

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

-
1. แผนงานวิจัย : มาตรการสุขอนามัยพืช
2. โครงการวิจัย : มาตรการสุขอนามัยพืชในการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร
กิจกรรม : การประเมินมาตรการสุขอนามัยพืชในการนำเข้าสินค้าเกษตร
กิจกรรมย่อย (ถ้ามี) : -
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การประเมินมาตรการสุขอนามัยพืชในการนำเข้าเมล็ด ผัก
และซังข้าวโพด จากสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว และเมล็ด
พันธุ์และเมล็ดข้าวโพดจากสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมา
- ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Study on Efficacy of Phytosanitary Measure for
the Importation of Corn Grains, Ears and Cobs from of the
Lao People's Democratic Republic and Corn Seed and
Corn Grain from the Republic of the Union of Myanmar
4. คณะผู้ดำเนินงาน
- หัวหน้าการทดลอง : ณีฐพร อุทัยมงคล
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
- ผู้ร่วมงาน : พรทิพย์ แยมสุวรรณ^{1/}
วาริรัตน์ สมประทุม^{1/}
ปรียพรรณ พงศาพิชณ์^{1/}
ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล^{2/}
กรรณิการ์ เฟ็งคัม^{3/}
ฉลีย์ว ผาบุญ^{4/}
เฉลิมพล จงรักษ์^{5/}
- ^{1/} กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
^{2/} กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
^{3/} กลุ่มวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว สำนักวิจัยและพัฒนา
วิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
^{4/} ด้านตรวจพืชทำสี สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร
^{5/} ด้านตรวจพืชแม่สอด สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

5. บทคัดย่อ :

The results showed the efficacy of phytosanitary Measures for the Importation of corns, ears and cobs from the Lao People's Democratic Republic was effective in pest control. The validity of the control measures are phytosanitary certificate and additional declarations. No specified quarantine pests or other quarantine pests have been found. However, all the live insects have been identified and presented in the Kingdom of Thailand, that should be monitored for pest control. No phytosanitary evaluation results of Myamma seeds and corn kernels can not be processed because there is no grain imported into the country.

ผลการศึกษาระเบียบพิธีการศุลกากรของมาตรการสุขอนามัยพืชในการนำเข้าเมล็ด ฝัก และซังข้าวโพดจากสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาวที่กำหนดมีประสิทธิภาพในการควบคุมศัตรูพืช ความถูกต้องของมาตรการทางกฎระเบียบ ใบรับรองสุขอนามัยพืชและการระบุข้อความรับรองพิเศษเพิ่มเติม และผลการตรวจที่ไม่พบศัตรูพืชกักกันที่กำหนด หรือศัตรูพืชกักกันชนิดอื่น แต่พบแมลงที่มีชีวิตหลายชนิดซึ่งมีรายงานในราชอาณาจักรไทย จึงควรติดตามเพื่อควบคุมศัตรูพืช สำหรับผลการประเมินมาตรการสุขอนามัยพืชในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์และเมล็ดข้าวโพดจากสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์ไม่สามารถดำเนินการได้เนื่องจากไม่มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์และเมล็ดข้าวโพดมาในประเทศ

6. คำนำ :

กรมวิชาการเกษตรได้มีการกำหนดมาตรการนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศที่ถูกกำหนดให้เป็นสิ่งต้องห้ามหลายชนิด บนพื้นฐานการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช โดยมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชจะแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของศัตรูพืชกักกัน และระบบการบริหารจัดการศัตรูพืชของแต่ละประเทศ แต่เนื่องจากมีข้อมูลพบว่ามีมีการนำเข้าจริง บางครั้งพบศัตรูพืชชนิดอื่นติดมากับสินค้าด้วย เช่น การตรวจพบไข่ของด้วงฟูลเลอร์โรส (*Naupactus godmani*) ติดมากับผลส้มนำเข้าจากประเทศออสเตรเลียที่ได้กำหนดมาตรการการกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความเย็น (วัลย์กร และคณะ, 2556) ทำให้ต้องมีการทบทวนเงื่อนไขโดยกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชเพิ่มเติมให้ประเทศผู้ส่งออกปฏิบัติ

ผลการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis) กับเมล็ด ซังและฝักข้าวโพดจากสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาวที่ถูกกำหนดให้เป็นสิ่งต้องห้ามตามที่กำหนดไว้ในประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 ทำให้มีการออกประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าข้าวโพดจากสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว พ.ศ. 2556 ที่อนุญาตให้เมล็ด ซังและฝักข้าวโพด เข้ามาในราชอาณาจักรไทยได้ โดยมีแมลง *Trogoderma granarium* เป็นศัตรูพืชกักกัน (Quarantine pest) ที่ต้องมีมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช อย่างไรก็ตามการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชขณะนั้นมีเอกสารวิชาการหรือข้อมูลของศัตรูพืชในสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาวน้อยมากหากแต่เป็นความจำเป็นที่ต้องมีการนำเข้าส่วนของ

ข้าวโพดดังกล่าวมาเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมในประเทศตลอดจนเป็นความตกลงในด้านการค้าของกลุ่มประเทศอาเซียนจึงได้อนุญาตให้มีการนำเข้า

สำหรับเมล็ดพันธุ์และเมล็ดจากประเทศเมียนมาได้ถูกดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชและรับการอนุญาตให้นำเข้าเมล็ดพันธุ์และเมล็ดข้าวโพดมายังประเทศไทยได้ โดยมีโดยมีแมลง *Trogoderma granarium* และ *Acanthoscelides argillaceus* รา *Sphacelotheca reiliana* และ *Pyrenophora teres* แบคทีเรีย *Pantoea agglomerans* วัชพืช *Striga angustifolia* เป็นศัตรูพืชกักกัน (Quarantine pest) ที่ต้องมีมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช แต่เมล็ดข้าวโพดไม่มีข้อกำหนดพิเศษ

ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องมีการศึกษาการประเมินประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืชของพืชนำเข้าที่ได้ อนุญาตให้นำเข้าแล้วจากประเทศที่มีศัตรูพืชกักกันร้ายแรง เพื่อให้ทราบว่ามีมาตรการสุขอนามัยพืชที่กำหนดไว้ นั้นสามารถปฏิบัติได้จริงและมีประสิทธิภาพในการป้องกันศัตรูพืชของประเทศไทยได้ หรือควรทบทวนประสิทธิภาพของมาตรการสุขอนามัยพืชให้สอดคล้องกับสถานการณ์ปัจจุบัน โดยเฉพาะสิ่งต้องห้ามที่มีการนำเข้าปริมาณมาก และมาจากแหล่งที่มีศัตรูพืชกักกันระบาด

7. วิธีดำเนินการ :

- อุปกรณ์

1. วัสดุการเกษตร เช่น เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน เมล็ดข้าวโพด ฝัก และซังข้าวโพด จากประเทศลาว เมล็ดพันธุ์และเมล็ดจากประเทศเมียนมา
2. คอมพิวเตอร์และวัสดุคอมพิวเตอร์ เช่น แผ่นบันทึกข้อมูล เครื่องสำรองไฟ และหมึกพิมพ์
3. วัสดุและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร เช่น แผ่นสไลด์แก้วและแผ่นแก้ว ปิดสไลด์ กล้องเก็บตัวอย่างแมลง/ เก็บสไลด์ถาวรของศัตรูพืช เป็นต้น
4. สารเคมี เช่น สารเคมีสำหรับดองตัวอย่างพืชและศัตรูพืช สารเคมีป้องกันเชื้อรา สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและแยกเชื้อ เป็นต้น
5. ตำรา หนังสือ และเอกสารวิชาการ ตลอดจนเอกสารที่เกี่ยวข้องเพิ่มเติม
6. ฐานข้อมูลออนไลน์ เช่น Crop Protection Compendium

- วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 การตรวจสอบเอกสาร/ ฉลาก บรรจุภัณฑ์ และการขนส่ง/ เก็บรวบรวมข้อมูลสินค้าเกษตรนำเข้า ณ จุดนำเข้า ของเมล็ด ฝัก และซังข้าวโพด จากประเทศลาว เมล็ดพันธุ์และเมล็ดข้าวโพดจากประเทศเมียนมา

