

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. ชุดโครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช
2. โครงการวิจัย : วิจัยการกักกันพืช
- กิจกรรม : การศึกษาศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้า
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์กลาดิโอลัสนำเข้าจากต่างประเทศ
- ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Study on Quarantine Pest Associated with Imported Gladiolus Bulb
4. คณะผู้ดำเนินงาน
- หัวหน้าการทดลอง : วานิช คำพานิช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
- ผู้ร่วมงาน : นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด^{1/}
ชลธิชา รักใคร่ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
กฤษณะ หาญพิพัฒน์^{2/}

5. บทคัดย่อ

กลาดิโอลัส (*Gladiolus* spp.) จัดเป็นพืชในวงศ์ Iridaceae มีศัตรูพืชรวมทั้งสิ้น 172 ชนิด จัดเป็นแมลง 31 ชนิด ไร 6 ชนิด วัชพืช 56 ชนิด เชื้อรา 36 ชนิด แบคทีเรีย 7 ชนิด ไวรัส 21 ชนิด และไส้เดือนฝอย 15 ชนิด จากการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์กลาดิโอลัสนำเข้าจากประเทศเนเธอร์แลนด์ ที่ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ และด่านตรวจพืชลาดกระบัง ระหว่างตุลาคม 2555-กันยายน 2556 ทั้งหมด 5 ตัวอย่าง แล้วตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช พบศัตรูพืช 3 ชนิด ได้แก่เชื้อรา *Aspergillus niger*, *Cladosporium* sp. และเชื้อรา *Fusarium oxysporum* และจากการติดตาม ตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้หัวพันธุ์กลาดิโอลัสนำเข้าในเขตพื้นที่ภาคกลางและภาคเหนือ 14 แปลง ตรวจพบศัตรูพืช 9 ชนิด ได้แก่ *Myzus persicae* (green peach aphid), *Tetranychus kanzawai* (kanzawa spider mite) เชื้อรา *Curvularia eragrostidis*, *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum*, *Streptomyces* sp. แบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli*, Bean yellow mosaic virus และไส้เดือนฝอย *Helicotylenchus pseudorobustus* ระหว่างทำการศึกษามิพบศัตรูพืชที่กักกันเป้าหมาย ข้อมูลเบื้องต้นนี้จะนำมาใช้สร้างฐานข้อมูลศัตรูพืชจากต่างประเทศ และจัดทำคู่มือการวินิจฉัยศัตรูพืชเบื้องต้น รวมทั้งเตรียมความพร้อมในการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช การติดตามเฝ้าระวังศัตรูพืชที่กักกัน ณ จุดนำเข้าอย่างต่อเนื่องเป็นภารกิจสำคัญด้านกักกันพืชและอารักขาพืชเพื่อป้องกันศัตรูพืชแปลกใหม่รุกรานเข้ามาในประเทศไทย

^{1/} สำนักผู้เชี่ยวชาญ กรมวิชาการเกษตร โทรศัพท์ 02-579-9586

^{2/} ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สถาบันพืชสวน กรมวิชาการเกษตร โทรศัพท์ 053-170100-2

