

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. ชุดโครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช
2. โครงการวิจัย : วิจัยการกักกันพืช
- กิจกรรม : การศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชนำเข้า
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์ทิวลิปนำเข้าจากต่างประเทศ
- ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Study on Quarantine Pest Associated with Imported Tulip Bulb
4. คณะผู้ดำเนินงาน
- หัวหน้าการทดลอง : วานิช คำพานิช^{1/}
- ผู้ร่วมงาน : วันเพ็ญ ศรีชาติ^{1/} นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด^{2/}
กฤษณะ หาญพิพัฒน์^{3/}

5. บทคัดย่อ ทิวลิป (Tulip) จัดเป็นพืชอยู่ในวงศ์ Liliaceae มีศัตรูพืชรวมทั้งสิ้น 150 ชนิด จัดเป็นเชื้อรา 32 ชนิด แบคทีเรีย 6 ชนิด แอคติโนมายซีส 1 ชนิด ไวรัส 20 ชนิด ไฟโตพลาสมา 2 ชนิด ไส้เดือนฝอย 15 ชนิด แมลง 41 ชนิด ไร 6 ชนิด และวัชพืช 27 ชนิด มีรายในประเทศไทย 62 ชนิด และจากการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์ทิวลิปนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ ที่ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ และด่านตรวจพืชลาดกระบัง สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ระหว่างเดือนตุลาคม 2553-กันยายน 2555 จำนวนทั้งหมด 17 ตัวอย่าง ผลการตรวจสอบและจำแนกชนิดศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ตรวจพบศัตรูพืชทั้งหมด 7 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา 5 ชนิด ดังนี้ *Cladosporium* sp., *Curvularia lunata*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium* sp., *Rhizoctonia solani* และ *Rhizopus stolonifer* ส่วนการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแหล่งปลูกภายหลังการนำเข้าหัวพันธุ์ทิวลิปในพื้นที่ภาคกลางและภาคเหนือ จำนวน 14 แปลง ตรวจสอบพบศัตรูพืชทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum* และไส้เดือนฝอย *Helicotylenchus pseudorobustus* ซึ่งไม่มีความสำคัญด้านกักกัน

6. คำนำ

ทิวลิป (Tulip, *Tulipa* sp.) เป็นพืชจัดอยู่วงศ์ Liliaceae และจัดเป็นสิ่งกีดตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ประเทศไทยได้มีการนำเข้าหัวพันธุ์ทิวลิปเป็นปริมาณมากเพื่อปลูกประดับความสวยงาม และเพื่อขยายพันธุ์ และภายใต้ข้อตกลงที่ว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on

^{1/} สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/} สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

^{3/} ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สถาบันพืชสวน

Application of Sanitary and Phytosanitary Measures หรือ SPS Agreement) ซึ่งเป็นมาตรการในการป้องกันมิให้ศัตรูพืชติดมากับพืชและผลผลิตพืชเข้ามาเป็นอันตรายหรือก่อให้เกิดความเสียหายต่อสุขภาพมนุษย์ สัตว์ พืช และสิ่งแวดล้อม ประเทศไทยจะต้องเปิดเสรีในฐานะที่เป็นประเทศสมาชิกองค์การการค้าโลก และจะต้องปฏิบัติตามกฎเกณฑ์เกี่ยวกับการค้าสินค้าเกษตร ภายใต้ข้อตกลงที่ว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการด้านสุขอนามัย และสุขอนามัยพืช ซึ่งเป็นมาตรการในการป้องกันมิให้เข้าไปเป็นอันตรายหรือเกิดความเสียหายต่อสุขภาพมนุษย์ สัตว์ พืช และสิ่งแวดล้อม วิธีการปฏิบัติคือประเทศผู้นำเข้าสินค้าเกษตรต้องมีการตรวจสอบศัตรูพืช โดยทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis: PRA) ซึ่งอาจจะเป็นโรคพืช แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชและวัชพืช ชนิดใดชนิดหนึ่ง ซึ่งอาจจะติดมากับสินค้าเกษตรหรือแม้แต่หัวพันธุ์ทิวลิปที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ ส่วนปัญหาการนำเข้า นอกจากจะมีดิน วัสดุปลูกติดมากับหัวพันธุ์ทิวลิป แล้วยังมีเชื้อโรคพืช ศัตรูพืชที่สำคัญได้แก่ เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส ไล้เดือนฝอย และแมลง รวมทั้งอาจจะมีศัตรูพืชชนิดอื่น โดยเฉพาะอย่างยิ่งศัตรูพืชบางชนิดที่ยังไม่มีรายงานในประเทศ เช่น *Ditylenchus destructor*, *D. dipsaci*, *Globodera pallida* (Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007; EPPO, 2006) ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์ทิวลิปนำเข้าจากต่างประเทศ ตลอดจนติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแหล่งปลูกภายหลังการนำเข้าหัวพันธุ์ทิวลิป รวมทั้งจัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

7. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างหัวพันธุ์ทิวลิป
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก ยางรัด ปากกา
3. อุปกรณ์การเตรียมตัวอย่างหัวพันธุ์ทิวลิป ได้แก่ มีด กรรไกร เครื่องปั่น (blender)
4. อุปกรณ์ในการทำสไลด์ และกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และแบบ compound
5. อุปกรณ์แยกไล้เดือนฝอย ได้แก่ เครื่องชั่ง ตะแกรง (sieve) ขนาด 60 200 และ 325 mesh กรวยแก้ว (funnel) พร้อมสายยาง คลีปหนีบสายยาง ถังกะละมัง เครื่องพ่นหมอก (mist chamber) และเครื่อง Ultrasonic
6. อุปกรณ์ในการแยกเชื้อสาเหตุโรคพืช และตู้ปลอดเชื้อ
7. วัสดุวิทยาศาสตร์ และสารเคมีต่าง ๆ ที่ใช้ในการตรวจสอบศัตรูพืช
8. วัสดุการเกษตรต่าง ๆ
9. ชุดตรวจสอบศัตรูพืช
10. หนังสือ และเอกสารทางวิชาการที่เกี่ยวข้องกับเชื้อโรค และศัตรูพืช
11. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมทั้งการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม (ISPM No. 11: Pest risk analysis for quarantine pest including analysis of environmental risk)

วิธีการ

1. สืบค้นรายชื่อ ข้อมูลของทิวลิปและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศ และต่างประเทศ

ทำการสืบค้นรายชื่อ ข้อมูลของทิวลิปและข้อมูลศัตรูพืช เช่นลักษณะทางชีววิทยา พืชอาศัย และการควบคุมศัตรูพืชจากฐานข้อมูล ตำราวิชาการ วารสารทางวิชาการ ประกาศนวิชาการเกษตร รายชื่อศัตรูพืช กักกัน และจากกฎระเบียบด้านกักกันพืชสำหรับการนำเข้า และส่งออกของต่างประเทศ จาก Crop protection compendium 2007 (CPC, 2007) และจากข้อมูลทางอิเล็กทรอนิกส์ เว็บไซต์ต่างๆ

2. การสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์ทิวลิปนำเข้า

สุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์ทิวลิปที่นำเข้าจากต่างประเทศ เช่น ประเทศเนเธอร์แลนด์ ณ ด้านตรวจพืชท่าเรือ กรุงเทพฯ และด้านตรวจพืชลาดกระบัง โดยการสุ่มตัวอย่างประมาณ 2 % จากปริมาณตัวอย่างทั้งหมด หรือ 20-30 หัวพันธุ์ ต่อ ตัวอย่าง และเก็บตัวอย่างหัวพันธุ์ทิวลิปที่มีอาการผิดปกติหรือร่องรอยการทำลายเนื่องจากศัตรูพืช เพื่อนำไปตรวจสอบและจำแนกชนิดในขั้นตอนต่อไป

3. ดำเนินการตรวจสอบและจำแนกชนิดศัตรูพืช

3.1 การตรวจสอบและจำแนกชนิดศัตรูพืชเบื้องต้นโดยการสังเกตด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo เพื่อตรวจหาเส้นใย และส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อรา อาการฉ่ำน้ำของแบคทีเรีย ไวรัส ไล้เดือนฝอย อาการแตกใบฝอยจากไฟโตพลาสมา ตัวอ่อน ไข่ ตักแต้ หนอนของแมลง ไร ตลอดจนเมล็ดวัชพืช

