

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. ชุดโครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช
2. โครงการวิจัย : วิจัยการกักกันพืช
- กิจกรรม : การศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้า
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับกระเทียมนำเข้าจากต่างประเทศ
- ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Study on Quarantine Pests Associated with Imported Garlic
4. คณะผู้ดำเนินงาน
- | | | |
|-----------------|--------------------------------------|--------------------------------|
| หัวหน้าการทดลอง | : ชลธิชา รักใคร่ | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช |
| ผู้ร่วมงาน | : วานิช คำพานิช | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช |
| | : ชัยศักดิ์ รินเกลื่อน ^{1/} | สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร |
| | : ศรีวิเศษ เกษสังข์ | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช |
| | : ปรียพรรณ พงศาพิชณ์ | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช |
| | : วันเพ็ญ ศรีชาติ | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช |
| | : โสภา มีอำนาจ | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช |
| | : เฉลิมพล จงรักษ์ | สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร |

5. บทคัดย่อ

กระเทียม (Garlic; *Allium sativum* L.) มีศัตรูพืชที่เข้าทำลายส่วนต่างๆของกระเทียม จำนวนทั้งสิ้น 75 ชนิด จัดเป็นแมลง 21 ชนิด ไร 5 ชนิด เชื้อรา 24 ชนิด แบคทีเรีย 7 ชนิด ไวรัส 5 ชนิด ไส้เดือนฝอย 8 ชนิด และวัชพืช 5 ชนิด และจากการสุ่มตัวอย่างกระเทียม จำนวน 55 ตัวอย่าง จากประเทศอิตาลี สาธารณรัฐ-ประชาชนจีน และประเทศอินเดีย ทางด้านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ด้านตรวจพืชเชียงแสน และด้านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบัง สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ระหว่างเดือนตุลาคม 2557 - กันยายน 2558 พบว่ามีการนำเข้าปริมาณ 2,052,573 กิโลกรัม ดำเนินการสุ่มตัวอย่างและนำมาตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการด้วย blotter method, dilution plate technique และ seedlings symptom test ผลการตรวจ พบศัตรูพืชกับหัวกระเทียม 3 ชนิดได้แก่ เชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Embellisia allii* และเชื้อรา *Fusarium oxysporum* เมื่อนำไปปลูกสังเกตอาการของเชื้อโรคศัตรูพืชในโรงเรือนปลูกพืช ไม่พบพืชแสดงอาการผิดปกติ ได้ติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกกระเทียมของเกษตรกรในเขตภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 44 แปลง ตรวจพบศัตรูพืช 4 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Stemphylium vesicarium*, *Alternaria porri*, *Onion yellow dwarf virus* และ ไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* ซึ่งเป็นเชื้อโรคและศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศไทยแล้ว ซึ่งไม่จัดเป็นศัตรูพืชที่สำคัญทางกักกันพืช

Abstract

A study the interception of quarantine pests associated with imported Garlic with consignments imported into Thailand at point of entry of 3 PQ Stations during B.E. 2557-2558. A total of 2,052,573 kilograms of garlic were imported from China, , Italy, and India. According to relevant reference there are 75 pests associated with Garlic including 21 insects, 5 mites, 24 fungi, 7 bacteria, 5 viruses, 8 nematodes, and 5 weeds. Fifty five sampling of imported plants were collected samples of intercepted items were collected and sent to plant quarantine diagnostic laboratory for thoroughly examined and identification 55 samples. A preliminary investigation has been done by visual inspection and using a magnifying glass. Seed health test by blotter method, dilution plate technique and seedlings symptom test have been done in laboratory and glass house. As the laboratory result, *Aspergillus flavus*, *Embellisia allii* and *Fusarium oxysporum* have been observed in laboratory test. No sign or any symptoms from seedling symptom test. The total of 44 garlic fields have been identified, *Stemphylium vesicarium*, *Alternaria porri*, *Onion yellow dwarf virus* and *Meloidogyne incognita*. The target quarantine pests were not found during this studied.