6. คำนำ

แกลดีโอลัส (*Gladiolus*, *Gladiolus* spp.) จัดเป็นสิ่งกักตตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ประเทศไทยได้มีการนำเข้าหัวพันธุ์แกลดีโอลัสเป็นปริมาณมากเพื่อปลูกประดับความสวยงาม และเพื่อขยายพันธุ์และภายใต้ข้อตกลงที่ว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on Application of Sanitary and Phytosanitary Measures หรือ SPS Agreement) ซึ่งเป็นมาตรการในการป้องกันมิให้ศัตรูพืชติดมากับพืชและผลิตผลพืชเข้ามาเป็นอันตรายหรือก่อให้เกิดความเสียหายต่อสุขภาพมนุษย์ สัตว์ พืช และสิ่งแวดล้อม ประเทศไทยจะต้องเปิดเสรีในฐานะที่เป็นประเทศสมาชิกองค์การการค้าโลก และจะต้องปฏิบัติตามกฎเกณฑ์เกี่ยวกับการค้าสินค้าเกษตร วิธีการปฏิบัติคือประเทศผู้นำเข้าสินค้าเกษตรต้องมีการตรวจสอบและวินิจฉัยศัตรูพืช โดยทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis: PRA) ซึ่งอาจจะเป็นโรคพืช แมลงไร สัตว์ศัตรูพืช และวัชพืชชนิดใดชนิดหนึ่ง ซึ่งอาจจะติดมากับสินค้าเกษตรหรือแม้แต่หัวพันธุ์แกลดีโอลัสที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ ส่วนปัญหาของการนำเข้านอกจากจะมีวัสดุปลูกติดมากับหัวพันธุ์แกลดีโอลัสแล้วยังมีเชื้อโรคพืช ได้แก่ เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส แมลง ไร รวมทั้งอาจจะมีศัตรูพืชชนิดอื่นติดมากับหัวพันธุ์แกลดีโอลัส โดยเฉพาะอย่างยิ่งศัตรูพืชบางชนิดที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทย และเป็นศัตรูพืชกักกัน เช่น *Urocystis gladiolicola*, *Uromyces gladioli*, Tobacco streak virus, *Ditylenchus dipsaci* (Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007; EPPO, 2006) รวมทั้งอาจจะมีศัตรูพืชชนิดอื่นอีก ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์แกลดีโอลัสที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ รวมทั้งติดตาม ตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้หัวพันธุ์แกลดีโอลัสนำเข้าจากต่างประเทศ ตลอดจนจัดทำรายชื่อศัตรูพืชกักกัน

7. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างหัวพันธุ์แกลดีโอลัส และพืชทดสอบ เช่น ยาสูบ
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก ยางรัด ปากกา
3. อุปกรณ์การเตรียมตัวอย่างหัวพันธุ์แกลดีโอลัส ได้แก่ มีด กรรไกร เครื่องปั่น (blender)
4. อุปกรณ์ในการทำสไลด์ และกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และแบบ compound
5. อุปกรณ์แยกไส้เดือนฝอย 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 และเอกสารทางวิชาการที่เกี่ยวข้องกับศัตรูพืช

11. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช สำหรับศัตรูพืชกักกันรวมทั้งการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม (ISPM No. 11: Pest risk analysis for quarantine pest including analysis of environmental risk)

12. คู่มือจำแนกชนิดศัตรูพืช

วิธีการ

1. สืบค้นรายชื่อและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศ และต่างประเทศ

ทำการสืบค้นรายชื่อและข้อมูลศัตรูพืช จากฐานข้อมูล ตำราวิชาการ วารสารทางวิชาการ ประกาศนุกรมวิชาการเกษตร รายชื่อศัตรูพืชกักกัน และจากกฎระเบียบด้านกักกันพืชสำหรับการนำเข้า และส่งออกของต่างประเทศ จาก Crop protection compendium 2007 (CPC, 2007) และจากข้อมูลทางอิเล็กทรอนิกส์ เว็บไซต์ต่างๆ

2. การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดกับหัวพันธุ์เมล็ดธัญพืชนำเข้าในห้องปฏิบัติการ

ทำการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดบนหัวพันธุ์เมล็ดธัญพืชที่นำเข้าจากต่างประเทศ ณ จุดนำเข้า เช่น ตำนตรวจพืชฯ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร เจ้าหน้าที่จะทำการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มาทำการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจวินิจฉัยศัตรูด้วยตาเปล่า (visual inspection) และภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ หรือกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo เพื่อตรวจหาเส้นใย และส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อรา อาการฉ่ำน้ำจากแบคทีเรีย อาการจากไวรัส อาการรากปม cyst จากไส้เดือนฝอย ร่องรอยการทำลายของแมลง และไรศัตรูพืช ตัวอ่อน ไข่ ดักแด้ หนอน ตลอดจนเมล็ดวัชพืช

2.2 สุ่มตัวอย่างประมาณ 2 % จากปริมาณตัวอย่างทั้งหมด หรือ 20-30 หัวพันธุ์ ต่อ ตัวอย่าง และตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

2.2.1 ตรวจวินิจฉัยชนิดของเชื้อราในขั้นละเอียด

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

2.2.2 ตรวจวินิจฉัยชนิดของแบคทีเรียในขั้นละเอียด 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 ก็จะไปทดสอบในขั้นต่อไป

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

4. ทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical properties) เช่น การใช้ยูเรีย การย่อยเจลาติน การย่อยเอสคูลิน การย่อยแป้ง และความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นต้น (Bradbury and Sadler, 1997; Schaad *et al.*, 2001) ต่อไป

