การบริหารจัดการโรคใบหงิกเหลืองของพริก

Pest Management for Yellow Leaf Curl Disease on Chili

วันเพ็ญ ศรีทองชัย อำนวย อรรถลังรอง อุดม คำชา สมพงษ์ สุขเขตต์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ปลูกพริกจำนวน 10 สายพันธุ์/พันธุ์ วางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block design (RCB) มี 3 ซ้ำ ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ พันธุ์พริกส่วนใหญ่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ในโครงการวิจัยของ ศวส. ศรีสะเกษ และ ศวส. พิจิตร มีการบริหารจัดการศัตรูพืชโดยใช้สารเคมีที่เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้ เริ่มประเมินการเข้าทำลายของโรคโดยเริ่มพบต้นพริกแสดงอาการใบหงิกเหลืองบริเวณรอบนอกของแปลงปลูกใน 1 เดือนหลังย้ายปลูก จากการตรวจเช็คการเข้าทำลายของโรคใบหงิกเหลืองในพริกสายพันธุ์ต่างๆ ไม่พบการระบาดของโรคนี้ในช่วง 2 เดือนหลังย้ายปลูก แต่เริ่มพบการระบาดของโรคใบหงิกเหลืองในเดือนที่ 3 บนพันธุ์หัวเรือ # 13 และ จินดา ศก. 19-1 น้อยมาก ไม่ถึง 1% แต่กลับพบการระบาดอย่างรุนแรงของโรคจุดวงแหวนที่เกิดจากทอสโพไวรัส (Tospovirus) บนพริกทุกพันธุ์ที่ปลูกทดสอบ โดยพริกแสดงอาการจุดวงแหวนสีเขียวอ่อนบนใบ ซึ่งโรคนี้ระบาดโดยมีเพลี้ยไฟเป็นพาหะนำโรค และมีพืชอาศัยกว้าง จึงได้ทำการตรวจนับและให้คะแนนระดับความรุนแรงของโรคเหมือนกับโรคใบหงิกเหลือง พบว่า โรคนี้เริ่มพบในเดือนที่ 3 หลังย้ายปลูก และระบาดรุนแรงขึ้นในเดือนที่ 6 (มิถุนายน) แต่อัตราการเกิดโรคที่เกิดจากทอสโพไวรัสบนพริกทุกพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และพันธุ์ที่ให้ผลผลิตทั้งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งสูงสุด ได้แก่ พันธุ์จินดา ศก. 24, พันธุ์จินดา ศก. 19-1 และ พันธุ์ CV 7-5 ในงานทดลองปี 2552 สรุปได้ว่า พันธุ์จินดา ศก. 24 หากได้รับการบริหารจัดการที่ถูกต้อง สามารถให้ผลผลิตสูงและมีความทนทานต่อเชื้อทอสโพไวรัส ได้ดีกว่าพริกสายพันธุ์อื่นๆ เมล็ดของพันธุ์ที่มีแนวโน้มทนทานต่อโรคจะได้นำมาทดสอบความต้านทานในเรือนทดลองโดยใช้แมลงหวี่ขาวเป็นพาหะต่อไป

