนิดในประเทศไทย

4. กลุ่ม BBB กล้วยในกลุ่มนี้เกิดจากกล้วยตานี (*Musa balbisiana*) ขนาดผลใหญ่ เช่น กล้วยเล็บช้างกุด

5. กลุ่ม AAB กล้วยกลุ่มนี้เกิดจากการผสมระหว่างกล้วยป่ากับกล้วยตานี ได้แก่ กล้วยน้ำ กล้วยน้ำฝาด กล้วยนมสวรรค์ กล้วยนิ้วมือนาง กล้วยไข่โบราณ กล้วยทองเดช กล้วยศรีนวล กล้วยขม กล้วยนมสาว แต่มีกล้วยกลุ่ม AAB บางชนิดที่มีความคล้ายกับ ABB กล่าวคือ เนื้อจะค่อนข้างแข็ง มีแป้งมาก เมื่อสุกเนื้อไม่นุ่ม ทั้งนี้อาจได้รับเชื้อพันธุกรรมของกล้วยป่าที่ต่าง sub species กัน จึงทำให้ลักษณะต่างกัน กล้วยในกลุ่มนี้เรียกว่า plantain subgroup ซึ่งจะต้องทำให้สุกโดยการต้ม ปิ้ง เผา เช่นเดียวกับกลุ่ม ABB ได้แก่ กล้วยกล้าย กล้วยงาช้าง กล้วยนิ้วจระเข้ กล้วยหิน กล้วยพม่าแหกคุก

6. กลุ่ม ABB กล้วยกลุ่มนี้เป็นลูกผสมระหว่างกล้วยป่ากับกล้วยตานี ได้แก่ กล้วยหักมุกเขียว กล้วยหักมุกนวล กล้วยเปลือกหนา กล้วยส้ม กล้วยนางพญา กล้วยนมหมี กล้วยน้ำว้า สำหรับกล้วยน้ำว้าแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ตามสีของเนื้อ คือ น้ำว้าแดง น้ำว้าขาว และน้ำว้าเหลือง นอกจากนี้ยังมีกล้วยน้ำว้าดำ ซึ่งเปลือกมีสีครั่งปนดำ แต่เนื้อมีสีขาว และกล้วยตีบ

7. กลุ่ม ABBB กล้วยในกลุ่มนี้เป็นลูกผสมเช่นกัน มีอยู่พันธุ์เดียว คือ กล้วยเทพรส หรือกล้วยทิพรส

8. กลุ่ม AABB เป็นลูกผสมมีเชื้อพันธุกรรมของกล้วยป่ากับกล้วยตานี กล้วยในกลุ่มนี้มีอยู่ชนิดเดียวในประเทศไทย คือ กล้วยเงิน

นอกจากนี้ยังมีกล้วยป่าที่เกิดในธรรมชาติซึ่งมีเมล็ดมาก ทั้งกล้วยในสกุล *Musa acuminata* และ *Musa itinerans* หรือที่เรียกว่า กล้วยหก หรือกล้วยอ่างขาง และกล้วยป่าที่เป็นกล้วยประดับ เช่น กล้วยบัวสีส้ม และกล้วยบัวสีชมพู

โรคตายพรายกล้วย หรือ Panama disease หรือ โรคเหี่ยวฟิวซาเรียม (Fusarium wilt) เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (E.F. Sm.) W.C. Snyder & H.N. Hansen หรือ Foc เป็นเชื้อราดิน (soil-borne fungi) ประกอบไปด้วย 4 Race ได้แก่

1. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 1 เข้าทำลายกล้วย เช่น พันธุ์ Gros Michel (กล้วยหอมทอง genome type AAA) Pisang Awak (กล้วยน้ำว้า genome type ABB) เป็นต้น

2. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 2 เข้าทำลายกล้วย เช่น พันธุ์ Bluggoe (กล้วยหักมุก genome type ABB) เป็นต้น

3. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 3 เข้าทำลายพืชในกลุ่ม Heliconia species

4. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4 เข้าทำลายกล้วยพันธุ์ Cavendish (กล้วยหอมเขียว genome type AAA) Foc race 4 แยกออกได้เป็น 2 strain คือ subtropical race 4 (Foc SR4) พบการระบาดเฉพาะในเขต subtropics และ tropical race 4 (Foc TR4) พบในเขต Tropics และกำลังระบาดและทำความเสียหายแก่อุตสาหกรรมการผลิตกล้วยทั่วโลกอยู่ในขณะนี้

เชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) เข้าสู่พืชทางราก และแพร่กระจายเข้าสู่ท่อลำเลียงน้ำ ทำให้เกิดอาการเนื้อเยื่อของลำต้นเทียมตายเป็นสีน้ำตาล และลุกลามขึ้นสู่ก้านใบ โคนใบแก่ด้านนอกมีสีซีดเหลือง และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล โดยเริ่มพบจากใบล่างด้านนอกรอบลำต้น จะแสดงลักษณะเหี่ยว เฉา และเริ่มมีสีเหลือง และเป็นเกือบรอบต้น หลังจากแสดงอาการใบเหลือง มักพบอาการขอบใบแห้ง ใบหักพับภายใน 1-2 สัปดาห์ เมื่อเป็นโรคอย่างรุนแรง ใบล่างรอบลำต้นเหี่ยวเฉาใบไหม้ และโค้งงอลงรอบลำต้น ทำให้มีลักษณะคล้ายกระโปรง (skirt) และยืนต้นตายในที่สุด เมื่อผ่าลำต้นเทียม หรือกาบใบบริเวณโคนต้น จะพบท่อลำเลียงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เมื่อผ่าตามแนวยาวจะเห็นเป็นสีน้ำตาลเป็นแนวต่อเนื่อง แต่เมื่อผ่าตามขวางจะเห็นเป็นสีน้ำตาลหรือน้ำตาลอมม่วงในช่องของท่อลำเลียง บริเวณหน่อหรือโคนต้นอาจพบลักษณะลำต้นแตก หรือโคนต้นแตก บริเวณเหง้าเมื่อผ่าดูจะพบเป็นปื้นเหลืองและเมือกหรือยางกล้วยเป็นสีเหลือง ทำความเสียหายอย่างมากและแพร่ระบาดในพื้นที่ปลูกกล้วยคาเวนดิชในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เป็นศัตรูพืชกักกัน ของหลายประเทศที่เป็นแหล่งผลิตกล้วยที่สำคัญ เช่น ออสเตรเลีย อินโดนีเซีย และฟิลิปปินส์ สำหรับประเทศไทยเพิ่งมีรายงานพบการปรากฏของเชื้อรา Foc TR4 ในแปลงผลิตกล้วยคาเวนดิช จังหวัดเชียงราย ในเดือนกรกฎาคม 2562 ถึงแม้ว่าได้มีการกำหนดมาตรการเพื่อเฝ้าระวังเชื้อสาเหตุโรคและป้องกันกำจัดเพื่อควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อในพื้นที่นั้นไปยังพื้นที่ที่ยังปลอดโรค (FAO, 2019; กรมวิชาการเกษตร, 2562) แต่เนื่องจาก Foc TR4 เป็นเชื้อสาเหตุโรคอุบัติใหม่ของกล้วยที่เพิ่งมีรายงานพบในประเทศไทย จึงยังไม่มีการศึกษาข้อมูลของเชื้อในด้านต่าง ๆ และยังขาดข้อมูลที่สำคัญของเชื้ออีกมาก

การใช้พันธุ์ต้านทานนับว่าเป็นวิธีการที่ดีที่สุดในการควบคุมโรคตายพรายของกล้วย ในการปรับปรุงพันธุ์นั้น มีความซับซ้อนและต้องใช้เวลา ทั้งการทดสอบในแปลงต้องใช้เวลา แรงงาน และพื้นที่จำนวนมาก ดังนั้น ขั้นตอนหนึ่งในการปรับปรุงพันธุ์ที่นำมาใช้ เพื่อลดปัญหาดังกล่าว คือ การคัดเลือกพันธุ์ ซึ่งมีการนำไปใช้ในหลายพืช เช่น การคัดพันธุ์ต้านทานโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* ของมันสำปะหลัง เป็นต้น การคัดเลือกพันธุ์ในสภาพโรงเรือนด้วยการดูลักษณะที่แสดงออกของพืช ทำให้มีความสะดวกมากขึ้น สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ ส่งผลให้สามารถทำซ้ำได้มากขึ้น การปรับปรุงพันธุ์เร็วขึ้น (Smith *et al*., 2008)

การศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการทดสอบสายพันธุ์/พันธุ์กล้วย จำนวน 60 สายพันธุ์/พันธุ์ เพื่อดูปฏิกิริยาของพันธุ์กล้วยต่อการเข้าทำลายของ Foc TR4 เพื่อใช้ในการบริหารจัดการศัตรูพืชของกล้วย และใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนงานด้านการปรับปรุงพันธุ์กล้วยต่อไป

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. สายพันธุ์/พันธุ์กล้วยจาก germ plasm ของภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน

2. เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4

3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการโรคพืช เช่น ตู้เขี่ยเชื้อ เข็มเขี่ย จานแก้วเลี้ยงเชื้อ ตะเกียงแอลกอฮอล์ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope) กล้อง Stereoscopic microscope และกล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์

4. อาหารเลี้ยงเชื้อรา เช่น Potato Dextrose Agar (PDA)

5. อุปกรณ์ในโรงเรือน เช่น ดินปลูก กระถาง จานรอง ป้ายปัก

### วิธีการ

1. การเตรียมต้นกล้า โดยใช้ต้นกล้ากล้วยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออายุประมาณ 45 วัน ล้างรากให้สะอาด เพื่อย้ายปลูก

2. เพาะชำต้นกล้ากล้วยในพีทมอสให้มีความสูงประมาณ 15-25 เซนติเมตร

3. เลี้ยงเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ประมาณ 5-7 วัน จากนั้นนำไปเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนเมล็ดข้าวฟ่างที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ประมาณ 7 วัน ล้างสปอร์ของเชื้อราด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นของสปอร์แขวนลอยของเชื้อราให้มีความเข้มข้น $10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ทั้ง macro และ microconidia)

4. ปลูกเชื้อโดยการตัดปลายรากและจุ่มรากต้นกล้ากล้วยลงในสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 ที่ความเข้มข้นของสปอร์ $10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (Mak *et al*., 2004) จากนั้นนำต้นกล้ามาปลูกในดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

5. ประเมินลักษณะอาการเมื่อครบ 4 สัปดาห์ บันทึกระดับความรุนแรงของโรค โดยดัดแปลงวิธีการจาก (Dita *et al*., 2021) ดังนี้

<u>การประเมินโรคด้วยลักษณะภายนอก</u> แบ่งเป็น 5 ระดับ คือ

0 ต้นกล้าไม่แสดงอาการ

1 ใบล่างเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

2 ใบล่างเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองทั้งหมด และใบอ่อนเริ่มเปลี่ยนสี

3 ใบทั้งหมดเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้ม

4 ต้นกล้ากล้วยตาย

<u>การประเมินโรคด้วยลักษณะภายใน</u> แบ่งเป็น 5 ระดับ คือ

0 เนื้อเยื่อภายในเหง้าไม่แสดงอาการ

1 เนื้อเยื่อภายในเหง้าเริ่มเปลี่ยนเป็นสี

2 เนื้อเยื่อภายในเหง้าและท่อลำเลียงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเล็กน้อย

3 เนื้อเยื่อภายในเหง้าเกือบทั้งหมดแสดงอาการ necrosis

4 เนื้อเยื่อภายในเหง้าทั้งหมดแสดงอาการ necrotic

6. คำนวณดัชนีความรุนแรงของโรค (Disease severity index; DSI) จากสูตร

$$\text{ดัชนีความรุนแรงของโรค (\%)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นที่เป็นโรคในแต่ละระดับ X ระดับ)}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด X ระดับสูงสุด}} \times 100$$

เกณฑ์การประเมินความต้านทาน (Dita *et al*., 2021)

| DSI (%) | Disease reaction | Reaction group |
|---|---|---|
| 0 | Immune | I |
| > 0 ≤ 5 | Resistant | R |
| > 5 ≤ 20 | Intermediate Resistant | IR |
| > 20 ≤ 50 | Susceptible | S |
| > 50 | Highly Susceptible | HS |

**เวลาและสถานที่**

เวลา ตุลาคม 2564 – มีนาคม 2568

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการประเมินลักษณะอาการของสายพันธุ์/พันธุ์กล้วย 60 สายพันธุ์/พันธุ์ เมื่อสังเกตุลักษณะอาการ หลังจากปลูกเชื้อ 4 สัปดาห์ และนำมาคำนวณดัชนีความรุนแรงของโรค (Disease severity index; DSI) แล้วจัดระดับความต้านทานจากลักษณะอาการภายใน พบว่ากล้วย จำนวน 56 สายพันธุ์/พันธุ์ มีความต้านทานต่อเชื้อรา Foc TR4 ในระดับ Highly Susceptible (HS) (HB014, HB018, HB022, HB024, HB029, HB031, HB032, HB035, HB036, HB041, HB043, HB065, HB073, HB074, HB075, HB077, HB080, HB090, HB091, HB092, HB098, HB102, HB105, HB106, HB111, HB132, HB159, HB162, HB166, HB169, HB171, HB173, HB177, HB196, HB199, HB215, HB216, HB220, HB221, HB222, HB226, HB233, HB236, HB243, HB244, HB245, HB248, HB261, HB265, HB266, HB268, HB269, HB272, HB275, HB305 และ HB373) ซึ่งมีดัชนีความรุนแรงของโรค 51.7-100% ระดับ Susceptible จำนวน 2 สายพันธุ์/พันธุ์ (HB047 และ HB061) มีดัชนีความรุนแรงของโรค 40.91-50% ระดับ Intermediate Resistant (IR) จำนวน 1 สายพันธุ์/พันธุ์ (HB002; Pa Doi Muser) มีดัชนีความรุนแรงของโรค 11.11% และ ระดับ Immune (I) จำนวน 1 สายพันธุ์/พันธุ์ (HB038; Rose) มีดัชนีความรุนแรงของโรค 0% (Table 1

และ Figure 1) เมื่อนำเนื้อเยื่อภายในของต้นกล้ากล้วยมาแยกเชื้อรา เพื่อยืนยันถึงสาเหตุการเกิดโรค พบเชื้อรา Foc ในทุกตัวอย่างเนื้อเยื่อกล้วยที่แสดงอาการของโรค และเมื่อคัดเลือกมาตรวจสอบด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะเจาะจงต่อเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 (Foc TR4) พบว่าเป็นเชื้อรา Foc TR4 ในทุกตัวอย่างที่ตรวจสอบ (Figure 2)

จากการทดสอบปฏิกิริยาของสายพันธุ์/พันธุ์กล้วยต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 พบว่าให้ผลที่สอดคล้องกับข้อมูลของ Dita *et al*. (2021) ซึ่งพบว่ากล้วยพันธุ์ Gros Michel (AAA), Silk (AAB), Pisang Awak (ABB), Cavendish (AAA) อ่อนแอต่อเชื้อรา Foc TR4 มีเพียงกล้วยพันธุ์ Rose (AA) ที่ต้านทานต่อเชื้อราดังกล่าว รวมถึงต้านทานต่อเชื้อรา Foc Race1, Race2 และ STR4 อีกด้วย

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลจากการประเมินลักษณะอาการของสายพันธุ์/พันธุ์กล้วย 60 สายพันธุ์/พันธุ์ เมื่อสังเกตุลักษณะอาการ หลังจากปลูกเชื้อ 4 สัปดาห์ และนำมาคำนวณดัชนีความรุนแรงของโรค (Disease severity index; DSI) แล้วจัดระดับความต้านทานจากลักษณะอาการภายใน พบว่ากล้วย จำนวน 56 สายพันธุ์/พันธุ์ มีความต้านทานต่อเชื้อรา Foc TR4 ในระดับ Highly Susceptible (HS) มีดัชนีความรุนแรงของโรค 51.7-100% ระดับ Susceptible จำนวน 2 สายพันธุ์/พันธุ์ มีดัชนีความรุนแรงของโรค 40.91-50% ระดับ Intermediate Resistant (IR) จำนวน 1 สายพันธุ์/พันธุ์ คือ HB002 (Pa Doi Muser) มีดัชนีความรุนแรงของโรค 11.11% และ ระดับ Immune (I) จำนวน 1 สายพันธุ์/พันธุ์ คือ HB038 (Rose) มีดัชนีความรุนแรงของโรค 0% เมื่อนำเนื้อเยื่อภายในของต้นกล้ากล้วยมาแยกเชื้อเพื่อยืนยันถึงสาเหตุการเกิดโรค พบเชื้อรา Foc ในทุกตัวอย่างเนื้อเยื่อกล้วยที่แสดงอาการของโรค และเมื่อคัดเลือกมาตรวจสอบด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะเจาะจงต่อเชื้อรา Foc TR4 พบว่าเป็นเชื้อรา Foc TR4 ในทุกตัวอย่างที่ตรวจสอบ ข้อมูลระดับการเข้าทำลายที่ผ่านการตรวจสอบยืนยันการเข้าทำลายของเชื้อรา Foc TR4 ต่อกลุ่มตัวอย่างกล้วยสายพันธุ์/พันธุ์ ที่ทำการทดสอบปฏิกิริยาพันธุ์ จะมีส่วนช่วยในการสนับสนุนงานด้านการปรับปรุงพันธุ์กล้วยให้ต้านทานต่อเชื้อรา Foc TR4 และการบริหารศัตรูพืชของประเทศไทยในอนาคต

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร. ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช ดร. พรพิมล อธิปัญญาคม และคุณศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช อดีตผู้เชี่ยวชาญด้านโรคพืช ที่ให้คำแนะนำในการทดลอง สมาชิกห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างและดำเนินการทดลอง

## เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2562. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง กำหนดเขตควบคุมศัตรูพืช พ.ศ. 2562 ประกาศ ณ วันที่ 12 กรกฎาคม 2562 ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 136 ตอนพิเศษ 178 ง ลง วันที่ 11 กรกฎาคม 2562.

เบญจมาศ ศิลาย้อย. 2545. *กล้วย.* สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 357 หน้า.

สารานุกรมไทย, ม.ป.ท. *พันธุ์กล้วยในประเทศไทย*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://saranukromthai.or.th/sub/book/book.php?book=30&chap=6&page=t30-6-infodetail05.html (2 มีนาคม 2563)

Dita, M., L. Teixeira, C. Li, S. Zheng, W. O'Neill and J. Daniels. 2021. Phenotyping Musa spp. for host reaction to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, under greenhouse and field conditions, pp. 4-19. *In* : Dita, M., ed. *Practical Guidelines for Early Screening and Field Evaluation of Banana against Fusarium Wilt, Pseudocercospora Leaf Spots and Drought*. Bioversity International: Montpellier, France.

FAO. 2019. *Detection* of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 in *Thailand*. (Online). Available: https://www.ippc.int/en/countries/thailand/pestreports/2019/11/detection-of-fusarium-oxysporum-f-sp-cubense-tropical-race-4-in-thailand/. (December 20, 2019).

Mak, C., A.A. Mohamed, K.W. Liew and Y.W. Ho. 2004. Early screening technique for Fusarium wilt resistance in banana micropropagated plants. pp.219-227. *In* : S.M. Jain and R. Swennen., eds. *Banana Improvement: Cellular, Molecular Biology, and Induced Mutations*. Science Publishers, Inc. Enfield (NH), USA.

Smith, L. J., Smith, M. K., Tree, D., O'keefe, D., and V. J. Galea. 2008. Development of a small-plant bioassay to assess banana grown from tissue culture for consistent infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Australas. Plant Pathol*. 37 : 171–179.

**Table 1** Disease severity index and reaction group of banana lines/varieties at 4 weeks after inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4

| No. | Code | DSI (%) | Reaction group * |
|---|---|---|---|
| 1 | HB002 | 11.11 | IR |
| 2 | HB014 | 90 | HS |
| 3 | HB018 | 85.00 | HS |
| 4 | HB022 | 89.29 | HS |
| 5 | HB024 | 87.50 | HS |
| 6 | HB029 | 81.25 | HS |
| 7 | HB031 | 94.44 | HS |
| 8 | HB032 | 100.00 | HS |
| 9 | HB035 | 72.50 | HS |
| 10 | HB036 | 75.00 | HS |
| 11 | HB038 | 0.00 | I |
| 12 | HB041 | 97.22 | HS |
| 13 | HB043 | 65.625 | HS |
| 14 | HB047 | 50.0 | S |
| 15 | HB061 | 40.91 | S |
| 16 | HB065 | 77.50 | HS |
| 17 | HB073 | 85.00 | HS |
| 18 | HB074 | 92.50 | HS |
| 19 | HB075 | 75.00 | HS |
| 20 | HB077 | 92.50 | HS |
| 21 | HB080 | 72.22 | HS |
| 22 | HB090 | 75.00 | HS |
| 23 | HB091 | 72.22 | HS |
| 24 | HB092 | 78.3 | HS |
| 25 | HB098 | 67.50 | HS |
| 26 | HB102 | 85.00 | HS |
| 27 | HB105 | 80.0 | HS |
| 28 | HB106 | 85.00 | HS |
| 29 | HB111 | 62.50 | HS |
| 30 | HB132 | 100.00 | HS |
| 31 | HB159 | 100 | HS |

**Table 1** Disease severity index and reaction group of banana lines/varieties at 4 weeks after inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 (continue)

| No. | Code | DSI (%) | Reaction group * |
|---|---|---|---|
| 32 | HB162 | 78.3 | HS |
| 33 | HB166 | 95.45 | HS |
| 34 | HB169 | 80.0 | HS |
| 35 | HB171 | 91.67 | HS |
| 36 | HB173 | 92.50 | HS |
| 37 | HB177 | 90.00 | HS |
| 38 | HB196 | 97.50 | HS |
| 39 | HB199 | 100.00 | HS |
| 40 | HB215 | 51.7 | HS |
| 41 | HB216 | 75.00 | HS |
| 42 | HB220 | 63.3 | HS |
| 43 | HB221 | 70.00 | HS |
| 44 | HB222 | 66.67 | HS |
| 45 | HB226 | 78.3 | HS |
| 46 | HB233 | 86.54 | HS |
| 47 | HB236 | 70.00 | HS |
| 48 | HB243 | 97.73 | HS |
| 49 | HB244 | 97.50 | HS |
| 50 | HB245 | 85.00 | HS |
| 51 | HB248 | 75.00 | HS |
| 52 | HB261 | 70.00 | HS |
| 53 | HB265 | 90.00 | HS |
| 54 | HB266 | 90.00 | HS |
| 55 | HB268 | 65.00 | HS |
| 56 | HB269 | 95.00 | HS |
| 57 | HB272 | 95.00 | HS |
| 58 | HB275 | 90.00 | HS |
| 59 | HB305 | 72.50 | HS |
| 60 | HB373 | 55.00 | HS |

* Evaluate of internal symptoms

**Figure 1** External and internal symptoms of banana lines/varieties at 4 weeks after inoculations with *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* TR4 isolate M0455 *;* A: HB038, B: HB002, C: HB074, and D: HB132

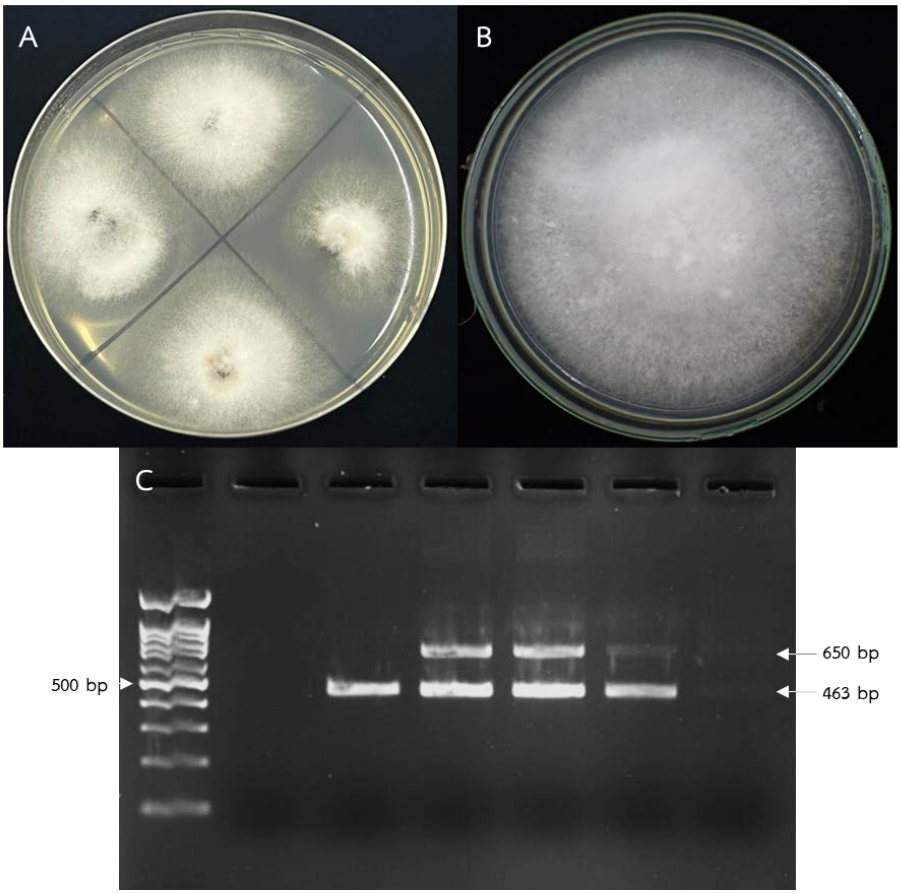



**Figure 2** *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* isolate from banana vascular tissue specimens at 4 weeks after inoculations; (A-B) Foc culture on PDA, and C: PCR amplification analyses using a specific primer (FocTR4-F/FocTR4-R2) and internal control (EF-1/EF-2), only tropical race 4 isolates showed an amplicon of approximately 463 bp.