ตรวจสอบเอกสารที่มาพร้อมกับสินค้าเกษตรที่นำเข้าจากทั้ง 2 ประเทศ ดังนี้ (1) ใบอนุญาตนำเข้า (2) ใบรับรองสุขอนามัยพืชที่มีการระบุข้อความตามเงื่อนไขการนำเข้า เช่น ชนิดข้าวโพด สายพันธุ์ ปริมาณ/ จำนวนวันที่ออกใบรับรองสุขอนามัยพืช แหล่งผลิต/ ประเทศต้นทาง การกำจัดศัตรูพืช และข้อความรับรองพิเศษ เช่น รายชื่อศัตรูพืชกักกันที่เกี่ยวข้อง และมาตรการสุขอนามัยพืชที่ประเทศผู้ส่งออกดำเนินการกับพืชเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกัน เป็นต้น (3) เอกสารอื่น ๆ เช่น หนังสือรับรองว่าเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวมิใช่พืชตัดต่อสารพันธุกรรม

(4) ตรวจสอบบรรจุภัณฑ์เป็นไปตามข้อกำหนดหรือไม่ เช่น วัสดุที่ใช้ทำเป็นบรรจุภัณฑ์ ลักษณะบรรจุภัณฑ์ปิดมิดชิด ไม่มีการปะปนของ ดิน ทราาย และชิ้นส่วนของพืช เช่น ใบ ก้าน เศษซากพืช เป็นต้น (5) ตรวจสอบฉลากต้องแสดงข้อมูลที่จำเป็นบนบรรจุภัณฑ์ตามที่กำหนดในเงื่อนไข เช่น ชื่อพืช และสายพันธุ์ เป็นต้น (6) เส้นทางและวิธีการขนส่ง (ทางบก ทางน้ำ ทางอากาศ) และจุดที่สินค้าเข้า ชื่อด่านตรวจพืชที่นำเข้า วันที่นำเข้า เป็นต้น

การบันทึกข้อมูล

- บันทึก ปริมาณ วิธีการขนส่ง ด่านตรวจพืชที่นำเข้า วันที่นำเข้า ข้อมูลที่แสดงบนบรรจุภัณฑ์และฉลาก มาตรการสุขอนามัยพืชที่ประเทศผู้ส่งออกดำเนินการกับเมล็ด ฝัก และซังข้าวโพดจากประเทศลาว เมล็ดพันธุ์และเมล็ดจากประเทศเมียนมา

- บันทึกชนิดของเอกสารที่มาพร้อมกับเมล็ด ฝัก และซังข้าวโพดที่นำเข้าจากประเทศลาว เมล็ดพันธุ์และเมล็ดจากประเทศเมียนมา เช่น ใบรับรองสุขอนามัยพืช ใบอนุญาตนำเข้า การกำจัดศัตรูพืช เป็นต้น

ขั้นตอนที่ 2 การสุ่มเก็บตัวอย่าง

2.1 สุ่มตัวอย่างเมล็ด/ เมล็ดพันธุ์ตามมาตรฐานของ International Seed Testing Association (ISTA) (ISTA, 2016) โดยมีหลักการสุ่ม ดังนี้

2.1.1. การสุ่มตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในกระสอบ หรือภาชนะอื่น ๆ ที่มีขนาดบรรจุของภาชนะแต่ละใบเท่า ๆ กัน โดยมีน้ำหนักของเมล็ด/ เมล็ดพันธุ์ จำนวน 15 กิโลกรัม - 100 กิโลกรัม ดังนี้

- เมล็ด จำนวน 1-4 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 3 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ
- เมล็ด จำนวน 5-8 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 2 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ
- เมล็ด จำนวน 9-15 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 1 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ
- เมล็ด จำนวน 16-30 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 15 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด
- เมล็ด จำนวน 31-59 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 20 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด
- เมล็ด จำนวนมากกว่า 60 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 30 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

การสุ่มตัวอย่างเมล็ด/ เมล็ดพันธุ์ที่บรรจุอยู่ในภาชนะขนาดเล็ก เช่น กระป๋อง กล่องกระดาษ หรือซองกระดาษ ให้นำน้ำหนักในภาชนะขนาดเล็กมารวมกันเป็นกอง กองละไม่เกิน 100 กิโลกรัม ซึ่งเทียบเท่ากับ 1 ภาชนะบรรจุ เช่น เมล็ดบรรจุกระป๋องละ 5 กิโลกรัม จำนวน 20 กระป๋อง นับเป็น 1 ภาชนะบรรจุ เป็นต้น การสุ่มตัวอย่างใช้หลักการเดียวกับการสุ่มตัวอย่างเมล็ดที่บรรจุในกระสอบ