5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคนบนพืชอาศัย (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่นปลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยง ตรวจสอบลักษณะอาการของโรค ภายหลังจากปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็นโรคมายกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

2.2.3 การตรวจวินิจฉัยชนิดของไวรัสด้วยวิธีที่เหมาะสม เช่นการนำหัวพันธุ์ ลำต้น และใบของ แกลดีโอลัสที่สงสัย หรือแสดงอาการผิดปกติ มาตรวจสอบและวินิจฉัยด้วยวิธีการเซรุ่มวิทยา (Serology) เช่น การใช้ชุดตรวจสอบศัตรูพืช (ELISA Kit) และชุดตรวจสอบของ Agdia

2.2.4 การตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชั้นละเอียด สามารถทำได้โดยนำหัวพันธุ์ หรือวัสดุปลูกมาทำตามขั้นตอนดังนี้

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

1. นำตัวอย่างหัวพันธุ์ หรือวัสดุปลูกประมาณ 300 กรัม นำไปหั่นเป็นชิ้นๆ หรือป่น และนำมาใส่ในภาชนะพลาสติกเทน้ำลงไปปริมาณที่เท่ากัน ทิ้งไว้ประมาณ 30 วินาที เพื่อให้หนอนกัน แล้วเทน้ำลงในตะแกรงขนาด 60 mesh (ความยาว 1 นิ้วมี 60 ช่อง) โดยมีภาชนะรองรับ เศษพืช เศษไม้ จะติดอยู่บนตะแกรง

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

3. นำน้ำที่ผ่านตะแกรงขนาด 200 mesh เทลงในตะแกรงขนาด 325 mesh โดยไม่ต้องมีภาชนะรองรับ เนื่องจากไส้เดือนฝอยเกือบทุกชนิดจะติดอยู่บนตะแกรงนี้ ใช้ฝอยน้ำฉีดเบาๆให้ทั่วตะแกรงเพื่อให้ตะกอนหลุดลงมา หลังจากนั้นเก็บน้ำจากตะแกรงนี้ไว้เพื่อกรองต่อไป

4. นำน้ำที่กรองจากตะแกรงขนาด 325 mesh เทลงบนตะแกรงลวดที่มีกระดาษกรองวางอยู่ด้านบน (ใช้กระดาษกรองไส้เดือนฝอย หรือกระดาษเช็ดหน้า 2 ชั้น) แล้วนำตะแกรงลวดวางบนกรวยที่มีท่ออย่างสวมไว้ ในกรวยบรรจุน้ำปลายท่ออย่างมีคัลิปหนีบสายอย่างกันน้ำรั่ว ทิ้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยจะว่ายน้ำผ่านกระดาษกรองมาอยู่ที่ปลายก้านกรวย

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

วิธีพ่นหมอก (mist chamber) (นุชนารถ และวานิช, 2551) เป็นวิธีแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากพืชด้วยการพ่นน้ำเป็นฝอยลงบนรากพืช ความชื้นของละอองน้ำทำให้ไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกจากรากพืชลงสู่ปลายกรวย วิธีพ่นหมอก มีขั้นตอนดังต่อไปนี้ ทำการเตรียมตัวอย่างหัวพันธุ์แกลดิโอลัสโดยการตัดรากกลีบหัว และย่อยให้เป็นชิ้นเล็กๆ นำไปใส่ในถุงผ้ากรองชนิดเนื้อผ้าละเอียด น้ำหนักรากประมาณ 10 กรัม ต่อ 1 ตัวอย่าง ต่อ 1 ถุง ไปใส่กรวยแยก ที่เตรียมไว้ นำกรวยแก้วต่อสายยางที่ก้านกรวยและใช้คัลิปหนีบสายยาง เทน้ำสะอาดใส่ลงไปในกรวย นำไปตั้งวางในเครื่อง mist chamber จากนั้นนำตัวอย่างรากที่อยู่ในถุงผ้าวางบนตะแกรงลวดที่อยู่บนกรวยพลาสติก นำไปซ้อนบนกรวยแก้ว เปิดเครื่อง mist chamber ปล่อยน้ำตามท่อสายยางผ่านหัวพ่นฝอย ที่ติดตั้งไว้ด้านบนของกรวย เปิดเครื่อง mist chamber ตลอด 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นไข่น้ำจากปลายสายยางกรวยแก้ว ใส่ภาชนะแก้วใสหรือปิកเกอร์ ในปริมาตรน้ำ 50 มิลลิลิตร นำไปตรวจวินิจฉัยและจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และแบบ compound ในห้องปฏิบัติการ โดยเทียบจากคู่มือการจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอย ทั้งที่มีรายงานในประเทศไทย และต่างประเทศ