# เทคโนโลยีการจัดการศัตรูคะน้าแบบผสมผสานในระบบโรงเรือน เพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป

# Integrated Pest Management of Chinese kale in Greenhouse Systems for Export to the European Union (EU)

หทัยภัทร เจษฎารมย์[1/] สัญญาณี ศรีคชา[1/] กรกต ดำรักษ์[1/] วนาพร วงษ์นิคง[1/]
ประภัสสร เชยคำแหง[2/] วิไลวรรณ เวชยันต์[2/] ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ[3/]
อดุลย์รัตน์ แคล้วคลาด[4/]

[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
[4/]กลุ่มวิจัยและพัฒนา ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครปฐม

## Abstract

The integrated pest management technology of Chinese kale in greenhouse system for export to the European Union aims to study the production technology of Chinese kale in greenhouse system to meet the standards accepted by the European Union (EU). Reduce the amount of diamondback moth, beet armyworm, cabbage webworm, common cutworm, leaf miner and leaf eating beetle to the lowest amount. Products have no problem with toxic residue and safe. The technology for integrated pest management of Chinese kale in greenhouse systems for export to the European Union, based on experimental results from farmers' Chinese kale greenhouses in Sam Phran District, Nakhon Pathom Province, between December 2023 and September 2024 was compared with farmers' methods. The integrated pest management (IPM) method in the greenhouse system consists of random surveys of pest populations in the greenhouse and the use of the economic threshold level (ETL) as a tool to decide when to apply pesticides. If the number of pests exceeds the economic threshold level, prevention and control measures will be taken. In the IPM fields, this resulted in harvesting Chinese kale at 183 and 186 kilograms per 306 square meters of planting area, at a price of 50 Baht per kilogram, with product values of 9,150 and 9,300 Baht,

รหัสการทดลอง FF65-57-02-65-00-04-66

respectively. The production costs for pest control were 2,298.58 and 2,013.58 Baht. After deducting production costs, it was found that the IPM method yielded a net profit of 6,851.42 and 7,286.42 Baht, respectively, with a benefit-cost ratio (B/C) of 3.98 and 4.62, which was higher than the conventional farming method. Farmers using the conventional method harvested 30 and 35 kilograms of Chinese kale per 306 square meters of cultivated area, respectively, at a price of 50 Baht per kilogram, resulting in a total product value of 1,500 and 1,750 Baht. The production cost for pest control was 677.68 and 786.88 Baht, respectively. After deducting production costs, the conventional farming method yielded a net profit of 822.32 and 963.12 Baht, with a benefit-cost ratio (B/C) of 2.21 and 2.22, which was lower than the IPM method

**Keywords :** Chinese kale, diamondback moth, beet armyworm, common cutworm, cabbage webworm, leaf miner, leaf eating beetle, integrated pest management, greenhouse system and European Union

**บทคัดย่อ**

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูคะน้าแบบผสมผสานในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรปมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเทคโนโลยีการผลิตคะน้าในระบบโรงเรือน ให้เป็นไปตามมาตรฐานที่กลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ยอมรับ ลดปริมาณหนอนใยผัก หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะยอดกะหล่ำ หนอนแมลงวันชอนใบ และด้วงหมัดผักให้มีปริมาณน้อยที่สุด ผลผลิตไม่มีปัญหาสารพิษตกค้างและปลอดภัย ได้มาตรฐานสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ดำเนินการทดลองที่แปลงปลูกคะน้าระบบโรงเรือนของเกษตรกรที่อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนธันวาคม 2566 - กันยายน 2567 โดยเปรียบเทียบวิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) และวิธีการของเกษตรกร วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสานในระบบโรงเรือนประกอบด้วย การสุ่มสำรวจประชากรศัตรูพืชในโรงเรือน และการใช้ระดับเศรษฐกิจเป็นเครื่องมือช่วยตัดสินใจในการพ่นสารเคมี ซึ่งหากพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ที่กำหนด จึงดำเนินการป้องกันกำจัด การดำเนินการป้องกันกำจัดศัตรูพืชในกรรมวิธี IPM สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตคะน้าได้ 183 และ 186 กิโลกรัมต่อพื้นที่ปลูก 306 ตารางเมตร คิดเป็นราคากิโลกรัมละ 50 บาท มูลค่าผลผลิต 9,150 และ 9,300 บาท ต้นทุนการผลิตในการกำจัดศัตรูพืชเป็น 2,298.58 และ 2013.58 บาท เมื่อหักต้นทุนการผลิตแล้ว พบว่า แปลงวิธี IPM มีกำไรสุทธิ 6,851.42 และ 7,286.42 บาท ตามลำดับ ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 3.98 และ 4.62 มากกว่ากรรมวิธีเกษตรกร ซึ่งเก็บเกี่ยวผลผลิตคะน้าได้ 30 และ 35 กิโลกรัมต่อพื้นที่ปลูก 306 ตารางเมตร ตามลำดับ คิดเป็นราคากิโลกรัมละ 50 บาท มูลค่าผลผลิต 1,500 และ 1,750 บาท ตามลำดับ ต้นทุนการผลิตในการกำจัดศัตรูพืชเป็น 677.68 และ 786.88

บาท ตามลำดับ เมื่อหักต้นทุนการผลิตแล้วพบว่า แปลงวิธีเกษตรกรมีกำไรสุทธิ 822.32 และ 963.12 บาท ตามลำดับ ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 2.21 และ 2.22 น้อยกว่าวิธี IPM

**คำหลัก :** คะน้า, หนอนใยผัก, หนอนกระทู้หอม, หนอนกระทู้ผัก, หนอนเจาะยอดกะหล่ำ, หนอนแมลงวันชอนใบ, ด้วงหมัดผัก, การจัดการศัตรูคะน้าแบบผสมผสาน, ระบบโรงเรือน, กลุ่มสหภาพยุโรป

## คำนำ

การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน (Integrated Pest Management-IPM) กองกีฏและสัตววิทยา (2544) รายงานว่าการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานเป็นวิทยาการแขนงหนึ่งสำหรับใช้ควบคุมศัตรูพืช เป็นแนวทางในการดำเนินงานที่จะเลือกใช้วิธีการควบคุมใด ๆ ก็ตามมาใช้กำจัดหรือควบคุมศัตรูพืชโดยใช้หลักทางด้านนิเวศวิทยาและเศรษฐศาสตร์ และเกี่ยวข้องกับการตัดสินใจ โดยมีการตรวจสอบประชากรแมลงและคำนึงถึงสภาพแวดล้อม ซึ่งผลการตัดสินใจนั้น อาจจะไม่ต้องมีการควบคุมหรืออาจเลือกใช้วิธีการควบคุมวิธีใดวิธีหนึ่ง หรือหลายวิธีการผสมผสานกัน เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดทั้งทางด้านเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม

คะน้า (Chinese kale, cabbage) เป็นพืชผักที่สำคัญในประเทศไทย เนื่องจากใช้บริโภคในชีวิตประจำวัน มีการปลูกอยู่ในทั่วทุกภาคของประเทศไทย มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจ การผลิตพืชตระกูลกะหล่ำเพื่อการค้าในพื้นที่ขนาดใหญ่ ซึ่งปลูกติดต่อกันตลอดปี ทำให้เกิดปัญหาศัตรูพืชเข้าทำลายโดยเฉพาะแมลงศัตรูพืช และโรคพืช

ศัตรูพืชในคะน้าที่สำคัญในกลุ่มแมลงศัตรูพืช เช่น

หนอนใยผัก (diamond-back moth) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Plutella xylostella* Linnaeus ก่อให้เกิดความเสียหายกับผักตระกูลกะหล่ำหลายชนิด พบได้ทั่วประเทศโดยเฉพาะในแหล่งปลูกผักเพื่อการค้ามักพบหนอนใยผักระบาดเป็นประจำ เนื่องจากหนอนใยผักมีวงจรชีวิตสั้น และมีการแพร่ขยายพันธุ์รวดเร็ว ตัวเต็มวัยเพศเมียสามารถผสมพันธุ์ภายใน 24 ชั่วโมงหลังออกจากดักแด้ และวางไข่ได้ตลอดชีวิต ระยะหนอนทำลายพืช สามารถกินใบ กาบใบ และยอดได้ (สัญญาณีและคณะ, 2560)

หนอนกระทู้หอม (beet armyworm) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Spodoptera exigua* (Hübner) เป็นแมลงศัตรูที่ทำความเสียหายกับผักตระกูลกะหล่ำทุกชนิดทั่วประเทศ โดยเฉพาะตามแหล่งปลูกที่มีการปลูกอย่างต่อเนื่อง การระบาดรุนแรงมากในช่วงฤดูร้อน ตัวหนอนเมื่อฟักออกจากไข่จะกัดกินผิวใบบริเวณส่วนต่างๆ ของพืช หนอนวัยที่ 3 จะทำความเสียหายรุนแรงเนื่องจากหนอนในระยะนี้จะแยกย้ายกันกัดกิน และกินได้ทุกส่วนของพืช (สัญญาณีและคณะ, 2560)

หนอนกระทู้ผัก (common cutworm) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Spodoptera litura* (Fabricius) เป็นแมลงอีกชนิดหนึ่งที่พบเข้าทำลายพืชตระกูลกะหล่ำ หนอนระยะแรกเข้าทำลายเป็นกลุ่ม ระยะต่อมาจะทำลายรุนแรงมากขึ้น เนื่องจากเป็นหนอนที่มีขนาดใหญ่ หนอนสามารถกัดกินใบ ก้าน หรือ

เข้าทำลายในหัวกะหล่ำ การเข้าทำลายมักเกิดเป็นหย่อมๆ ตามจุดที่ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ และมักแพร่ระบาดได้รวดเร็วตลอดทั้งปีโดยเฉพาะในช่วงฤดูฝน (สัญญาณีและคณะ, 2560)

หนอนเจาะยอดกะหล่ำ (cabbage webworm) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Hellula undalis* (Fabricius) ทำความเสียหายกับกะหล่ำปลี โดยหนอนเจาะเข้าไปกัดกินในส่วนยอดที่กำลังเจริญเติบโต ทำให้ยอดขาดไม่เข้าปลี หรือกัดกินเข้าไปในส่วนของก้านและลำต้น ตัวหนอนมักสร้างใยคลุมและมีขุยมูลที่ถ่ายออกมาบริเวณที่เจาะ ทำให้กะหล่ำปลีแตกแขนง พบระบาดเสมอโดยเฉพาะในฤดูแล้ง (สัญญาณีและคณะ, 2560)

หนอนแมลงวันชอนใบกะหล่ำ (serpentine leafminer) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Liriomyza brassicae* (Riley) ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ใต้ผิวใบ ตัวหนอนมีลักษณะหัวแหลมท้ายป้าน ไม่มีขา หนอนชอนไชภายในใบทำให้เกิดรอยเส้นสีขาวคดเคี้ยวไปมา หากระบาดรุนแรงจะทำให้ใบเสียหายร่วงหล่นและพืชตายได้ (สัญญาณีและคณะ, 2560)

พวกด้วงปีกแข็ง เช่น ด้วงหมัดผัก ด้วงหมัดผักแถบลาย (striped flea-beetle) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Phyllotreta sinuata* Stephens จัดเป็นแมลงศัตรูที่สำคัญชนิดหนึ่งที่พบเข้าทำลายผักกาดหัวเป็นประจำ ทำให้ผักกาดหัวเหี่ยวเฉา ไม่เจริญเติบโต ผลผลิตผักกาดหัวเสียคุณภาพ และจะทำให้ต้นผักกาดหัวตายได้หากไม่มีการป้องกันกำจัดทำให้เกษตรกรต้องพ่นสารฆ่าแมลงเพื่อแก้ไขปัญหาและควบคุมการระบาดเข้าทำลายของแมลงศัตรูดังกล่าวโดยทั่วไปเกษตรกรจึงนิยมใช้สารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดด้วงหมัดผักแถบลายได้แก่ สารฆ่าแมลง dicrotophos, carbosulfan และ prothiofos เป็นต้น (สมศักดิ์, 2554)

ในกลุ่มโรคพืช ได้แก่ โรคใบจุดในคะน้า (leaf spot) เกิดจากเชื้อ *Alternaria brassicicola* (Schw.) Wiltshire โดยมักทำให้เกิดโรคกับพืชตระกูลผักกาด ได้แก่ กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก กะหล่ำปม กะหล่ำดาว บร็อคโคลี่ ผักคะน้า ผักกาดขาว ผักกาดเขียว ผักกวางตุ้ง และผักกาดหัว อาการของโรคเกิดทุกส่วนและทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช ตั้งแต่ต้นอ่อนที่เริ่มงอกจนถึงต้นแก่ อาการแรกบนต้นกล้าจะเกิดเป็นแผลเล็กๆ สีน้ำตาลดำ ลักษณะคล้ายโรคเน่าคอดินที่ขึ้นกับลำต้น เมื่อเชื้อเข้าทำลายในระยะต้นกล้าจะทำให้ต้นกล้าหยุดการเจริญเติบโตหรือชะงักงัน เมื่อย้ายไปปลูกในแปลงจะทำให้ต้นไม่สมบูรณ์ อาการในต้นแก่มักพบบนใบและก้าน เกิดเป็นแผลจุดเล็กๆ สีเหลือง ต่อมาแผลขยายใหญ่ขึ้น สีน้ำตาลเข้มถึงดำ แผลมีลักษณะเป็นวงค่อนข้างกลม เรียงซ้อนกันเป็นชั้นๆ (กลุ่มวิจัยโรคพืช, 2554)

โรคราน้ำค้าง (downy mildew) เกิดจากเชื้อรา *Peronospora parasitica* (Pers. Ex. Fr.) Fr. โรคสามารถแสดงอาการได้ทุกระยะการเจริญของพืช ในระยะกล้า ใบเลี้ยงเกิดเป็นจุดช้ำสีน้ำตาลหรือดำ ลำต้นเน่า ยุบตัว ทำให้พืชตายหรือแคระแกร็น ไม่เจริญเติบโต ในระยะต้นโต อาการระยะแรกมักเกิดจุดสีเหลืองเป็นหย่อมๆ หรือเป็นปื้นเหลืองด้านหน้าใบ มีเส้นใยสีขาวหรือเทาคล้ายปุยฝ้ายด้านหลังใบ แต่ในสภาพอากาศแห้งมักจะพบแต่อาการเหลืองซีดเท่านั้น เมื่อเกิดการระบาดรุนแรงแผลขยายขนาดใหญ่มากขึ้น เนื้อใบกลายเป็นสีเหลือง สีน้ำตาล และแห้งตาย ในกะหล่ำดอกและบร็อคโคลี่ถ้าเชื้อเข้าทำลายในระยะสร้างดอก จะเกิดเป็นจุดดำเล็กๆ บนช่อดอก หากอาการรุนแรงดอกอาจยืด

หรือบิดเบี้ยวเสียรูปทรง ในกะหล่ำปลีเกิดแผลเป็นจุดเล็กๆ บนใบ ไม่ค่อยขยายขนาด ซึ่งหากระบาดในวงกว้างคุณภาพและผลผลิตจะลดลง (กลุ่มวิจัยโรคพืช, 2554)

แนวทางในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเหล่านี้มีความซับซ้อน และหลายพื้นที่ศัตรูพืชมีความต้านทานต่อสารกำจัดแมลง จึงต้องใช้วิธีการในการดูแลร่วมกันหลายวิธี เช่น วิธีการเขตกรรม วิธีกล การใช้ระดับเศรษฐกิจ (ETL) ทั้งนี้เพื่อให้ได้ผลผลิตที่ดีทั้งปริมาณและคุณภาพ รวมถึงได้วิธีการที่ปลอดภัยต่อผู้ปลูกและผู้บริโภค และไม่มีผลให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม (กลุ่มบริหารศัตรูพืชและกลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2559) สารที่ใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชในคะน้า ได้แก่ methoxyfenozide 24% SC, emamectin benzoate 1.92% EC, spinosad 12% SC, gamma-cyhalothrin 1.5% CS, lambda-cyhalothrin 2.5% CS, imidacloprid 70% WG, *Bacillus thuringiensis* (กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2553) *Steinernema carpocapsae*, azoxystrobin 25% SC, tetraconazole 40% EW, mancozeb 80% WP , cymoxanil 8%+mancozeb 64% WP และ metalaxyl+mancozeb 72% WP

ซึ่งการทดลองนี้ทำขึ้นเพื่อศึกษาเทคโนโลยีการผลิต คะน้าในระบบโรงเรือน ให้เป็นไปตามมาตรฐานที่กลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ยอมรับ ลดปริมาณศัตรูพืชกักกันให้มีปริมาณน้อยที่สุดก่อนเข้าโรงคัดบรรจุ ผลผลิตไม่มีปัญหาสารพิษตกค้างและปลอดภัย ได้มาตรฐานสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU)

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. สารฆ่าแมลง ได้แก่ spinosad 12% SC, emamectin benzoate 1.92% EC, methoxyfenozide 24% SC, gamma-cyhalothrin 1.5% CS และ lambda-cyhalothrin 2.5% CS, สารกำจัดโรคพืช ได้แก่ azoxystrobin 25% SC, metalaxyl 25% WP ชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืช ได้แก่ แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai*, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, *Bacillus subtilis* 20W1 และไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง *Steinernema carpocapsae*
2. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง
3. ไม้ปักแปลง ป้ายแสดง ลวด อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล
4. แปลงคะน้าของเกษตรกร
5. โรงเรือนตาข่ายกันแมลงขนาด 32 mesh ขนาดกว้าง 9 เมตร ยาว 34 เมตร สูง 5.20 เมตร

### วิธีการ

คัดเลือกเกษตรกร 2 ราย โดยเกษตรกรต้องเป็นเครือข่ายของบริษัทส่งออก แต่ละรายดำเนินการ 2 วิธี ดังนี้

**วิธีที่ 1 วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) ในระบบโรงเรือน ดำเนินการดังนี้**

ทำการสำรวจประชากรของศัตรูพืชในโรงเรือน โดยมีขนาดการสุ่ม 100 ต้น/โรงเรือน ทุก 4 วัน ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนด ให้ดำเนินการป้องกันกำจัด ดังนี้

หนอนใยผัก (diamondback moth) ระดับเศรษฐกิจ (ETL) > 20 ต้น ถ้าเกินระดับ ETL พ่น spinosad 12% SC หรือ พ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* อัตรา 200 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ETL) เก็บหนอนหรือดักแด้ออกจากแปลงปลูกหรือพ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* อัตรา 200 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กลุ่มหนอนผีเสื้อ ระดับเศรษฐกิจ (ETL) > 20 ต้น ถ้าเกินระดับ ETL พ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือสารฆ่าแมลง emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ methoxyfenozide 24% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ gamma-cyhalothrin 1.5% CS อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารหรือชีวภัณฑ์ชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ETL) เก็บตัวหนอนออกจากแปลง หรือพ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

ด้วงหมัดผัก (leaf eating beetle) ระดับเศรษฐกิจ (ETL) >1 ต้น ถ้าเกินระดับ ETL พ่นไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง *Steinernema carpocapsae* อัตรา 50 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร หรือพ่น acetamiprid 20% SP อัตรา 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และพ่นทุก 7 วัน

โรคใบจุด ถ้าเริ่มพบโรค ให้พ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* 20W1 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือสารกำจัดโรคพืช azoxystrobin 25% SC อัตรา 5-10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารหรือชีวภัณฑ์ชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน

โรคราน้ำค้าง ถ้าพบระบาดใช้สารกำจัดโรคพืช metalaxyl 25% WP อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 5-7 วัน

หมายเหตุ การเลือกใช้สารเคมีหรือชีวภัณฑ์ต้องพิจารณาตามอายุพืชด้วย ถ้าพืชอยู่ในระยะเจริญเติบโตจะเลือกใช้สารเคมี และถ้าพืชอยู่ในระยะใกล้เก็บเกี่ยวถึงเก็บเกี่ยวจะเลือกใช้ชีวภัณฑ์เป็นหลัก

**วิธีที่ 2 วิธีของเกษตรกรในระบบโรงเรือน**

1. ดำเนินการผลิตคะน้าในโรงเรือนตาข่ายกันแมลงขนาด 32 mesh ขนาด ขนาดกว้าง 9 เมตร ยาว 34 เมตร สูง 5.20 เมตร

2. ใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตามรายการที่บริษัทส่งออกได้กำหนดไว้

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- จำนวนและชนิดของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
- บันทึกการเป็นโรค
- ชนิดและจำนวนครั้งที่ใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- ชนิดและจำนวนครั้งที่ใช้สารชีวภัณฑ์ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช

- บันทึกปริมาณผลผลิตและราคา
- ต้นทุนการใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช/สารชีวภัณฑ์ ข้อมูลค่าใช้จ่ายที่เป็นต้นทุนการผลิตทั้งหมด
- วิเคราะห์ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ มูลค่าผลผลิต (บาท/ไร่) ต้นทุนในการผลิต (บาท/ไร่) สัดส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุน (B/C) ระหว่างแปลง IPM และ แปลงเกษตรกร
- บันทึกผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ตามวิธีการของ codex
- วิเคราะห์ผลความแตกต่างทางสถิติในการควบคุมศัตรูคะน้า

**เวลาและสถานที่**

เวลา ดำเนินงาน 2 ปี เริ่มต้น ตุลาคม 2565 สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ แปลงคะน้าเกษตรกรที่มีระบบโรงเรือนในอำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูคะน้าแบบผสมผสานในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ดำเนินการทดลองที่แปลงปลูกคะน้าระบบโรงเรือนของเกษตรกรที่อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม โดยเปรียบเทียบวิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) และวิธีการของเกษตรกร วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสานในระบบโรงเรือน ประกอบด้วย การสุ่มสำรวจประชากรศัตรูพืชในโรงเรือน โดยมีขนาดการสุ่ม 100 ต้น/โรงเรือน ทุก 4 วัน และการใช้ระดับเศรษฐกิจเป็นเครื่องมือช่วยตัดสินใจในการพ่นสารเคมี ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนด ให้ดำเนินการป้องกันกำจัด ศัตรูพืชพืชเป้าหมายได้แก่ หนอนใยผัก กลุ่มหนอนผีเสื้อ ด้วงหมัดผัก โรคใบจุด และโรคราน้ำค้าง ดำเนินการระหว่างเดือน ธันวาคม 2566 – กันยายน 2567 ผลการดำเนินการพบว่า

**<u>ผลการทดลองในแปลงทดลองที่ 1</u>** ทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูคะน้าในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ที่อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนธันวาคม 2566 - กันยายน 2567 โดยเปรียบเทียบระหว่างวิธี IPM และวิธีเกษตรกรผลการดำเนินการพบว่า

**ศัตรูพืชที่พบ** (Table 1)

- หนอนใยผัก ในแปลงกรรมวิธี IPM ไม่พบหนอนใยผักเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้และกรรมวิธีเกษตรกร พบหนอนใยผักเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้ 2 ครั้ง

- หนอนกระทู้ผัก ในแปลงกรรมวิธี IPM และกรรมวิธีเกษตรกร ไม่พบหนอนกระทู้ผักเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้

- หนอนกระทู้หอม ในแปลงกรรมวิธี IPM ไม่พบหนอนกระทู้หอมเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้และกรรมวิธีเกษตรกรพบหนอนกระทู้หอมเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้ 2 ครั้ง

- หนอนผีเสื้อ ในแปลงกรรมวิธี IPM และกรรมวิธีเกษตรกร ไม่พบหนอนผีเสื้อเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้

- หนอนเจาะยอดกะหล่ำ ในแปลงกรรมวิธี IPM และกรรมวิธีเกษตรกร ไม่พบหนอนเจาะยอดกะหล่ำเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้

- หนอนแมลงวันชอนใบ ในแปลงกรรมวิธี IPM และกรรมวิธีเกษตรกร ไม่พบหนอนแมลงวันชอนใบเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้

- ด้วงหมัดผัก ในแปลงกรรมวิธี IPM และกรรมวิธีเกษตรกร พบด้วงหมัดผักเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้ 13 ครั้ง

- โรคใบจุด ในแปลงกรรมวิธี IPM พบโรคใบจุด 3 ครั้ง และกรรมวิธีเกษตรกร ไม่พบโรคใบจุดเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้

- โรคราน้ำค้าง ในแปลงกรรมวิธี IPM และกรรมวิธีเกษตรกร ไม่พบโรคราน้ำค้างเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้

**การป้องกันกำจัดศัตรูพืช** (Table 2)

**วิธี IPM** จากการสำรวจประชาการศัตรูพืชในโรงเรือนจำนวน 15 ครั้ง พบด้วงหมัดผักเกินระดับเศรษฐกิจ 13 ครั้ง ดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงรวม 12 ครั้ง โดยพ่นสาร acetamiprid 20% SP อัตรา 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดด้วงหมัดผัก พ่น *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* อัตรา 200 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 5 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดหนอนใยผักและกลุ่มหนอนผีเสื้อ พ่นไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง *Steinernema carpocapsae* อัตรา 50 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร 4 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดด้วงหมัดผัก และพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช 2 ครั้ง โดยพ่น *Bacillus subtilis* 20W1 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

**วิธีเกษตรกร** จากการสำรวจประชาการศัตรูพืชในโรงเรือนจำนวน 15 ครั้ง พบหนอนใยผักเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง หนอนกระทู้หอมเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง ด้วงหมัดผักเกินระดับเศรษฐกิจ 13 ครั้ง ดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงรวม 10 ครั้ง โดยพ่นสาร lufenuron 5% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดกลุ่มหนอนผีเสื้อ พ่น D-limonene 5.7% ME อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดกลุ่มแมลงปากดูด พ่น abamectin 1.8% EC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดกลุ่มหนอนผีเสื้อ พ่น acetamiprid 20% SP อัตรา 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดด้วงหมัดผัก พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดกลุ่มหนอนผีเสื้อและกลุ่มแมลงปากดูด พ่น cartap hydrochloride 50% SP อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดกลุ่มหนอนผีเสื้อ

การปนเปื้อนของสารเคมีในผลผลิตคะน้าวิธี IPM และวิธีเกษตรกร ไม่พบการปนเปื้อนของสารเคมี

ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ในการปลูกคะน้าระบบโรงเรือน วิธี IPM ตลอดการทดลองเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 183 กิโลกรัม/พื้นที่ 306 ตารางเมตร จำหน่ายให้บริษัทส่งออกในราคาประกันกิโลกรัมละ 50 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 9,150 บาท ต้นทุนการผลิต 2,298.58 บาท เป็นค่าสารเคมีป้องกัน

กำจัดในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ปุ๋ย ต้นพันธุ์ เตรียมแปลง และค่าแรงงาน เมื่อหักต้นทุนการผลิตแล้ว พบว่า วิธี IPM มีกำไรสุทธิ 6,851.42 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 3.98 มากกว่าวิธีเกษตรกร ส่วนวิธีเกษตรกร ตลอดการทดลองเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 30 กิโลกรัม/พื้นที่ 306 ตารางเมตร จำหน่ายให้บริษัทส่งออกในราคาประกันกิโลกรัมละ 50 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 1,500 บาท ต้นทุนการผลิต 677.68 บาท วิธีเกษตรกรมีกำไรสุทธิ 822.32 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 2.21 น้อยกว่าวิธี IPM (Table 3)

**ผลการทดลองในแปลงทดลองที่ 2** ทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูคะน้าในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ที่อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนมกราคม - กันยายน 2567 โดยเปรียบเทียบระหว่างวิธี IPM และวิธีเกษตรกรผลการดำเนินการพบว่า