2.1.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ด/ เมล็ดพันธุ์จากกองใหญ่ที่ไม่อยู่ในภาชนะบรรจุ หรือระหว่างการไหลของเมล็ด โดยมีน้ำหนักของเมล็ด จำนวนมากกว่า 100 กิโลกรัม

- เมล็ดน้ำหนักไม่เกิน 500 กิโลกรัม สุ่มอย่างน้อย 5 ตัวอย่างขั้นต้น
- เมล็ดน้ำหนัก 501 - 3,000 กิโลกรัม สุ่ม 1 ตัวอย่างขั้นต้น จากเมล็ดทุก 300 กิโลกรัม แต่ต้องไม่น้อยกว่า 5 ตัวอย่างขั้นต้น

- เมล็ด น้ำหนัก 3,001-20,000 กิโลกรัม สุ่ม 1 ตัวอย่างขั้นต่ำ จากเมล็ดทุก 500 กิโลกรัม แต่ต้องไม่น้อยกว่า 10 ตัวอย่างขั้นต่ำ

- เมล็ด น้ำหนักมากกว่าหรือเท่ากับ 20,001 กิโลกรัม สุ่ม 1 ตัวอย่างขั้นต่ำ จากเมล็ดทุก 700 กิโลกรัม แต่ต้องไม่น้อยกว่า 40 ตัวอย่างขั้นต่ำ

2.1.3 การสุ่มตัวอย่างซัง หรือฝัก จะสุ่มตามวิธีการของ Whyte (2009) ดังนี้

- นำเข้าจำนวนน้อยกว่า 1,000 ซังหรือฝัก ให้สุ่มตัวอย่าง 450 ซังหรือฝักหรือทั้งหมด

- นำเข้าจำนวน 1,000 ซังหรือฝัก หรือมากกว่า สุ่มตัวอย่าง 600 ซังหรือฝัก

โดยสุ่มซังหรือฝัก เฉพาะ shipment ที่ไม่ถูกส่งกลับหรือทำลาย

การสุ่มเก็บตัวอย่าง ดังนี้ 1) เมล็ด ซัง หรือฝักข้าวโพด ดำเนินการ ณ จุดนำเข้าคือด่านตรวจพืชท่าลี่ จังหวัดเลย และด่านตรวจพืชขงู จังหวัดอุดรดิตถ์ หรือกลุ่มวิจัยการกักกันพืช 2) เมล็ดพันธุ์ และเมล็ด ดำเนินการ ณ จุดนำเข้าคือ ด่านตรวจพืชเชียงแสน จังหวัดเชียงราย ด่านตรวจพืชแม่สอด จังหวัดตาก เพื่อตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ เมล็ด ซัง หรือ ฝัก โดยนำตัวอย่างที่สุ่มเก็บมาตรวจสอบศัตรูพืชหรือศัตรูพืชกักกัน หรือสิ่งอื่นใดที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันหรือพาหะที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ เมล็ด ซัง หรือ ฝักได้

ขั้นตอนที่ 3 การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับเมล็ด หรือซัง หรือฝักข้าวโพดนำเข้าจากประเทศลาว เมล็ดพันธุ์และเมล็ดข้าวโพดจากประเทศเมียนมา

นำตัวอย่างข้าวโพดจาก 2 ประเทศ ที่สุ่มมาตรวจสอบศัตรูพืชหรือศัตรูพืชกักกัน หรือสิ่งอื่นใดที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันหรือพาหะที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ เมล็ด ซังหรือฝักข้าวโพด และนำไปตรวจวินิจฉัยและจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ เพื่อตรวจสอบและจำแนกชนิด แมลง ไร หอย รา แบคทีเรีย ไวรัส ไวรอยด์ ไข่เดือนฝอย และวัชพืช ดังนี้

3.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลง หรือเมล็ดวัชพืช

3.1.1 การตรวจแมลงศัตรูพืช โดยนำเมล็ดพันธุ์ เมล็ด ซังหรือฝักข้าวโพดที่สุ่มมาจะตรวจหาร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงด้วยสายตาและภายใต้

กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ เช่น ไข่ หนอน และตัวเต็มวัย เป็นต้น แล้วนำตัวอย่างใส่ในกล่องพลาสติกที่เจาะฝาแล้วปิดช่องด้วยตาข่าย เก็บกล่องไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14- 30 วัน แล้วนำมาตรวจหาแมลงศัตรูพืชอีกครั้งเมื่อครบ 14 วัน และ 30 วัน ทำบันทึกผล (Borrer, 1981) สำหรับซังหรือฝักให้ผ่าดูภายในเมล็ด

3.1.2 การตรวจเมล็ดวัชพืช โดยนำเมล็ดที่สุ่มตัวอย่างเทใส่ในภาดอลูมิเนียม เคลือบเมล็ดพันธุ์ ข้าวโพด เพื่อตรวจหาเมล็ดวัชพืชปนเปื้อนด้วยตาเปล่า แวนขยาย หรือภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สเตอริโอ ทำการคัดแยกเพื่อนำไปจัดจำแนกชนิดต่อไป บันทึกผล (Linda, 1993)

3.2 การตรวจวินิจฉัยเชื้อสาเหตุโรคพืชชั้นละเอียด

3.2.1 การตรวจสอบเชื้อรา โดยวิธี

(1) สังเกตด้วยตาเปล่าหรือใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเพื่อตรวจหาเส้นใย หรือส่วนขยายพันธุ์เช่น pycnidia หรือ sclerotia

(2) โดยการนำเมล็ด/ เมล็ดพันธุ์ไปใส่ในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 90 มิลลิลิตร

ในขวดชมพู นำไปเขย่าในเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที นาน 30 นาที เทน้ำใส่ส่วนบนใส่หลอดนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อให้ตกตะกอน นำตะกอนที่ได้ไปตรวจหาสปอร์ของเชื้อที่ติดเมล็ดภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและสูง

(3) Blotter method สุ่มตัวอย่างเมล็ด 400 เมล็ดต่อสายพันธุ์ หรือตามความเหมาะสม วางเมล็ดบนกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร 3 แผ่น ที่ชุ่มน้ำในงานอาหารเลี้ยงเชื้อ นำงานอาหารที่วางเมล็ดไปบ่มเชื้อ (incubate) ใต้แสง near ultraviolet (NUV) สลับกับความมืด 12/ 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน นำมาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราบนเมล็ดใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอและกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง

(4) Deep freeze Blotter method ดำเนินการเหมือนข้อ (3) แต่หลังจากวางเมล็ดข้าวโพดบนงานอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว ให้นำงานเลี้ยงเชื้อไปบ่มเชื้อที่ใต้แสง NUV สลับกับความมืด 12/ 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำงานอาหารเลี้ยงเชื้อออกมาวางใต้แสง NUV ต่อจนครบ 7 วัน จึงจะนำมาตรวจสอบหาเชื้อรา

3.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย โดยวิธีดังนี้

(1) การแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธีทำ Dilution plate ให้สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์/ เมล็ดข้าวโพดนำเข้าตามวิธีมาตรฐานของ ISTA นำเมล็ดมาแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองที่วางไว้ภายใต้กระแสลมในตู้เขี่ยเชื้อ นำเมล็ดพันธุ์ไปปั่นละเอียดด้วยเครื่องปั่นให้เป็นผง นำผงของเมล็ดใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ หรือบัฟเฟอร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้ววางบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นใช้ไปเปิดตูดสารละลายของเมล็ดที่เป็นผงเจือจางในหลอดที่มีสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร แล้วนำไปเจือจางลงในระดับความเข้มข้น 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} และ 10^{-5} ตามลำดับ ใช้ไปเปิดตูดสารละลายปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ของแต่ละความเข้มข้น หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) หรืออาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง เช่น อาหาร Nigrosin, CNS ใช้แท่งแก้วฆ่าเชื้อเกลี่ยให้ทั่วงานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บงานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน แล้วนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย แยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

(2) การแยกเชื้อจากต้นกล้าโดยเฉพาะเมล็ดข้าวโพดในดินที่นิ่งฆ่าเชื้อ เพาะ 30-50 เมล็ดต่อถาด จำนวน 4-8 ถาดต่อตัวอย่าง หรือตามความเหมาะสมในโรงเรือนปลูกพืชที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เมื่อต้นกล้าออกใบจริง 1-2 ใบ หรืออายุ 10-14 วัน ให้สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนพืช เช่น จุด หรือเหี่ยว หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมถุงต้นกล้า ให้ความชุ่มชื้นเป็นเวลา 3-5 วัน เปิดถุงคลุมออก สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้นพืช เก็บลักษณะอาการที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธีทำ Dilution plate หรือวิธี Tissue transplanting แยกเชื้อให้บริสุทธิ์ พิสูจน์เชื้อสาเหตุโรคพืชตามหลักการ Kotch's postulate โดยนำเชื้อที่คาดว่า