วิธีการใช้คลื่นเสียง (Ultrasonic) เป็นการแยกไส้เดือนฝอยให้ออกจากรากและหัวพันธุ์แกลดิโอลัส โดยใช้คลื่นความถี่เหนือเสียง ชนิด Ultrasonic ที่มีความถี่อย่างน้อย 50 กิโลเฮิรตซ์ (kHz.) เป็นตัวผลักดันให้ไส้เดือนฝอยที่อยู่ในรากและหัวพันธุ์เคลื่อนที่ออกมาโดยมีน้ำเป็นตัวกลางส่งคลื่นความถี่สู่รากและหัวพันธุ์ มีผลทำให้โมเลกุลของของเหลวเกิดการบีบอัดและคลายตัวเป็นจังหวะ ส่งผลให้เกิดฟองอากาศขนาดเล็กๆ จำนวนมากที่มีพลังแฝง ซึ่งสามารถเข้าซอกซอนในระบบราก และหัวพันธุ์ รวมทั้งรบกวนหรือขับไล่ให้ไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกมาสู่ น้ำ หลังจากนั้นนำน้ำที่ได้จากการทำ Ultrasonic ปริมาตรน้ำ 50 มิลลิลิตร นำไปตรวจวินิจฉัยชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และแบบ compound ในห้องปฏิบัติการ โดยเทียบจากคู่มือการจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอย ทั้งที่มีรายงานในประเทศไทย และต่างประเทศ

3. ปลุกเพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้นในสถานกักพืช

ทำการปลูกกลาดิโอไลด์เพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้น และใบโดยนำหัวพันธุ์กลาดิโอไลด์ไปปลูกในดินอบฆ่าเชื้อ และเก็บรักษาไว้ในสถานกักพืช ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช เมื่อต้นพืชออกใบจริง 1-2 ใบ จึงเริ่มตรวจวินิจฉัย และสังเกตลักษณะอาการ นำต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ หรือน่าสงสัย ไปตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ตามขั้นตอนข้อที่ 2

4. ติดตาม ตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้หัวพันธุ์กลาดิโอไลด์นำเข้า

ทำการติดตาม ตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้หัวพันธุ์กลาดิโอไลด์นำเข้าในเขตพื้นที่ภาคกลาง จำนวน 7 แปลง ได้แก่ จังหวัดนนทบุรี 4 แปลง และจังหวัดสุพรรณบุรี 3 แปลง และในเขตพื้นที่ภาคเหนือ จำนวน 7 แปลง ได้แก่ จังหวัดเชียงราย 5 แปลง และจังหวัดตาก 2 แปลง โดยทำการเก็บตัวอย่างส่วนต่างๆ ของกลาดิโอไลด์ เช่น ใบ ลำต้น ราก และหัวพันธุ์ที่พบลักษณะอาการผิดปกติ หรือน่าสงสัย ตลอดจนสุ่มเก็บตัวอย่างดิน และนำตัวอย่างที่ได้ไปตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ตามขั้นตอนข้อที่ 2

5. จัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบ และสรุปผลการศึกษาคำแนะนำการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

- เวลาและสถานที่
- ระยะเวลา (เริ่มต้น-สิ้นสุด) ตุลาคม 2555-กันยายน 2556 (1 ปี)
- สถานที่ทำการทดลอง

1. ห้องปฏิบัติการ และสถานกักพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
2. ด่านตรวจพืชฯ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
3. แหล่งปลูกกลาดิโอไลด์ที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

8.1 สืบค้นรายชื่อและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศ และต่างประเทศ