6. คำนำ

กระเทียม (Garlic; *Allium sativum* L.) จัดเป็นสิ่งกักตตามพระราชบัญญัติกักพืชพ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 (นิรนาม, 2552) ประเทศไทยมีการนำเข้ากระเทียมเข้ามาเป็นปริมาณมากทั้งเพื่อการบริโภค และปลูกขยายพันธุ์จากข้อตกลงที่ว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการด้านสุขอนามัย และสุขอนามัยพืช (Agreement on Application of Sanitary and Phytosanitary Measures หรือ SPS Agreement) ซึ่งเป็นมาตรการในการป้องกันมิให้ศัตรูพืชติดมากับพืชและผลิตผลพืชเข้ามาเป็นอันตรายหรือก่อให้เกิดความเสียหายต่อสุขภาพมนุษย์ สัตว์ พืช และสิ่งแวดล้อม ประเทศไทยจะต้องเปิดเสรีในฐานะที่เป็นประเทศสมาชิกองค์การการค้าโลก และจะต้องปฏิบัติตามกฎเกณฑ์เกี่ยวกับการค้าสินค้าเกษตร ต้องมีการตรวจสอบศัตรูพืช ซึ่งอาจจะเป็นโรคพืช แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช และวัชพืชชนิดใดชนิดหนึ่ง ซึ่งอาจจะติดมากับสินค้าเกษตรที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ

ปัญหาการนำเข้านอกจากจะมีดินติดมากับกระเทียม แล้วยังมีเชื้อโรคพืชได้แก่ เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส ไส้เดือนฝอย ไร แมลง และเมล็ดวัชพืช รวมทั้งอาจจะมีศัตรูพืชกักกัน และศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทย เช่น *Botryotinia allii*, *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*, *Ditylenchus dipsaci*, *D. destructor* *Petrobia latens* และ *Cirsium arvense* เป็นต้น (CABI, 2007; CABI, 2014) ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการตรวจสอบและศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับกระเทียมนำเข้าจากต่างประเทศ รวมทั้งมีการสำรวจติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกกระเทียมที่นำเข้ามาจากต่างประเทศเพื่อกำหนดมาตรการในการควบคุม

การนำเข้า และลดความเสี่ยงศัตรูพืชอันเนื่องมาจากศัตรูพืชซึ่งอาจจะติดมากับกระเทียม ซึ่งอาจจะเข้ามาระบาดในประเทศไทยได้

7. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างหัวพันธุ์และเมล็ดกระเทียม และพืชทดสอบ เช่นยาสูบ
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติกใสขนาดต่าง ๆ กล่องพลาสติก พู่กันเบอร์ 0, ขวดดองตัวอย่างไรและแมลง ขนาด 1 แตรม บรรจุแอลกอฮอล์ 70% พู่กัน กล่องพลาสติกรักษาความเย็น แวนชวยาย (กำลังชวยาย 20x) เป็นต้น
3. อุปกรณ์การเตรียมตัวอย่างกระเทียม ได้แก่ มีด กรรไกร เครื่องปั่น
4. อุปกรณ์ในการทำสไลด์ และกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และแบบ compound
5. อุปกรณ์แยกไส้เดือนฝอย ได้แก่ เครื่องซั่ง ตะแกรง (sieve) ขนาด 60 200 และ 325 mesh กรวยแก้ว (funnel) พร้อมสายยาง คีลป์หนีบสายยาง ถังกะละมัง เครื่องพ่นหมอก (mist chamber) และ เครื่อง Ultrasonic
6. อุปกรณ์ในการแยกเชื้อสาเหตุโรคพืช และตู้ปลอดเชื้อ
7. วัสดุวิทยาศาสตร์ และสารเคมีต่าง ๆ ที่ใช้ในการตรวจสอบศัตรูพืช
8. วัสดุการเกษตรต่าง ๆ
9. ชุดตรวจสอบศัตรูพืช
10. หนังสือ และเอกสารทางวิชาการที่เกี่ยวข้องกับศัตรูพืช
11. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมทั้งการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม (ISPM No. 11: Pest risk analysis for quarantine pest including analysis of environmental risk)
12. คู่มือจำแนกชนิดศัตรูพืช

วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของกระเทียมและข้อมูลศัตรูพืชทั้งที่มีรายงานในประเทศ และต่างประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลของกระเทียมและข้อมูลศัตรูพืช เช่น ลักษณะทางชีววิทยา พืชอาศัย และการควบคุมศัตรูพืชจากฐานข้อมูล ตำราวิชาการ วารสารทางวิชาการ ประภาศกรมวิชาการเกษตร รายชื่อศัตรูพืชกักกัน และจากกฎระเบียบด้านกักกันพืชสำหรับการนำเข้า และส่งออกของต่างประเทศจาก Crop protection compendium 2007 และจากข้อมูลทางอิเล็กทรอนิกส์ เว็บไซต์ต่าง ๆ

2. การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชั้นละเอียดกับกระเทียมที่นำเข้าจากต่างประเทศในห้องปฏิบัติการ

ทำการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชั้นละเอียดกับหัวและเมล็ดพันธุ์กระเทียมที่นำเข้าจากต่างประเทศทางด้านตรวจพืชฯ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร เจ้าหน้าที่จะทำการสุ่มตัวอย่างหัวและเมล็ดพันธุ์มาทำการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ หรือกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo เพื่อตรวจหาเส้นใย ส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อรา อาการฉ่ำน้ำของแบคทีเรีย อาการจากไวรัส อาการรากปม และ cyst จากไส้เดือนฝอย อาการจากไฟโตพลาสมา ร่องรอย การทำลายของแมลงและไรศัตรูพืช ตัวอ่อน ไข่ ตักแต้ หนอน (Borrer, 1981) ตลอดจนเมล็ดวัชพืช (Linda, 1993)

2.2 สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าตามมาตรฐาน International Seed Testing Association; ISTA (Mathur and Kongdal, 2003) และหัวนำเข้าตามมาตรฐาน ISPM No. 31 หรือสุ่มตัวอย่างตามวิธีการที่เหมาะสม ณ จุดนำเข้า โดยทำการสุ่มตัวอย่างจากด้านตรวจพืชต่างๆ ที่มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ และหัวกระเทียม และทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบด้วยตาเปล่า สังเกตลักษณะสี ผิว และรูปร่างว่ามีอะไรผิดปกติหรือไม่ มีรอยเจาะ หรือแตกกะเทาะของหัวหรือไม่ และจึงนำหัว และเมล็ดพันธุ์ที่สุ่มได้นำไปตรวจสอบศัตรูพืชชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

2.2.1 ตรวจวินิจฉัยชนิดของเชื้อราในชั้นละเอียด

หากพืชแสดงอาการผิดปกติหรือถูกทำลายด้วยเชื้อรา ให้นำส่วนที่แสดงอาการมาตรวจสอบโดยวิธี moist chamber หรือวิธี tissue transplanting ซึ่งทำได้โดยการตัดใบพืชเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 2x2 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายใต้กระแสมลูเชื้อแล้ววางพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) (Dhingra and Sinclair, 1985) และวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง (semi selective media) หลังจากนั้นบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน นำไปทำให้บริสุทธิ์แล้วเก็บเชื้อรา เพื่อตรวจวินิจฉัยชนิดของเชื้อราต่อไป

2.2.2 ตรวจวินิจฉัยชนิดของแบคทีเรียในชั้นละเอียด 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 การใช้ยูเรีย การย่อยเจลาติน การย่อยเอสคูลิน การย่อยแป้ง และความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ 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

2.2.3 การตรวจวินิจฉัยชนิดของไวรัสด้วยวิธีที่เหมาะสม เช่น การนำหัว ลำต้น และใบของกระเทียมที่สงสัย หรือแสดงอาการผิดปกติ มาตรวจสอบและวินิจฉัยด้วยวิธีการเซรุ่มวิทยา (Serology) เช่น การใช้ชุดตรวจสอบศัตรูพืช (ELISA Kit) เช่น ชุดตรวจสอบของ Agdia และชุดตรวจสอบไวรัสบางชนิดในกลุ่ม Potyvirus เช่น Gift kit เป็นต้น

2.2.4 การตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชั้นละเอียด สามารถทำได้โดยนำหัวกระเทียมมาทำตามขั้นตอนดังนี้

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

1. นำตัวอย่างหัวกระเทียมไปหั่นเป็นชิ้นๆ หรือปั่นด้วยเครื่องปั่น และนำมาใส่ในภาชนะพลาสติก แล้วเทน้ำลงไปปริมาณที่เท่ากัน ทิ้งไว้ประมาณ 30 วินาที เพื่อให้ร้อนกัน แล้วเทน้ำลงในตะแกรงขนาด 60 mesh (ความยาว 1 นิ้วมี 60 ช่อง) โดยมีภาชนะรองรับ เศษพืช เศษไม้ จะติดอยู่บนตะแกรง