**ศัตรูพืชที่พบ** (Table 4)

- หนอนใยผัก ในแปลงกรรมวิธี IPM ไม่พบหนอนใยผักเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้และกรรมวิธีเกษตรกร พบหนอนใยผักเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้ 3 ครั้ง
- หนอนกระทู้ผัก ในแปลงกรรมวิธี IPM และกรรมวิธีเกษตรกร ไม่พบหนอนกระทู้ผักเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้
- หนอนกระทู้หอม ในแปลงกรรมวิธี IPM ไม่พบหนอนกระทู้หอมเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้และกรรมวิธีเกษตรกรพบหนอนกระทู้หอมเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้ 2 ครั้ง
- หนอนผีเสื้อ ในแปลงกรรมวิธี IPM และกรรมวิธีเกษตรกร ไม่พบหนอนผีเสื้อเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้
- หนอนเจาะยอดกะหล่ำ ในแปลงกรรมวิธี IPM และกรรมวิธีเกษตรกร ไม่พบหนอนเจาะยอดกะหล่ำเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้
- หนอนแมลงวันชอนใบ ในแปลงกรรมวิธี IPM และกรรมวิธีเกษตรกร ไม่พบหนอนแมลงวันชอนใบเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้
- ด้วงหมัดผัก ในแปลงกรรมวิธี IPM พบด้วงหมัดผักเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้ 13 ครั้ง และกรรมวิธีเกษตรกร พบด้วงหมัดผักเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้ 13 ครั้ง
- โรคใบจุด ในแปลงกรรมวิธี IPM พบโรคใบจุด 3 ครั้ง และกรรมวิธีเกษตรกร ไม่พบโรคใบจุดเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้
- โรคราน้ำค้าง ในแปลงกรรมวิธี IPM และกรรมวิธีเกษตรกร ไม่พบโรคราน้ำค้างเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดไว้

**การป้องกันกำจัดศัตรูพืช** (Table 5)

**วิธี IPM** จากการสำรวจประชากรศัตรูพืชในโรงเรือนจำนวน 15 ครั้ง พบด้วงหมัดผักเกินระดับเศรษฐกิจ 13 ครั้ง ดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงรวม 10 ครั้ง โดยพ่นสาร acetamiprid 20% SP อัตรา 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดด้วงหมัดผัก พ่น *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* อัตรา 200 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 4 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัด

หนอนใยผักและกลุ่มหนอนผีเสื้อ พ่นไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง *Steinernema carpocapsae* อัตรา 50 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร 4 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดด้วงหมัดผัก และพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช 2 ครั้ง โดยพ่น *Bacillus subtilis* 20W1 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

**วิธีเกษตรกร** จากการสำรวจประชาการศัตรูพืชในโรงเรือนจำนวน 15 ครั้ง พบหนอนใยผักเกินระดับเศรษฐกิจ 3 ครั้ง หนอนกระทู้หอมเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง ด้วงหมัดผักเกินระดับเศรษฐกิจ 13 ครั้ง ดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงรวม 11 ครั้ง โดยพ่นสาร lufenuron 5% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดกลุ่มหนอนผีเสื้อ พ่น D-limonene 5.7% ME อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดกลุ่มแมลงปากดูด พ่น abamectin 1.8% EC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดกลุ่มหนอนผีเสื้อ พ่น acetamiprid 20% SP อัตรา 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดด้วงหมัดผัก พ่น emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดกลุ่มหนอนผีเสื้อและกลุ่มแมลงปากดูด พ่น cartap hydrochloride 50% SP อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดกลุ่มหนอนผีเสื้อ

การปนเปื้อนของสารเคมีในผลผลิตคะน้าวิธี IPM และวิธีเกษตรกร ไม่พบการปนเปื้อนของสารเคมี

ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ในการปลูกคะน้าระบบโรงเรือน วิธี IPM ตลอดการทดลองเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 186 กิโลกรัม/พื้นที่ 306 ตารางเมตร จำหน่ายให้บริษัทส่งออกในราคาประกันกิโลกรัมละ 50 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 9,300 บาท ต้นทุนการผลิต 2013.58 บาท เป็นค่าสารเคมีป้องกันกำจัดในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ปุ๋ย ต้นพันธุ์ เตรียมแปลง และค่าแรงงาน เมื่อหักต้นทุนการผลิตแล้วพบว่า วิธี IPM มีกำไรสุทธิ 7,286.42 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 4.62 มากกว่าวิธีเกษตรกร ส่วนวิธีเกษตรกร ตลอดการทดลองเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 35 กิโลกรัม/พื้นที่ 306 ตารางเมตร จำหน่ายให้บริษัทส่งออกในราคาประกันกิโลกรัมละ 50 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 1,750 บาท ต้นทุนการผลิต 786.88 บาท วิธีเกษตรกรมีกำไรสุทธิ 963.12 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 2.22 น้อยกว่าวิธี IPM (Table 6)

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูคะน้าแบบผสมผสานในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรปมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเทคโนโลยีการผลิตคะน้าในระบบโรงเรือน ให้เป็นไปตามมาตรฐานที่กลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ยอมรับ ลดปริมาณหนอนใยผัก หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะยอดกะหล่ำ หนอนแมลงวันชอนใบ และด้วงหมัดผักให้มีปริมาณน้อยที่สุด ผลผลิตไม่มีปัญหาสารพิษตกค้างและปลอดภัย ได้มาตรฐานสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ดำเนินการทดลองที่แปลงปลูกคะน้าระบบโรงเรือนของเกษตรกรที่อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม โดยเปรียบเทียบวิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) และวิธีการของเกษตรกร โดยวิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบ

ผสมผสานในระบบโรงเรือน ประกอบด้วย การสุ่มสำรวจประชากรศัตรูพืชในโรงเรือน และการใช้ระดับเศรษฐกิจในการช่วยตัดสินใจพ่นสารเคมี หากพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนด ให้ดำเนินการป้องกันกำจัด จากผลการทดลองดำเนินการพ่นสารกำจัดศัตรูพืช และสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืช รวมทั้งหมดจำนวน 14 และ 12 ครั้ง ตามลำดับ เพื่อป้องกันกำจัดด้วงหมัดผักแถบลาย หนอนใยผัก หนอนกระทู้หอม หนอนเจาะยอดกะหล่ำ และโรคใบจุดในคะน้า ส่วนกรรมวิธีเกษตรกรทำการพ่นสารกำจัดศัตรูพืชรวมทั้งหมด 10 และ 11 ครั้ง ตามลำดับ เพื่อกำจัดแมลงศัตรูพืชโดยทำการพ่นเป็นประจำทุก 5 - 7 วัน

การดำเนินการป้องกันศัตรูพืชในกรรมวิธี IPM สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตคะน้าได้ 183 และ 186 กิโลกรัมต่อพื้นที่ปลูก 306 ตารางเมตร ตามลำดับ คิดเป็นราคากิโลกรัมละ 50 บาท มูลค่าผลผลิต 9,150 และ 9,300 บาท ตามลำดับ ต้นทุนการผลิตในการกำจัดศัตรูพืชเป็น 2,298.58 และ 2,013.58 บาท ตามลำดับ เมื่อหักต้นทุนการผลิตแล้วพบว่า แปลงวิธี IPM มีกำไรสุทธิ 6,851.42 และ 7,286.42 บาท ตามลำดับ ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 3.98 และ 4.62 มากกว่ากรรมวิธีเกษตรกรซึ่งเก็บเกี่ยวผลผลิตคะน้าได้ 30 และ 35 กิโลกรัมต่อพื้นที่ปลูก 306 ตารางเมตร ตามลำดับ คิดเป็นราคากิโลกรัมละ 50 บาท มูลค่าผลผลิต 1,500 และ 1,750 บาท ตามลำดับ ต้นทุนการผลิตในการกำจัดศัตรูพืชเป็น 677.68 และ 786.88 บาท ตามลำดับ เมื่อหักต้นทุนการผลิตแล้วพบว่า แปลงวิธีเกษตรกรมีกำไรสุทธิ 822.32 และ 963.12 บาท ตามลำดับ ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 2.21 และ 2.22 น้อยกว่าวิธี IPM

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเกษตรกรเจ้าของแปลงที่เอื้อเฟื้อแปลงปลูกสำหรับดำเนินงานทดลอง ขอขอบคุณพนักงานราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืช ที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัยทุกท่าน

## เอกสารอ้างอิง

กองกีฏและสัตววิทยา. 2544. *เทคโนโลยีทางเลือกสำหรับ ไอ พี เอ็ม*. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 309 หน้า.

กลุ่มบริหารศัตรูพืช และกลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2559. ชนิดของพืชผักและแมลงศัตรูที่ทำลายพืชผักตระกูลกะหล่ำ. หน้า 2-3. *ใน*: *แมลงศัตรูผัก เห็ด และไม้ดอก.* สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. *คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2553*. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 303 หน้า.

สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น. 2554. แมลงศัตรูผักและการป้องกันก าจัด.หน้า 34-35 ใน เอกสารวิชาการแมลงศัตรูผัก เห็ดและไม้ดอก.กลุ่มบริหารศัตรูพืช/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. ส านักวิจัยพัฒนาการ อารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร

สัญญาณี ศรีคชา สุเทพ สหายา สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และพวงผกา อ่างมณี. 2560. คู่มือการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป (ฉบับปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติม). กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 53 หน้า

**Table 1** The number of plants in the IPM field and the farmer field that found insect pests and disease at Sam phran district Nakhon Pathom province between December 2023 – September 2024

| Date | The number of plants | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | diamondback moth | | beet armyworm | | cabbage webworm | | common cutworm | | leaf eating beetle | | leaf spot disease | |
| | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer |
| **1** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **2** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **3** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | **3** | **3** | 0 | 0 |
| **4** | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | **2** | **5** | 0 | 0 |
| **5** | 5 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | **11** | **7** | 0 | 0 |
| **6** | 1 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | **32** | **25** | 0 | 0 |
| **7** | 15 | 19 | 6 | 4 | 0 | 0 | 1 | 0 | **7** | **12** | 0 | 0 |
| **8** | 7 | 2 | 1 | 11 | 1 | 0 | 1 | 1 | **26** | **62** | 0 | 0 |
| **9** | 13 | **27** | 0 | **36** | 4 | 0 | 0 | 0 | **17** | **25** | 0 | 0 |
| **10** | 16 | 7 | 0 | **65** | 5 | 0 | 0 | 1 | **44** | **13** | 0 | 0 |
| **11** | 13 | 20 | 2 | 8 | 3 | 0 | 0 | 0 | **26** | **37** | 0 | 0 |
| **12** | 16 | **41** | 2 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | **26** | **60** | 1 | 0 |
| **13** | 15 | 19 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | **29** | **94** | 2 | 0 |
| **14** | 8 | 10 | 0 | 6 | 1 | 0 | 0 | 0 | **40** | **96** | 1 | 0 |
| **15** | 2 | 10 | 0 | 10 | 1 | 0 | 0 | 0 | **27** | **84** | 0 | 0 |

Bold characters mean that exceed the economic threshold level (ETL) for each pest.

**Table 2** The comparison of types of pesticides, times of use and prices between IPM field and Farmer field at Sam phran district Nakhon Pathom province between December 2023 – September 2024

| types of pesticides | times of use | prices |
|---|---|---|
| **Farmer field** | | |
| **Insecticides** | | |
| lufenuron 5% EC | 2 | 18.4 Baht/10 ml |
| D-limonene 5.7% ME | 1 | 18 Baht/20 ml |
| abamectin 1.8% EC | 2 | 7.5 Baht/15 ml |
| acetamiprid 20% SP | 1 | 60 Baht/30 g |
| emamectin benzoate 1.92% EC | 2 | 22.8 Baht/20 ml |
| cartap hydrochloride 50% SP | 2 | 75 Baht/50 g |
| **IPM field** | | |
| **fungicide and biological fungicide** | | |
| *Bacillus subtilis* | 2 | 20 Baht/40 g |
| **Insecticides and biological insecticide** | | |
| acetamiprid 20% SP | 3 | 60 Baht/30 g |
| *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* | 5 | 130 Baht/200 ml |
| *Steinernema carpocapsae* | 4 | 150 Baht/75 ml |

**Table 3** Use and residue of pesticides and economic return compared between IPM method and farmer method in Chinese kale plantation at Sam phran district Nakhon Pathom province between December 2023 – September 2024.

| Details | IPM method | Farmer method |
|---|---|---|
| **1. The use of pesticides** | | |
| a. types of pesticides | | |
| fungicide | 1 | 0 |
| Insecticides | 3 | 6 |
| b. number of times of spraying pesticide | 14 | 10 |
| **2. Residue of pesticides** | ND | ND |
| **3. Economic return** | | |
| Product value (Baht/306 $m^2$) (B) | 9,150 | 1,500 |
| Cost of production (Baht/306 $m^2$) (C) | 2,298.58 | 677.68 |
| Net profit (Baht/306 $m^2$) | 6,851.42 | 822.32 |
| benefit cost ratio (B/C) | 3.98 | 2.21 |

ND = not detected

**Table 4** The number of plants in the IPM field and the farmer field that found insect pests and disease at Sam phran district Nakhon Pathom province between January– September 2024

| Date | The number of plants | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | diamondback moth | | beet armyworm | | cabbage webworm | | common cutworm | | leaf eating beetle | | leaf spot disease | |
| | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer |
| **1** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **2** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| **3** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | **10** | **3** | 0 | 0 |
| **4** | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | **11** | **5** | 0 | 0 |
| **5** | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | **11** | **5** | 0 | 0 |
| **6** | 2 | 4 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 1 | **46** | **33** | 0 | 0 |
| **7** | 9 | 19 | 4 | 4 | 4 | 0 | 1 | 0 | **22** | **25** | 0 | 0 |
| **8** | 8 | 4 | 1 | 19 | 0 | 1 | 0 | 0 | **33** | **61** | 0 | 0 |
| **9** | 15 | **25** | 0 | **38** | 5 | 0 | 0 | 0 | **14** | **26** | 0 | 0 |
| **10** | 18 | 12 | 1 | **53** | 3 | 0 | 0 | 0 | **48** | **13** | 0 | 0 |
| **11** | 14 | 15 | 0 | 6 | 1 | 0 | 0 | 0 | **35** | **58** | 1 | 0 |
| **12** | 6 | **32** | 11 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | **32** | **76** | 1 | 0 |
| **13** | 7 | **25** | 1 | 4 | 0 | 5 | 0 | 0 | **33** | **93** | 2 | 0 |
| **14** | 6 | 9 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | **40** | **96** | 0 | 0 |
| **15** | 2 | 5 | 0 | 14 | 0 | 0 | 0 | 0 | **24** | **74** | 0 | 0 |

Bold characters mean that exceed the economic threshold level (ETL) for each pest.

**Table 5** The comparison of types of pesticides, times of use and prices between IPM field and Farmer field at Sam phran district Nakhon Pathom province between January– September 2024

| types of pesticides | times of use | prices |
|---|---|---|
| **Farmer field** | | |
| **Insecticides** | | |
| lufenuron 5% EC | 2 | 18.4 Baht/10 ml |
| D-limonene 5.7% ME | 1 | 18 Baht/20 ml |
| abamectin 1.8% EC | 2 | 7.5 Baht/15 ml |
| acetamiprid 20% SP | 2 | 60 Baht/30 g |
| emamectin benzoate 1.92% EC | 2 | 22.8 Baht/20 ml |
| cartap hydrochloride 50% SP | 2 | 75 Baht/50 g |
| **IPM field** | | |
| **fungicide and biological fungicide** | | |
| *Bacillus subtilis* | 2 | 20 Baht/40 g |
| **Insecticides and biological insecticide** | | |
| acetamiprid 20% SP | 2 | 60 Baht/30 g |
| *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* | 4 | 130 Baht/200 ml |
| *Steinernema carpocapsae* | 4 | 150 Baht/75 ml |

**Table 6** Use and residue of pesticides and economic return compared between IPM method and farmer method in Chinese kale plantation at Sam phran district Nakhon Pathom province between January– September 2024

| Details | IPM method | Farmer method |
|---|---|---|
| **1. The use of pesticides** | | |
| a. types of pesticides | | |
| fungicide | 1 | 0 |
| Insecticides | 3 | 6 |
| b. number of times of spraying pesticide | 12 | 11 |
| **2. Residue of pesticides** | ND | ND |
| **3. Economic return** | | |
| Product value (Baht/306 $m^2$) (B) | 9,300 | 1,750 |
| Cost of production (Baht/306 $m^2$) (C) | 2013.58 | 786.88 |
| Net profit (Baht/306 $m^2$) | 7,286.42 | 963.12 |
| benefit cost ratio (B/C) | 4.62 | 2.22 |

ND = not detected

**Figure 1** Preparing green house for plantation

**Figure 2** Chinese kale plantation in greenhouses; IPM method

**Figure 3** Chinese kale plantation in greenhouses; farmer method

# เทคโนโลยีการจัดการศัตรูผักชีฝรั่งในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป

# Integrated Pest Management for *Eryngium foetidum* L. in Greenhouse Systems for Export to the European Union

**วนาพร วงษ์นิคง[1/] สัญญาณี ศรีคชา[1/] กรกต ดำรักษ์[1/] หทัยภัทร เจษฎารมย์[1/]**
**ทัศนาพร ทัศคร[2/] ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ[3/] นายเพทาย กาญจนเกษร[4/]**
**[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
**[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
**[3/]กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร**
**[4/]กลุ่มวิจัยและพัฒนา ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครปฐม**

## Abstract

The study investigated Integrated Pest Management (IPM) for *Eryngium foetidum* L. under greenhouse conditions for export to the European Union. Two experimental trials were conducted: Trial 1 in Phutthamonthon District from December 2023 to August 2024, and Trial 2 in Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom Province, from January to February 2025, comparing IPM with conventional farmer practices. The IPM approach involved conducting a pest survey every seven days (100 plants per greenhouse), making decisions based on economic threshold levels, and installing yellow sticky traps at 2-meter intervals, which were replaced every 14 days. In case of a thrips outbreak, blue sticky traps were installed every 2 meters to reduce the thrips population and minimize chemical use. In contrast, the conventional farmer method involved applying pesticides based on visual pest observations without using economic threshold levels. Results indicated that the IPM method reduced populations of thrips, leafhoppers, and leaf spot disease. The IPM method resulted in a Benefit-Cost Ratio (B/C) of 0.69 and 3.49 in locations 1 and 2, respectively. In contrast, the conventional method demonstrated a B/C ratio of 2.70 and 8.89 in locations 1 and 2, respectively.

**Keywords :** Integrated Pest management, *Eryngium foetidum* L., greenhouse system, European Union

รหัสการทดลอง FF65-57-02-65-00-05-66

## บทคัดย่อ

การทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูผักชีฝรั่งในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ดำเนินการ 2 แปลงทดลอง แปลงที่ 1 ที่อำเภอพุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนธันวาคม 2566 ถึง เดือนสิงหาคม 2567 แปลงที่ 2 ที่อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ 2568 โดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีเกษตรกรและวิธี IPM วิธี IPM มีการสำรวจประชากรของศัตรูพืช โดยทำการสุ่ม 100 ต้น/โรงเรือน ทุก 7 วัน และใช้ระดับเศรษฐกิจ (ETL) ในการตัดสินใจ หากพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ดำเนินการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ติดตั้งกับดักกาวเหนียวสีเหลืองในโรงเรือนทุกระยะ 2 เมตร และเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน ในกรณีพบเพลี้ยไฟระบาด ติดตั้งกับดักกาวเหนียวสีฟ้าทุกระยะ 2 เมตร เพื่อลดประชากรเพลี้ยไฟ และลดการใช้สารเคมี เกษตรกรมีการพ่นสารเคมีโดยสำรวจแมลงในแปลงปลูก และหากพบศัตรูพืชดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดทันที แต่ไม่ได้อ้างอิงจากระดับเศรษฐกิจ แปลง IPM (การปลูกผักชีฝรั่งในระบบโรงเรือน) พบว่าสามารถลดการระบาดของศัตรูพืชบางชนิดได้ ได้แก่ เพลี้ยไฟ เพลี้ยจักจั่น และโรคใบจุด วิธี IPM แปลงที่ 1 และ 2 ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) เท่ากับ 0.69 และ 3.49 ตามลำดับ วิธีเกษตรกร ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) เท่ากับ 2.70 และ 8.89 ตามลำดับ


**คำหลัก :** การจัดการศัตรูพืช, ผักชีฝรั่ง, ระบบโรงเรือน, กลุ่มสหภาพยุโรป

## คำนำ

จากการเลือกใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างต่อเนื่องหรือเกินความจำเป็น ทำให้เกิดปัญหาแมลงสร้างความต้านทานต่อสารเคมี สารพิษตกค้างเกินค่ามาตรฐาน อีกทั้งสหภาพยุโรปมีข้อบังคับห้ามใช้สารเคมีในกลุ่ม Neonicotinoids และมีแผนถอดถอนสารเคมีกลุ่มที่เป็นสารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ ซึ่งสารเคมีในกลุ่มดังกล่าวยังคงใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ทำให้ประเทศไทยต้องพัฒนาปรับปรุงระบบการผลิตพืช ซึ่งการเลือกวิธีการควบคุมศัตรูพืชเพียงวิธีเดียว ไม่สามารถควบคุมศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นควรนำวิธีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชหลายๆ วิธีมารวมเป็นวิธีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน (Integrated Pest Management-IPM) เพื่อแก้ปัญหาศัตรูพืชกักกันปนเปื้อนในสินค้าเกษตร และลดปัญหาสารพิษตกค้างเกินค่ามาตรฐานได้อย่างยั่งยืน คณะกรรมการองค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ นิยามความหมายของ IPM ว่าเป็นระบบการจัดการ รวบรวมรายละเอียดเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงประชากรของศัตรูพืชกับสภาพแวดล้อมที่เกี่ยวข้องกับการเลือกเทคนิค และวิธีการที่เหมาะสมมาผสมผสาน เพื่อใช้ดำเนินการลดระดับปริมาณศัตรูพืชให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ (FAO, 1968) การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน สามารถใช้ข้อมูลต่างๆ ประกอบการตัดสินใจป้องกันกำจัดศัตรูพืช ใช้หลักด้านนิเวศวิทยาและเศรษฐศาสตร์ สำรวจประชากรศัตรูพืชอย่างสม่ำเสมอ และคำนึงถึงสภาพแวดล้อม ผลการตัดสินใจนั้น อาจไม่ต้องมีการควบคุมหรืออาจเลือกใช้วิธีการควบคุมวิธีใด

วิธีหนึ่ง หรือหลายวิธีการผสมผสานกัน เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดทั้งด้านเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม

แมลงหวี่ขาวยาสูบ (tobacco whitefly) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Bemisia tabaci* (Gennadius) จัดอยู่ในวงศ์ Aleyrodidae อันดับ Hemiptera แมลงหวี่ขาวยาสูบเป็นศัตรูที่สำคัญของพืชผักและพืชเส้นใย ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบ ทำให้ใบหงิกงอและเหี่ยวแห้ง ต้นแคระแกร็น นอกจากนี้ยังเป็นพาหะนำเชื้อไวรัสทำให้เกิดโรคด่างเหลือง พบระบาดมากในฤดูแล้ง ตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวยาสูบจะวางไข่ติดกับเนื้อเยื่อของพืช โดยวางเป็นกลุ่มใต้ใบพืช ไข่รูปร่างยาวรี สีเหลืองอ่อน ขนาด 0.1-0.3 มิลลิเมตร ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ได้สูงสุดมากกว่าร้อยฟอง ตัวอ่อนมีลักษณะแบนราบติดกับผิวใบพืช ตัวอ่อนมี 3 ระยะ ตัวอ่อนมีอายุ 11-18 วัน ดักแด้ขนาด 0.6-0.8 มิลลิเมตร ระยะดักแด้ 5-7 วัน ตัวเต็มวัยจะออกจากดักแด้ตรงรอยแตกที่ส่วนอก ตัวเต็มวัยมีอายุ 2-11 วัน พืชอาหารได้แก่ ฝ้าย ยาสูบ พริก มันเทศ มะเขือเทศ กระเจี๊ยบเขียว มะเขือเปราะ กะเพรา โหระพา แมงลัก ผักชี ปอแก้ว ถั่วเหลือง และถั่วต่างๆ (สัญญาณีและคณะ, 2560) นอกจากนี้แมลงหวี่ขาวยาสูบยังจัดเป็นแมลงศัตรูกักกันในกลุ่มสหภาพยุโรป เนื่องจากเป็นพาหะนำเชื้อไวรัสได้หลายชนิด

เพลี้ยไฟฝ้าย (cotton thrips) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Thrips palmi* Karny จัดอยู่ในวงศ์ Thripidae อันดับ Thysanoptera เพลี้ยไฟฝ้ายเป็นศัตรูสำคัญของพืชผัก พืชไร่และไม้ดอกหลายชนิด ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากพืช ทำให้เกิดรอยด่านหรือรอยแผลสีน้ำตาลใบแห้ง ตาอ่อน ยอด ดอกและผลไม่เจริญเติบโต ระยะที่พืชขาดน้ำอาจทำให้พืชตายได้ เพลี้ยไฟฝ้ายพบทำลายพืชได้เกือบตลอดปี การระบาดมักพบในช่วงฤดูร้อนหรือช่วงที่มีอากาศแห้งแล้ง ฝนทิ้งช่วงเป็นเวลานาน วงจรชีวิตของเพลี้ยไฟเฉลี่ย 14-23 วัน (สัญญาณีและคณะ, 2560)

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูผักชีฝรั่งในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรปมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเทคโนโลยีการผลิตผักชีฝรั่งให้เป็นไปตามข้อกำหนดของสหภาพยุโรป โดยนำคำแนะนำการป้องกันกำจัดศัตรูพืชจากเอกสารวิชาการต่างๆ เช่น คู่มือการป้องกันกำจัด แมลงศัตรูพืชสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป (ฉบับปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติม) (สัญญาณี และคณะ, 2560) โรคผักและการป้องกันกำจัด (กลุ่มวิจัยโรคพืช, 2554) และผลงานวิจัยจากนักวิจัยกรมวิชาการเกษตร เปรียบเทียบวิธีการระหว่างวิธีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน และวิธีการของเกษตรกร ซึ่งคาดว่าวิธีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานสำหรับการผลิตผักชีฝรั่งสามารถลดปัญหาศัตรูพืช ได้ผลผลิตที่ปลอดภัย เป็นไปตามข้อกำหนดของสหภาพยุโรป

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. สารฆ่าแมลงและไรศัตรูพืช ได้แก่ emamectin benzoate 1.92% EC, spirotetramat 15% OD, cyantraniliprole 10% OD, sulfoxaflor 50% WG, buprofezin 40% SC, flonicamid