ผลการสืบค้นข้อมูลกลาดิโอไลด์ จากเอกสารทางวิชาการ วารสาร การประชุมสัมมนา ทั้งในและต่างประเทศ รวมทั้งข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์ เว็บไซต์ต่างๆ ได้ข้อมูลดังต่อไปนี้ กลาดิโอไลด์ มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Gladiolus* spp.) ชื่อของ *Gladiolus* มาจากคำว่า *Gladius* ในภาษากรีกแปลว่า ดาบ กลาดิโอไลด์มีมากกว่า 150 ชนิด มีทั้งกลิ่นหอมและไม่กลิ่น ปัจจุบันมีพันธุ์ที่ปลูกเป็นการค้าเกือบ 3,000 พันธุ์ เช่น มีสีมากมายหลายหลากสีด้วยกัน และในแต่ละสีมีพันธุ์ต่างๆ หลายพันธุ์ กลาดิโอไลด์เป็นพืชหัว (corm) คือส่วนโคนของลำต้นที่งอกออกใต้ดิน สำหรับสะสมอาหาร มีลักษณะกลมแบน หัวจะถูกห่อหุ้มด้วยโคนใบแห้ง 4-5 ใบ เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำ เมื่อแกะใบออกจะเห็นตา 1 ตา อยู่โคนใบแต่ละใบ ตาบนจะใหญ่ที่สุดและเจริญก่อน ปัจจุบันกลาดิโอไลด์ มีอนุกรมวิธาน ดังนี้ Phylum Spermatophyta, Subphylum Angiospermae, Class Monocotyledonae, Order Liliales และอยู่ใน Family Iridaceae กลาดิโอไลด์ มีแหล่งกำเนิดอยู่แถวแอฟริกาเขตร้อน เอเชียตะวันตก และประเทศแถบเมดิเตอร์เรเนียน นิยมปลูกเป็นไม้ตัดดอกและไม้กระถางกันอย่างกว้างขวางทั่วโลก เจริญเติบโตได้ดี ในเขตกึ่งร้อนและเขตร้อน ประเทศที่ปลูกมาก ได้แก่ ประเทศเนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา สาธารณรัฐประชาชนจีน ญี่ปุ่น เป็นต้น และจากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชของกลาดิโอไลด์ พบว่ากลาดิโอไลด์มีศัตรูพืชรวมทั้งสิ้น

172 ชนิด จัดเป็นแมลง 31 ชนิด ไร 6 ชนิด วัชพืช 56 ชนิด เชื้อรา 36 ชนิด แบคทีเรีย 7 ชนิด ไวรัส 21 ชนิด และไส้เดือนฝอย 15 ชนิด เป็นศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศไทย 93 ชนิด เป็นศัตรูพืชที่ชุกกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืชพ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) และ (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 จำนวน 17 ชนิด และเป็นศัตรูพืชที่เฝ้าระวัง (ดังตารางผนวกที่ 1)

8.2 การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชั้นละเอียดกับหัวพันธุ์เกลดิโอลัสนำเข้าในห้องปฏิบัติการ

8.2.1 การตรวจวินิจฉัยด้วยตาเปล่า และภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

จากการตรวจวินิจฉัยหัวพันธุ์ที่นำเข้าจากประเทศเนเธอร์แลนด์ในเบื้องต้น โดยการสังเกตด้วยตาเปล่า และตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ หรือกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo ตรวจพบอาการหัวเน่า เป็นแผล จุด และมีเส้นใยของเชื้อราปกคลุมบางหัวพันธุ์ ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลง และไรศัตรูพืช หรือการปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืช

8.2.2 การสุ่มตัวอย่างและการตรวจศัตรูพืชชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

จากการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์เกลดิโอลัสนำเข้าจากประเทศเนเธอร์แลนด์ ณ ด่านตรวจพืชท่าเรือ กรุงเทพฯ และด่านตรวจพืชลาดกระบัง จำนวนทั้งหมด 5 ตัวอย่าง แล้วตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช พบศัตรูพืช 3 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Aspergillus niger*, *Cladosporium* sp. และเชื้อรา *Fusarium oxysporum* และจากการนำหัวพันธุ์เกลดิโอลัสไปปลูกสังเกตอาการ ในสถานกักกันพืช ประมาณ 15 วัน ตรวจพบอาการใบเหลือง ต้นเหี่ยว และหัวเน่า เนื่องจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ศัตรูพืชที่ตรวจพบดังกล่าวไม่ใช่ศัตรูกักกัน เนื่องจากเป็นศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศไทย

8.3 การติดตาม ตรวจศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้หัวพันธุ์เกลดิโอลัสนำเข้า