2. นำน้ำที่ผ่านตะแกรงแรกมาเทลงในตะแกรงขนาด 200 mesh โดยมีภาชนะรองรับ ไส้เดือนฝอยที่มีขนาดเล็กจะผ่านตะแกรงลงสู่ภาชนะที่รองรับอยู่ด้านล่าง จะมีไส้เดือนฝอยบางชนิด ที่มีขนาดใหญ่ ค้างอยู่บนตะแกรง เอาน้ำฉีดบนตะแกรงจนน้ำใส แล้วใช้น้ำฉีดด้านหลังตะแกรง โดยมีภาชนะรองรับไส้เดือนฝอย

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

4. นำน้ำที่กรองจากตะแกรงขนาด 325 mesh เทลงบนตะแกรงลวดที่มีกระดาษกรองวางอยู่ด้านบน (ใช้กระดาษกรองไส้เดือนฝอย หรือกระดาษเช็ดหน้า 2 ชั้น) แล้วนำตะแกรงลวดวางบนกรวยที่มีท่อ

ยางสวมไว้ ในกรวยบรรจุน้ำปลายท่ออย่างมีคัลิปหนีบสายอย่างกันน้ำรั่ว ทิ้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง ใ้เดือนฝอยจะว่ายน้ำผ่านกระดาษกรองมาอยู่ที่ปลายก้านกรวย

5. เมื่อครบ 24 ชั่วโมง ไข่น้ำจากกรวยตัวอย่างทั้งหมดไปตรวจวินิจฉัยและจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และแบบ compound ในห้องปฏิบัติการ โดยเทียบจากคู่มือการจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอย ที่มีรายงานในประเทศไทย (สืบศักดิ์, 2538; 2541) และต่างประเทศ (Anon, 2005; Bell, 2004; Hunt, 1993; Nickle, 1991; Siddiqi, 2000)

วิธีพ่นหมอก (mist chamber) (นุชนารถ และวานิช, 2551) เป็นวิธีแยกไส้เดือนฝอยออกจากหัวและรากพืชด้วยการพ่นน้ำเป็นฝอยลงบนหัวและรากพืช ความชื้นของละอองน้ำทำให้ไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกจากหัวและรากพืชลงสู่ปลายกรวย วิธีพ่นหมอก มีขั้นตอนดังต่อไปนี้ ทำการเตรียมตัวอย่างหัวกระเทียม โดยการตัดราก กลีบหัว และย่อยให้เป็นชิ้นเล็กๆ นำไปใส่ในถุงผ้ากรองชนิดเนื้อผ้าละเอียด น้ำหนักรากประมาณ 10 กรัม ต่อ 1 ตัวอย่าง ต่อ 1 ถุง ไปใส่กรวยแยก ที่เตรียมไว้ นำกรวยแก้วต่อสายยางที่ก้านกรวยและใช้คัลิปหนีบสายยาง เทน้ำสะอาดใส่ลงไป ในกรวย นำไปตั้งวางในเครื่อง mist chamber จากนั้นนำตัวอย่างรากที่อยู่ในถุงผ้าวางบนตะแกรงลวดที่อยู่บนกรวยพลาสติก นำไปซ้อนบนกรวยแก้ว เปิดเครื่อง mist chamber ปลอ่ยน้ำตามท่อสายยางผ่านหัวพ่นฝอย ที่ติดตั้งไว้ด้านบนของกรวย เปิดเครื่อง mist chamber ตลอด 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นไข่น้ำจากปลายสายยางกรวยแก้ว ใส่ภาชนะแก้วใสหรือบีกเกอร์ ในปริมาตรน้ำ 50 มิลลิลิตร นำไปตรวจวินิจฉัยและจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และแบบ compound ในห้องปฏิบัติการ โดยเทียบจากคู่มือการจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอย ที่มีรายงานในประเทศไทย และต่างประเทศ

วิธีการใช้คลื่นเสียง (ultrasonic) เป็นการแยกไส้เดือนฝอยให้ออกจากรากและหัวกระเทียม โดยใช้คลื่นความถี่เหนือเสียง ชนิด ultrasonic ที่มีความถี่อย่างน้อย 50 กิโลเฮิรต (kHz.) เป็นตัวผลักดันให้ไส้เดือนฝอยที่อยู่ในรากและหัวเคลื่อนที่ออกมาโดยมีน้ำเป็นตัวกลางส่งคลื่นความถี่สู่รากและหัวพันธุ์ มีผลทำให้โมเลกุลของของเหลวเกิดการบีบอัดและคลายตัวเป็นจังหวะ ส่งผลให้เกิดฟองอากาศขนาดเล็กๆ จำนวนมากที่มีพลังแฝง ซึ่งสามารถเข้าซอกซอนในระบบราก และหัว รวมทั้งรบกวนหรือขับไล่ให้ไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกมาสู่น้ำ หลังจากนั้นนำน้ำที่ได้จากการทำ ultrasonic ปริมาตรน้ำ 50 มิลลิลิตร นำไปตรวจวินิจฉัยชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และแบบ compound ในห้องปฏิบัติการ โดยเทียบจากคู่มือการจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอย ที่มีรายงานในประเทศไทย และต่างประเทศ

3. ปลุกเพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้นในโรงเรือนปลูกพืช

ทำการปลูกกระเทียม เพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้น และใบโดยนำหัว หรือเมล็ดพันธุ์ไปปลูกในดินอบฆ่าเชื้อ และเก็บรักษาไว้ในโรงเรือนปลูกพืช ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช เมื่อต้นพืชออกใบจริง 1-2 ใบ จึงเริ่มตรวจวินิจฉัย และสังเกตลักษณะอาการ นำต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ หรือสงสัยว่ามีโรค และศัตรูพืช ไปตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชั้นละเอียดต่อไป

4. ติดตาม ตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกกระเทียมนำเข้าจากต่างประเทศ

ทำการติดตาม ตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกของกระเทียมนำเข้าจากต่างประเทศ จำนวน 44 แปลง ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ 5 แปลง เชียงราย 7 แปลง ลำพูน 5 แปลง น่าน 16 แปลง อุตรดิตถ์ 5 แปลง ตาก 6 แปลง โดยทำการเก็บตัวอย่างส่วนต่างๆของพืชนี้ เช่น ใบ ลำต้น ราก และหัวของพืชที่พบลักษณะอาการผิดปกติ หรือน่าสงสัย ตลอดจนสุ่มเก็บตัวอย่างดิน เพื่อนำตัวอย่างที่ได้มาตรวจวินิจฉัยศัตรูพืช ตามขั้นตอนข้อที่ 2

5. จัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบและสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

เวลาและสถานที่ (เริ่มต้น - สิ้นสุด)

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2557 – กันยายน 2558 (1 ปี)

- กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

- ด้านตรวจพืชฯ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

- แปลงปลูกภายหลังการนำเข้า

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของกระเทียมและข้อมูลศัตรูพืชทั้งที่มีรายงานในประเทศ และต่างประเทศ

กระเทียม (Garlic; *Allium sativum* L.) จัดเป็นสิ่งต้องกักตามพระราชบัญญัติกักพืชพ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ซึ่งประเทศไทยได้นำเข้ามาเพื่อการบริโภค และปลูกขยายพันธุ์ และจากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืช พบว่า กระเทียม มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 75 ชนิด จัดเป็น แมลง 21 ชนิด ไร 5 ชนิด เชื้อรา 24 ชนิด แบคทีเรีย 7 ชนิด ไวรัส 5 ชนิด ไส้เดือนฝอย 8 ชนิด และวัชพืช 5 ชนิด และกระเทียมมีศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืชพ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) และ (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 จำนวน 12 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Botryotinia allii* , *Botrytis aclada* , *Verticillium dahliae* ไส้เดือนฝอย *Ditylenchus destructor*, *Ditylenchus dipsaci* แบคทีเรีย *Pantoea agglomerans* , *Pseudomonas cichorii* , *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* , *Tobacco rattle virus* ไร *Petrobia latens* วัชพืช *Cirsium arvense* และ *Spergula arvensis*

2. การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขึ้นละเอียดกับกระเทียมที่นำเข้าจากต่างประเทศในห้องปฏิบัติการ

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

จากการตรวจสอบศัตรูพืชกับกระเทียมในเบื้องต้น โดยการสังเกตด้วยตาเปล่า และตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ หรือกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo ตรวจพบอาการหัวเน่า เป็นแผล จุด มีเส้นใยของเชื้อราปกคลุมบางหัวพันธุ์ ส่วนเมล็ดพันธุ์อยู่สภาพปกติ ไม่พบ cyst ของไส้เดือนฝอย ร่องรอยการเข้าทำลายของแมลง และไรศัตรูพืช หรือการปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืช

2.2 การสุ่มตัวอย่างและการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

ผลการสุ่มตัวอย่างกระเทียมที่นำเข้าจากต่างประเทศ มีปริมาณทั้งสิ้น 2,052,573 กิโลกรัม สุ่มตัวอย่างหัวกระเทียมจำนวน 55 ตัวอย่าง เมื่อนำมาตรวจสอบและจำแนกชนิดศัตรูพืชเบื้องต้น และชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี blotter method, dilution plate technique and seedlings symptom test ผลการตรวจสอบพบศัตรูพืชที่ติดมากับกระเทียมพบเชื้อรา 3 ชนิด (ตารางผนวกที่ 1)

3. ปลุกเพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้นในโรงเรือนปลูกพืช

เมื่อนำกระเทียมไปปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือนปลูกพืชตรวจแล้วไม่พบพืชแสดงอาการผิดปกติ

4. การติดตาม ตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงกระเทียมนำเข้าจากต่างประเทศ ได้ติดตาม ตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกกระเทียม จำนวนทั้งหมด 44 แปลง (ตารางผนวกที่ 2)

5. จัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบและสรุปผลการศึกษากำหนดศัตรูพืชที่สำคัญทางกักกันพืช

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการรวบรวมข้อมูลทั่วไป พบว่า กระเทียม มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 75 ชนิด จัดเป็น แมลง 21 ชนิด ไร 5 ชนิด เชื้อรา 24 ชนิด แบคทีเรีย 7 ชนิด ไวรัส 5 ชนิด ไส้เดือนฝอย 8 ชนิด และวัชพืช 5 ชนิด ประเทศไทยนำเข้ากระเทียมในปี 2557-2558 มีจำนวน มีปริมาณทั้งสิ้น 2,052,573 กิโลกรัม ได้ดำเนินการสุ่มตัวอย่างหัวกระเทียมจำนวน 55 ตัวอย่าง เพื่อจำแนกชนิดศัตรูพืชเบื้องต้น และชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี blotter method, dilution plate technique และ seedling symptom test ผลการตรวจสอบพบศัตรูพืชที่ติดมากับกระเทียมพบเชื้อรา 3 ชนิดได้แก่ เชื้อรา *Aspergillus flavus*, *Embellisia allii* และ *Fusarium oxysporum* เมื่อนำไปปลูกสังเกตอาการของเชื้อโรคศัตรูพืชในโรงเรือนปลูกพืช ตรวจแล้วไม่พบพืชแสดงอาการผิดปกติ ได้ติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกกระเทียมของเกษตรกรในเขตภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 44 แปลง ตรวจพบศัตรูพืช 4 ชนิด ได้แก่ ตรวจพบศัตรูพืช 4 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Stemphylium vesicarium*, *Alternaria porri*, *Onion yellow dwarf virus* และ ไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* เป็นชนิดที่มีรายงานการแพร่ระบาดในประเทศไทยแล้ว ไม่จัดเป็นศัตรูพืชที่สำคัญทางกักกันพืช

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. กำหนดมาตรการทางวิชาการ และทางกฎหมาย ด้านสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกัน กับกระเทียมจากประเทศต้นทางก่อนการนำเข้า

2. จัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืชด้านกักกันพืช ได้จัดทำรายชื่อและข้อมูลศัตรูพืชของพืชนำเข้าจากต่างประเทศ โดยเฉพาะศัตรูพืชที่ยังไม่เคยมีรายงานพบมาก่อนในประเทศไทย

11. คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ผู้เชี่ยวชาญ อุดร อุณหวุฒิ คุณศรีวิเศษ เกษสังข์ คุณสุรพล ยินอัศวพรณ ที่ช่วยแนะนำแนวทางการวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณ คุณชัยศักดิ์ รินเกลื่อน คุณเฉลิมพล จงรักษ์ คุณวานิช คำพานิช คุณวันเพ็ญ ศรีชาติ และพนักงานราชการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ ด่านตรวจพืชลาดกระบัง สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในด้านการเก็บตัวอย่าง และเตรียมตัวอย่าง ในห้องปฏิบัติการจนสำเร็จเป็นผลงานในครั้งนี้

12. เอกสารอ้างอิง

นิรนาม. 2552. พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 12 หน้า.