3.2 การตรวจสอบและจำแนกชนิดเชื้อราในชั้นละเอียด

หากพืชแสดงอาการผิดปกติหรือถูกทำลายด้วยเชื้อรา ให้นำส่วนที่แสดงอาการมาตรวจสอบด้วยวิธี Tissue transplanting ตัดใบพืชเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 2x2 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อแล้ววางพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) (Dhingra and Sinclair, 1985) และวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง (semiselective media) หลังจากนั้นบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน นำไปทำให้บริสุทธิ์แล้วเก็บ เพื่อจำแนกชนิดเชื้อราต่อไป

3.3 การตรวจสอบและจำแนกชนิดแบคทีเรียในชั้นละเอียด มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

2. ทดสอบแกรม (Gram reaction) โดยใช้สารละลายโปรแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (3%KOH) ที่เตรียมใหม่ใช้ภายใน 2 สัปดาห์ หากตรวจพบเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) มีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) และแกรมบวก (Gram positive) รูปร่างแบบ Coryneform rod ก็จะไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3. ทดสอบ Hypersensitivity reaction บนยาสูบ โดยการฉีดสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียอายุ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เข้าไปในใบยาสูบ (*Nicotiana tabacum* L.) บริเวณใต้ใบโดยฉีดเข้าเนื้อใบระหว่างเส้นใบ สังเกตลักษณะอาการเซลล์ตายตรงเนื้อใบหลังการฉีดเชื้อ 24-48 ชั่วโมง หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช

4. ทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical properties) เช่น การย่อยเรีย การย่อยเจลาติน การย่อยเอสคูลิน และแป้ง reduce ในเตรต ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นต้น (Bradbury and Sadler, 1997; Schaad *et al.*, 2001) ต่อไป

5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัย (pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปักเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่น ปักเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยง ตรวจสอบลักษณะอาการของโรค ภายหลังจากปักเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำไปเป็นโรคมายกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

3.4 การตรวจสอบ และจำแนกชนิดของไวรัสด้วยวิธีที่เหมาะสม เช่นการนำหัวพันธุ์ลำต้น และใบของทิวลิปที่สงสัย และแสดงอาการผิดปกติ มาตรวจสอบด้วยวิธีการเซรุ่มวิทยา (Serology) เช่นการใช้ชุดตรวจสอบศัตรูพืช (ELISA Kit) และชุดตรวจสอบของ Agdia

3.5 การตรวจสอบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชั้นละเอียด สามารถทำได้โดยนำหัวพันธุ์มาทำตามขั้นตอนดังนี้

3.5.1 วิธีการของ Cobb's sieving & Baermann funnel (นุชนารถ, 2546; Zuckerman *et al.*, 1990) มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. นำตัวอย่างหัวพันธุ์ หรือวัสดุปลูกประมาณ 300 กรัม นำไปปั่นเป็นชิ้นๆ หรือป่นและนำมาใส่ในภาชนะพลาสติกเทน้ำลงไปปริมาณที่เท่ากัน ทั้งไว้ประมาณ 30 วินาที เพื่อให้ร้อนกัน แล้วเทน้ำลงในตะแกรงขนาด 60 mesh (ความยาว 1 นิ้วมี 60 ช่อง) โดยมีภาชนะรองรับ เศษพืช เศษไม้ จะติดอยู่บนตะแกรง

2. นำน้ำที่ผ่านตะแกรงแรกมาเทลงในตะแกรงขนาด 200 mesh โดยมีภาชนะรองรับ ไส้เดือนฝอยที่มีขนาดเล็กจะผ่านตะแกรงลงสู่ภาชนะที่รองรับอยู่ด้านล่าง จะมีไส้เดือนฝอยบางชนิด ที่มีขนาดใหญ่ค้างอยู่บนตะแกรง เอาน้ำฉีดบนตะแกรงจนน้ำใส แล้วใช้น้ำฉีดด้านหลังตะแกรง โดยมีภาชนะรองรับไส้เดือนฝอย

3. นำน้ำที่ผ่านตะแกรงขนาด 200 mesh เทลงในตะแกรงขนาด 325 mesh โดยไม่ต้องมีภาชนะรองรับ เนื่องจากไส้เดือนฝอยเกือบทุกชนิดจะติดอยู่บนตะแกรงนี้ ใช้ฝอยน้ำฉีดเบาๆ ให้ทั่วตะแกรงเพื่อให้ตะกอนหลุดลงมา หลังจากนั้นเก็บน้ำจากตะแกรงนี้ไว้เพื่อกรองต่อไป