การติดตาม ตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้หัวพันธุ์เกลดิโอลัสนำเข้าในแหล่งปลูกดังนี้ เขตพื้นที่ภาคกลาง (จังหวัดนนทบุรี และจังหวัดสุพรรณบุรี) และภาคเหนือ (จังหวัดเชียงราย และจังหวัดตาก) จำนวนทั้งสิ้น 14 แปลง ตรวจพบศัตรูพืช 9 ชนิด (ดังตารางผนวกที่ 2) ศัตรูพืชที่ตรวจพบดังกล่าวไม่ใช่ศัตรูกักกัน เนื่องจากเป็นศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศไทย

8.4 จัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบและสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

รายชื่อศัตรูพืชของเกลดิโอลัสที่ตรวจวินิจฉัยภายหลังการนำเข้า ทางด่านตรวจพืชฯ นั้น ประกอบด้วยศัตรูพืช 3 ชนิด จัดเป็นเชื้อรา 3 ชนิด ส่วนรายชื่อศัตรูพืชภายหลังการติดตาม ตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้หัวพันธุ์เกลดิโอลัสนำเข้า ประกอบไปด้วย ศัตรูพืช 9 ชนิด จัดเป็นแมลง 1 ชนิด ไร 1 ชนิด เชื้อรา 4 ชนิด แบคทีเรีย 1 ชนิด ไวรัส 1 ชนิด และไส้เดือนฝอย 1 ชนิด ศัตรูพืชที่ตรวจพบดังกล่าวไม่ใช่ศัตรูกักกัน เนื่องจากเป็นศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศไทย แต่อย่างไรก็ตามยังมีความจำเป็นต้องตรวจวินิจฉัย ณ จุดนำเข้า เช่น ด่านตรวจพืช ต่อไป รวมทั้งมีการติดตาม ตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้า ในทุกๆ แหล่งมีการผลิตและขยายหัวพันธุ์เกลดิโอลัส เพื่อป้องกันมิให้ศัตรูพืชชนิดที่ร้ายแรง ไม่มีรายงานในประเทศไทยและเป็นศัตรูพืชกักกัน เช่น *Thrips simplex*, *Petrobia latens*, *Senecio vulgaris*, *Phytophthora cryptogea*,

Tomato black ring virus, Tulip breaking virus, *Ditylenchus dipsaci*, *Globodera rostochiensis* และ *Meloidogyne chitwoodi* ติดมากับหัวพันธุ์แกลดีโอลัสนำเข้า ซึ่งอาจจะมาแพร่ระบาด และทำความเสียหายต่อการผลิตแกลดีโอลัสในประเทศไทยได้ ซึ่งจำเป็นต้องใช้มาตรการทางกฎหมายตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 มาควบคุมกำกับดูแลเพื่อลดความเสี่ยงศัตรูพืชซึ่งอาจจะติดเข้ามาในประเทศไทยได้

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืช พบว่าแกลดีโอลัสมีศัตรูพืชรวมทั้งสิ้น 172 ชนิด จัดเป็นแมลง 31 ชนิด ไร 6 ชนิด วัชพืช 56 ชนิด เชื้อรา 36 ชนิด แบคทีเรีย 7 ชนิด ไวรัส 21 ชนิด และไส้เดือนฝอย 15 ชนิด เป็นศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศไทย 93 ชนิด เป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) และ (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 17 ชนิด

2. จากการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์แกลดีโอลัสนำเข้าจากประเทศเนเธอร์แลนด์ ณ ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ และด่านตรวจพืชลาดกระบัง 5 ตัวอย่าง แล้วตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ พบศัตรูพืช 3 ชนิด

3. จากการติดตาม ตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้หัวพันธุ์แกลดีโอลัสนำเข้าในพื้นที่ภาคกลาง และภาคเหนือ จำนวน 14 แปลง พบศัตรูพืช 9 ชนิด

4. มาตรการในการควบคุมกำกับดูแลเพื่อลดความเสี่ยงศัตรูพืชอันเนื่องมาจากศัตรูพืชชนิดที่ร้ายแรงซึ่งอาจติดมากับหัวพันธุ์แกลดีโอลัสที่นำเข้ามาในราชอาณาจักรและอาจจะมาแพร่ระบาดทำความเสียหายต่อการผลิตแกลดีโอลัส ในประเทศไทยให้ใช้มาตรการทางกฎหมายตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถนำข้อมูลเบื้องต้นนี้มาใช้สร้างฐานข้อมูลศัตรูพืชจากต่างประเทศ และจัดทำคู่มือการวินิจฉัยศัตรูพืชเบื้องต้น รวมทั้งเตรียมความพร้อมในการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช การติดตามเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน ณ จุดนำเข้าอย่างต่อเนื่องเป็นภารกิจสำคัญด้านกักกันพืชและอารักขาพืชเพื่อป้องกันศัตรูพืชแปลกใหม่รุกรานเข้ามาในประเทศไทย

11. คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณข้าราชการ พนักงานราชการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ และด่านตรวจพืชลาดกระบัง สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ที่ให้ความร่วมมือในการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์แกลดีโอลัส เพื่อตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช เจ้าหน้าที่ของศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สถาบันพืชสวน ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในด้านการเก็บตัวอย่าง และเอื้ออำนวยในเรื่องสถานที่

12. เอกสารอ้างอิง

- นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2546. ไล่เดือนฝอยศัตรูพืช. กลุ่มงานไล่เดือนฝอย. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 39 หน้า.
- นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และ วาณิช คำพานิช. 2551. การพัฒนาเครื่องมือและเทคนิคการแยกไล่เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้าและส่งออกรายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มกรมวิชาการเกษตร, 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. 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 รายชื่อศัตรูพืชกักกันของเมล็ดโอลีสที่เฝ้าระวัง

ศัตรูพืชกักกัน	ประเทศ
1. <i>Thrips simplex</i>	ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา สาธารณรัฐประชาชนจีน ออสเตรเลีย
2. <i>Petrobia latens</i>	เกาหลีใต้ เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา สาธารณรัฐประชาชนจีน ออสเตรเลีย
3. <i>Rhizoglyphus setosus</i>	สาธารณรัฐประชาชนจีน
4. <i>Senecio vulgaris</i>	จีน ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา สาธารณรัฐประชาชนจีน ออสเตรเลีย
5. <i>Phytophthora cryptogea</i>	เกาหลีใต้ ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย สาธารณรัฐประชาชนจีน
6. Arabis mosaic virus	ญี่ปุ่น
7. Tobacco rattle virus	ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย
8. Tobacco streak virus	ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา สาธารณรัฐประชาชนจีน ออสเตรเลีย
9. Tomato black ring virus	ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ สาธารณรัฐประชาชนจีน
10. Tomato ringspot virus	ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย
11. Tulip breaking virus	ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย
12. <i>Ditylenchus destructor</i>	เนเธอร์แลนด์ ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ สหรัฐอเมริกา สาธารณรัฐประชาชนจีน ออสเตรเลีย
13. <i>Ditylenchus dipsaci</i>	เนเธอร์แลนด์ ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ สหรัฐอเมริกา สาธารณรัฐประชาชนจีน ออสเตรเลีย
14. <i>Globodera pallida</i>	เนเธอร์แลนด์ ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย
15. <i>Globodera rostochiensis</i>	เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา
16. <i>Meloidogyne chitwoodi</i>	เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา

ศัตรูพืชกักกัน	ประเทศ
17. <i>Xiphinema diversicaudatum</i>	เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา

ตารางผนวกที่ 2 รายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบภายหลังการติดตามตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้หัวพันธุ์
กลัดดีโอลีสนำเข้า ระหว่างตุลาคม 2555-กันยายน 2556

แหล่งปลูกที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้า	แปลง	ชนิดศัตรูพืช
1. จังหวัดนนทบุรี	4	<i>Tetranychus kanzawai</i> , <i>Curvularia eragrostidis</i> , <i>Fusarium oxysporum</i>
2. จังหวัดสุพรรณบุรี	3	<i>Myzus persicae</i> , <i>Curvularia lunata</i> , <i>Curvularia eragrostidis</i> , <i>Streptomyces</i> sp., <i>Burkholderia gladioli</i> pv. <i>gladioli</i>
3. จังหวัดเชียงราย	5	<i>Tetranychus kanzawai</i> , <i>Curvularia eragrostidis</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , Bean yellow mosaic virus, <i>Helicotylenchus pseudorobustus</i>
4. จังหวัดตาก	2	<i>Tetranychus kanzawai</i> , <i>Curvularia lunata</i> , <i>Burkholderia gladioli</i> pv. <i>gladioli</i>