รหัสการทดลอง 01 16 49 01 01 01 01 50

คำนำ

โรคใบหงิกเหลืองของพริกที่เกิดจากไวรัส สังเกตพบในประเทศไทยมานานแล้ว เดิมเข้าใจว่าเกิดจากแมลงจำพวกเพลี้ยไฟ ไรขาว และเพลี้ยอ่อนเท่านั้น แต่จากการสำรวจโรคไวรัสของพริกในปี พ.ศ. 2534 (เครือพันธุ์ และ นวลจันทร์, 2534) และตรวจหาไวรัสจำนวน 8 ชนิด โดยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) กลับไม่พบไวรัสเหล่านั้น ในตัวอย่างโรคที่แสดงอาการใบด่างขีดหรือหย่อมโปร่งแสงระหว่างเส้นใบ เส้นใบเหลือง ใบเล็ก โค้งงอ หดย่นบิดเบี้ยว ยอดเป็นกระจุกและต้นแคระแกร็น ซึ่งอาการของโรคดังกล่าวพบในทุกแหล่งปลูกแทบทุกแห่งในอัตรา 10-100 เปอร์เซ็นต์ จากการตรวจเอกสารพบว่า มีโรคใบหงิกของพริกแพร่ระบาดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และเอเชียตะวันออก เช่น ในประเทศอินเดีย (Mishra *et al.,* 1963) และศรีลังกา (Sugiura *et al.,* 1975) โดยเฉพาะในหลายท้องที่ของอินเดียตอนเหนือ โรคนี้ทำให้ผลผลิตเสียหายถึง 80 % อาการของโรคนี้ ได้แก่ ต้นเตี้ยแคระแกรน ใบหงิกย่นม้วนงอและด่างเขียวอ่อนหรือเหลือง ใบแก่มีลักษณะเหมือนหนังและเปราะฉีกขาดง่าย โรคใบหงิกเหลืองพบระบาดในแหล่งปลูกพริกทั่วไปของประเทศ โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดกาฬสินธุ์ สกลนคร ศรีสะเกษ และอุบลราชธานี ซึ่งทำความเสียหายต่อการปลูกพริกอย่างรุนแรงถ้าเชื้อเข้าทำลายในระยะกล้า โดยพริกแสดงอาการใบด่างหงิกเหลือง ต้นแคระแกร็น และผลผลิตลดลงถึง 80% โรคนี้เกิดจากไวรัสใบหงิกเหลืองพริก (Pepper yellow leaf curl virus, PeYLCV) มีอนุภาคเป็นรูปทรงกลม อยู่ติดกันเป็นคู่ๆ ขนาดประมาณ 18 x 30 นาโนเมตร จัดอยู่ในสกุลบีโกโมไวรัส (*Begomovirus*) (เครือพันธุ์ และ วันเพ็ญ, 2545)

ในการบริหารจัดการโรคให้มีประสิทธิภาพสูง จำเป็นต้องอาศัยข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของพืชอาศัยทั้งที่เป็นพืชเศรษฐกิจและวัชพืชของโรคนี้ ซึ่งเป็นแหล่งสะสมของไวรัสและแมลงพาหะ และถ้าได้สายพันธุ์/พันธุ์พริกที่มีแนวโน้มว่าทนทานหรือต้านทาน จะยิ่งช่วยให้อัตราการแพร่ระบาดในแปลงปลูกลดลงอย่างมาก และทำให้ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพตามที่ตลาดต้องการ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. พริกสายพันธุ์/พันธุ์ต่างๆจากศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ และพิจิตร
2. แปลงปลูกพริก ที่ ศวส. ศรีสะเกษ
3. ปุ๋ยและสารกำจัดศัตรูพืช
4. อุปกรณ์ในการเก็บผลพริก
5. อุปกรณ์และสารเคมีในการตรวจสอบเชื้อ โดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block design (RCB) มี 10 กรรมวิธี 3 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 CV 3-14
กรรมวิธีที่ 2 CV 7-5
กรรมวิธีที่ 3 หัวเรือเบอร์ 13
กรรมวิธีที่ 4 หัวเรือเบอร์ 25
กรรมวิธีที่ 5 ยอดสน ศก. 165-1
กรรมวิธีที่ 6 ยอดสน ศก. 119-1
กรรมวิธีที่ 7 จินดา ศก. 19-1
กรรมวิธีที่ 8 จินดา ศก. 24
กรรมวิธีที่ 9 พริกขี้หนูเลย ศก. 40-2
กรรมวิธีที่ 10 พริกขี้หนูกาญจนบุรี เบอร์ 5

1. การเตรียมแปลง

แบ่งเป็นแปลงย่อยขนาด 2 x 6 ตารางเมตร จำนวนทั้งหมด 30 (10 x 3) แปลง ระยะระหว่างแปลง 0.5 เมตร ระยะระหว่างซ้ำ 1 เมตร ใช้ระยะปลูก 1 x 0.75 เมตร (แถว x ต้น) จำนวนต้นกล้า 16 ต้นต่อแปลงย่อย ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ต่อครั้ง (375 กรัม/แปลง/ครั้ง) โดยแบ่งใส่ 2 ครั้ง

ครั้งที่ 1 ใส่รองก้นหลุม พร้อมปุ๋ยคอก 1,500 กิโลกรัม/ไร่

ครั้งที่ 2 ใส่เมื่อเริ่มออกดอกหรือหลังย้ายปลูก 20 วัน

2. การเพาะกล้าและการดูแลรักษา

ได้เริ่มทำการเพาะกล้าพริก เมื่อวันที่ 14 พฤศจิกายน 2551 และทำการปลูกลงแปลงเมื่อวันที่ 12 มกราคม 2552 เมื่อต้นกล้ามีอายุได้ 20 วัน ทำการใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 1 ช้อนชา/หลุม และปุ๋ยคอกรองก้นหลุม จากนั้นใช้ฟางคลุมแปลงเพื่อรักษาความชื้นในดิน ทำการตัดแต่งกิ่งล่างให้ทรงพุ่มห่างจากพื้นประมาณ 10 เซนติเมตร มีการพ่นยาป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยใช้สารกำจัดแมลง เมโทมิล อัตรา 20-25 กรัม/น้ำ 20 ลิตร หรือ อิมิดาโคลพริด อัตรา 25-30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร หรืออะมีทราซ อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ผสมกับสารกำจัดราไดเทนเอ็ม 45 อัตรา 45 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และผสมสารจับใบ เอบิตอล สัปดาห์ละ 1 ครั้ง