4. นำน้ำที่กรองจากตะแกรงขนาด 325 mesh เทลงบนตะแกรงลวดที่มีกระดาษกรองวางอยู่ด้านบน (ใช้กระดาษกรองไส้เดือนฝอย หรือกระดาษเช็ดหน้า 2 ชั้น) แล้วนำตะแกรงลวดวางบนกรวยที่มีท่ออย่างสวมไว้ ในกรวยบรรจุน้ำปลายท่ออย่างมีคัลป์หนีบสายยางกันน้ำรั่ว ทั้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยจะว่ายน้ำไประหว่างกระดาษกรองมาอยู่ที่ปลายก้านกรวย

5. เมื่อครบ 24 ชั่วโมง ไข่น้ำจากกรวยตัวอย่างทั้งหมดไปตรวจสอบ และจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ภายใต้อกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และแบบ compound ในห้องปฏิบัติการ โดยเทียบ

จากคู่มือการจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยทั้งที่มีรายงานในประเทศไทย (สืบศักดิ์, 2538; 2541) และต่างประเทศ (Anon, 2005; Bell, 2004; Hunt, 1993; Nickle, 1991; Siddiqi, 2000)

3.5.2 การแยกด้วยวิธีพ่นหมอก (mist chamber) (นุชนารถ และวานิช, 2551) ซึ่งเป็นวิธีแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากพืชด้วยการพ่นน้ำเป็นฝอยลงบนรากพืช ความชื้นของละอองน้ำทำให้ไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกจากรากพืชลงสู่ปลายกรวย วิธีพ่นหมอก มีขั้นตอนดังต่อไปนี้ ทำการเตรียมตัวอย่างหัวพันธุ์ทิวลิป โดยการตัดราก กลีบหัว และย่อยให้เป็นชิ้นเล็กๆ นำไปใส่ในถุงผ้ากรองชนิดเนื้อผ้าละเอียด น้ำหนักรากประมาณ 10 กรัม ต่อ 1 ตัวอย่าง ต่อ 1 ถุง ไปใส่กรวยแยก ที่เตรียมไว้ นำกรวยแก้วต่อสายยางที่ก้านกรวยและใช้คีมหนีบสายยาง เทน้ำสะอาดใส่ลงไปในกรวย นำไปตั้งวางในเครื่อง mist chamber จากนั้นนำตัวอย่างรากที่อยู่ในถุงผ้าวางบนตะแกรงลวดที่อยู่บนกรวยพลาสติก นำไปซ้อนบนกรวยแก้ว เปิดเครื่อง mist chamber ปล่อน้ำตามท่อสายยางผ่านหัวพ่นฝอย ที่ติดตั้งไว้ด้านบนของกรวย เปิดเครื่อง mist chamber ตลอด 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นไขน้ำจากปลายสายยางกรวยแก้ว ใส่ภาชนะแก้วใสหรือบีกเกอร์ ในปริมาตรน้ำ 50 มิลลิลิตร นำไปตรวจสอบและจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และแบบ compound ในห้องปฏิบัติการ โดยเทียบจากคู่มือทั้งที่มีรายงานในประเทศไทย และต่างประเทศ

3.5.3 การใช้คลื่นเสียง เป็นการแยกไส้เดือนฝอยให้ออกจากรากและหัวพันธุ์ทิวลิป โดยใช้คลื่นความถี่เหนือเสียง ชนิด Ultrasonic ที่มีความถี่อย่างน้อย 50 กิโลเฮิรตซ์ (kHz.) เป็นตัวผลักดันให้ไส้เดือนฝอยที่อยู่ในรากและหัวพันธุ์เคลื่อนที่ออกมาโดยมีน้ำเป็นตัวกลางส่งคลื่นความถี่สู่รากและหัวพันธุ์ มีผลทำให้โมเลกุลของของเหลวเกิดการบีบอัดและคลายตัวเป็นจังหวะ ส่งผลให้เกิดฟองอากาศขนาดเล็กๆ จำนวนมากที่มีพลังแฝง ซึ่งสามารถเข้าซอกซอนในระบบราก กลีบของหัวพันธุ์ และรบกวนหรือขับไล่ให้เคลื่อนที่ออกมาสู่น้ำ หลังจากนั้นนำน้ำที่ได้จากการทำ Ultrasonic ปริมาตรน้ำ 50 มิลลิลิตร นำไปตรวจสอบและจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และแบบ compound ในห้องปฏิบัติการ โดยเทียบจากคู่มือทั้งที่มีรายงานในประเทศไทย และต่างประเทศ

4. ปลุกเพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้นในสถานกักพืช

ทำการปลุกทิวลิปเพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้น โดยทำการปลุกหัวพันธุ์ทิวลิปในดินอบฆ่าเชื้อ และเก็บรักษาไว้ในสถานกักพืช ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช เมื่อต้นพืชออกใบจริง 1-2 ใบ จึงเริ่มตรวจสอบลักษณะอาการโรค นำต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ หรือสงสัยว่ามีโรค และศัตรูพืช ไปตรวจสอบและจำแนกชนิดต่อไป

5. ติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแหล่งปลูกภายหลังการนำเข้า

ทำการติดตาม ตรวจสอบศัตรูพืชในแหล่งปลูกภายหลังการนำเข้าหัวพันธุ์ทิวลิปในพื้นที่ภาคกลาง เช่น จังหวัดนนทบุรี จำนวน 8 แปลง พื้นที่ภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ และลำปาง จำนวน 6 แปลง โดยทำการสุ่มเก็บพืช และหัวพันธุ์ทิวลิปที่พบลักษณะอาการผิดปกติหรืออาการที่สงสัยว่าจะมีศัตรูพืช รวมทั้ง เก็บตัวอย่างดิน หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่ได้มาทำการตรวจสอบและจำแนกชนิดศัตรูพืช ตามขั้นตอนข้อที่ 3

6. จัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบและสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

เวลาและสถานที่

- ระยะเวลา (เริ่มต้น-สิ้นสุด) ตุลาคม 2553 – กันยายน 2555 (2 ปี)

- สถานที่ทำการทดลอง

1. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. ด่านตรวจพืชฯ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

3. แหล่งปลูกภายหลังการนำเข้าหัวพันธุ์ทิวลิปในพื้นที่ภาคกลาง เช่น จังหวัดนนทบุรี และพื้นที่ภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ และจังหวัดลำปาง

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สืบค้นรายชื่อ และข้อมูลของทิวลิปและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศ และต่างประเทศ

1.1 การสืบค้นข้อมูลทิวลิป จากเอกสารทางวิชาการ วารสาร การประชุมสัมมนา ทั้งในและต่างประเทศ รวมทั้ง ข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์ เว็บไซต์ต่างๆ ได้ข้อมูลดังต่อไปนี้ทิวลิปเป็นดอกไม้เมืองหนาวมีถิ่นกำเนิดในเนเธอร์แลนด์ และตอนเหนือของญี่ปุ่น ทิวลิปเป็นไม้ดอกประเภทหัว จัดเป็นพืชอยู่ในวงศ์ Liliaceae มีชื่อสามัญว่า Tulip พืชในจีนนี้มีประมาณ 100 สปีชีส์ ทิวลิปเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว รูปใบเล็กเรียวยาว ปลายใบแหลม เส้นแขนงใบจะเป็นแนวขนานไปตามความยาวของใบ และเรียวกว้างที่บริเวณปลายใบ ใบแต่ละใบจะออกสลับทิศทางตรงข้ามกัน ต้นหนึ่งๆ จะออกใบประมาณ 3-4 ใบ โดยปกติ ทิวลิปจะมีขนาดสูงระหว่าง 12-18 นิ้ว ซึ่งก็ตั้งแต่หัวพันธุ์และชนิดของทิวลิปแต่ละอย่าง ดอกของทิวลิปก็เช่นเดียวกัน มีหลายแบบ หลายสี และหลายขนาด แต่โดยปกติ ดอกทิวลิปจะเป็นดอกไม้รูปถ้วย ยามบานไม่บานแฉ่ง แต่จะบานเพียงแค่อ้อมๆ กลีบดอก ให้ความรู้ว่าเป็นดอกทิวลิปที่บานแล้ว แต่อย่างบานแฉ่งก็มีบ้าง เหมือนกัน เช่น พวกดอกทิวลิป ซ้อนหลายๆ ชั้น ปกติดอกทิวลิปจะมีกลีบดอกซ้อนกันเพียง 2 ชั้นๆ ละ 3 กลีบ กลีบดอกของทิวลิปมีสีเส้นต่างๆ มากมายหลายสี นับตั้งแต่สีแสด แดง ส้ม เหลือง เข้ม เหลือง เหลืองอ่อน ชมพู ขาว และสีสลับลายหลายอย่าง มีทั้งสีเดียวล้วนๆ และสีผสมในดอกเดียว หรือที่เรียกว่า Broken Tulips เกสรผู้เป็นสีเหลืองอ่อน หรือขาวเป็นแท่งรูปหัวศรมี 6 เส้น เกสรเมียมีขนาดโตกว่าเกสรผู้ อยู่กึ่งกลางเกสรผู้ เป็นลักษณะแท่งรูปสามเหลี่ยมยาว 2-2.5 เซนติเมตร ปลายเกสรเมียแต่ละเหลี่ยม งอลงเป็นสามแฉก ส่วนที่ปลายเกสรผู้บางพันธุ์อาจจะเป็นดิ่งสีน้ำตาลเข้ม หรือสีดำ ทิวลิปมีหัวสะสมอาหารอยู่ใต้ดิน มีอนุวิธานวิทยา ดังนี้ ทิวลิป อยู่ใน Phylum Spermatophyta, Subphylum Angiospermae, Class Monocotyledonae, Order Liliales, Family Liliaceae, Genus *Tulipa* และในด้านการตลาดไม้ตัดดอก ทิวลิป มีการซื้อขายกันมากเป็นอันดับสอง รองจากคาร์เนชั่น ประเทศไทยมีการนำเข้าหัวพันธุ์ทิวลิปในปริมาณมาก เพื่อปลูกประดับเพื่อความสวยงาม ไม้ตัดดอก ไม้กระถาง และปลูกเพื่อขยายพันธุ์ โดยมีการนำเข้าจากประเทศเนเธอร์แลนด์ เป็นหลัก