50% WG, lambda-cyhalothrin 2.5% CS, spinetoram 12% SC, petroleum spray oil 83.9% EC และ fenpyroximate 5% SC, white oil 67% EC และD-limonene 5.7 W/V สารกำจัดโรคพืช ได้แก่ azoxystrobin 25% SC, dimethomorph 50% WP ชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืช ได้แก่ แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, *Bacillus subtilis* 20W1

2. ฟิวเจอร์บอร์ด กาวเหนียว ถุงพลาสติก
3. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง
4. ไม้ปักแปลง ป้ายแสดง ลวด อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล
5. แปลงผักชีฝรั่งของเกษตรกร
6. โรงเรือนตาข่ายกันแมลงขนาด 32 mesh ขนาด 6x24 เมตร สูง 5 เมตร

**วิธีการ**

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u>

มี 2 วิธี คือ วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) ในระบบโรงเรือน และวิธีของเกษตรกร

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

คัดเลือกเกษตรกร 2 ราย โดยเกษตรกรต้องเป็นเครือข่ายของบริษัทส่งออก แต่ละรายดำเนินการ 2 วิธี ดังนี้

**วิธีที่ 1 วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) ในระบบโรงเรือน ดำเนินการดังนี้**

1. ปลูกผักชีฝรั่งในโรงเรือนตาข่ายกันแมลงขนาด 32 mesh ขนาด 6x24 เมตร สูง 5 เมตร
2. ติดกับดักกาวเหนียวสีเหลือง ขนาด 6x8 นิ้ว ในโรงเรือน โดยมีระยะห่างระหว่างกับดักทุก 2 เมตร และเปลี่ยนกาวใหม่ทุก 14 วัน
3. ทำการสำรวจประชากรของศัตรูพืชในแปลงปลูกผักชีฝรั่ง โดยมีขนาดการสุ่ม 100 ต้น/โรงเรือน ทุกสัปดาห์ ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนด ให้ดำเนินการป้องกันกำจัด ดังนี้

<u>เพลี้ยไฟ</u> แบ่งระดับเศรษฐกิจ (ETL) ตามระยะการเจริญเติบโตของพืช ดังนี้

- ระยะตั้งแต่หลังงอก - ก่อนระยะเก็บผลผลิต
  - ระดับเศรษฐกิจ (ETL) ≥ 50 ต้น/100 ต้น หรือพบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ยต่อต้น 1-3 ตัว
  - ระดับเศรษฐกิจ (ETL) ≥ 20 ต้น/100 ต้น หรือพบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ยต่อต้นมากกว่า 3 ตัว
- ระยะเก็บผลผลิต – ระยะเก็บผลผลิตรุ่นสุดท้าย
  - ระดับเศรษฐกิจ (ETL) ≥ 80 ต้น/100 ต้น

ถ้าเพลี้ยไฟเกินระดับ ETL พ่นสารฆ่าแมลง emamectin benzoate 1.92% EC (กลุ่ม 6) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ spirotetramat 15% OD (กลุ่ม 23) อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ cyantraniliprole 10% OD (กลุ่ม 28) อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ sulfoxaflor 50% WG (กลุ่ม 4C) อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร โดยเลือกใช้สารชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน งดการใช้สารเคมีก่อนการเก็บเกี่ยว 15 วัน ในระยะเก็บเกี่ยวเพื่อลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช ดำเนินการติดกับดักกาวเหนียวสีฟ้าขนาด 6x8 นิ้ว ทุกระยะ 2 เมตร ตั้งแต่เริ่มพบเพลี้ยไฟระบาดในโรงเรือน โดยเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน

<u>แมลงหวี่ขาวยาสูบ</u> แบ่งระดับเศรษฐกิจ (ETL) ตามระยะการเจริญเติบโตของพืช ดังนี้

- ระยะตั้งแต่หลังงอก – ก่อนระยะเก็บผลผลิต
    - ระดับเศรษฐกิจ (ETL) พบตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาว ≥ 50 ต้น/100 ต้น
    - ระดับเศรษฐกิจ (ETL) พบตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาว ≥ 30 ต้น/100 ต้น และพบแมลงหวี่ขาวที่วัชพืช > 25% ของพื้นที่
    - ระดับเศรษฐกิจ (ETL) พบตัวอ่อนแมลงหวี่ขาว ≥ 10 ต้น/100 ต้น
- ระยะเก็บผลผลิต – ระยะเก็บผลผลิตรุ่นสุดท้าย
    - ระดับเศรษฐกิจ (ETL) ≥ 20 ต้น/100 ต้น

ถ้าแมลงหวี่ขาวเกินระดับ ETL พ่นสารฆ่าแมลง buprofezin 40% SC (กลุ่ม 16) อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ spirotetramat 15% OD (กลุ่ม 23) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ flonicamid 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ sulfoxaflor 50% WG (กลุ่ม 4C) อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ white oil 67% EC อัตรา 150 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ petroleum spray oil 83.9% EC อัตรา 150 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ D-limonene 5.7 W/V อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2-3 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน งดการใช้สารเคมีก่อนการเก็บเกี่ยว 15 วัน

กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ETL) พ่น white oil 67% EC อัตรา 150 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ petroleum spray oil 83.9% EC อัตรา 150 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ D-limonene 5.7 W/V อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

<u>เพลี้ยอ่อน</u> ระดับเศรษฐกิจ (ETL) ≥ 20 ต้น/100 ต้น ถ้าเกินระดับ ETL พ่นสารฆ่าแมลง flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 29) พ่น buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 16) พ่น lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 3A) พ่น spirotetramat 15% OD อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 23) พ่น spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 5) เลือกใช้สารชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน งดการใช้สารเคมีก่อนการเก็บเกี่ยว 15 วัน กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ETL) ตัดส่วนที่พบเพลี้ยอ่อนออก และเก็บทำลายนอกแปลงปลูก

เพลี้ยแป้ง ระดับเศรษฐกิจ (ETL) ≥ 25 ต้น/100 ต้น ถ้าเกินระดับ ETL พ่นสารกำจัดแมลง ปิโตรเลียมสเปรย์ออยล์ (petroleum spray oil) 83.9% EC อัตรา 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ ตัดส่วนที่พบเพลี้ยแป้งออก และเก็บทำลายนอกแปลงปลูก

เพลี้ยจักจั่น ระดับเศรษฐกิจ (ETL) ≥ 20 ต้น/100 ต้น ถ้าเกินระดับ ETL พ่นสารฆ่าแมลง buprofezin 40% SC (กลุ่ม 16) อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน

กลุ่มหนอนผีเสื้อ ระดับเศรษฐกิจ (ETL) ≥ 5 ต้น/100 ต้น ถ้าเกินระดับ ETL พ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (10600 IU/mg SC) อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือสารกำจัดแมลง emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารหรือชีวภัณฑ์ชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน

กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ETL) เก็บตัวหนอนออกจากโรงเรือน หรือพ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (10600 IU/mg SC) อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กลุ่มไร ระดับเศรษฐกิจ (ETL) ≥ 40 ต้น/100 ต้น ถ้าเกินระดับ ETL พ่นสาร fenpyroximate 5% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 21A) พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน

โรคใบจุด ถ้าพบโรค ≥ 20 ต้น/100 ต้น ให้พ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* 20W1 หรือสารกำจัดโรคพืช azoxystrobin 25% SC อัตรา 5 - 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารหรือชีวภัณฑ์ชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน

โรคราน้ำค้าง หากพบอากาศเย็น ความชื้นสูง (มีหมอก) พ่น dimethomorph 50% WP อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน พ่นเพื่อป้องกันโรคราน้ำค้างระบาด ถ้าพบโรค ≥ 20 ต้น/100 ต้น ใช้สารกำจัดโรคพืช dimethomorph 50% WP อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 5 - 7 วัน

วัชพืช ถ้าพบวัชพืชสูงกว่าผักชีฝรั่ง ≥ 50% ต่อพื้นที่เพาะปลูก ให้กำจัดวัชพืชด้วยการถอน และเก็บไปทำลายนอกแปลงปลูก เนื่องจากวัชพืชเป็นพืชอาศัยของแมลงหวี่ขาว

หมายเหตุ การเลือกใช้สารเคมีหรือชีวภัณฑ์พิจารณาตามอายุพืช หากพืชอยู่ในระยะเจริญเติบโตเลือกใช้สารเคมี หากพืชอยู่ในระยะใกล้เก็บเกี่ยวถึงเก็บเกี่ยวเลือกใช้ชีวภัณฑ์เป็นหลัก

วิธีที่ 2 วิธีของเกษตรกร

1. ดำเนินการผลิตผักชีฝรั่งตามวิธีของเกษตรกร
2. ใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตามรายการที่บริษัทส่งออกได้กำหนดไว้

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนและชนิดของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
- บันทึกการเป็นโรค

- ชนิดและจำนวนครั้งที่ใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- ชนิดและจำนวนครั้งที่ใช้สารชีวภัณฑ์ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- บันทึกปริมาณผลผลิตและราคา
- ต้นทุนการใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช/สารชีวภัณฑ์ ข้อมูลค่าใช้จ่ายที่เป็นต้นทุนการผลิตทั้งหมด
- วิเคราะห์ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ มูลค่าผลผลิต (บาท/ไร่) ต้นทุนในการผลิต (บาท/ไร่) สัดส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุน (B/C) ระหว่างแปลง IPM และ แปลงเกษตรกร
- บันทึกผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ตามวิธีการของ codex
- วิเคราะห์ผลความแตกต่างทางสถิติในการควบคุมศัตรูผักชีฝรั่ง

**เวลาและสถานที่**

เวลา วันที่เริ่มต้น ตุลาคม 2565 วันที่สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ 1. กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
2. แปลงผักชีฝรั่งของเกษตรกรที่มีระบบโรงเรือนในอำเภอพุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม
3. แปลงผักชีฝรั่งของเกษตรกรที่มีระบบโรงเรือนในอำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**การดำเนินงานครั้งที่ 1** ดำเนินการทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูผักชีฝรั่งในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ณ อำเภอพุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2566 ถึง เดือนสิงหาคม 2567 โดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีเกษตรกรและวิธี IPM ผลการดำเนินการพบว่า

**วิธี IPM** ทำการปลูกผักชีฝรั่งในระบบโรงเรือน เพื่อลดการระบาดของศัตรูพืช จากการสำรวจประชากรศัตรูพืชในโรงเรือน จำนวน 35 ครั้ง แมลงและไรศัตรูพืชที่พบในแปลงผักชีฝรั่ง ได้แก่ เพลี้ยไฟ เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยแป้ง เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาวยาสูบ หนอนกระทู้ผัก ไรแดง ไรขาว โรคพืชที่พบได้แก่ โรคใบจุด วัชพืชที่พบในแปลงผักชีฝรั่ง ได้แก่ เทียนนา กะเม็ง ตำแยแมว และสาบม่วง เพลี้ยไฟเกินระดับเศรษฐกิจ 4 ครั้ง แมลงหวี่ขาวยาสูบเกินระดับเศรษฐกิจ 20 ครั้ง เพลี้ยจักจั่นเกินระดับเศรษฐกิจ 12 ครั้ง หนอนกระทู้ผักเกินระดับเศรษฐกิจ 3 ครั้ง และโรคใบจุดเกินระดับเศรษฐกิจ 1 ครั้ง (Table 1) ดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงรวม 22 ครั้ง โดยพ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ และหนอนกระทู้ผัก พ่นสาร buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 7 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวและเพลี้ยจักจั่น พ่น spirotetramat 15% OD (กลุ่ม 23) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 4 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาว พ่น petroleum spray oil 83.9% EC อัตรา 150

มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง และพ่น D-limonene 5.7 W/V อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาว เก็บใบที่พบเพลี้ยแป้งทำลายนอกแปลงปลูก กำจัดวัชพืชโดยใช้มือ (ดายหญ้า) จำนวน 5 ครั้ง เพื่อทำลายพืชอาศัยของแมลงหวี่ขาว ดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชรวม 3 ครั้ง โดยพ่นสาร dimethomorph 50% WP อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคราน้ำค้าง พ่นสาร azoxystrobin 25% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เพื่อป้องกันโรคใบจุด (Table 2)

**วิธีเกษตรกร** จากการสำรวจประชากรศัตรูพืชในแปลงปลูกผักชีฝรั่ง จำนวน 35 ครั้ง แมลงและไรศัตรูพืชที่พบในแปลงผักชีฝรั่ง ได้แก่ เพลี้ยไฟ เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยแป้ง เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาวยาสูบ หนอนกระทู้ผัก ไรแดง ไรขาว โรคพืชที่พบได้แก่ โรคใบจุด วัชพืชที่พบในแปลงผักชีฝรั่ง ได้แก่ เทียนนา กะเม็ง ตำแยแมว และสาบม่วง เพลี้ยไฟเกินระดับเศรษฐกิจ 4 ครั้ง แมลงหวี่ขาวยาสูบเกินระดับเศรษฐกิจ 13 ครั้ง เพลี้ยจักจั่นเกินระดับเศรษฐกิจ 24 ครั้ง และโรคใบจุดเกินระดับเศรษฐกิจ 7 ครั้ง (Table 1) ดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงรวม 20 ครั้ง โดยพ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ พ่นสาร lambda-cyhalothrin 2.5% CS อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 1 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดกลุ่มหนอนผีเสื้อ พ่นสาร buprofezin 40% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 5 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวและเพลี้ยจักจั่น พ่นสาร spirotetramat 15% OD (กลุ่ม 23) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 4 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาว พ่น petroleum spray oil 83.9% EC อัตรา 150 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง และพ่น D-limonene 5.7 W/V อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาว ดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชรวม 3 ครั้ง โดยพ่นสาร dimethomorph 50% WP อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคราน้ำค้าง พ่นสาร azoxystrobin 25% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เพื่อป้องกันโรคใบจุด (Table 2) แปลงเกษตรกรมีการกำจัดวัชพืชจำนวน 3 ครั้ง เมื่อพบวัชพืชขึ้นสูง เกษตรกรพ่นสารเคมีโดยการสำรวจแมลงในแปลงปลูก และหากพบศัตรูพืชดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดทันที แต่ไม่ได้อ้างอิงจากระดับเศรษฐกิจ นอกจากนี้มีการพ่นสารเคมีตามแปลง IPM

ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ในการปลูกผักชีฝรั่งในระบบโรงเรือน วิธี IPM ตลอดการทดลองเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 88 กิโลกรัม/พื้นที่ 144 ตารางเมตร จำหน่ายให้บริษัทส่งออกในราคาประกันกิโลกรัมละ 50 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 4,400 บาท ต้นทุนการผลิต 6,405 บาท เป็นค่าสารเคมีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช กับดักกาวเหนียว ปุ๋ย เมล็ดพันธุ์ ค่าแรงงานในการเตรียมแปลงและกำจัดวัชพืช วิธี IPM เก็บผลผลิตผักชีฝรั่งจำนวนน้อยกว่าแปลงเกษตรกร ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) เท่ากับ 0.69 ส่วนวิธีเกษตรกร เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 300 กิโลกรัม/พื้นที่ 144 ตารางเมตร จำหน่ายให้บริษัทส่งออกในราคาประกันกิโลกรัมละ 50 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 15,000 บาท ต้นทุนการผลิต 5,553.80 บาท วิธีเกษตรกรมีกำไรสุทธิ 9,446.20 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) เท่ากับ 2.70 (Table 3)

จากการทดลองเห็นได้ว่าแปลง IPM มีการพ่นสารเคมีมากกว่าแปลงของเกษตรกร (Table 2) เนื่องจากแปลง IPM พบแมลงศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจหลายครั้ง โดยเฉพาะแมลงหวี่ขาว เนื่องจากมีพืชอาศัยหลายชนิดโดยเฉพาะวัชพืช ควรมีการกำจัดวัชพืชอย่างสม่ำเสมอ เพื่อทำลายพืชอาศัย หากไม่มีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชให้ต่ำกว่าระดับเศรษฐกิจ จะพบว่ามีประชากรแมลงศัตรูพืชสูงตลอดเวลา นอกจากนี้การป้องกันกำจัดศัตรูพืชมีข้อจำกัด เนื่องจากแมลงศัตรูพืชมักพบสูงในช่วงใกล้เก็บเกี่ยว ทำให้ไม่สามารถพ่นสารเคมีเพื่อกำจัดแมลงศัตรูพืชได้ เพราะมีความเสี่ยงพบสารพิษตกค้างในผลผลิต ในกรณีของแมลงหวี่ขาว petroleum spray oil 83.9% EC หรือ D-limonene 5.7 W/V เป็นทางเลือกหนึ่งในการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาวในช่วงใกล้เก็บเกี่ยวผลผลิต แต่บางครั้งยังพบแมลงหวี่ขาวระบาดอยู่ ซึ่งอาจเป็นปัญหาพบตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวติดไปกับผลผลิต เนื่องจากตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวมีลักษณะแบนราบติดกับใบพืช ทำให้สังเกตได้ยากหากไม่ใช้แว่นขยายกำลังสูงตรวจสอบผลผลิตก่อนการส่งออก

แปลง IPM (การปลูกผักชีฝรั่งในระบบโรงเรือน) พบว่าสามารถลดการระบาดของศัตรูพืชบางชนิดได้ ได้แก่ เพลี้ยไฟ เพลี้ยจักจั่น ไรแดง และโรคใบจุด จากผลการทดลอง แปลง IPM พบจำนวนต้นผักชีฝรั่งที่มีเพลี้ยไฟ และไรแดงน้อยกว่าแปลงของเกษตรกร แปลง IPM เพลี้ยจักจั่นเกินระดับเศรษฐกิจ 12 ครั้ง ในขณะที่แปลงของเกษตรกรเกินระดับเศรษฐกิจ 24 ครั้ง แปลง IPM พบต้นผักชีฝรั่งที่เป็นโรคใบจุดน้อยกว่าแปลงของเกษตรกร นอกจากนี้พบว่า แปลงการทดลองวิธี IPM จะพบตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวยาสูบที่เป็นแมลงศัตรูกักกันติดไปกับผลผลิตน้อยกว่าแปลงวิธีเกษตรกร

อย่างไรก็ตามพบว่าผักชีฝรั่งที่ปลูกในระบบโรงเรือนมีการเจริญเติบโตช้ากว่าผักชีฝรั่งที่ปลูกโดยใช้สแลนบังแดด ทั้งนี้เนื่องจากหลายปัจจัย ได้แก่ การให้น้ำ ดินแห้ง และไม่ค่อยเก็บความชื้น อุณหภูมิภายในโรงเรือนสูงกว่าภายนอก แต่ความชื้นภายในโรงเรือนต่ำกว่า ซึ่งอาจส่งผลต่อผลผลิตของผักชีฝรั่ง ซึ่งในการทดลองนี้พบว่าแปลง IPM ที่ปลูกในโรงเรือนมีผลผลิตน้อยกว่าการปลูกผักชีฝรั่งนอกโรงเรือน (แปลงเกษตรกร) ดังนั้นหากต้องการปลูกผักชีฝรั่งในโรงเรือนอาจจะต้องพิจารณาเรื่องระบบน้ำ และมีการระบายความร้อนที่ดี

**การดำเนินงานครั้งที่ 2** ดำเนินการทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูผักชีฝรั่งในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ณ ตำบลทุ่งขวาง อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ 2568 โดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีเกษตรกรและวิธี IPM ผลการดำเนินการพบว่า

**วิธี IPM** จากการสำรวจประชากรศัตรูพืชในโรงเรือน จำนวน 8 ครั้ง แมลงและไรศัตรูพืชที่พบในแปลงผักชีฝรั่ง ได้แก่ เพลี้ยไฟ เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยแป้ง แมลงหวี่ขาวยาสูบ และไรแดง โรคพืชที่พบได้แก่ โรคใบจุด (Table 4) วัชพืชที่พบในแปลงผักชีฝรั่ง ได้แก่ กระสัง (*Peperomia pellucida* ( L.) Humb, Bonpl & Kunth) ไม่พบศัตรูพืชชนิดใดที่มีการระบาดเกินระดับเศรษฐกิจ จึงไม่มีการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช แต่มีการติดตั้งกับดักกาวเหนียวสีเหลืองและสีฟ้าในโรงเรือน เพื่อลดจำนวนประชากรศัตรูพืช

**วิธีเกษตรกร** จากการสำรวจประชากรศัตรูพืชในโรงเรือน จำนวน 8 ครั้ง แมลงและไรศัตรูพืชที่พบในแปลงผักชีฝรั่ง ได้แก่ เพลี้ยไฟ เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยแป้ง แมลงหวี่ขาวยาสูบ และไรแดง โรคพืชที่พบได้แก่ โรคใบจุด วัชพืชที่พบในแปลงผักชีฝรั่ง ได้แก่ กระสัง (*Peperomia pellucida* ( L.) Humb, Bonpl & Kunth) เพลี้ยไฟเกินระดับเศรษฐกิจ 1 ครั้ง (Table 4) แปลงเกษตรกรไม่มีการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ในการปลูกผักชีฝรั่งในระบบโรงเรือน วิธี IPM ตลอดการทดลองเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 23 กิโลกรัม จำหน่ายกิโลกรัมละ 40 บาท และจำหน่ายเป็นต้นพันธุ์ จำนวน 180 ต้น (180 บาท) คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 1,100 บาท ต้นทุนการผลิต 315 บาท เป็นค่ากับดักกาวเหนียวและค่าปุ๋ย บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) เท่ากับ 3.49 วิธีเกษตรกร เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 10 กิโลกรัม จำหน่ายกิโลกรัมละ 40 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 400 บาท ต้นทุนการผลิต (ค่าปุ๋ย) 45 บาท วิธีเกษตรกรมีกำไรสุทธิ 355 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) เท่ากับ 8.89 (Table 3)

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูผักชีฝรั่งในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป โดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีเกษตรกรและวิธี IPM ผลการดำเนินการพบว่า วิธี IPM มีการสำรวจประชากรของศัตรูพืช โดยทำการสุ่ม 100 ต้น/โรงเรือน ทุก 7 วัน และใช้ระดับเศรษฐกิจ (ETL) ในการตัดสินใจ หากพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ดำเนินการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ติดตั้งกับดักกาวสีเหลืองในโรงเรือนทุกระยะ 2 เมตร และเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน และมีการติดตั้งกับดักกาวเหนียวสีฟ้าเพื่อลดจำนวนประชากรเพลี้ยไฟ แปลงที่ 1 อำเภอพุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม แปลง IPM มีการดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงรวม 22 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาว เพลี้ยจักจั่น และหนอนกระทู้ผัก พ่นสารป้องกันกำจัดโรค จำนวน 3 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคราน้ำค้าง และโรคใบจุด กำจัดวัชพืชโดยใช้มือ จำนวน 5 ครั้ง เพื่อทำลายพืชอาศัยของแมลงหวี่ขาว วิธีเกษตรกร มีการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงจำนวน 20 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดกลุ่มหนอนผีเสื้อ เพลี้ยไฟ และแมลงหวี่ขาว พ่นสารป้องกันกำจัดโรค จำนวน 3 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคราน้ำค้าง และและโรคใบจุด กำจัดวัชพืชโดยใช้มือ จำนวน 3 ครั้ง เกษตรกรมีการพ่นสารเคมีโดยสำรวจแมลงในแปลงปลูก และหากหากพบศัตรูพืชดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดทันที แต่ไม่ได้อ้างอิงจากระดับเศรษฐกิจ แปลง IPM (การปลูกผักชีฝรั่งในระบบโรงเรือน) พบว่าสามารถลดการระบาดของศัตรูพืชบางชนิดได้ ได้แก่ เพลี้ยไฟ เพลี้ยจักจั่น และโรคใบจุด ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ในการปลูกผักชีฝรั่งในระบบโรงเรือน วิธี IPM ได้ผลผลิตน้อย ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) เท่ากับ 0.69 ส่วนวิธีเกษตรกร ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) เท่ากับ 2.70 แปลงที่ 2 อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม แมลงและไรศัตรูพืชที่พบในแปลงผักชีฝรั่ง ได้แก่ เพลี้ยไฟ เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยแป้ง แมลงหวี่ขาวยาสูบ และไรแดง โรคพืชที่พบได้แก่ โรคใบจุด วัชพืชที่พบในแปลงผักชีฝรั่ง ได้แก่ กระสัง (*Peperomia pellucida* ( L.) ทั้ง 2

วิธีไม่มีการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช แต่วิธี IPM มีการใช้กับดักกาวเหนียวสีเหลืองและสีฟ้าเพื่อลดจำนวนประชากรแมลงศัตรูพืช วิธี IPM ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) เท่ากับ 3.49 ส่วนวิธีเกษตรกร ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) เท่ากับ 8.89

ในกรณีที่เกษตรกรต้องการผลิตพืชเพื่อส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป การเลือกสารชนิดใดชนิดหนึ่งไปใช้ในการควบคุมศัตรูพืชควรมีการตรวจสอบชนิดของสารเคมีที่ใช้ใน EU Pesticides Database (https://food.ec.europa.eu/plants/pesticides/eu-pesticides-database_en) เนื่องจากทางกลุ่มสหภาพยุโรปมีการประกาศชนิดของสารเคมีที่อนุญาตให้ใช้หรือยกเลิกการใช้อย่างต่อเนื่อง ยกตัวอย่างเช่น สาร spirotetramat ไม่อนุญาตให้ใช้สำหรับการผลิตพืชเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรปตั้งแต่ 30 เมษายน 2567 สาร dimethomorph ไม่อนุญาตให้ใช้สำหรับการผลิตพืชเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรปตั้งแต่ 20 พฤษภาคม 2567 ดังนั้นสารเคมีชนิดนี้จึงไม่สามารถนำไปใช้ในแปลงปลูกเพื่อผลิตผักเพื่อส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรปได้

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเกษตรกรเจ้าของแปลงที่เอื้อเฟื้อแปลงปลูกผักชีฝรั่งสำหรับดำเนินงานทดลอง ขอขอบคุณพนักงานราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืช ที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัยทุกท่าน ทำให้การดำเนินงานทดลองนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยโรคพืช. 2554. *โรคผักและการป้องกันกำจัด*. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 153 หน้า.

สัญญาณี ศรีคชา สุเทพ สหายา สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และพวงผกา อ่างมณี. 2560. *คู่มือการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช สำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป (ฉบับปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติม)*. กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 53 หน้า

FAO. 1968. *Report of the second session of the FAO panel of experts on integrated pest control*. FAO Meeting Report No. PL/1968/M/3. FAO, Rome. 129 p.