3. การประเมินอัตราการเข้าทำลายของไวรัสสาเหตุโรคใบหงิกเหลือง

ตรวจนับและให้คะแนนระดับความรุนแรงของโรคใบหงิกเหลืองจำนวน 12 ต้น/treatment โดยกำหนดอัตราการเกิดโรคเป็น 5 ระดับ (0 = ไม่แสดงอาการของโรค, 1 = แสดงอาการของโรค 20 % , 2 = แสดงอาการของโรค 21-50 % , 3 = แสดงอาการของโรค 51-75 % และ 4 = แสดงอาการของโรค 100 % และต้นแคระแกร็น) ทุกเดือนหลังย้ายปลูก เก็บต้นที่แสดงอาการไม่ชัดเจนมาตรวจสอบอีกครั้งในห้องปฏิบัติการ โดยมีขั้นตอนการตรวจสอบไวรัสด้วยวิธี ELISA มีดังนี้

1. เคลือบเพลท (microplate, Nunc) ด้วยโพลีคลอนอลแอนติบอดีของ pumpkin yellow leaf puckering virus (PYLPV) อัตรา 1:5,000 ใน 0.05 M carbonate buffer pH 9.6 หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 2 ชั่วโมง

2. ล้างเพลทด้วย washing buffer (phosphate buffer saline, PBS + 0.05% Tween 20) 4 ครั้งๆละ 3 นาที

3. หยอด 2% BSA (Albumin, Bovine Fraction V) ใน washing buffer หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 1 ชั่วโมง

4. ล้างเพลทด้วย washing buffer 4 ครั้งๆละ 3 นาที

5. หยอดน้ำคั้นพืชที่ต้องการตรวจสอบ (บดใบพืช 1 กรัมใน 2.5 มิลลิลิตรของ 0.05 M Tris-HCl, 0.06 M sodium sulphite, pH 8.5 ปั่นที่ 10,000 rpm นาน 5 นาที เก็บน้ำใส) หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 1 ชั่วโมง

6. ล้างเพลทด้วย washing buffer 4 ครั้งๆละ 3 นาที

7. หยอดโมโนคลอนอลแอนติบอดี (M1 & D2) อัตรา 1: 200 ใน 0.5% BSA หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 1 ชั่วโมง

8. ล้างเพลทด้วย washing buffer 4 ครั้งๆละ 3 นาที

9. หยอด goat anti-mouse conjugate alkaline phosphatase อัตรา 1:2,000 ใน 0.05% BSA หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 1 ชั่วโมง

10. ล้างเพลทด้วย washing buffer 4 ครั้งๆละ 3 นาที

11. หยอด substrate (p-nitrophenyl phosphate) ใน diethanolamine buffer อัตรา 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร อ่านผลด้วยเครื่องอ่าน ELISA ที่ 405 nm

4. เก็บเกี่ยวผลผลิต

ทำการเก็บผลผลิตพริกของทุกกรรมวิธี จำนวน 4 ครั้ง ตากแดด และเก็บเมล็ด เพื่อนำมาปลูกทดสอบความต้านทานต่อโรคใบหงิกเหลืองอีกครั้งในโรงเรือนทดลอง ซึ่งถ่ายทอดไวรัสโดยใช้แมลงหวี่ขาวเป็นพาหะ