1.2 การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชของทิวลิป

จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืช พบว่าทิวลิปมีศัตรูพืชรวมทั้งสิ้นจำนวน 150 ชนิด จัดเป็นเชื้อรา 32 ชนิด แบคทีเรีย 6 ชนิด แอคติโนมายซีส 1 ชนิด ไวรัส 20 ชนิด ไฟโตพลาสมา 2 ชนิด ไร้เดือนฝอย 15 ชนิด แมลง 41 ชนิด ไร 6 ชนิด และวัชพืช 27 ชนิด มีรายในประเทศไทย 62 ชนิด เป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืชพ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) และ (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 จำนวน 19 ชนิด และเป็นศัตรูพืชที่เฝ้าระวัง (ดังตารางผนวกที่ 1)

2. การสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์ทิวลิปนำเข้า

ได้ตัวอย่างหัวพันธุ์ทิวลิปที่นำเข้าจากประเทศเนเธอร์แลนด์ ณ ด้านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ และด้านตรวจพืชลาดกระบัง ทั้งหมด 17 ตัวอย่าง

3. การตรวจสอบและจำแนกชนิดศัตรูพืช

จากการตรวจสอบและจำแนกชนิดศัตรูพืชเบื้องต้น และขึ้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ตรวจพบศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์ทิวลิปที่นำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ จำนวน 17 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อรา 7 ชนิด ได้แก่ *Cladosporium* sp., *Curvularia lunata*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium* sp., *Rhizoctonia solani* และ *Rhizopus stolonifer*

4. ปลุกเพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้นในสถานกักพืช

จากปลุกเพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้นในสถานกักพืช ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช ตรวจสอบแล้วพบอาการหัวเน่า ต้นเหี่ยว ใบเหลือง ตรวจพบเชื้อรา *Fusarium oxysporum*

5. ติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแหล่งปลูกภายหลังการนำเข้า

จากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแหล่งปลูกภายหลังการนำเข้าหัวพันธุ์ทิวลิปในพื้นที่ทั้งหมด 14 แปลง ได้แก่พื้นที่ภาคกลาง เช่น จังหวัดนนทบุรี จำนวน 8 แปลง พบอาการใบจุด เมื่อนำมาจำแนกในห้องปฏิบัติในชั้นละเอียด ตรวจพบเชื้อรา *Curvularia lunata* และพื้นที่ภาคเหนือ ได้แก่จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ และจังหวัดลำปาง 6 แปลง พบอาการใบจุด หัวเน่า ต้นเหี่ยว ใบเหลือง ต้นแคระ ไม่เจริญเติบโต เมื่อทำการเก็บตัวอย่างมาจำแนกในห้องปฏิบัติในชั้นละเอียด ตรวจพบเชื้อรา *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum* และไส้เดือนฝอย *Helicotylenchus pseudorobustus*

6. จัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบและสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญ

ด้านกักกันพืช

ในการจัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบนั้น พบว่าศัตรูพืชทั้ง 7 ชนิด เป็นเชื้อราสาเหตุของโรค 5 ชนิด ได้แก่ *Cladosporium* sp., *Curvularia lunata*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, และ *Rhizoctonia solani* และเป็นเชื้อราภายหลังการเก็บเกี่ยว 2 ชนิด คือ *Rhizopus stolonifer* และ *Penicillium* sp. ซึ่งศัตรูพืชที่ตรวจพบดังกล่าวไม่ใช่ศัตรูพืชกักกัน เนื่องจากเป็นศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศไทย แต่อย่างไรก็ตามยังมีความจำเป็นที่ต้องตรวจสอบต่อไป รวมทั้งมีการติดตาม ตรวจสอบศัตรูพืชในแหล่งปลูกภายหลังการนำเข้า ในทุกๆที่มีการผลิตและขยายหัวพันธุ์ทิวลิป เพื่อป้องกันมิให้ศัตรูพืชชนิดที่ร้ายแรงติดมากับหัวพันธุ์นำเข้า ซึ่งอาจจะมาแพร่ระบาดทำความเสียหายต่อการผลิตทิวลิปในประเทศไทย

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืช พบว่าทิวลิปมีศัตรูพืชรวมทั้งสิ้นจำนวน 150 ชนิด จัดเป็นเชื้อรา 32 ชนิด แบคทีเรีย 6 ชนิด แอคติโนมายซีส 1 ชนิด ไวรัส 20 ชนิด ไฟโตพลาสมา 2 ชนิด ไส้เดือนฝอย 15 ชนิด แมลง 41 ชนิด ไร 6 ชนิด และวัชพืช 27 ชนิด มีรายในประเทศไทย 62 ชนิด เป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืชพ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) และ (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 จำนวน 19 ชนิด

2. จากการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์ทิวลิปนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ ทั้งหมด 17 ตัวอย่าง ผลการตรวจสอบ และจำแนกชนิดศัตรูพืช พบศัตรูพืชทั้งหมด 7 ชนิด

3. จากการปลูกเพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้นในสถานกักพืช ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช และติดตาม ตรวจสอบศัตรูพืชในแหล่งปลูกภายหลังการนำเข้าหัวพันธุ์ทิวลิป ในพื้นที่ภาคกลาง และพื้นที่ภาคเหนือ 14 แปลง พบศัตรูพืชทั้งหมด 3 ชนิด เป็นเชื้อรา 2 ชนิด และไส้เดือนฝอย 1 ชนิด

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

10.1 ได้ข้อมูลศัตรูพืชที่เก็บไว้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

10.2 สามารถเผยแพร่ข้อมูลศัตรูพืชและศัตรูพืชกักกันที่สำคัญของพืชนำเข้าให้กับเจ้าหน้าที่ของรัฐและภาคเอกชนที่เกี่ยวข้อง

10.3 ทำให้การปฏิบัติงานกักกันพืชระดับภูมิภาคมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นสามารถป้องกันศัตรูพืชร้ายแรงและรุกรานชนิดใหม่จากต่างประเทศมิให้ระบาดเข้ามาทำลายการเกษตรของประเทศไทย

10.4 สามารถกำหนดมาตรการกักกันพืชได้อย่างรัดกุมมีประสิทธิภาพและโปร่งใสสอดคล้องกับข้อตกลงระหว่างประเทศ

10.5 นำผลการวิจัยมาดำเนินการปรับปรุงแก้ไขกฎหมายกักกันพืช โดยจัดทำปรับปรุงข้อแก้ไขประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ฯ และประกาศกรมวิชาการเกษตร เวียนแจ้งให้ทราบทั้งในและนอกประเทศ

11. คำขอขอบคุณ

ขอขอบพระคุณข้าราชการ พนักงานราชการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ และด่านตรวจพืชลาดกระบัง สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในด้านการเก็บตัวอย่าง และเอื้ออำนวยในเรื่องสถานที่

12. เอกสารอ้างอิง

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2546. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช. กลุ่มงานไส้เดือนฝอย. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 39 หน้า.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และ วานิช คำพานิช. 2551. การพัฒนาเครื่องมือและเทคนิคการแยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้าและส่งออกรายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มกรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 26 น.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน์. 2538. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในประเทศไทย. วี.บี. บุ๊คเซ็นเตอร์, กรุงเทพฯ. 275 น.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน์. 2541. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช: โรคและการจัดการ. วี.บี. บุ๊คเซ็นเตอร์, กรุงเทพฯ. 204 น.