เป็นสาเหตุโรคไปแยกเชื้อให้บริสุทธิ์เพื่อจำแนกชนิดต่อไป โดยนำไปศึกษาการเกิดโรคบนพืชอาศัย (Pathogenicity test) เตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียที่มีความเข้มข้นประมาณ 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่น ปลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น หรือเนื้อใบของข้าวโพดหวานอายุ 2-3 สัปดาห์ คลุมด้วยถุงพลาสติกที่ฉีกพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจสอบลักษณะอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำไปหรือส่วนแสดงอาการเป็นโรคมานำไปแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่ และตรวจสอบคุณสมบัติอื่น ๆ เช่น ลักษณะและสีของโคโลนี รูปร่างของเซลล์แบคทีเรีย การทดสอบแกรม (Gram's reaction) ทดสอบปฏิกิริยา hypersensitivity บนใบยาสูบ (*Nicotiana tabacum* L.) ทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical characters) เช่น การใช้ยูเรีย การย่อยเจลาติน การย่อยแป้ง (Starch hydrolysis) การสร้างเอนไซม์ออกซิเดส การสร้างสารเรืองแสง (Fluorescent pigment production) บนอาหาร King's medium B เป็นต้น และ การตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของบริษัท Agdia โดยนำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ อ่านผลด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่จำเพาะ (ELISA reader) ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร (OD_{405}) และทำการบันทึกผล หรือใช้วิธี Polymerase chain reaction (PCR)

3.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัส โดยเฉพาะเมล็ดให้งอกแล้วสังเกตลักษณะอาการโรค จากนั้นนำไปพืชที่แสดงอาการผิดปกติไปจำแนกชนิดเชื้อไวรัสต่อไปโดยวิธี ดังนี้

(1) ปลูกสังเกตลักษณะอาการโรคบนต้นกล้า (Seedling symptom test) โดยเฉพาะเมล็ดในดินอบฆ่าเชื้อ ตัวอย่างละ 50-200 เมล็ด ในโรงปลูกพืชกันแมลง เมื่อต้นพืชออกใบจริง 1-2 ใบ ให้ตรวจสอบลักษณะอาการจากต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ หากสงสัยว่ามีสาเหตุจากเชื้อไวรัสจะนำไปอ่อนไปตรวจสอบด้วยวิธีการอื่นเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

(2) ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) เตรียมน้ำคั้นพืชสำหรับทดสอบโดยบดใบพืชที่แสดงอาการผิดปกติในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ โดยทาน้ำคั้นพืช (sap) ที่สงสัยบนพืชทดสอบ (Indexing plant) ที่เหมาะสม ซึ่งโรยผงคาร์โบรันดัม (carborundum) ขนาด 600 เมช เช่น *N. tabacum* cv. White Burley หรือบนข้าวโพดหวาน หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 5 นาที ล้างใบพืชและนำพืชทดสอบไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส สังเกตลักษณะอาการบนพืชทดสอบหลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 1-4 สัปดาห์ โดยพืชทดสอบจะแสดงอาการแผลเฉพาะแห่ง (local lesion) หรืออาการแบบกระจายทั่วลำต้น (systemic symptom)

(3) ตรวจสอบอนุภาคไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Electron microscopy)

(4) ตรวจสอบด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา (Serological techniques) เช่น การใช้วิธี Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) สามารถตรวจได้ ให้ผลรวดเร็ว แม่นอน และยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมาก วิธีการที่นำมาใช้เป็นแบบ Indirect ELISA

(5) การตรวจสอบโดยวิธี Polymerase chain reaction (PCR)