เวลาและสถานที่ ระยะเวลา ตุลาคม 2549 - กันยายน 2553
สถานที่ กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการตรวจเช็คการเข้าทำลายของโรคใบหงิกเหลืองในพริกสายพันธุ์ต่างๆ ที่ปลูกในแปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ไม่พบการระบาดของโรคนี้ในช่วง 2 เดือนหลังย้ายปลูก อาจเป็นเพราะว่า มีการพ่นสารกำจัดแมลงปากดูดอย่างสม่ำเสมอ ทำให้ปริมาณแมลงหวี่ขาวซึ่งเป็นพาหะของโรคในแปลงพบน้อยมาก แต่เริ่มพบการระบาดของโรคใบหงิกเหลืองในเดือนที่ 3 บนพันธุ์หัวเรือ # 13 และ จินดา ศก. 19-1 น้อยมาก ไม่ถึง 1% แต่กลับพบการระบาดอย่างรุนแรงของโรคจุดวงแหวนที่เกิดจากทอสโพไวรัส (Tospovirus) บนพริกทุกพันธุ์ที่ปลูกทดสอบ โดยพริกแสดงอาการจุดวงแหวนสีเขียวอ่อนบนใบ ซึ่งโรคนี้ระบาดโดยมีเพลี้ยไฟเป็นพาหะนำโรค และมีพืชอาศัยกว้าง เช่น พืชตระกูลแตง มะเขือเทศ และถั่วลิสง เป็นต้น (วิมล และคณะ, 2547) จึงได้ทำการตรวจนับและให้คะแนนระดับความรุนแรงของโรคเหมือนกับโรคใบหงิกเหลือง พบว่า โรคนี้เริ่มพบในเดือนที่ 3 หลังย้ายปลูก และระบาดรุนแรงขึ้นในเดือนที่ 6 (มิถุนายน) แต่อัตราการเกิดโรคที่เกิดจากทอสโพไวรัสบนพริกทุกพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1) และพันธุ์ที่ให้ผลผลิตทั้งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งสูงสุด ได้แก่ พันธุ์จินดา ศก. 24, พันธุ์จินดา ศก. 19-1 และ พันธุ์ CV 7-5 (ตารางที่ 2) ในงานทดลองปี 2552 สรุปได้ว่า พันธุ์จินดา ศก. 24 หากได้รับการบริหารจัดการที่ถูกต้อง สามารถให้ผลผลิตสูงและมีความทนทานต่อเชื้อทอสโพไวรัส ได้ดีกว่าพริกสายพันธุ์อื่นๆ เมล็ดของพันธุ์ที่มีแนวโน้มทนทานต่อโรคจะได้นำมาทดสอบความต้านทานในเรือนทดลองโดยใช้แมลงหวี่ขาวเป็นพาหะต่อไป

ตารางที่ 1. อัตราการเข้าทำลายพริกของเชื้อทอสโพไวรัส ในแปลง ระหว่างเดือนเมษายน-มิถุนายน 2552

สายพันธุ์พริก	อัตราการเกิดโรคที่เกิดจากทอสโพไวรัส		
	เมษายน	พฤษภาคม	มิถุนายน
CV 3-14	0.843	1.833	2.960
CV 7-5	1.083	2.100	3.233
หัวเรือ # 13	1.100	2.067	3.500
หัวเรือ # 25	1.123	2.150	3.567
ยอดสน ศก. 119-1	1.190	1.957	3.273
ยอดสน ศก. 165-1	1.150	2.067	3.350
จินดา ศก. 19-1	0.983	2.010	3.190
จินดา ศก. 24	1.910	1.743	2.817
พริกขี้หนูเลย ศก. 40-2	0.843	1.910	3.160
พริกขี้หนูกาญจนบุรี # 5	1.183	2.050	3.220
F-Test	ns	ns	ns
CV (%)	18.2	13.7	9.08

กำหนดอัตราการเกิดโรค เป็น 5 ระดับ

0 = ไม่แสดงอาการของโรค

1 = แสดงอาการของโรค 20 %

2 = แสดงอาการของโรค 21-50 %

3 = แสดงอาการของโรค 51-75 %

4 = แสดงอาการของโรค 100 % และต้นแคระแกร็น

ตารางที่ 2. ผลผลิตเฉลี่ยของน้ำหนักสด (กรัม) และน้ำหนักแห้ง (กรัม) ของพริกสายพันธุ์ต่างๆ

สายพันธุ์พริก	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักสด (กรัม)
CV 3-14	3,646.00 bc	784.13 cde
CV 7-5	4,663.00 ab	1,111.83 abc
หัวเรือเบอร์ 13	3,322.33 bc	803.07 b-e
หัวเรือเบอร์ 25	3,889.00 b	894.10 bcd
ยอดสน ศก. 119-1	1,885.67 cde	491.17 de
ยอดสน ศก. 165-1	2,757.67 bcd	704.60 cde
จินดา ศก. 19-1	4,382.00 ab	1,197.07 ab
จินดา ศก. 24	5,857.33 a	1,357.30 a
พริกขี้หนูเลย ศก. 40-2	398.33 e	99.43 f
พริกขี้หนูกาญจนบุรี #5	1,079.00 de	419.00 ef
F-Test	**	**
CV (%)	32.0	27.4