**Table 1** The number of *Eryngium foetidum* plants in which insects and plant diseases were found in the IPM and farmer fields in Khlong Yong sub-district, Phutthamonthon district, Nakhon Pathom province, between December 2023 and August 2024

| No. | Number of plants in 100 plants | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | thrips (plants) | | leafhopper (plants) | | mealybug (plants) | | aphid (plants) | | whitefly (plants) | | common cutworm (plants) | | red mite (plants) | | broad mite (plants) | | leaf spot (plants) | |
| | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer |
| 1 | **50** | **59** | 1 | 2 | 12 | 12 | 7 | 3 | 17 | 26 | 0 | 0 | 4 | 28 | 0 | 0 | 1 | 14 |
| 2 | 36 | **87** | 4 | 7 | 14 | 10 | 2 | 0 | 11 | 29 | 0 | 1 | 36 | 12 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 3 | 19 | 16 | 6 | 13 | 11 | 9 | 0 | 0 | 45 | 41 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 5 | **39** |
| 4 | 0 | 8 | **20** | 13 | 19 | 11 | 0 | 0 | **40** | 35 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 13 | **44** |
| 5 | **24** | 13 | 7 | 7 | 14 | 5 | 0 | 0 | 8 | 18 | 0 | 0 | 7 | 1 | 0 | 0 | 10 | 16 |
| 6 | 40 | 35 | 3 | 2 | 21 | 5 | 0 | 0 | 16 | 24 | 0 | 0 | 2 | 14 | 0 | 0 | 9 | **20** |
| 7 | 12 | 26 | 1 | 4 | 11 | 6 | 0 | 0 | 37 | **57** | 0 | 0 | 5 | 1 | 0 | 0 | 7 | **29** |
| 8 | 12 | 21 | 14 | 4 | 7 | 11 | 0 | 1 | **61** | **74** | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 4 | 11 |
| 9 | 44 | **50** | **26** | **32** | 11 | 11 | 0 | 0 | **62** | **54** | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 17 | **36** |
| 10 | 20 | 32 | 11 | **35** | 6 | 4 | 0 | 0 | **82** | **51** | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 13 |
| 11 | 15 | 65 | 1 | 4 | 3 | 1 | 0 | 0 | **54** | **36** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 15 |
| 12 | 27 | 75 | 14 | **29** | 4 | 21 | 0 | 0 | **80** | **72** | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 1 | **23** | **35** |
| 13 | **51** | 73 | 15 | **28** | 8 | 9 | 0 | 0 | **65** | **58** | 0 | 0 | 3 | 5 | 15 | 8 | 6 | 9 |
| 14 | **65** | **83** | 10 | **38** | 6 | 7 | 0 | 0 | **87** | **64** | 0 | 1 | 0 | 0 | 20 | 27 | 2 | 1 |
| 15 | 39 | 64 | **27** | **62** | 5 | 14 | 0 | 0 | **41** | **41** | 0 | 0 | 4 | 4 | 2 | 6 | 19 | **22** |
| 16 | 46 | 49 | 9 | 7 | 5 | 1 | 0 | 0 | **27** | 10 | 0 | 0 | 8 | 8 | 13 | 8 | 7 | 6 |
| 17 | 55 | 50 | 5 | 5 | 2 | 2 | 0 | 0 | **46** | **20** | 0 | 0 | 10 | 7 | 2 | 0 | 1 | 2 |
| 18 | 69 | 60 | 9 | **20** | 1 | 2 | 0 | 2 | **32** | **26** | **11** | 2 | 5 | 5 | 17 | 10 | 0 | 0 |

Bold numbers mean the exceed of the economic threshold level (ETL)

**Table 1** The number of *Eryngium foetidum* plants in which insects and plant diseases were found in the IPM and farmer fields in Khlong Yong sub-district, Phutthamonthon district, Nakhon Pathom province, between December 2023 and August 2024 (Continue)

| No. | Number of plants in 100 plants | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | thrips (plants) | | leafhopper (plants) | | mealybug (plants) | | aphid (plants) | | whitefly (plants) | | common cutworm (plants) | | red mite (plants) | | broad mite (plants) | | leaf spot (plants) | |
| | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer |
| 19 | 26 | 66 | 11 | **25** | 4 | 4 | 0 | 0 | **38** | 12 | **25** | 0 | 5 | 10 | 2 | 2 | 10 | 12 |
| 20 | 29 | 41 | 4 | **44** | 3 | 5 | 0 | 0 | **25** | **26** | 1 | 1 | 1 | 4 | 5 | 2 | 6 | 13 |
| 21 | 32 | 36 | **31** | **56** | 2 | 3 | 2 | 0 | **40** | **31** | **9** | **7** | 2 | 0 | 7 | 6 | 1 | 8 |
| 22 | 17 | 24 | **21** | **52** | 2 | 2 | 0 | 0 | **21** | 11 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 3 | 13 |
| 23 | 20 | 19 | **35** | **95** | 0 | 8 | 0 | 0 | **27** | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 4 | 5 | 10 |
| 24 | 9 | 17 | **44** | **59** | 1 | 7 | 0 | 0 | **20** | 6 | 0 | 0 | 0 | 3 | 4 | 1 | 10 | 18 |
| 25 | 9 | 7 | **28** | **42** | 1 | 1 | 0 | 0 | **49** | 19 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 26 | 18 | 16 | 6 | **55** | 2 | 5 | 0 | 0 | **49** | 19 | 1 | 1 | 0 | 1 | 4 | 3 | 0 | 0 |
| 27 | 4 | 16 | **42** | **84** | 0 | 3 | 0 | 0 | 13 | 16 | 1 | 0 | 0 | 7 | 2 | 2 | 7 | 18 |
| 28 | 0 | 0 | 17 | **55** | 0 | 1 | 0 | 0 | 19 | 14 | 0 | 0 | 2 | 7 | 0 | 0 | 3 | 17 |
| 29 | 4 | 4 | 9 | **36** | 1 | 0 | 0 | 0 | 10 | 2 | 0 | 1 | 0 | 3 | 0 | 1 | 5 | 13 |
| 30 | 8 | 14 | 3 | **36** | 1 | 1 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 | 0 | 2 | 6 |
| 31 | 7 | 11 | 10 | **39** | 2 | 0 | 0 | 0 | 13 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 6 | 10 |
| 32 | 6 | 19 | **21** | **52** | 0 | 2 | 0 | 0 | 6 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 3 | 1 | 7 |
| 33 | 15 | 12 | **28** | **53** | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 7 | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 | 1 | 3 | 2 |
| 34 | 19 | 4 | 16 | **39** | 0 | 1 | 0 | 0 | 13 | 12 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 |
| 35 | 23 | 26 | **59** | **31** | 6 | 0 | 0 | 0 | 5 | 12 | 0 | 0 | 5 | 3 | 6 | 0 | 7 | 5 |
| **Total** | **870** | **1,198** | **568** | **1,165** | **185** | **184** | **11** | **6** | **1,171** | **938** | **43** | **18** | **105** | **132** | **109** | **89** | **205** | **465** |

Bold numbers mean the exceed of the economic threshold level (ETL)

**Table 2** Comparison of pesticide application, number of applications, and costs between the IPM and farmer fields in Khlong Yong sub-district, Phutthamonthon district, Nakhon Pathom province, between December 2023 and August 2024

| Pesticide application | Number of applications | Cost |
|---|---|---|
| **IPM field** | | |
| **Insecticide** | | |
| - emamectin benzoate 1.92% EC | 6 | 28.00 Baht/20 ml |
| - buprofezin 40% SC | 7 | 17.40 Baht/30 ml |
| - spirotetramat 15% OD | 4 | 55.20 Baht/20 ml |
| - petroleum spray oil 83.9% EC | 2 | 27.00 Baht/150 ml |
| - D-limonene 5.7 W/V | 3 | 71.20 Baht/80 ml |
| **Fungicide** | | |
| - dimethomorph 50% WP | 2 | 36.40 Baht/20 g |
| - azoxystrobin 25% SC | 1 | 44.00 Baht/10 ml |
| **Farmer field** | | |
| **Insecticide** | | |
| - emamectin benzoate 1.92% EC | 6 | 28.00 Baht/20 ml |
| - buprofezin 40% SC | 5 | 17.40 Baht/30 ml |
| - spirotetramat 15% OD | 4 | 55.20 Baht/20 ml |
| - petroleum spray oil 83.9% EC | 2 | 27.00 Baht/150 ml |
| - D-limonene 5.7 W/V | 2 | 71.20 Baht/80 ml |
| - lambda-cyhalothrin 2.5% EC | 1 | 24.80 Baht/40 ml |
| **Fungicide** | | |
| - dimethomorph 50% WP | 2 | 36.40 Baht/20 g |
| - azoxystrobin 25% SC | 1 | 43.90 Baht/10 ml |

**Table 3** Comparison of pesticide application, residue, and economic return between the IPM method and farmer method in *Eryngium foetidum* cultivation in Khlong Yong sub-district, Phutthamonthon district, Nakhon Pathom province, between December 2023 and August 2024

| Item | IPM method | Farmer method |
|---|---|---|
| **1. Pesticide application** | | |
| - Insecticides | 5 | 6 |
| - Number of Insecticide applications | 22 | 20 |
| - Fungicides | 2 | 2 |
| - Number of fungicide applications | 3 | 3 |
| **2. Residue of pesticide** | ND | ND |
| **3. Economic return** | | |
| - Product value (Baht/144 $m^2$) (B) | 4,400 | 15,000 |
| - Cost of production (Baht/144 $m^2$) (C) | 6,405 | 5,553.80 |
| - Net profit (Baht/144 $m^2$) | -2,005 | 9,446.20 |
| - benefit cost ratio (B/C) | 0.69 | 2.70 |

ND = not detected

**Table 4** The number of *Eryngium foetidum* plants in which insects and plant diseases were found in the IPM and farmer fields in in Thung Khwang sub-district, Kamphaeng Saen district, Nakhon Pathom province, between January 2025 and February 2025.

| Time | Number of plants in 100 plants | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | thrips (plants) | | leafhopper (plants) | | mealybug (plants) | | aphid (plants) | | whitefly (plants) | | red mite (plants) | | leaf spot (plants) | |
| | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer |
| 1 | 20 | 47 | 1 | 3 | 6 | 15 | 0 | 3 | 10 | 9 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| 2 | 48 | 52 | 6 | 7 | 4 | 14 | 0 | 0 | 4 | 6 | 5 | 1 | 0 | 4 |
| 3 | 35 | 36 | 14 | 12 | 6 | 16 | 0 | 0 | 7 | 11 | 0 | 3 | 0 | 0 |
| 4 | 54 | 58 | 10 | 11 | 4 | 10 | 0 | 0 | 8 | 7 | 1 | 12 | 2 | 0 |
| 5 | 57 | 67 | 12 | 8 | 13 | 19 | 0 | 0 | 5 | 3 | 4 | 7 | 2 | 2 |
| 6 | 77 | 72 | 1 | 7 | 4 | 21 | 0 | 0 | 11 | 7 | 20 | 2 | 0 | 0 |
| 7 | 63 | **83** | 9 | 14 | 15 | 18 | 0 | 0 | 12 | 11 | 6 | 8 | 0 | 0 |
| 8 | 60 | 71 | 6 | 8 | 9 | 24 | 0 | 0 | 9 | 6 | 7 | 7 | 0 | 0 |
| **Total** | **414** | **486** | **59** | **70** | **61** | **137** | **0** | **3** | **66** | **60** | **43** | **41** | **4** | **8** |

Bold numbers mean the exceed of the economic threshold level (ETL)

**Table 5** Comparison of pesticide application, residue, and economic return between the IPM method and farmer method in *Eryngium foetidum* cultivation in Thung Khwang Sub-district, Kamphaeng Saen District, Nakhon Pathom Province, between January 2025 and February 2025

| Item | IPM method | Farmer method |
|---|---|---|
| **1. Pesticides application** | - | - |
| **2. Residue of pesticide** | ND | ND |
| **3. Economic return** | | |
| - Product value (Baht/72 $m^2$) (B) | 1,100 | 400 |
| - Cost of production (Baht/72 $m^2$) (C) | 315 | 45 |
| - Net profit (Baht/72 $m^2$) | 785 | 355 |
| - Benefit cost ratio (B/C) | 3.49 | 8.89 |

ND = not detected

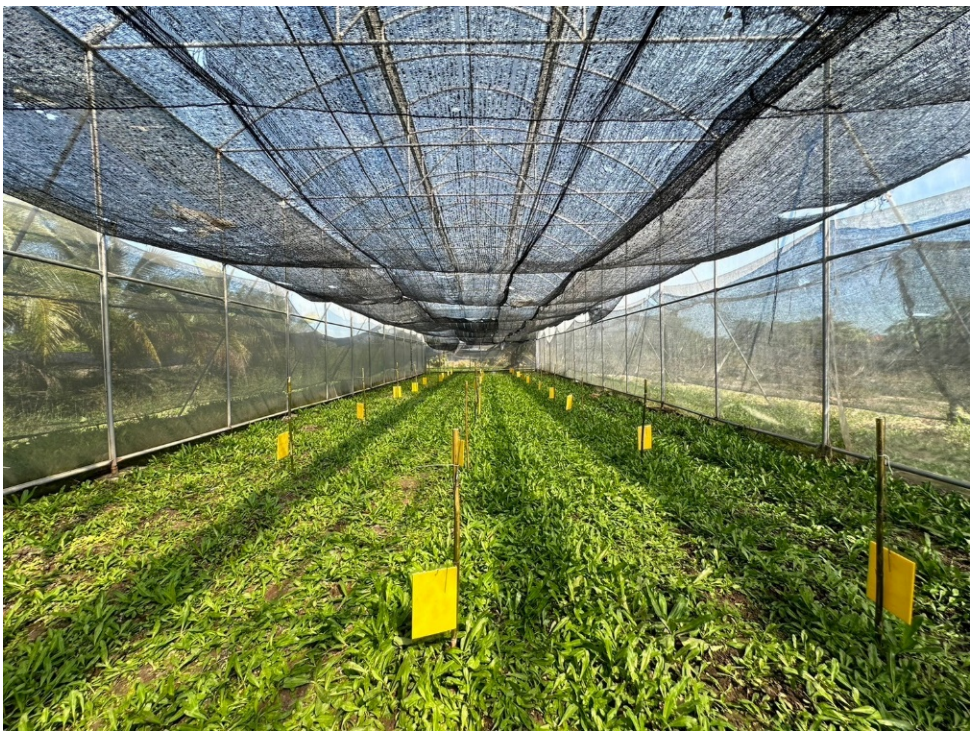


**Figure 1** Yellow sticky traps in greenhouses (IPM method)

**Figure 2** Blue sticky traps were installed in the IPM plot to reduce thrips populations

**Figure 3** Pests found on *Eryngium foetidum* including A. whitefly, B. leafhopper, C. mealybug and D. red mite

**Figure 4** whitefly on weeds in *Eryngium foetidum* plantations

# เทคโนโลยีการจัดการศัตรูกะเพรา/โหระพาในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป

# Integrated Pest Management of Basil in Greenhouse Systems for Export to the European Union (EU)

**กรกต ดำรักษ์[1/] สัญญาณี ศรีคชา[1/] วนาพร วงษ์นิคง[1/] หทัยภัทร เจษฎารมย์[1/] ทัศนาพร ทัศคร[2/]**
**ประภัสสร เชยคำแหง[3/] ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ[4/] เพทาย กาญจนเกษร[5/]**

[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[4/]กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
[5/]กลุ่มวิจัยและพัฒนา ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครปฐม

## Abstract

The study of integrated pest management of basil in greenhouse systems for export to the European Union has developed a pest management method for sweet basil, which includes: 1. Using plastic soil covers to prevent weeds. 2. Placing yellow sticky traps (size 6x8 inches) in greenhouses, with traps spaced 2 meters apart and replacing the glue every 14 days to trap the pests. 3. Surveying pest populations in greenhouses by sampling 100 plants per greenhouse every 7 days. If pests exceed the Economic Threshold Level (ETL), pest control measures should be taken. The technology was tested in sweet basil greenhouse fields of farmers in Sam Phran district, Nakhon Pathom province, between November 2023 and February 2024 over two research operations. It was found that the IPM method used chemical pesticides for pest control 10 and 10 times and used chemical plant disease control 17 and 16 times, respectively. In contrast, the farmer's method used chemical pesticides for pest control 14 and 14 times and used chemical disease control 16 and 15 times. The farmer's method yielded 284 and 330 kilograms, with a value of 17,040 and 19,800 Baht, respectively. Production costs were 5,130.40 and 5,220 Baht, with net profits of 11,909.60 and 14,580 Baht, the benefit–cost ratio (B/C) of 3.32 and 3.79, respectively, which is higher than the IPM method, which had a B/C of 2.68 and 2.28.

**Keywords :** Integrated Pest management, basil, greenhouse system, export to the European Union

รหัสการทดลอง FF65-57-02-65-00-06-66

**บทคัดย่อ**

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูกะเพรา/โหระพาในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ได้รูปแบบการจัดการศัตรูโหระพา ซึ่งประกอบด้วย 1. ใช้พลาสติกคลุมดินปลูกเพื่อป้องกันวัชพืช 2. ติดกับดักกาวเหนียวสีเหลือง ขนาด 6x8 นิ้ว ในโรงเรือน โดยมีระยะห่างระหว่างกับดักทุก 2 เมตร และเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน 3. ทำการสำรวจประชากรของศัตรูพืชในโรงเรือน โดยมีขนาดการสุ่ม 100 ต้น/โรงเรือน ทุก 7 วัน ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนด ให้ดำเนินการป้องกันกำจัด ดำเนินการทดสอบเทคโนโลยีในแปลงปลูกโหระพาระบบโรงเรือนของเกษตรกร โดยเปรียบเทียบระหว่าง วิธี IPM และวิธีเกษตรกร ที่อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2566 - กุมภาพันธ์ 2567 จำนวน 2 การดำเนินงาน พบว่า วิธี IPM มีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช 10 และ 10 ครั้ง ตามลำดับ และมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช 17 และ 16 ครั้ง ตามลำดับ ส่วนแปลงเกษตรกรมีใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช 14 และ 14 ครั้ง ตามลำดับ และมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช 16 และ 15 ครั้ง ตามลำดับ ในวิธีเกษตรกร เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 284 และ 330 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 17,040 และ 19,800 บาท ต้นทุนการผลิต 5,130.40 และ 5,220 บาท มีกำไรสุทธิ 11,909.60 และ 14,580 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 3.32 และ 3.79 ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าวิธี IPM ที่ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 2.68 และ 2.28 ตามลำดับ

**คำหลัก :** การจัดการศัตรูโหระพา, ระบบโรงเรือน, ส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป

**คำนำ**

ในปัจจุบัน การผลิตพืชผักโดยทั่วไปส่วนใหญ่ก็ยังพบปัญหาต่าง ๆ มากมาย เช่น ปัญหาศัตรูพืชเข้าทำลายผลผลิต ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพต่ำ ปัญหาการพบสารเคมีตกค้างเกินค่ามาตรฐานในผลผลิต และการผลิตผักที่ปลอดภัยยังไม่เพียงพอกับความต้องการของผู้บริโภค การผลิตพืชผักในระบบควบคุมหรือการปลูกผักในโรงเรือน จึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกของเกษตรกร ซึ่งแม้ว่าจะมีต้นทุนการผลิตสูง แต่มีข้อดีที่สำคัญคือ สามารถป้องกันแมลงศัตรูพืชได้ดีกว่าการปลูกในสภาพสวนหรือสภาพไร่ ดูแลง่าย เป็นการปลูกที่มีระบบการบริหารจัดการควบคุมการปลูกและดูแลรักษา การให้น้ำและปุ๋ยเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อควบคุมเจริญเติบโตของพืชให้ได้ผลผลิตที่มีปริมาณและคุณภาพสูง สามารถผลิตพืชผักให้ได้มาตรฐานความปลอดภัยจากการสารพิษตกค้างตามมาตรฐานที่กำหนด ด้วยการใช้วิธีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน (Integrated Pest Management: IPM) ซึ่งนำเอาความรู้ทางชีววิทยา นิเวศวิทยา การศึกษาและการประเมินความเสียหายความเสียหายทางเศรษฐกิจ มาใช้ผสมผสานกับวิธีการควบคุมศัตรูพืชด้วยการใช้วิธีการป้องป้องกันกำจัดอย่างน้อย 2 วิธี เช่น การใช้สารเคมี การใช้วิธีเขตกรรม เพื่อควบคุมศัตรูพืชให้อยู่ในระดับต่ำกว่า Economic Threshold Level (ETL) ที่ให้ผลตอบแทนเป็นที่ยอมรับและทำลายสภาพแวดล้อมน้อยที่สุด จึงเป็น

แนวทางสำคัญในการผลิตพืชผักที่เหมาะสมในสภาวะปัจจุบันที่ต้องได้ผลผลิตที่มีคุณภาพและปลอดภัยตามข้อกำหนดของตลาดที่รับซื้อผลผลิต และการส่งออกไปยังประเทศคู่ค้า

โหระพา (sweet basil) *Ocimum basilicum* Linn. และกะเพรา (holy basil) *O. tenuiflorum* Linn. หรือ *O. sanctum* Linn. จัดอยู่ในสกุล *Ocimum* วงศ์ Lamiaceae (เดิมคือ Labiatae) (เต็ม, 2523; สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช, 2556) ในประเทศไทยนิยมปลูกกันทั่วไป มีประโยชน์และสรรพคุณทางยา มีกลิ่นหอมเฉพาะตัวและสามารถใช้ใบเป็นผักสดกินกับอาหาร หรือนำมาประกอบอาหารเมนูต่าง ๆ ได้หลากหลาย จากข้อมูลการส่งออกสินค้าเกษตร (พืช) ไปต่างประเทศ ปี 2563 ที่มีการขอใบรับรองสุขอนามัยพืช มีการส่งออกโหระพา/กะเพราในรูปแบบผักสด 208,099.37 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 9,532,292.98 บาท โดยเฉพาะสหภาพยุโรปมีการส่งออกไปยัง 8 ประเทศ ได้แก่ ออสเตรีย เบลเยี่ยม สาธารณรัฐเช็ก เดนมาร์ก ฟินแลนด์ เยอรมนี สวีเดน และเนเธอร์แลนด์ (กลุ่มบริการส่งออกสินค้าเกษตร, 2564) โดยจากรายงานของหน่วยงานอารักขาพืชของสมาพันธ์ยุโรปและตะวันออกกลาง (European and Mediterranean Plant Protection Organization : EPPO) พบว่า ประเทศไทยเคยได้รับการแจ้งเตือนถึงการตรวจพบแมลงศัตรูพืชปนเปื้อนไปกับโหระพาที่ส่งออกไปยังประเทศปลายทางหลายครั้ง ได้แก่ หนอนแมลงวันชอนใบ เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาวยาสูบ เพลี้ยไฟ กลุ่มหนอนผีเสื้อศัตรูพืช (EPPO Secretariat, 2009) สำหรับศัตรูกะเพรา/โหระพาที่สำคัญและการป้องกันกำจัด ได้แก่ เพลี้ยไฟฝ้าย (cotton thrips, *Thrips palmi* Karny) เป็นศัตรูที่สำคัญมากที่สุดอีกชนิดหนึ่งของพืชผัก พืชไร่ และไม้ดอกหลายชนิด ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใต้ใบ ทำให้เกิดรอยด้านหรือรอยแผลสีน้ำตาล ทำให้ใบแห้ง ยอด ดอก และตาอ่อนไม่เจริญ ในระยะที่พืชขาดน้ำอาจทำให้ต้นตายได้ สำหรับการทำลายของเพลี้ยไฟในกะเพรา/โหระพามักพบที่บริเวณยอด ดูดกินน้ำเลี้ยง ทำให้เกิดอาการยอดเหลือง สำหรับการป้องกันกำจัดถ้าพบเพลี้ยไฟที่ยอดมากกว่า 5 ตัว/ยอด (นับทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัย) ใช้ imidacloprid 70% WG อัตรา 5 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ spinosad 12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ spiromesifen 24% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารเคมีชนิดใดชนิดหนึ่ง ควรพ่นสารเคมีติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน (กองกีฏและสัตววิทยา, 2542; กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2551; สัญญาณีและคณะ, 2560) แมลงหวี่ขาวยาสูบ (tobacco whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius)) พบระบาดมากในฤดูแล้ง ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบ ทำให้ใบหงิกงอและเหี่ยวแห้ง ต้นแคระแกร็น นอกจากนี้ยังเป็นพาหะนำเชื้อไวรัสของพืชหลายชนิด ในโหระพา/กะเพรา มักพบบริเวณหลังใบ ส่วนกลางของลำต้น คอยดูดกินน้ำเลี้ยง ถ้าการทำลายรุนแรงจะทำให้เกิดโรคด่างเหลืองในโหระพา/กะเพราได้ สำหรับการป้องกันกำจัดถ้าพบตัวอ่อนมากกว่า 2 ตัว/ต้น ให้ใช้ buprofezin 40% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ imidacloprid 70% WG อัตรา 12 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ thiamethoxam 25% WP อัตรา 12 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ dinotefuran 10% SL อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ white oil 67% EC อัตรา 150 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารเคมีชนิดใดชนิดหนึ่ง ควรพ่นสารติดต่อกัน 2-3 ครั้ง