Anon. 2005. Interactive diagnostic key to plant parasitic, free living and predaceous nematodes. University of Nebraska - Lincoln Nematology Laboratory. U.S.A.

Bell, M. 2004. Plant parasitic nematodes: Lucid key to 30 genera of plant parasitic nematodes. <http://www.lucidcentral.com/keys/nematodes/>.

Biosecurity Australia. 2000. Draft IRA Report, Non-Routine Import Risk Analysis (IRA) on ornamental Bulbs from The Netherlands, the United kingdom, Israel and New Zealand, Draft IRA Report.

- Bradbury J.F. and G.S. Sadler. 1997. Guide to Plant Pathogenic Bacteria, 2nd edition, CAB International Mycological Institute, Surrey, U.K.
- CPC. 2007. Crop Protection Compendium, 2007. Wallingford, UK: CAB International [CD-ROM].
- Dhingra, O.D. and J.B. Sinclair. 1985. Basic Plant Pathology Methods. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. U.S.A.
- EPPO. 2006. PQR database (version 4.5). Paris, France: European and Mediterranean Plant Protection Organization. www.eppo.org.
- Hunt, D.J. 1993. Aphelenchida, Longidoridae and Trichodoridae : their systematics and bionomics. CAB International, Wallingford, UK.
- Nickle, W.R. 1991. Manual of agricultural nematology. New York, U.S.A.
- Schaad N.W., J.B. Jones and W.Chun. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria, 3rd edition, APS Press, St Paul, Minnesota, USA.
- Siddiqi, M.R. 2000. Tylenchida: parasites of plants and insects. CABI Publications, Wallingford, UK.
- Zuckerman, B. M., W. F. Mai and L R. Krusberg. 1990. Plant Nematode Laboratory Manual. The University of Massachusetts Agricultural Experiment Station Amherst, Massachusetts, U.S.A.

13. ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 รายชื่อศัตรูพืชกักกันของทิวลิปที่เฝ้าระวัง

ศัตรูพืชกักกัน	ประเทศ
เชื้อรา	
1. <i>Phytophthora cryptogea</i>	เนเธอร์แลนด์ จีน ไต้หวัน ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย
2. <i>Phytophthora porri</i>	ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย
3. <i>Botryotinia fuckeliana</i>	เนเธอร์แลนด์ จีน ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย
แบคทีเรีย	
1. <i>Pseudomonas marginalis</i> pv. <i>marginalis</i>	เนเธอร์แลนด์ จีน ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย
ไวรัส	
1. Arabis mosaic virus	ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย
2. Tobacco rattle virus	เนเธอร์แลนด์ จีน ญี่ปุ่น เกาหลี สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย
3. Tomato black ring virus	เนเธอร์แลนด์ จีน ญี่ปุ่น

4. Tomato ring spot virus เนเธอร์แลนด์ จีน เกาหลีใต้ ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย

5. Tulip breaking virus เนเธอร์แลนด์ ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย

ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช

1. *Ditylenchus destructor* เนเธอร์แลนด์ จีน ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย

2. *Ditylenchus dipsaci* เนเธอร์แลนด์ จีน ไต้หวัน ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย

3. *Globodera pallida* เนเธอร์แลนด์ ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย

4. *Globodera rostochiensis* เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา

5. *Meloidogyne chitwoodi* เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา

6. *Xiphinema* เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา

diversicaudatum

ไร

1. *Petrobia latens* เนเธอร์แลนด์ จีน เกาหลีใต้ สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย

2. *Rhizoglyphus echinopus* จีน ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ สหรัฐอเมริกา

แมลง

1. *Thrips simplex* เนเธอร์แลนด์ จีน ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย

วัชพืช

1. *Senecio vulgaris* เนเธอร์แลนด์ จีน ไต้หวัน ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย