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ปลูกพริกจำนวน 10 สายพันธุ์/พันธุ์ วางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block design (RCB) มี 3 ซ้ำ ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ พันธุ์พริกส่วนใหญ่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ในโครงการวิจัยของ ศวส. ศรีสะเกษ และ ศวส. พิจิตร มีการบริหารจัดการศัตรูพืชโดยใช้สารเคมีที่เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้ เริ่มประเมินการเข้าทำลายของโรคโดยเริ่มพบต้นพริกแสดงอาการใบหงิกเหลืองบริเวณรอบนอกของแปลงปลูกใน 1 เดือนหลังย้ายปลูก จากการตรวจเช็คการเข้าทำลายของโรคใบหงิกเหลืองในพริกสายพันธุ์ต่างๆ ไม่พบการระบาดของโรคนี้ในช่วง 2 เดือนหลังย้ายปลูก แต่เริ่มพบการระบาดของโรคใบหงิกเหลืองในเดือนที่ 3 บนพันธุ์หัวเรือ # 13 และ จินดา ศก. 19-1 น้อยมาก ไม่ถึง 1% แต่กลับพบการระบาดอย่างรุนแรงของโรคจุดวงแหวนที่เกิดจากทอสโพไวรัส (Tospovirus) บนพริกทุกพันธุ์ที่ปลูกทดสอบ โดยพริกแสดงอาการจุดวงแหวนสีเขียวอ่อนบนใบ ซึ่งโรคนี้ระบาดโดยมีเพลี้ยไฟเป็นพาหะนำโรค และมีพืชอาศัยกว้าง เช่น พืชตระกูลแตง มะเขือเทศ และถั่วลิสง เป็นต้น จึงได้ทำการตรวจนับและให้คะแนนระดับความรุนแรงของโรคเหมือนกับโรคใบหงิกเหลือง พบว่า โรคนี้เริ่มพบในเดือนที่ 3 หลังย้ายปลูก และระบาดรุนแรงขึ้นในเดือนที่ 6 (มิถุนายน) แต่อัตราการเกิดโรคที่เกิดจากทอสโพไวรัสบนพริกทุกพันธุ์ไม่มี

ความแตกต่างกันทางสถิติ และพันธุ์ที่ให้ผลผลิตทั้งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งสูงสุด ได้แก่ พันธุ์จินดา ศก. 24, พันธุ์จินดา ศก. 19-1 และ พันธุ์ CV 7-5 ในงานทดลองปี 2552 สรุปได้ว่า พันธุ์จินดา ศก. 24 หากได้รับการบริหารจัดการที่ถูกต้อง สามารถให้ผลผลิตสูงและมีความทนทานต่อเชื้อทอสโพไวรัส ได้ดีกว่าพริกสายพันธุ์อื่นๆ เมล็ดของพันธุ์ที่มีแนวโน้มทนทานต่อโรคจะได้นำมาทดสอบความต้านทานในเรือนทดลองโดยใช้แมลงหวี่ขาวเป็นพาหะต่อไป

เอกสารอ้างอิง

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ และ นวลจันทร์ ดีมา. 2534. การศึกษาโรคไวรัสของพริกในบางแหล่งปลูกของประเทศไทย. รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2534. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 36-41.

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ และ วันเพ็ญ ศรีทองชัย. 2545. โรคไวรัสที่สำคัญของพืชผักและพืชน้ำมัน. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.กรุงเทพฯ. 88 หน้า.

วิมล สีเทา พิสสวรรณ เจียมสมบัติ อรประไพ คชนันท์ อัญจนา บุญชด นุชนาถ วารินทร์ ปิยาภรณ์ เพชรสูงเนิน และชาญณรงค์ ศรีภิบาล. 2547. การจำแนกทอสโพไวรัสที่พบในพริก มะเขือเทศ และพืชตระกูลแตง. การประชุมทางวิชาการครั้งที่ 42 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 1-4 กุมภาพันธ์ 2547. หน้า 445-451.

Mishra, M.D., S.P. Raychaudhuri and A. Jha.1963. Virus causing leaf curl of chilli (*Capsicum annuum* L.) *Indian J. Microbiol.*2: 73-76.

Sugiura, M, C.M. Bandaranayke and G.H. Hemashandra. 1975. Chilli virus diseases in Sri Lanka. Trop. Agric. Res. Cent. Ministry of Agric. And Forestry, Japn. Tech. Bull. 8: 62.