ห่างกัน 7 วัน (กองกีฏและสัตววิทยา, 2542; กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2551; สัญญาณีและคณะ, 2560) หนอนแมลงวันชอนใบ (leafminer, *Liriomyza brassicae* (Riley)) เป็นศัตรูที่สำคัญมากที่สุดอีกชนิดหนึ่งของพืชผัก พืชไร่ และไม้ดอกหลายชนิด ตัวเต็มวัยวางไข่ใต้ผิวใบ ตัวหนอนมีลักษณะหัวแหลมท้ายป้านไม่มีขา หนอนชอนไชภายในใบทำให้เกิดรอยเส้นสีขาวคดเคี้ยวไปมา หากระบาดรุนแรงจะทำให้ใบเสียหายร่วงหล่นและพืชตายได้ สำหรับการทำลายของหนอนชอนใบในโหระพา/กะเพรา มักพบระบาดมากในช่วงย้ายกล้าปลูกจนถึง 2 เดือน พบที่บริเวณใบแก่ด้านล่างของทรงพุ่ม ในการป้องกันกำจัดถ้าพบรอยทำลายของหนอนชอนใบมากกว่า 10% ให้ใช้ imidacloprid 10% SL อัตรา 20-30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ cypermethrin 40% WP อัตรา 15-20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารเคมีชนิดใดชนิดหนึ่ง ควรพ่นสารเคมีติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน (สัญญาณีและคณะ, 2560) โรคราน้ำค้าง ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Peronospora* sp. โดยพืชจะแสดงอาการ ด้านหน้าใบเป็นสีเหลือง เกิดเป็นหย่อม ๆ ส่วนด้านหลังใบพบเส้นใยก้านชูสปอร์ ถ้ามีอาการรุนแรง ส่วนสีเหลืองด้านหน้าใบจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ใบหงิก และร่วง ทำให้ต้นตายได้ การแพร่กระจายสามารถไปตามลม น้ำ แมลง สัตว์ คน และติดไปกับเครื่องมือได้ โรคนี้จะระบาดมากช่วงฤดูฝน ราสาเหตุสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ด้วย ส่วนการป้องกันกำจัดควรใช้เมล็ดพันธุ์ที่ปลอดโรคหรือมีการฆ่าเชื้อโดยแช่น้ำ 50 องซาเซลเซียส นาน 20 - 25 นาที ก่อนปลูก หรือคลุกเมล็ดด้วยสารเมทาเลกซิล ถ้าพบอาการโรคในแปลงควรพ่นสาร metalaxyl หรือ mancozeb และ metalaxyl+mancozeb (กลุ่มวิจัยโรคพืช, 2554) และเนื่องจาก โหระพา/กะเพรา อยู่ในรายชื่อผัก 22 ชนิดภายใต้มาตรการควบคุมพิเศษระบบบัญชีรายชื่อโรงคัดบรรจุ (Establishment List: EL) สำหรับผักผลไม้สดส่งออกไปสหภาพยุโรป นอร์เวย์และสมาพันธรัฐสวิส (สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช, 2556) ทำให้การส่งออกผักไปยังต่างประเทศโดยเฉพาะสหภาพยุโรปนั้น เกษตรกรต้องให้ความสำคัญเกี่ยวกับการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชและควบคุมการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชตามข้อกำหนดของสหภาพยุโรป เพราะหากพบว่าสารพิษต้องห้ามและแมลงศัตรูพืชกักกันเกินปริมาณที่กำหนดก็จะสั่งระงับการนำเข้า ส่งผลกระทบต่อรายได้เกษตรกรและประเทศสูญเสียรายได้จากการส่งออกด้วย ดังนั้นการดำเนินงานวิจัยนี้ จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาเทคโนโลยีการผลิตกะเพรา/โหระพา ให้เป็นไปตามมาตรฐานที่กลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ยอมรับ ลดปริมาณศัตรูพืชกักกันให้มีปริมาณน้อยที่สุดก่อนเข้าโรงคัดบรรจุ ผลผลิตไม่มีปัญหาสารพิษตกค้างและปลอดภัย ได้มาตรฐานสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU)

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. สารฆ่าแมลง ได้แก่ emamectin benzoate 1.92% EC, acetamiprid 20% SP, flonicamid 50% WG, spirotetramat 15% OD, sulfoxaflor 50% WG, buprofezin 40% SC, methoxyfenozide 24% SC, gamma-cyhalothrin 1.5% CS, lambda-cyhalothrin 2.5% CS, และ D-limonene 5.7 W/V สารกำจัดโรคพืช ได้แก่ azoxystrobin 25% SC, dimethomorph 50% WP, fluopicolide+fosetyl-

aluminium 4.4% + 66.7% WG, copper hydroxide 77% WP และ propamocarb hydrochloride+metalaxyl 10%+15% WP ชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืช ได้แก่ แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai*

2. ฟิวเจอร์บอร์ด กาวเหนียว ถุงพลาสติก

3. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง

4. ไม้ปักแปลง ป้ายแสดง ลวด อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล

5. แปลงกะเพรา/โหระพาของเกษตรกร

6. โรงเรือนตาข่ายกันแมลงขนาด 32 mesh ขนาดกว้าง 9 เมตร ยาว 36 เมตร สูง 5.20 เมตร

**วิธีการ**

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u>

มี 2 วิธี คือ วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) ในระบบโรงเรือน และวิธีของเกษตรกร

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

คัดเลือกเกษตรกร 2 ราย โดยเกษตรกรต้องเป็นเครือข่ายของบริษัทส่งออก แต่ละรายดำเนินการ 2 วิธี ดังนี้

**วิธีที่ 1 วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) ในระบบโรงเรือน ดำเนินการดังนี้**

1. ใช้พลาสติกคลุมดินปลูกเพื่อป้องกันวัชพืช

2. ติดกับดักกาวเหนียวสีเหลือง ขนาด 6x8 นิ้ว ในโรงเรือน โดยมีระยะห่างระหว่างกับดักทุก 2 เมตร และเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน

3. ทำการสำรวจประชากรของศัตรูพืชในโรงเรือน โดยมีขนาดการสุ่ม 100 ต้น/โรงเรือน ทุก 7 วัน ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนด ให้ดำเนินการป้องกันกำจัด ดังนี้

- เพลี้ยไฟ ระดับเศรษฐกิจ (ETL) > 40 ต้น/100 ต้น ถ้าเกินระดับ ETL พ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC (กลุ่ม 6) อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือสาร acetamiprid 20% SP (กลุ่ม 4A) อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือสาร D-limonene 5.7 W/V อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ETL) เพิ่มการให้น้ำในแปลงปลูก

- แมลงหวี่ขาวยาสูบ ระดับเศรษฐกิจ (ETL) > 10 ต้น/100 ต้น ถ้าเกินระดับ ETL พ่นสาร flonicamid 50% WG (กลุ่ม 29) อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือสาร spirotetramat 15% OD (กลุ่ม 23) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือสาร sulfoxaflor 50% WG (กลุ่ม 4C) อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือสาร buprofezin 40% SC (กลุ่ม 16) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือสาร D-limonene 5.7 W/V อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2-3 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ETL) พ่นสาร D-limonene 5.7 W/V อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

- กลุ่มหนอนผีเสื้อ ระดับเศรษฐกิจ (ETL) >10 ตัว/100 ต้น ถ้าเกินระดับ ETL พ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* หรือ *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือสาร emamectin benzoate 1.92% EC (กลุ่ม 6) อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ methoxyfenozide 24% SC (กลุ่ม 18) อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ gamma-cyhalothrin 1.5% CS (กลุ่ม 3A) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ lambda-cyhalothrin 2.5% CS (กลุ่ม 3A) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารหรือชีวภัณฑ์ชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ETL) เก็บตัวหนอนออกจากแปลง หรือพ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* หรือ *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

- หนอนแมลงวันชอนใบ ระดับเศรษฐกิจ (ETL) > 30 ต้น/100 ต้น ถ้าเกินระดับ ETL และกรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ETL) เก็บใบที่พบรอยทำลายและเศษใบพืชตามพื้นดินที่ถูกแมลงวันหนอนชอนใบทำลายออกจากแปลง

- ไรขาว ระดับเศรษฐกิจ (ETL) > 40 ต้น/100 ต้น ถ้าเกินระดับ ETL พ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC (กลุ่ม 6) อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน

- โรคราน้ำค้าง ถ้าเริ่มพบโรค ให้พ่นสารกำจัดโรคพืช azoxystrobin 25% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ dimethomorph 50% WP อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ fluopicolide+fosetyl-aluminium 4.4%+66.7% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 7 - 10 วัน

- โรคเหี่ยวเขียว ถ้าเริ่มพบโรค ให้ถอนต้นพืชที่พบอาการออกทิ้งนอกแปลงปลูก และพ่นสารกำจัดโรคพืช copper hydroxide 77% WP อัตรา 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือสาร propamocarb hydrochloride+metalaxyl 10%+15% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 7 - 10 วัน

<u>หมายเหตุ</u> การเลือกใช้สารเคมีหรือชีวภัณฑ์ต้องพิจารณาตามอายุพืชด้วย ถ้าพืชอยู่ในระยะเจริญเติบโตจะเลือกใช้สารเคมี และถ้าพืชอยู่ในระยะใกล้เก็บเกี่ยวถึงเก็บเกี่ยวจะเลือกใช้ชีวภัณฑ์เป็นหลัก

**วิธีที่ 2 วิธีของเกษตรกรในระบบโรงเรือน**

1. ดำเนินการผลิตโหระพาในโรงเรือนตาข่ายกันแมลงขนาด 32 mesh ขนาดกว้าง 9 เมตร ยาว 36 เมตร สูง 5.20 เมตร

2. ใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตามรายการที่บริษัทส่งออกได้กำหนดไว้

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- จำนวนและชนิดของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
- บันทึกการเป็นโรค
- ชนิดและจำนวนครั้งที่ใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- ชนิดและจำนวนครั้งที่ใช้สารชีวภัณฑ์ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- บันทึกปริมาณผลผลิตและราคา

- ต้นทุนการใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช/สารชีวภัณฑ์ ข้อมูลค่าใช้จ่ายที่เป็นต้นทุนการผลิตทั้งหมด

- วิเคราะห์ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ มูลค่าผลผลิต (บาท/ไร่) ต้นทุนในการผลิต (บาท/ไร่) สัดส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุน (B/C) ระหว่างแปลง IPM และ แปลงเกษตรกร

- บันทึกผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ตามวิธีการของ codex

- วิเคราะห์ผลความแตกต่างทางสถิติในการควบคุมศัตรูกะเพรา/โหระพา

**เวลาและสถานที่**

เวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2565 - สิ้นสุด กันยายน 2567

เวลา กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร แปลงปลูกโหระพาในระบบโรงเรือนของเกษตรกร อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ดำเนินการทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูกะเพรา/โหระพาในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ในโรงเรือนปลูกโหระพาของเกษตรกร โดยเปรียบเทียบระหว่าง วิธี IPM และวิธีเกษตรกร ที่อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2566 – กุมภาพันธ์ 2567 โดยผลการดำเนินงานวิจัยมีดังนี้

**การดำเนินงานครั้งที่ 1**

**วิธี IPM** ทำการติดกับดักกาวเหนียวสีเหลือง ขนาด 6x8 นิ้ว ในโรงเรือนปลูกโหระพา โดยมีระยะห่างระหว่างกับดักทุก 2 เมตร และเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน ดำเนินการสำรวจศัตรูพืชในแปลงปลูกด้วยการสุ่มตรวจโหระพาจำนวน 100 ต้น/โรงเรือน ทุก 7 วัน และใช้ระดับเศรษฐกิจ (ETL) ในการตัดสินใจ ซึ่งจากการสำรวจประชากรศัตรูพืชในโรงเรือนปลูกโหระพา จำนวน 13 ครั้ง พบแมลงและไรศัตรูพืช ได้แก่ เพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ กลุ่มหนอนผีเสื้อ และไรขาว ส่วนโรคพืชที่พบได้แก่ โรคราน้ำค้าง และโรคเหี่ยวเขียว โดยพบแมลงศัตรูพืชกลุ่มหนอนผีเสื้อเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง เพลี้ยไฟ 3 ครั้ง และไรขาว 1 ครั้ง (Table 1) ดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงรวม 10 ครั้ง (Table 2) โดยพ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง และชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดแมลงกลุ่มหนอนผีเสื้อ พ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง และพ่นสาร acetamiprid 20% SP อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ และพ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดไรขาว โดยพ่นสารสกัดอินทรีย์ D-limonene 5.7 W/V อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 4 ครั้ง เพื่อช่วยป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชประเภทปากดูด เช่น เพลี้ยไฟ ไร แมลงหวี่ขาวยาสูบ ในช่วงเก็บเกี่ยวผลผลิต สำหรับสารกำจัดโรคพืช ได้ทำการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช 17 ครั้ง โดยพ่นสาร dimethomorph 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง พ่นสาร

fluopicolide+fosetyl-aluminium 4.4%+6.7% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 4 ครั้ง และพ่นสาร azoxystrobin 25% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคราน้ำค้าง และเนื่องจากการปลูกพืชในระบบโรงเรือนจะมีความชื้นสูง ทำให้เกิดการระบาดของโรคราน้ำค้าง ส่งผลให้ผลผลิตที่ได้มีสภาพไม่สมบูรณ์ ส่งผลกระทบต่อคุณภาพ ทำให้มีการคัดตัดแต่งเบื้องต้นก่อนเข้าโรงคัดบรรจุปริมาณมาก เมื่อเทียบกับโรงเรือนวิธีเกษตรกร นอกจากนี้ยังพบโรคเหี่ยวเขียวเข้าทำลายต้นโหระพา โดยได้ทำการถอนต้นออกทิ้งนอกแปลงปลูก และพ่นสาร copper hydroxide 77% WP อัตรา 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง และพ่นสาร propamocarb hydrochloride+metalaxyl 10%+15% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง เพื่อช่วยป้องกันการแพร่กระจายของโรคในโรงเรือน แต่จำนวนต้นที่ถูกทำลายมีเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้เก็บผลผลิตได้น้อย

**วิธีเกษตรกร** ดำเนินการสำรวจศัตรูพืชในโรงเรือนปลูกโหระพา ด้วยการสุ่มตรวจโหระพาจำนวน 100 ต้น/โรงเรือน ทุก 7 วัน ซึ่งจากการสำรวจประชากรศัตรูพืชในโรงเรือนปลูกโหระพาจำนวน 13 ครั้ง พบแมลงและไรศัตรูพืช ได้แก่ เพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ กลุ่มหนอนผีเสื้อ และไรขาว ส่วนโรคพืชที่พบได้แก่ โรคราน้ำค้าง และโรคเหี่ยวเขียว โดยพบแมลงศัตรูพืชเพลี้ยไฟเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง แมลงหวี่ขาวยาสูบ 1 ครั้ง และไรขาวเกินระดับเศรษฐกิจ 1 ครั้ง (Table 1) เกษตรกรทำการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยไม่มีการสำรวจศัตรูพืชแต่จะพ่นสารตามที่กำหนดไว้จึงมีการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลง 14 ครั้ง (Table 2) โดยพ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 5 ครั้ง พ่นสาร spinetoram 12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง และพ่นสาร acetamiprid 20% SP อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ และไรขาว รวมถึงมีการพ่นสารสกัดอินทรีย์ D-limonene 5.7 W/V อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 7 ครั้ง เพื่อช่วยป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชประเภทปากดูด เช่น เพลี้ยไฟ ไร แมลงหวี่ขาวยาสูบ นอกจากนี้ในระหว่างดำเนินการทดลอง เกษตรกรได้สังเกตเห็นถึงประโยชน์ของการติดกับดักกาวเหนียวสีเหลืองที่ช่วยดักจับแมลงศัตรูพืชในโรงเรือนของวิธี IPM และเกิดการยอมรับวิธีการติดกับดักกาวเหนียวสีเหลืองนี้ จึงได้ทำการติดกับดักกาวเหนียวสีเหลืองในโรงเรือนปลูกโหระพาเพิ่มเติมด้วย สำหรับสารกำจัดโรคพืช เกษตรกรได้ทำการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช 15 ครั้ง โดยพ่นสาร dimethomorph 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง พ่นสาร fluopicolide+fosetyl-aluminium 4.4%+6.7% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง พ่นสาร azoxystrobin 25% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง และพ่นสาร copper sulphate (tribasic) 34.5% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคราน้ำค้าง และพ่นสาร fosetyl-aluminium 80% WG อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อรา

การปนเปื้อนของสารเคมีในโหระพา ผลผลิตโหระพา วิธี IPM และวิธีเกษตรกร ไม่พบการปนเปื้อนของสารเคมี (Table 3)

ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ในการปลูกโหระพาในโรงเรือน วิธี IPM ตลอดการทดลองเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 206 กิโลกรัม/พื้นที่ 324 ตารางเมตร จำหน่ายให้บริษัทส่งออกในราคาประกันกิโลกรัม

ละ 60 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 12,360 บาท ต้นทุนการผลิต 4,613.16 บาท เป็นค่าสารเคมีป้องกันกำจัดในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ปุ๋ย ต้นพันธุ์ วัสดุเตรียมแปลง และค่าแรงงาน เมื่อหักต้นทุนการผลิตแล้วพบว่า วิธี IPM มีกำไรสุทธิ 7,746.84 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 2.68 น้อยกว่าวิธีเกษตรกร ส่วนวิธีเกษตรกร ตลอดการทดลองเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 284 กิโลกรัม/พื้นที่ 324 ตารางเมตร จำหน่ายให้บริษัทส่งออกในราคาประกันกิโลกรัมละ 60 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 17,040 บาท ต้นทุนการผลิต 5,130.40 บาท วิธีเกษตรกรมีกำไรสุทธิ 11,909.60 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 3.32 ซึ่งมากกว่าวิธี IPM (Table 3)

**การดำเนินงานครั้งที่ 2**

**วิธี IPM** ทำการติดกับดักกาวเหนียวสีเหลือง ขนาด 6x8 นิ้ว ในโรงเรือนปลูกโหระพา โดยมีระยะห่างระหว่างกับดักทุก 2 เมตร และเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน ดำเนินการสำรวจศัตรูพืชในแปลงปลูกด้วยการสุ่มตรวจโหระพาจำนวน 100 ต้น/โรงเรือน ทุก 7 วัน และใช้ระดับเศรษฐกิจ (ETL) ในการตัดสินใจ ซึ่งจากการสำรวจประชากรศัตรูพืชในโรงเรือนปลูกโหระพา จำนวน 13 ครั้ง พบแมลงและไรศัตรูพืช ได้แก่ เพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ กลุ่มหนอนผีเสื้อ และไรขาว ส่วนโรคพืชที่พบได้แก่ โรคราน้ำค้าง และโรคเหี่ยวเขียว โดยพบแมลงศัตรูพืชกลุ่มหนอนผีเสื้อเกินระดับเศรษฐกิจ 3 ครั้ง และเพลี้ยไฟ 3 ครั้ง (Table 4) ดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงรวม 10 ครั้ง (Table 5) โดยพ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 4 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดแมลงกลุ่มหนอนผีเสื้อ พ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง และพ่นสาร acetamiprid 20% SP อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ และพ่นสารสกัดอินทรีย์ D-limonene 5.7 W/V อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 4 ครั้ง เพื่อช่วยป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชประเภทปากดูด เช่น เพลี้ยไฟ ไร แมลงหวี่ขาวยาสูบ ในช่วงเก็บเกี่ยวผลผลิต สำหรับสารกำจัดโรคพืช ได้ทำการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช 16 ครั้ง โดยพ่นสาร dimethomorph 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง พ่นสาร fluopicolide+fosetyl-aluminium 4.4%+6.7% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 4 ครั้ง และพ่นสาร azoxystrobin 25% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคราน้ำค้าง เนื่องจากการปลูกพืชในระบบโรงเรือนจะมีความชื้นสูง ทำให้เกิดการระบาดของโรคราน้ำค้าง ส่งผลให้ผลผลิตที่ได้มีสภาพไม่สมบูรณ์ ส่งผลกระทบต่อคุณภาพ ทำให้มีการคัดตัดแต่งเบื้องต้นก่อนเข้าโรงคัดบรรจุปริมาณมาก เมื่อเทียบกับโรงเรือนวิธีเกษตรกร นอกจากนี้ยังพบโรคเหี่ยวเขียวเข้าทำลายต้นโหระพาจึงได้ทำการถอนต้นออกทิ้งนอกแปลงปลูก และพ่นสาร copper hydroxide 77% WP อัตรา 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง และพ่นสาร propamocarb hydrochloride+metalaxyl 10%+15% WP อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของโรคในโรงเรือน แต่เนื่องจากเกิดการชำรุดของหลังคาโรงเรือนในระยะเตรียมเก็บเกี่ยวผลผลิตครั้งสุดท้าย ทำให้เกิดการระบาดของกลุ่มหนอนผีเสื้อเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เกิดความเสียหายต่อผลผลิต ทำให้เก็บผลผลิตได้น้อย

**วิธีเกษตรกร** ดำเนินการสำรวจศัตรูพืชในโรงเรือนปลูกโหระพา ด้วยการสุ่มตรวจโหระพา จำนวน 100 ต้น/โรงเรือน ทุก 7 วัน ซึ่งจากการสำรวจประชากรศัตรูพืชในในโรงเรือนปลูกโหระพา จำนวน 13 ครั้ง พบแมลงและไรศัตรูพืช ได้แก่ เพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ กลุ่มหนอนผีเสื้อ และไรขาว ส่วนโรคพืชที่พบได้แก่ โรคราน้ำค้าง โดยพบแมลงศัตรูพืชแมลงหวี่ขาวยาสูบเกินระดับเศรษฐกิจ 6 ครั้ง เพลี้ยไฟเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง กลุ่มหนอนผีเสื้อเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง และไรขาวเกินระดับเศรษฐกิจ 1 ครั้ง (Table 4) เกษตรกรทำการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยไม่มีการสำรวจศัตรูพืชแต่จะพ่นสารตามที่กำหนดไว้จึงมีการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลง 14 ครั้ง (Table 5) โดยพ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 5 ครั้ง พ่นสาร spinetoram 12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง และพ่นสาร acetamiprid 20% SP อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ แมลงหวี่ขาวยาสูบ และไรขาว รวมถึงมีการพ่นสารสกัดอินทรีย์ D-limonene 5.7 W/V อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 7 ครั้ง เพื่อช่วยป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชประเภทปากดูด เช่น แมลงหวี่ขาวยาสูบ เพลี้ยไฟ ไร นอกจากนี้ในระหว่างดำเนินการทดลอง เกษตรกรได้สังเกตเห็นถึงประโยชน์ของการติดกับดักกาวเหนียวสีเหลืองที่ช่วยดักจับแมลงศัตรูพืชในโรงเรือนของวิธี IPM และเกิดการยอมรับวิธีการติดกับดักกาวเหนียวสีเหลืองนี้ จึงได้ทำการติดกับดักกาวเหนียวสีเหลืองในโรงเรือนปลูกโหระพาเพิ่มเติมด้วย สำหรับสารกำจัดโรคพืช เกษตรกรได้ทำการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช 16 ครั้ง โดยพ่นสาร dimethomorph 50% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 5 ครั้ง พ่นสาร fluopicolide+fosetyl-aluminium 4.4%+6.7% WG อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 7 ครั้ง พ่นสาร azoxystrobin 25% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง และพ่นสาร copper sulphate (tribasic) 34.5% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคราน้ำค้าง และพ่นสาร fosetyl-aluminium 80% WG อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อรา

การปนเปื้อนของสารเคมีในโหระพา ผลผลิตโหระพา วิธี IPM และวิธีเกษตรกร ไม่พบการปนเปื้อนของสารเคมี (Table 6)

ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ในการปลูกโหระพาในโรงเรือน วิธี IPM ตลอดการทดลองเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 172 กิโลกรัม/พื้นที่ 324 ตารางเมตร จำหน่ายให้บริษัทส่งออกในราคาประกันกิโลกรัมละ 60 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 10,320 บาท ต้นทุนการผลิต 4,531.16 บาท เป็นค่าสารเคมีป้องกันกำจัดในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ปุ๋ย ต้นพันธุ์ วัสดุเตรียมแปลง และค่าแรงงาน เมื่อหักต้นทุนการผลิตแล้วพบว่า วิธี IPM มีกำไรสุทธิ 5,788.84 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 2.28 น้อยกว่าวิธีเกษตรกร ส่วนวิธีเกษตรกร ตลอดการทดลองเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 330 กิโลกรัม/พื้นที่ 324 ตารางเมตร จำหน่ายให้บริษัทส่งออกในราคาประกันกิโลกรัมละ 60 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 19,800 บาท ต้นทุนการผลิต 5,220 บาท วิธีเกษตรกรมีกำไรสุทธิ 14,580 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 3.79 ซึ่งมากกว่าวิธี IPM (Table 6)

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูกะเพรา/โหระพาในระบบโรงเรือนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ในโรงเรือนปลูกโหระพาของเกษตรกร โดยเปรียบเทียบระหว่าง วิธี IPM และวิธีเกษตรกร ที่อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2566 – กุมภาพันธ์ 2567 ได้รูปแบบการจัดการศัตรูโหระพาในระบบโรงเรือน ซึ่งประกอบด้วย 1. ใช้พลาสติกคลุมดินปลูกเพื่อป้องกันวัชพืช 2. ติดกับดักกาวเหนียวสีเหลือง ขนาด 6x8 นิ้ว ในโรงเรือน โดยมีระยะห่างระหว่างกับดักทุก 2 เมตร และเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน 3. ทำการสำรวจประชากรของศัตรูพืชในโรงเรือน โดยมีขนาดการสุ่ม 100 ต้น/โรงเรือน ทุก 7 วัน ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนดให้ดำเนินการป้องกันกำจัด พบว่า ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ในการปลูกโหระพาในโรงเรือน ในการดำเนินงานครั้งที่ 1 พบว่า วิธีเกษตรกร เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 284 กิโลกรัม/พื้นที่ 324 ตารางเมตร จำหน่ายให้บริษัทส่งออกในราคาประกันกิโลกรัมละ 60 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 17,040 บาท ต้นทุนการผลิต 5,130.40 บาท มีกำไรสุทธิ 11,909.60 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 3.32 ซึ่งมากกว่าวิธี IPM ที่เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 206 กิโลกรัม/พื้นที่ 324 ตารางเมตร คิดเป็นมูลค่า 12,360 บาท ต้นทุนการผลิต 4,613.16 บาท มีกำไรสุทธิ 7,746.84 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 2.68 ส่วนการดำเนินงานครั้งที่ 2 วิธีเกษตรกร เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 330 กิโลกรัม/พื้นที่ 324 ตารางเมตร จำหน่ายให้บริษัทส่งออกในราคาประกันกิโลกรัมละ 60 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 19,800 บาท ต้นทุนการผลิต 5,220 บาท มีกำไรสุทธิ 14,580 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 3.79 ซึ่งมากกว่าวิธี IPM ซึ่งเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 172 กิโลกรัม/พื้นที่ 324 ตารางเมตร คิดเป็นมูลค่า 10,320 บาท ต้นทุนการผลิต 4,531.16 บาท มีกำไรสุทธิ 5,788.84 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 2.28 และถึงแม้ว่าวิธี IPM จะได้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) น้อยกว่าวิธีเกษตรกร แต่เนื่องจากอัตราค่า B/C ที่ได้มากกว่า 1 นั้น หมายถึงโครงการจะให้ผลตอบแทนคุ้มค่าที่จะลงทุน จึงยังคงแสดงให้เห็นว่ารูปแบบการจัดการศัตรูโหระพาในระบบโรงเรือนนี้ยังคงมีความคุ้มค่าที่จะนำไปเป็นแนวทางปฏิบัติและประยุกต์ใช้ได้อย่างเหมาะสม ทั้งนี้ ไม่ควรปลูกโหระพาในบริเวณที่มีประวัติพบโรคพืชในดิน เช่น โรคเหี่ยวเขียว เป็นต้น และควรเก็บเกี่ยวผลผลิตทันทีที่พืชอยู่ในระยะปลอดภัยจากสารเคมีตกค้าง นอกจากนี้การตรวจสอบสภาพโรงเรือนอย่างสม่ำเสมอจะช่วยลดการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชได้เช่นกัน

## คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนเงินอุดหนุนเพื่อการวิจัยจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ผ่านทางแผนปฏิบัติงานโครงการวิจัยกรมวิชาการเกษตร คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณที่ได้ให้การสนับสนุนการดำเนินงานโครงการวิจัย ขอขอบคุณเกษตรกรเจ้าของแปลงที่เอื้อเฟื้อแปลงปลูกสำหรับดำเนินงานทดลอง

ขอขอบคุณพนักงานราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืชที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัย ทำให้การดำเนินงานในโครงการวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2551. *คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2551*. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 295 หน้า.