นิตยา กันหลง. 2545. สมุดภาพโรคสำคัญของพืชสกุลหอมกระเทียมในประเทศไทย. เอกสารวิชาการ กองโรคพืชและจุลชีววิทยาปี 2545. 33 หน้า.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2546. ไล่เดือนฝอยศัตรูพืช. กลุ่มงานไล่เดือนฝอย. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 39 หน้า.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และ วานิช คำพานิช. 2551. การพัฒนาเครื่องมือและเทคนิคการแยกไล่เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้าและส่งออก รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 26 น.

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

สืบศักดิ์ สนธิรัตน์. 2541. ไล่เดือนฝอยศัตรูพืช: 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. USA.

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

Borror, D.J. 1981. An Introduction to the Study of Insects 827 pages with 672 figures and 12 tables. 827 p.

Linda, W. Davis. 1993. Weed Seeds of the Great Plains A Handbook for Identification. 208 p.

Bradbury J.F. and G.S. Sadler. 1997. Guide to Plant Pathogenic Bacteria, 2nd edition, CAB International Mycological Institute, Surrey, U.K.

CAB INTERNATIONAL, 2007. Crop Protection Compendium 2007 Edition, Wallingford, UK. [CD-ROM].

- CABI. 2014. Crop Protection Compendium (2014 edition). Copyright © 2014 CABI. CAB International is a registered EU trademark. Available source: <http://www.cabi.org/cpc/> (site date: April 20, 2014).
- Dhingra, O.D. and J.B. Sinclair. 1985. Basic Plant Pathology Methods. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. USA.
- Hunt, D.J. 1993. Aphelenchida, Longidoridae and Trichodoridae : their systematics and bionomics. CAB International, Wallingford, UK.
- Mathur, S.B. and O. Kongdal. 2003. Common Laboratory Seed Health Testing Method for Detecting Fungi. Copenhagen. Denmark. 425 pp.
- 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, USA.

13. ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ผลการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์และหัวกระเทียมนำเข้าจากต่างประเทศ (ระหว่างตุลาคม 2557 – กันยายน 2558)

ลำดับที่	เมล็ดและหัว	ประเทศนำเข้า	ปริมาณ (ก.ก.)	จำนวน (ตัวอย่าง)	ด่านตรวจพืช	ผลการตรวจในห้องปฏิบัติการ
1	เมล็ดพันธุ์ กระเทียม	อิตาลี	50	1	สุวรรณภูมิ	ไม่พบ
2	หัวกระเทียม	สาธารณรัฐ ประชาชนจีน	845,013	27	เชียงใหม่	<i>Embellisia allii</i> , <i>Aspergillus flavus</i>
			1,082,750	23	แหลมฉบัง	<i>Fusarium oxysporum</i> <i>Aspergillus flavus</i>
		อินเดีย	124,760	4	แหลมฉบัง	<i>Aspergillus flavus</i>
	รวม		2,052,573	55	-	-

ตารางผนวกที่ 2 ผลการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชที่ติดมากับกระเทียมนำเข้าจากแหล่งปลูกของเกษตรกร จำนวน 44 แปลง (ระหว่างตุลาคม 2557 – กันยายน 2558)

ลำดับที่	พื้นที่ปลูก	จำนวนแปลง	ผลการตรวจในแหล่งปลูกของเกษตรกร
1	จ.เชียงใหม่ (อ.จอมทอง)	5	<i>Stemphylium vesicarium</i> และ <i>Alternaria porri</i> Onion yellow dwarf virus (นิตยา, 2545)
2	จ.เชียงราย (อ.เวียงป่าเป้า)	7	<i>Stemphylium vesicarium</i> และ <i>Alternaria porri</i> (นิตยา, 2545)
3	จ.ลำพูน (อ.ทุ่งหัวช้าง)	5	<i>Stemphylium vesicarium</i> และ <i>Alternaria porri</i> (นิตยา, 2545)
4	จ.น่าน (อ.เขียงกลาง อ.ปัว อ.เวียงสา และอ.แม่จริม)	16	<i>Stemphylium vesicarium</i> , <i>Alternaria porri</i> , Onion yellow dwarf virus และ <i>Alternaria porri</i> (นิตยา, 2545)
5	จ.อุดรดิตถ์ (อ.ลับแล)	5	<i>Stemphylium vesicarium</i> , <i>Alternaria porri</i> และ <i>Meloidogyne incognita</i> (นิตยา, 2545)
6	จ.ตาก (อ.พบพระ)	6	<i>Stemphylium vesicarium</i> และ <i>Alternaria porri</i> (นิตยา, 2545)
	รวม	44	-