กลุ่มบริการส่งออกสินค้าเกษตร. 2564. *ข้อมูลการส่งออกสินค้าเกษตร (พืช) ไปต่างประเทศ ปี 2563 ที่มีการขอใบรับรองสุขอนามัยพืช*. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : https://www.doa.go.th/ard/?page_id=7381 (22 มิถุนายน 2564)

กลุ่มวิจัยโรคพืช. 2554. *โรคผักและการป้องกันกำจัด*. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 153 หน้า.

กองกีฏและสัตววิทยา. 2542. *แมลงศัตรูผัก*. กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูผักไม้ดอกและไม้ประดับ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 97 หน้า.

เต็ม สมิตินันทน์. 2523. พิมพ์ครั้งที่ 2. *ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (ชื่อพฤกษศาสตร์-ชื่อพื้นเมือง)*. หจก. ฟันนี่พับบลิชชิ่ง กรุงเทพฯ. 379 หน้า.

สัญญาณี ศรีคชา สุเทพ สหายา สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และพวงผกา อ่างมณี. 2560. พิมพ์ครั้งที่ 3. *คู่มือการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ฉบับปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติม.* โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด กรุงเทพฯ. 53 หน้า.

สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช. 2556. พิมพ์ครั้งที่ 2. *คู่มือหลักเกณฑ์การจัดทำเอกสารมาตรการควบคุมพิเศษระบบบัญชีรายชื่อโรงคัดบรรจุ (Establishment List: EL).* บริษัท แฮนดี เพรส จำกัด กรุงเทพฯ. 42 หน้า.

EPPO Secretariat. 2009. *EPPO Reporting Service no. 09 - 2009*. (Online). Available. https://gd.eppo.int/reporting/Rse-2009-09 (May 6, 2018).

**Table 1** The number of sweet basil plants with insect pest and plant pathogen found in IPM greenhouse field and farmer greenhouse field in Sam Phran district, Nakhon Pathom province, between November 2023 and February 2024. (Trail 1)

| Time | Number of plants in 100 plants | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Thrips (plants) | | whitefly (plants) | | pest caterpillars (plants) | | broad mite (plants) | | downy mildew (plants) | | bacterial wilt disease (plants) | |
| | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer |
| 1 | 1 | 0 | 2 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | **2** | 0 | 0 |
| 3 | 7 | 3 | 0 | 3 | **13** | 8 | 0 | 0 | **1** | **2** | 0 | 0 |
| 4 | 7 | 5 | 3 | 6 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 10 | 14 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 9 | 7 | 0 | 4 | **10** | 0 | 0 | 0 | **10** | **4** | 0 | 0 |
| 7 | 24 | 27 | 5 | 6 | 4 | 1 | 0 | 0 | **31** | **11** | 0 | 0 |
| 8 | **58** | 22 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | **36** | **6** | 0 | 0 |
| 9 | **100** | **52** | 2 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | **92** | **92** | **4** | 0 |
| 10 | **43** | **47** | 0 | **11** | 0 | 0 | 0 | 0 | **20** | **35** | **12** | 0 |
| 11 | 11 | 10 | 1 | 3 | 1 | 2 | 0 | 3 | **21** | **5** | **18** | 0 |
| 12 | 3 | 7 | 0 | 5 | 2 | 0 | 5 | 3 | **3** | **3** | **24** | **8** |
| 13 | 26 | 18 | 1 | 4 | 1 | 0 | **41** | **56** | 0 | **1** | **44** | **20** |

Bold numbers mean the exceed of the economic threshold level (ETL)

**Table 2** Comparison of pesticides application, number of applications and costs between IPM greenhouse field and farmer greenhouse field in Sam Phran district, Nakhon Pathom province, between November 2023 and February 2024 (Trail 1)

| Pesticides application | No. of application | Cost |
|---|---|---|
| **IPM greenhouse field** | | |
| **Insect pest control** | | |
| **- Insecticide** | | |
| - acetamiprid 20% SP | 1 | 15 Baht/10 g |
| - emamectin benzoate 1.92% EC | 4 | 14 Baht/10 ml |
| - D-limonene 5.7 W/V | 4 | 35.60 Baht/40 ml |
| - *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* | 1 | 46 Baht/ 100 ml |
| **- Mechanical method** | | |
| - yellow sticky trap | 6 | 28.56 Baht/51 pcs. |
| **Plant disease control** | | |
| **- Fungicide** | | |
| - azoxystrobin 25% SC | 2 | 44 Baht/10 ml |
| - dimethomorph 50% WP | 6 | 36.40 Baht/20 g |
| - fluopicolide+fosetyl-aluminium 4.4%+6.7% WG | 4 | 52 Baht/20 g |
| - propamocarb hydrochloride+metalaxy 10%+15% WP | 2 | 14 Baht/40 g |
| - copper hydroxide 77% WP | 3 | 15 Baht/30 g |
| **Farmer greenhouse field** | | |
| **Insect pest control** | | |
| **- Insecticide** | | |
| - acetamiprid 20% SP | 1 | 15 Baht/10 g |
| - emamectin benzoate 1.92% EC | 5 | 14 Baht/10 ml |
| - D-limonene 5.7 W/V | 7 | 35.60 Baht/40 ml |
| - spinetoram 12% SC | 1 | 102.40 Baht/20 ml |
| **- Mechanical method** | | |
| - yellow sticky trap | | 405 Baht/90 pcs. |
| **Plant disease control** | | |
| **- Fungicide** | | |
| - azoxystrobin 25% SC | 1 | 44 Baht/10 ml |
| - dimethomorph 50% WP | 6 | 36.40 Baht/20 g |
| - copper sulphate (tribasic) 34.5% SC | 1 | 14.40 Baht/20 ml |
| - fluopicolide+fosetyl-aluminium 4.4%+6.7% WG | 6 | 52 Baht/20 g |
| - fosetyl-aluminium 80% WG | 1 | 45 Baht/50 g |

**Table 3** Pesticides application, residue and economic return of sweet basil plants compared between IPM method and farmer method in Sam Phran district, Nakhon Pathom province, between November 2023 and February 2024 (Trail 1)

| Item | IPM method | Farmer method |
|---|---|---|
| **1. Pesticides application** | | |
| - Insecticides | 4 | 4 |
| - number of application Insecticides | 10 | 14 |
| - Fungicides | 5 | 5 |
| - number of application Fungicides | 17 | 15 |
| **2. Residue of pesticide** | ND | ND |
| **3. Economic return** | | |
| - Product value (Baht/324 $m^2$ (B) | 12,360 | 17,040 |
| - Cost of production (Baht/324 $m^2$) (C) | 4,613.16 | 5,130.40 |
| - Net profit (Baht/324 $m^2$) | 7,746.84 | 11,909.60 |
| - Benefit cost ratio (B/C) | 2.68 | 3.32 |

ND = not detected

**Table 4** The number of sweet basil plants with insect pest and plant pathogen found in IPM greenhouse field and farmer greenhouse field in Sam Phran district, Nakhon Pathom province, between November 2023 and February 2024. (Trail 2)

| Time | Number of plants in 100 plants | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Thrips (plants) | | whitefly (plants) | | pest caterpillars (plants) | | broad mite (plants) | | downy mildew (plants) | | bacterial wilt disease (plants) | |
| | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer |
| 1 | 2 | 0 | 0 | 5 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | **4** | 0 | 0 |
| 2 | 9 | 9 | 0 | 7 | 1 | 0 | 0 | 0 | **6** | **3** | 0 | 0 |
| 3 | 9 | 7 | 0 | 5 | 4 | 0 | 0 | 0 | **1** | **3** | 0 | 0 |
| 4 | 20 | 18 | 4 | **14** | **10** | 3 | 0 | 0 | **1** | **3** | 0 | 0 |
| 5 | 13 | 8 | 1 | **13** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 18 | 12 | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | **3** | 0 | 0 | 0 |
| 7 | 36 | 29 | 3 | **17** | 2 | 0 | 0 | 0 | **65** | **5** | 0 | 0 |
| 8 | **90** | **69** | 2 | **17** | 7 | 0 | 0 | 0 | **86** | **48** | 0 | 0 |
| 9 | **60** | **58** | 1 | **10** | 5 | 5 | 0 | 0 | **90** | **96** | 0 | 0 |
| 10 | **43** | 39 | 2 | **13** | 1 | 0 | 0 | 0 | **29** | **39** | 0 | 0 |
| 11 | 18 | 9 | 0 | 4 | 0 | 3 | 0 | 11 | **28** | **13** | **10** | 0 |
| 12 | 5 | 9 | 1 | 1 | **27** | **23** | 2 | **42** | **6** | **12** | **12** | 0 |
| 13 | 12 | 22 | 1 | 2 | **75** | **76** | 7 | 11 | 0 | **20** | **36** | 0 |

Bold numbers mean the exceed of the economic threshold level (ETL)

**Table 5** Comparison of pesticides application, number of applications and costs between IPM greenhouse field and farmer greenhouse field in Sam Phran district, Nakhon Pathom province, between November 2023 and February 2024 (Trail 2)

| Pesticides application | No. of application | Cost |
|---|---|---|
| IPM greenhouse field | | |
| **Insect pest control** | | |
| **- Insecticide** | | |
| - acetamiprid 20% SP | 1 | 15 Baht/10 g |
| - emamectin benzoate 1.92% EC | 5 | 14 Baht/10 ml |
| - D-limonene 5.7 W/V | 4 | 35.60 Baht/40 ml |
| **- Mechanical method** | | |
| - yellow sticky trap | 6 | 28.56 Baht/51 pcs. |
| **Plant disease control** | | |
| **- Fungicide** | | |
| - azoxystrobin 25% SC | 2 | 44 Baht/10 ml |
| - dimethomorph 50% WP | 6 | 36.40 Baht/20 g |
| - fluopicolide+fosetyl-aluminium 4.4%+6.7% WG | 4 | 52 Baht/20 g |
| - propamocarb hydrochloride+metalaxy 10%+15% WP | 2 | 14 Baht/40 g |
| - copper hydroxide 77% WP | 2 | 15 Baht/30 g |
| Farmer greenhouse field | | |
| **Insect pest control** | | |
| **- Insecticide** | | |
| - acetamiprid 20% SP | 1 | 15 Baht/10 g |
| - emamectin benzoate 1.92% EC | 5 | 14 Baht/10 ml |
| - D-limonene 5.7 W/V | 7 | 35.60 Baht/40 ml |
| - spinetoram 12% SC | 1 | 102.40 Baht/20 ml |
| **- Mechanical method** | | |
| - yellow sticky trap | 1 | 450 Baht/100 pcs. |
| **Plant disease control** | | |
| **- Fungicide** | | |
| - azoxystrobin 25% SC | 2 | 44 Baht/10 ml |
| - dimethomorph 50% WP | 5 | 36.40 Baht/20 g |
| - copper sulphate (tribasic) 34.5% SC | 1 | 14.40 Baht/20 ml |
| - fluopicolide+fosetyl-aluminium 4.4%+6.7% WG | 7 | 52 Baht/20 g |
| - fosetyl-aluminium 80% WG | 1 | 45 Baht/50 g |

**Table 6** Pesticides application, residue and economic return of sweet basil plants compared between IPM method and farmer method in Sam Phran district, Nakhon Pathom province, between November 2023 and February 2024. (Trail 2)

| Item | IPM method | Farmer method |
|---|---|---|
| **1. Pesticides application** | | |
| - Insecticides | 3 | 4 |
| - number of application Insecticides | 10 | 14 |
| - Fungicides | 5 | 5 |
| - number of application Fungicides | 16 | 16 |
| **2. Residue of pesticide** | ND | ND |
| **3. Economic return** | | |
| - Product value (Baht/324 $m^2$ (B) | 10,320 | 19,800 |
| - Cost of production (Baht/324 $m^2$) (C) | 4,531.16 | 5,220 |
| - Net profit (Baht/324 $m^2$) | 5,788.84 | 14,580 |
| - Benefit cost ratio (B/C) | 2.28 | 3.79 |

ND = not detected

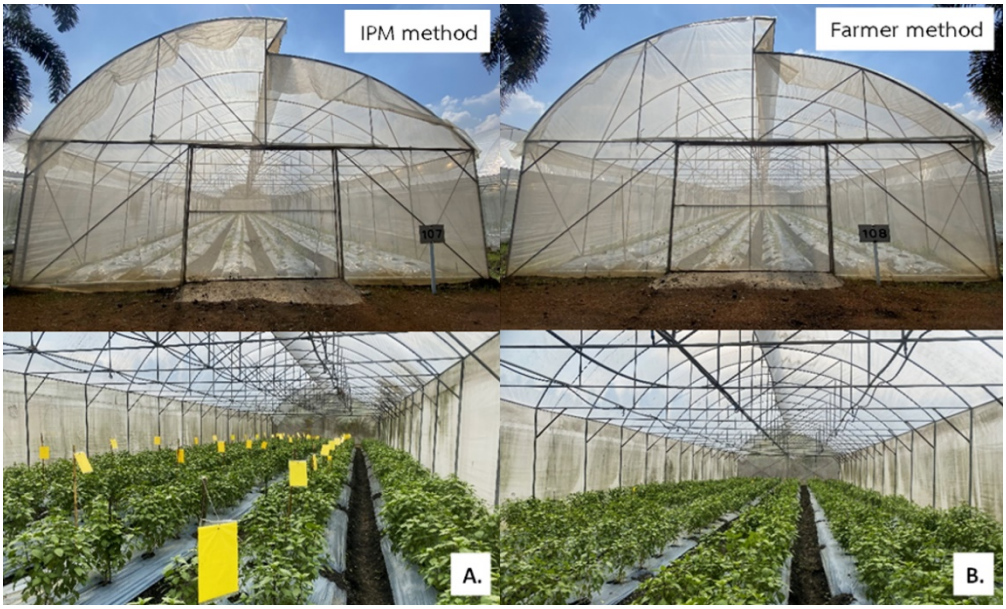



**Figure 1** Sweet basil plantation in greenhouses; IPM method (A.) and Farmer method (B.)

**Figure 2** Farmers accept the method of using yellow sticky traps from the IPM approach during the research process

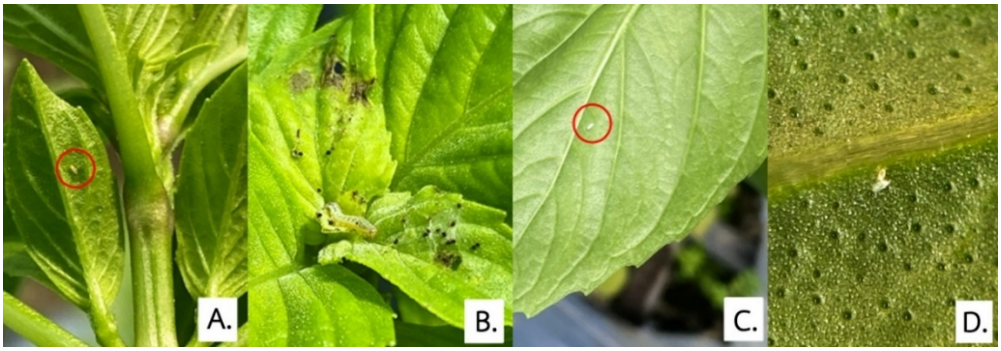



**Figure 3** Pests found on sweet basil A. thrip, B. pest caterpillar, C. whitefly, D. mites

**Figure 4** Plant disease found on sweet basil A. downy mildew, B. bacterial wilt disease

**Figure 5** The IPM greenhouse that has been damaged and needs to have the roof opened for repairs

# เทคโนโลยีการจัดการศัตรูมะระจีนสำหรับการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป

# Integrated Pest Management of Chinese bitter gourd for Export to the European Union (EU)

สัญญาณี ศรีคชา[1/] กรกต ดำรักษ์[1/] วนาพร วงษ์นิคง[1/] หทัยภัทร เจษฎารมย์[1/]
บุษราคัม อุดมศักดิ์[2/] ประภัสสร เชยคำแหง[3/] อทิติยา แก้วประดิษฐ์[3/]
ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ[4/] อดุลย์รัตน์ แคล้วคลาด[5/]

[1/]กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[4/]กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
[5/]กลุ่มวิจัยและพัฒนา ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครปฐม

## Abstract

The study of integrated pest management of Chinese bitter gourd for export to the EU has revealed good practices or formats for the control of Chinese bitter gourd pests. The practices of IPM in Chinese bitter gourd conditions included the following: 1) Blue sticky traps were used at an interval of five meters when the Chinese bitter gourd growth stages. The sticky traps were changed every 14 days. 2) Poison Protein bait were used at an interval of five meters around the planting plot when Chinese bitter gourd starts fruiting until the final harvest by changing the trap every 14 days. 3) A pest survey checklist at 3 days interval (sampling for 100 shoots) was used to record the events. The Economic Threshold Level (ETL) was also used to help a grower decide when to apply pesticides. Pesticides were applied if the number of pests exceeded ETL. The results showed that when using IPM practices, the spraying of insecticides in the field trials was reduced by 54.54%, while that of fungicides was reduced by 42.86%. The Chinese bitter gourd yield was 563 kilograms/350 meter$^2$, and the value of the product was 30,975 Thai Baht. The production costs and net profit from

รหัสการทดลอง FF65-57-02-65-00-07-66

the IPM field were 1,270 and 29,705 Thai Baht, respectively. The benefit–cost ratio (B/C) in the IPM field was 24.39, which was greater than that in the farmer fields (11.84).

**Keywords :** integrated pest management of Chinese bitter gourd, export to the EU

## บทคัดย่อ

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูมะระจีนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ได้รูปแบบการจัดการศัตรูมะระจีนที่ประกอบด้วย 1. ติดกับดักกาวเหนียวสีฟ้า ทุกระยะ 5 เมตร บริเวณค้างด้านบนต่ำจากค้าง 15 เซนติเมตร ตั้งแต่มะระจีนเริ่มเลื่อยขึ้นค้าง ถึงเก็บเกี่ยวผลผลิตรุ่นสุดท้าย โดยเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน 2. ติดกับดักเหยื่อพิษโปรตีนรอบแปลงปลูก ทุกระยะ 5 เมตร เมื่อมะระเริ่มติดผล ถึงเก็บเกี่ยวผลผลิตรุ่นสุดท้าย โดยเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน 3. ห่อผลมะระด้วยถุงกระดาษสีน้ำตาล ขนาด 4.5x15 นิ้ว ที่หัวท้ายปิดสนิท เมื่อดอกหลุดออกจากก้นผลมะระแล้ว และ 4. สำรวจประชากรของศัตรูพืชในแปลงปลูก โดยสุ่ม 100 ยอด/แปลง ทุก 3 วัน และใช้ระดับเศรษฐกิจ (ET) ในการตัดสินใจ ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ดำเนินการเทคโนโลยีการจัดการศัตรูมะระจีนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ที่อำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนมีนาคม 2566-สิงหาคม 2567 พบว่าแปลง IPM ทั้งสองแปลงมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช 5 และ 4 ครั้ง ตามลำดับ และมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช 4 และ 4 ครั้ง ตามลำดับ ส่วนแปลงเกษตรกรทั้งสองแปลงใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช 11 และ 9 ครั้ง ตามลำดับ และมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช 7 และ 9 ครั้ง ตามลำดับ แปลง IPM สามารถลดจำนวนการใช้สารกำจัดแมลงได้ 54.54% และ 55.56% ตามลำดับ ลดจำนวนการใช้สารกำจัดโรคพืชได้ 42.86% และ 55.56% ตามลำดับ เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 563 และ 763 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 30,965 และ 41,695 บาท ต้นทุนการผลิต 1,270 และ 1,269 บาท มีกำไรสุทธิ 29,705 และ 40,696 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 24.39 และ 33.07 ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าแปลงวิธีเกษตรกรที่ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 11.84 และ 16.84 ตามลำดับ

**คำหลัก :** การจัดการศัตรูมะระจีน, ส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป

## คำนำ

การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน (Integrated Pest Management-IPM) กองกีฏและสัตววิทยา (2544) รายงานว่าการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานเป็นวิทยาการแขนงหนึ่งสำหรับใช้ควบคุมศัตรูพืช มีผู้นำไปใช้สลับกับคำว่า IPC (Integrated Pest Control) หรือการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน จึงเกิดความเข้าใจว่าใช้แทนกันได้ ซึ่งโดยความหมายที่แท้จริงแล้ว IPM และ IPC มีความ

คล้ายคลึงกันในทางทฤษฎี และแนวทางการปฏิบัติ แต่ IPC เป็นวิธีการนำเอาวิธีการควบคุมศัตรูพืช วิธีการต่าง ๆ มาใช้ควบคุมศัตรูพืชเป้าหมายในพื้นที่ที่มีการระบาดในท้องที่เดียวกัน เช่น การใช้พันธุ์ต้านทานร่วมกับการใช้สารเคมี หรือร่วมกับการใช้ศัตรูธรรมชาติมาควบคุมศัตรูพืชซึ่งวิธีการต่าง ๆ เหล่านั้นจะต้องไม่ทำให้เกิดความเสียหายต่อสิ่งมีชีวิตอื่นนอกเป้าหมาย และสภาพแวดล้อม ส่วน IPM เป็นแนวทางในการดำเนินงานที่จะเลือกใช้วิธีการควบคุมใด ๆ ก็ตามมาใช้กำจัดหรือปราบหรือควบคุมศัตรูพืชโดยใช้หลักทางด้านนิเวศวิทยาและเศรษฐศาสตร์ และเกี่ยวข้องกับการตัดสินใจ โดยมีการตรวจสอบประชากรแมลงและคำนึงถึงสภาพแวดล้อม ซึ่งผลการตัดสินใจนั้น อาจจะไม่ต้องมีการควบคุมหรืออาจเลือกใช้วิธีการควบคุมวิธีใดวิธีหนึ่ง หรือหลายวิธีการผสมผสานกัน เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดทั้งทางด้านเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม

เพลี้ยไฟฝ้าย (cotton thrips, *Thrips palmi* Karny) เป็นศัตรูที่สำคัญของมะระจีน ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากพืช ทำให้เกิดรอยด้านหรือรอยแผลสีน้ำตาล ใบแห้ง ตาอ่อน ยอด ดอกและผลไม่เจริญเติบโต ระยะที่พืชขาดน้ำอาจทำให้พืชตายได้ เพลี้ยไฟฝ้ายพบทำลายพืชได้เกือบตลอดปี การระบาดมักพบในช่วงฤดูร้อน หรือช่วงที่มีอากาศแห้งแล้ง ฝนทิ้งช่วงเป็นเวลานาน

<u>การป้องกันกำจัด</u>

1. ถ้าพบเพลี้ยไฟที่ยอดหรือดอก หรือผลอ่อนมากกว่า 5 ตัว/ยอดหรือดอก หรือผลอ่อน ให้ใช้ spinosad 12% SC (กลุ่ม 5) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ imidacloprid 10% SL (กลุ่ม 4A) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ emamectin benzoate 1.92% EC (กลุ่ม 6) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารเคมีชนิดใดชนิดหนึ่ง ควรพ่นสารเคมีติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน หากเพลี้ยไฟระบาดรุนแรงโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่ออากาศแห้งแล้ง ขณะพ่นสารควรพิจารณาใช้เทคนิคการพ่นสารฆ่าแมลงเข้าร่วมด้วย เช่น ปรับหัวฉีดให้เป็นฝอยที่สุด และพ่นให้ทั่วไปตามส่วนต่าง ๆ ของพืชที่เพลี้ยไฟอาศัยอยู่

2. สำรวจที่ยอดใกล้กับขั้วผลมะระ ถ้าพบเพลี้ยไฟมากกว่า 5 ตัว/ยอด ให้ใช้ผ้าชุบสาร imidacloprid 10% SL (กลุ่ม 4A) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พันรอบขั้วผล หลังจากนั้นทำการห่อผลมะระเพื่อป้องกันการเข้าทำลายของเพลี้ยไฟ (สัญญาณีและคณะ, 2560)

ดังนั้นเพื่อพัฒนาระบบการผลิตมะระจีนสำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ที่เหมาะสมในสภาพพื้นที่ ให้เป็นไปตามมาตรฐานที่กลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ยอมรับ และลดปริมาณเพลี้ยไฟฝ้าย และหนอนแมลงวันผลไม้ ให้มีปริมาณน้อยที่สุด ผลผลิตไม่มีปัญหาสารพิษตกค้างและปลอดภัยตั้งแต่ในระดับแปลงปลูกก่อนนำเข้าโรงคัดบรรจุ จึงได้นำเอาวิธีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบต่าง ๆ มาใช้ร่วมกัน เพื่อหาเทคโนโลยีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสานในการผลิตมะระจีน สำหรับส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป (EU

## วิธีดำเนินการ

**อุปกรณ์**

1. สารฆ่าแมลง ได้แก่ cyantraniliprole 10% OD, emamectin benzoate 1.92% EC, sulfoxaflor 50% WG, spiromesifen 24% SC, lambda-cyhalothrin 2.5% CS, spirotetramat 15% OD, flonicamid 50% WG, buprofezin 40% SC, spinetoram 12% SC, methoxyfenozide 24% SC และ gamma-cyhalothrin 1.5% CS สารกำจัดโรคพืช ได้แก่ dimethomorph 50% WP ชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืช ได้แก่ แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*

2. ฟิวเจอร์บอร์ด กาวเหนียว ถุงพลาสติก

3. ถุงห่อผลสีน้ำตาล

4. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง

5. ไม้ปักแปลง ป้ายแสดง ลวด อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล

6. แปลงมะระจีนของเกษตรกร

**วิธีการ**

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u>

มี 2 วิธี คือ วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) และวิธีของเกษตรกร

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

คัดเลือกเกษตรกร 2 ราย โดยเกษตรกรต้องเป็นเครือข่ายของบริษัทส่งออก แต่ละรายดำเนินการ 2 วิธี ดังนี้

<u>วิธีที่ 1</u> วิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM) ดำเนินการดังนี้

1. ติดกับดักกาวเหนียวสีฟ้า ขนาด 6x8 นิ้ว ทุกระยะ 5 เมตร บริเวณค้างด้านบนต่ำจากค้าง 15 เซนติเมตร เมื่อมะระจีนเริ่มเลื้อยขึ้นค้าง ถึงเก็บเกี่ยวผลผลิตรุ่นสุดท้าย โดยเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน

2. ติดกับดักเหยื่อพิษโปรตีนรอบแปลงปลูก ทุกระยะ 5 เมตร เมื่อมะระเริ่มติดผล ถึงเก็บเกี่ยวผลผลิตรุ่นสุดท้าย โดยเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน

3. เมื่อมะระติดผลหลังจากดอกหลุดออกจากก้นผล ทำการห่อผลมะระด้วยถุงกระดาษสีน้ำตาล ขนาด 6x12 นิ้ว ที่หัวท้ายปิดสนิท

4. ทำการสำรวจประชากรของศัตรูพืชในแปลงปลูก โดยมีขนาดการสุ่ม 100 ยอด/แปลง ทุก 3 วัน ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ETL) ที่กำหนด ให้ดำเนินการป้องกันกำจัด ดังนี้

เพลี้ยไฟฝ้าย ระดับเศรษฐกิจ (ETL) > 2 ตัว/ยอด หรือดอก หรือผลอ่อน ถ้าเกินระดับ ETL พ่นสาร cyantraniliprole 10% OD (กลุ่ม 28) อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ spirotetramat 24% SC (กลุ่ม 23) อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ emamectin

benzoate 1.92% EC (กลุ่ม 6)อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ sulfoxaflor 50% WG (กลุ่ม 4C) อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือสาร spiromesifen 24% SC (กลุ่ม 23) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารเคมีชนิดใดชนิดหนึ่ง ควรพ่นสารเคมีติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน หากเพลี้ยไฟระบาดรุนแรงโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่ออากาศแห้งแล้ง ขณะพ่นสารควรพิจารณาใช้เทคนิคการพ่นสารฆ่าแมลงเข้าร่วมด้วย เช่น ปรับหัวฉีดให้เป็นฝอยที่สุด และพ่นให้ทั่วไปตามส่วนต่าง ๆ ของพืชที่เพลี้ยไฟอาศัยอยู่

เพลี้ยจักจั่นฝ้าย ระดับเศรษฐกิจ (ETL) > 2 ตัว/10 ยอด ถ้าเกินระดับ ETL พ่นสาร spinetoram 12% SC (กลุ่ม 5) อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ flonicamid 50% WG (กลุ่ม 29) อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ buprofezin 40% SC (กลุ่ม 16) อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารเคมีชนิดใดชนิดหนึ่ง ควรพ่นสารเคมีติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ETL) ตัดส่วนที่พบออกจากแปลง

เพลี้ยอ่อน ระดับเศรษฐกิจ (ETL) > 2 ตัว/10 ยอด ถ้าเกินระดับ ETL พ่นสาร lambda-cyhalothrin 2.5% CS (กลุ่ม 3A) อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ spirotetramat 15% OD (กลุ่ม 23) อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ flonicamid 50% WG (กลุ่ม 29) อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ buprofezin 40% SC (กลุ่ม 16) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารเคมีชนิดใดชนิดหนึ่ง ควรพ่นสารเคมีติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ETL) ตัดส่วนที่พบออกจากแปลง หรือพ่นชีวภัณฑ์ *Beauveria bassiana* อัตรา 10 กรัม ผสมน้ำ 1 ลิตร หรือเมตาไรเซียม อัตรา 300 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นอย่างสม่ำเสมอทุก 2 สัปดาห์

กลุ่มหนอนผีเสื้อ ระดับเศรษฐกิจ (ETL) > 2 ตัว/10 ยอด ถ้าเกินระดับ ETL พ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือสารฆ่าแมลง emamectin benzoate 1.92% EC (กลุ่ม 16) อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ methoxyfenozide 24% SC (กลุ่ม 18) อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ gamma-cyhalothrin 1.5% CS (กลุ่ม 3A) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ lambda-cyhalothrin 2.5% CS (กลุ่ม 3A) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เลือกใช้สารหรือชีวภัณฑ์ชนิดใดชนิดหนึ่ง พ่นติดต่อกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน กรณีที่พบไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ (ETL) เก็บตัวหนอนออกจากแปลง หรือพ่นชีวภัณฑ์ *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

โรคราน้ำค้าง ถ้าพบระบาดใช้สารกำจัดโรคพืช dimethomorph 50% WP อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 5 - 7 วัน

โรคที่มีสาเหตุจากไวรัส ถ้าเริ่มพบโรค ให้กำจัดโดยการถอนทิ้งออกไปทั้งต้น

หมายเหตุ การเลือกใช้สารเคมีหรือชีวภัณฑ์ต้องพิจารณาตามอายุพืชด้วย ถ้าพืชอยู่ในระยะเจริญเติบโตจะเลือกใช้สารเคมี และถ้าพืชอยู่ในระยะใกล้เก็บเกี่ยวถึงเก็บเกี่ยวจะเลือกใช้ชีวภัณฑ์เป็นหลัก

วิธีที่ 2 วิธีของเกษตรกร

1. ดำเนินการผลิตผลิตมะระจีนตามที่เกษตรกรปฏิบัติ
2. ใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตามรายการที่บริษัทส่งออกได้กำหนดไว้

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนและชนิดของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
- บันทึกการเป็นโรค
- ชนิดและจำนวนครั้งที่ใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- ชนิดและจำนวนครั้งที่ใช้สารชีวภัณฑ์ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- บันทึกปริมาณผลผลิตและราคา
- ต้นทุนการใช้สารในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช/สารชีวภัณฑ์ ข้อมูลค่าใช้จ่ายที่เป็นต้นทุนการผลิตทั้งหมด
- วิเคราะห์ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ มูลค่าผลผลิต (บาท/ไร่) ต้นทุนในการผลิต (บาท/ไร่) สัดส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุน (B/C) ระหว่างแปลง IPM และ แปลงเกษตรกร
- บันทึกผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ตามวิธีการของ codex
- วิเคราะห์ผลความแตกต่างทางสถิติในการควบคุมศัตรูมะระจีน

**เวลาและสถานที่**

เวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2565 - สิ้นสุด กันยายน 2567

สถานที่ - กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

- แปลงมะระจีนของเกษตรกรในอำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**การดำเนินงานครั้งที่ 1** ดำเนินการทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูมะระจีนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป การดำเนินครั้งที่ 1 อำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนมีนาคม - กรกฎาคม 2566 โดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีเกษตรกรและวิธี IPM ผลการดำเนินการพบว่า

**วิธี IPM** จากการสำรวจประชากรศัตรูพืชในแปลงปลูกมะระจีน จำนวน 14 ครั้ง พบเพลี้ยไฟเกินระดับเศรษฐกิจ 4 ครั้ง และเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเกินระดับเศรษฐกิจ 10 ครั้ง (Table 1) ดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงรวม 5 ครั้ง โดยพ่นสาร spiromesifen 24% SC อัตรา 15

มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ และเพลี้ยจักจั่นฝ้าย พ่นสาร spinetoram 12% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ และเพลี้ยจักจั่นฝ้าย สำหรับสารกำจัดโรคพืช พ่นสาร azoxystrobin 25% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง และพ่นสาร dimethomorph 50%WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันโรค (Table 2)

**วิธีเกษตรกร** จากการสำรวจประชากรศัตรูพืชในแปลงปลูกมะระจีน จำนวน 14 ครั้ง พบเพลี้ยไฟเกินระดับเศรษฐกิจ 5 ครั้ง และเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเกินระดับเศรษฐกิจ 13 ครั้ง และแมลงวันแตงเกินระดับเศรษฐกิจ 3 ครั้ง (Table 1) เกษตรกรทำการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชสัปดาห์ละครั้ง โดยไม่มีการสำรวจศัตรูพืชแต่จะพ่นสารตามที่กำหนดไว้จึงมีการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลง 11 ครั้ง โดยใน 11 ครั้งนั้นมีการพ่นสาร abamectin 1.8% EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 5 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ พ่นสาร acetamiprid 20% SP อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อน พ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 8 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ และเพลี้ยจักจั่นฝ้าย พ่นสาร spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ และเพลี้ยจักจั่นฝ้าย และพ่นสาร petroleum spray oil 83.9% EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง ส่วนการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช 7 ครั้ง โดยใน 7 ครั้งนั้นมีการพ่นสาร azoxystrobin 25% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง และพ่นสาร dimethomorph 50%WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 4 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคพืช (Table 2)

การปนเปื้อนของสารเคมีในผลมะระจีน ผลผลิตมะระจีน วิธี IPM และวิธีเกษตรกร ไม่พบการปนเปื้อนของสารเคมี (Table 3)

ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ในการปลูกมะระจีน วิธี IPM ตลอดการทดลองเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 563 กิโลกรัม/พื้นที่ 350 ตารางเมตร จำหน่ายให้บริษัทส่งออกในราคาประกันกิโลกรัมละ 55 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 30,975 บาท ต้นทุนการผลิต 1,270 บาท เป็นค่าสารเคมีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ปุ๋ย ต้นพันธุ์ เตรียมแปลง และค่าแรงงาน เมื่อหักต้นทุนการผลิตแล้วพบว่า วิธี IPM มีกำไรสุทธิ 29,705 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 24.39 มากกว่าวิธีเกษตรกร ส่วนวิธีเกษตรกร ตลอดการทดลองเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 365 กิโลกรัม/พื้นที่ 350 ตารางเมตร จำหน่ายให้บริษัทส่งออกในราคาประกันกิโลกรัมละ 55 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 20,075 บาท ต้นทุนการผลิต 1,696 บาท วิธีเกษตรกรมีกำไรสุทธิ 18,379 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 11.84 ซึ่งน้อยกว่าวิธี IPM (Table 3)

**การดำเนินงานครั้งที่ 2** อำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนพฤษภาคม - สิงหาคม 2567 โดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีเกษตรกรและวิธี IPM ผลการดำเนินการพบว่า

**วิธี IPM** จากการสำรวจประชากรศัตรูพืชในแปลงปลูกมะระจีน จำนวน 17 ครั้ง พบเพลี้ยไฟเกินระดับเศรษฐกิจ 3 ครั้ง และเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเกินระดับเศรษฐกิจ 4 ครั้ง (Table 4) ดำเนินการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงรวม 4 ครั้ง โดยพ่นสาร flonicamid 50% WG อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้าย และ cyantraniliprole 10% OD อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ สำหรับสารกำจัดโรคพืช พ่นสาร azoxystrobin 25% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง และพ่นสาร dimethomorph 50% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันโรค (Table 5)

**วิธีเกษตรกร** จากการสำรวจประชากรศัตรูพืชในแปลงปลูกมะระจีน จำนวน 17 ครั้ง พบเพลี้ยไฟเกินระดับเศรษฐกิจ 10 ครั้ง และเพลี้ยจักจั่นฝ้ายเกินระดับเศรษฐกิจ 17 ครั้ง และแมลงวันแตงเกินระดับเศรษฐกิจ 6 ครั้ง (Table 4) เกษตรกรทำการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชสัปดาห์ละครั้ง โดยไม่มีการสำรวจศัตรูพืชแต่จะพ่นสารตามที่กำหนดไว้จึงมีการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลง 17 ครั้ง โดยพ่นสาร abamectin 1.8% EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 5 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ พ่นสาร acetamiprid 20% SP อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 5 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้าย พ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 8 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ และเพลี้ยจักจั่นฝ้าย พ่นสาร spinetoram 12% SC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 5 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ และเพลี้ยจักจั่นฝ้าย และพ่นสาร petroleum spray oil 83.9% EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง และพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช 9 ครั้ง โดยพ่นสาร azoxystrobin 25% SC อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง และพ่นสาร dimethomorph 50%WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง เพื่อป้องกันโรคพืช (Table 5)

การปนเปื้อนของสารเคมีในผลมะระจีน ผลผลิตมะระจีน วิธี IPM และวิธีเกษตรกร ไม่พบการปนเปื้อนของสารเคมี (Table 6)

ผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์ในการปลูกมะระจีน วิธี IPM ตลอดการทดลองเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 763 กิโลกรัม/พื้นที่ 350 ตารางเมตร จำหน่ายให้บริษัทส่งออกในราคาประกันกิโลกรัมละ 55 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 41,965 บาท ต้นทุนการผลิต 1,269 บาท เป็นค่าสารเคมีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ปุ๋ย ต้นพันธุ์ เตรียมแปลง และค่าแรงงาน เมื่อหักต้นทุนการผลิตแล้วพบว่า วิธี IPM มีกำไรสุทธิ 40,696 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 33.07 มากกว่าวิธีเกษตรกร ส่วนวิธีเกษตรกร ตลอดการทดลองเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 645 กิโลกรัม/พื้นที่ 350 ตารางเมตร จำหน่ายให้บริษัทส่งออกในราคาประกันกิโลกรัมละ 55 บาท คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 35,475 บาท ต้นทุนการผลิต

2,104 บาท วิธีเกษตรกรมีกำไรสุทธิ 33,371 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 16.84 น้อยกว่าวิธี IPM (Table 6)

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูมะระจีนเพื่อการส่งออกกลุ่มสหภาพยุโรป ได้รูปแบบการจัดการศัตรูมะระจีนในแปลงปลูก ประกอบด้วย 1. ติดกับดักกาวเหนียวสีฟ้า ทุกระยะ 5 เมตร บริเวณค้างด้านบนต่ำจากค้าง 15 เซนติเมตร ตั้งแต่มะระจีนเริ่มเลื่อยขึ้นค้าง ถึงเก็บเกี่ยวผลผลิตรุ่นสุดท้าย โดยเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน 2. ติดกับดักเหยื่อพิษโปรตีนรอบแปลงปลูก ทุกระยะ 5 เมตร เมื่อมะระเริ่มติดผล ถึงเก็บเกี่ยวผลผลิตรุ่นสุดท้าย โดยเปลี่ยนกับดักทุก 14 วัน 3. ห่อผลมะระด้วยถุงกระดาษสีน้ำตาล ขนาด 4.5x15 นิ้ว ที่หัวท้ายปิดสนิท เมื่อดอกหลุดออกจากก้นผลมะระแล้ว และ 4. สำรวจประชากรของศัตรูพืชในแปลงปลูก โดยสุ่ม 100 ยอด/แปลง ทุก 3 วัน และใช้ระดับเศรษฐกิจ (ET) ในการตัดสินใจ ถ้าพบศัตรูพืชเกินระดับเศรษฐกิจ (ET) ดำเนินการป้องกันกำจัด พบว่า การดำเนินครั้งที่ 1 อำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม วิธี IPM สามารถลดจำนวนการใช้สารกำจัดแมลงได้ 54.54% และสารป้องกันกำจัดโรคพืชได้ 42.86% เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 563 กิโลกรัม/พื้นที่ 350 ตารางเมตร คิดเป็นมูลค่า 30,965 บาท ต้นทุนการผลิต 1,270 บาท มีกำไรสุทธิ 29,705 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 24.39 มากกว่าแปลงเกษตรกรที่ได้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 11.84 ส่วนการดำเนินการครั้งที่ 2 อำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม วิธี IPM สามารถลดจำนวนการใช้สารกำจัดแมลงได้ 55.56% และสารป้องกันกำจัดโรคพืชได้ 55.56% เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 763 กิโลกรัม/พื้นที่ 350 ตารางเมตร คิดเป็นมูลค่า 41,965 บาท ต้นทุนการผลิต 1,269 บาท มีกำไรสุทธิ 40,696 บาท ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 33.07 มากกว่าแปลงเกษตรกรที่ได้ผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุน (B/C) 16.84

## คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนเงินอุดหนุนเพื่อการวิจัยจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ผ่านทางแผนปฏิบัติงานโครงการวิจัยกรมวิชาการเกษตร คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณที่ได้ให้การสนับสนุนการดำเนินงานโครงการวิจัย ขอขอบคุณเกษตรกรเจ้าของแปลงที่เอื้อเฟื้อแปลงปลูกสำหรับดำเนินงานทดลอง ขอขอบคุณพนักงานราชการและเจ้าหน้าที่กลุ่มบริหารศัตรูพืช ที่ให้การช่วยเหลืองานวิจัยทุกท่าน ทำให้การทดลองในโครงการวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

**เอกสารอ้างอิง**

กองกีฏและสัตววิทยา. 2544. *เทคโนโลยีทางเลือกสำหรับ ไอ พี เอ็ม*. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 309 หน้า.

สัญญาณี ศรีคชา สุเทพ สหายา สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และพวงผกา อ่างมณี. 2560. *คู่มือการป้องกันกำจัด แมลงศัตรูพืชสำหรับการผลิตผักเพื่อการส่งออกสหภาพยุโรป (ฉบับปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติม)*. กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 53 หน้า

**Table 1** Number of pests in IPM fields and farmer fields found thrips, aphid, leafhopper, Lepidoptera, Melon fly and Virus disease at Bang Len district Nakhon Pathom province during May – July 2023

| Checking date | Number of pests in 100 shoots | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Thrips | | Aphid | | Leafhopper | | Lepidoptera | | Melon fly (20 fruits) | | Virus disease | |
| | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer |
| **29/5/2566** | 95 | 93 | 0 | 1 | **75** | **70** | 12 | 12 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **1/6/2566** | 163 | 162 | 0 | 1 | **131** | **135** | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **6/6/2566** | 118 | 138 | 0 | 3 | 20 | **36** | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **8/6/2566** | 105 | 102 | 0 | 0 | **22** | **30** | 2 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **12/6/2566** | 156 | 175 | 3 | 1 | 14 | 19 | 8 | 17 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **15/6/2566** | 130 | 156 | 6 | 0 | 16 | **25** | 6 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **19/6/2566** | **210** | **220** | 0 | 1 | 20 | **21** | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **22/6/2566** | 175 | **303** | 1 | 1 | **31** | **52** | 3 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **26/6/2566** | **292** | **425** | 0 | 0 | **56** | **72** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **29/6/2566** | 87 | 162 | 2 | 2 | **72** | **75** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **3/7/2566** | **248** | **328** | 0 | 0 | **55** | **54** | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| **6/7/2566** | 179 | 186 | 0 | 0 | **115** | **119** | 4 | 2 | 0 | **3** | 3 | 5 |
| **10/7/2566** | **255** | **297** | 0 | 0 | **128** | **129** | 0 | 0 | 0 | **5** | 4 | 8 |
| **13/7/2566** | 158 | 185 | 4 | 2 | **144** | **130** | 0 | 1 | 0 | **5** | 4 | 10 |

Bold numbers mean the exceed of economic threshold level (ETL)

**Table 2** Comparison of pesticides application, number of application and costs between IPM field and farmer field at Bang Len district Nakhon Pathom province during May – July 2023

| Pesticides application | No. of application | Cost |
|---|---|---|
| **IPM field** | | |
| **Insecticide** | | |
| - spiromesifen 24% SC | 3 | 81 Baht/15 ml |
| - spinetoram 12% SC | 2 | 147 Baht/30 ml |
| **Fungicide** | | |
| - azoxystrobin 25% SC | 2 | 33.40 Baht/10 ml |
| - dimethomorph 50% WG | 2 | 15.60 Baht/20 g |
| **Farmer field** | | |
| **Insecticide** | | |
| - abamectin 1.8% EC | 5 | 13.50 Baht/30 ml |
| - acetamiprid 20% SP | 3 | 15.9 Baht/10 g |
| - emamectin benzoate 1.92% EC | 8 | 28 Baht/20 ml |
| - spinetoram 12% SC | 2 | 81 Baht/15 ml |
| - petroleum spray oil 83.9% EC | 2 | 4.20 Baht/30 ml |
| **Fungicide** | | |
| - azoxystrobin 25% SC | 6 | 33.40 Baht/10 ml |
| - dimethomorph 50% WG | 4 | 15.60 Baht/20 g |

**Table 3** Pesticides application, residue and economic return of Chinese bitter gourd plantation compared between IPM method and farmer method at Bang Len district Nakhon Pathom province during May – July 2023

| Item | IPM method | Farmer method |
|---|---|---|
| **1. Pesticides application** | | |
| - Insecticides | 2 | 5 |
| - number of application Insecticides | 5 | 11 |
| - IPM reduced the insecticides used (%) | 54.54 | |
| - Fungicides | 2 | 2 |
| - number of application Fungicides | 4 | 7 |
| - IPM reduced the Fungicide used (%) | 42.86 | |
| **2. Residue of pesticide** | ND | ND |
| **3. Economic return** | | |
| - Product value (Baht/350 $m^2$ (B) | 30,975.00 | 20,075.00 |
| - Cost of production (Baht/350 $m^2$) (C) | 1,270.00 | 1,696.00 |
| - Net profit (Baht/350 $m^2$) | 29,705.00 | 18,379.00 |
| - benefit cost ratio (B/C) | 24.39 | 11.84 |

ND = not detected

**Table 4** Number of pests in IPM fields and farmer fields found thrips, aphid, leafhopper, Lepidoptera, Melon fly and Virus disease at Bang Len district Nakhon Pathom province during June – July 2024

| Checking date | Number of pests in 100 shoots | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Thrips | | Aphid | | Leafhopper | | Lepidoptera | | Melon fly (20 fruits) | | Virus disease | |
| | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer | IPM | Farmer |
| 3/6/2567 | 59 | 67 | 5 | 4 | 10 | **30** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6/6/2567 | 106 | 148 | 7 | 9 | 15 | **45** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 10/6/2567 | 119 | 190 | 0 | 4 | 12 | **56** | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 13/6/2567 | 98 | **210** | 0 | 1 | **25** | **110** | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 17/6/2567 | 135 | **245** | 0 | 1 | **30** | **120** | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 20/6/2567 | 167 | **278** | 0 | 0 | 19 | **65** | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 24/6/2567 | 135 | **235** | 0 | 0 | **23** | **54** | 0 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 27/6/2567 | 183 | **276** | 1 | 1 | **31** | **73** | 0 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1/7/2567 | **201** | **298** | 1 | 2 | 19 | **28** | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4/7/2567 | **232** | **302** | 0 | 2 | 10 | **49** | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 8/7/2567 | **206** | **378** | 0 | 0 | 6 | **62** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 11/7/2567 | 179 | **217** | 0 | 0 | 5 | **99** | 0 | 0 | 0 | **7** | 0 | 3 |
| 15/7/2567 | 165 | 198 | 0 | 0 | 8 | **115** | 2 | 0 | 0 | **8** | 0 | 5 |
| 18/7/2567 | 108 | 135 | 2 | 2 | 15 | **145** | 2 | 0 | 0 | **10** | 0 | 9 |
| 22/7/2567 | 165 | 189 | 1 | 1 | 18 | **110** | 6 | 1 | 0 | **12** | 0 | 12 |
| 25/7/2567 | 192 | 198 | 0 | 1 | 19 | **73** | 1 | 1 | 0 | **15** | 0 | 13 |
| 29/7/2567 | 195 | **201** | 0 | 1 | 20 | **56** | 1 | 2 | 0 | **10** | 0 | 19 |

Bold numbers mean the exceed of economic threshold level (ETL)

**Table 5** Comparison of pesticides application, number of application and costs between IPM field and farmer field at Bang Len district Nakhon Pathom province during June – July 2024

| Pesticides application | No. of application | Cost |
|---|---|---|
| **IPM field** | | |
| **Insecticide** | | |
| - flonicamid 50% WG | 2 | 11.04 Baht/3 g |
| - cyantraniliprole 10% OD | 2 | 123 Baht/30 ml |
| **Fungicide** | | |
| - azoxystrobin 25% SC | 2 | 33.40 Baht/10 ml |
| - dimethomorph 50% WG | 2 | 15.60 Baht/20 g |
| **Farmer field** | | |
| **Insecticide** | | |
| - abamectin 1.8% EC | 5 | 13.50 Baht/30 ml |
| - acetamiprid 20% SP | 5 | 15.9 Baht/10 g |
| - emamectin benzoate 1.92% EC | 8 | 28 Baht/20 ml |
| - spinetoram 12% SC | 5 | 81 Baht/15 ml |
| - petroleum spray oil 83.9% EC | 2 | 4.20 Baht/30 ml |
| **Fungicide** | | |
| - azoxystrobin 25% SC | 6 | 33.40 Baht/10 ml |
| - dimethomorph 50% WG | 3 | 15.60 Baht/20 g |

**Table 6** Pesticides application, residue and economic return of Chinese bitter gourd plantation compared between IPM method and farmer method at Bang Len district Nakhon Pathom province during June – July 2024

| Item | IPM method | Farmer method |
|---|---|---|
| **1. Pesticides application** | | |
| - Insecticides | 2 | 5 |
| - number of application Insecticides | 4 | 9 |
| - IPM reduced the insecticides used (%) | 55.56 | |
| - Fungicides | 2 | 2 |
| - number of application Fungicides | 4 | 9 |
| - IPM reduced the Fungicide used (%) | 55.56 | |
| **2. Residue of pesticide** | ND | ND |
| **3. Economic return** | | |
| - Product value (Baht/350 $m^2$ (B) | 41,965.00 | 35,475.00 |
| - Cost of production (Baht/350 $m^2$) (C) | 1,269.00 | 2,104.00 |
| - Net profit (Baht/350 $m^2$) | 40,696.00 | 33,371.00 |
| - benefit cost ratio (B/C) | 33.07 | 16.84 |

ND = not detected

# คณะผู้จัดทำ

**ข้อมูลและแก้ไข :**

คณะผู้วิจัยและหัวหน้าโครงการวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

| | | | |
|---|---|---|---|
| นางเสาวนิตย์ | โพธิ์พูนศักดิ์ | นายวานิช | คำพานิช |
| นางสาวจรัญญา | ปิ่นสุภา | นางสาวสุณีรัตน์ | สีมะเดื่อ |
| นางวรัญญา | มาลี | นายอิทธิพล | บรรณาการ |
| นายไตรเดช | ข่ายทอง | นางสาวชมัยพร | บัวมาศ |
| นางศรีจำนรรจ์ | ศรีจันทรา | นายภูวนารถ | มณีโชติ |
| นายสาทิพย์ | มาลี | นางสาวชนินทร | ดวงสะอาด |
| นางสาวอมรรัชฎ์ | คิดใจเดียว | นางธัญชนก | ศรีเมือง |
| นางสาวดาราพร | รินทะรักษ์ | นางสาวยุรวรรณ | อนันตนมณี |
| นางสาวพลอยชมพู | กรวิภาสเรือง | นายสิริชัย | สาธุวิจารณ์ |
| นางโสภา | มีอำนาจ | นางสาวภัทร์พิชชา | รุจิระพงศ์ชัย |
| นางสาวทิพวรรณ | กันหาญาติ | นางสาวกรกต | ดำรักษ์ |
| นางสาวมลนิภา | ศรีมาตรภิรมย์ | นายจารุวัตถ์ | แต้กุล |

**ประสานงาน รวบรวมและเรียบเรียง** :

กลุ่มบริหารโครงการวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

| | |
|---|---|
| นายอิศเรส | เทียนทัด |
| นางสาวณฐวรรณ | ชนะโชติ |
| นางสาวจิราภรณ์ | สินทร |
| นางสาวจุฑามาส | อภิเดช |

# ANNUAL REPORT 2025

กรมวิชาการเกษตร

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์