3.2.4 การตรวจสอบไล่เดือนฝอย ดังนี้

(1) แยกจากเมล็ดโดยตรง โดยแช่เมล็ดข้าวโพดข้ามคืนแล้วนำสารละลายมาตรวจสอบ

(2) โดยการเพาะเมล็ดและสังเกตดูอาการผิดปกติที่เกิดขึ้นกับพืชโดยตรง นำส่วนของพืชเป็นโรคที่ต้องการแยก เช่น ราก เมล็ด เป็นต้น มาฉีกเป็นชิ้น ๆ แล้วแช่ในน้ำทิ้งไว้อย่างน้อย 1 ชั่วโมง ไล่เดือนฝอยจะไชออกจากผลหรือชิ้นส่วนพืชนั้นออกมา ตรวจสอบดูใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ หรือสูงในการจำแนกชนิด

การบันทึกข้อมูล

บันทึกชนิดของศัตรูพืชกักกัน ศัตรูพืช หรืออื่น ๆ ที่ปนเปื้อนหรือติดมากับเมล็ดพันธุ์หรือเมล็ดหรือซัง หรือฝักข้าวโพดนำเข้าจาก 2 ประเทศ การมีชีวิตของศัตรูพืชที่พบ วัน/ เวลา/ สถานที่ และวิธีการที่ใช้ในการจำแนกชนิดศัตรูพืช

ขั้นตอนที่ 4 การประเมินประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืช

นำผลการดำเนินงานในขั้นตอนที่ 1 และ 3 ประกอบการประเมินประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืชที่บังคับใช้สำหรับการนำเข้าเมล็ด ซัง และฝักข้าวโพดจากประเทศลาว เมล็ดพันธุ์และเมล็ดจากประเทศเมียนมา หากผลการดำเนินงานในขั้นตอนที่ 1 พบว่าประเทศผู้ส่งออกได้ปฏิบัติตามมาตรการสุขอนามัยพืชตามที่กำหนด จึงจะนำผลการตรวจสอบศัตรูพืชในขั้นตอนที่ 3 ของเมล็ด ซัง ฝักข้าวโพดที่นำเข้าจากประเทศลาว เมล็ดพันธุ์และเมล็ดจากประเทศเมียนมา มาพิจารณาซึ่งมีหลักเกณฑ์ในการพิจารณา ดังนี้

การประเมินประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืชที่บังคับใช้สำหรับการนำเข้าเมล็ด ฝัก ซังข้าวโพดจากประเทศลาว

ผลการตรวจสอบศัตรูพืชกับเมล็ด ฝัก ซังข้าวโพดนำเข้าจากประเทศลาว	ผลการประเมินประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืช
1. ไม่พบศัตรูพืชกักกันที่มีชีวิต	มีประสิทธิภาพ
2. พบศัตรูพืชกักกัน (<i>Trogoderma granarium</i>) ที่มีชีวิต 1 ครั้ง ในกรณีที่เมล็ด ฝัก ซังข้าวโพดผ่านการกำจัดศัตรูพืชด้วยสารรมเมทิลโบรไมด์หรือสารรมฟอสฟีน	ไม่มีประสิทธิภาพควรมีการทบทวน
3. พบศัตรูพืชกักกันชนิดอื่น นอกเหนือจาก <i>T. granarium</i> ที่ไม่มีวิธีการกำจัด (ในเงื่อนไขการนำเข้าอนุญาตให้มีการกำจัดศัตรูพืชกักกันนอกเหนือจากที่ระบุในเงื่อนไขที่ประเทศไทยหากมีวิธีกำจัด)	
4. พบศัตรูพืชกักกันชนิดอื่นที่มีชีวิตนอกเหนือจาก <i>T. granarium</i> และมีวิธีการกำจัด (ต้องกำจัดก่อนอนุญาตให้นำเข้า โดยจำนวนครั้งที่พบมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 5 ของจำนวนครั้ง (shipment) ที่นำเข้า	

หมายเหตุ กรณีตรวจพบสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นที่ไม่เป็นศัตรูพืชกักกันหลายครั้ง ต้องบันทึกข้อมูลชนิดที่พบเพื่อวิเคราะห์ ความเสี่ยงศัตรูพืชและทบทวนมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าต่อไป

การประเมินประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืชที่บังคับใช้สำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์และเมล็ดจากประเทศ เมียนมา

ผลการตรวจสอบศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด จากประเทศเมียนมา	ผลการประเมินประสิทธิภาพ มาตรการสุขอนามัยพืช
1. ไม่พบศัตรูพืชกักกันที่มีชีวิต	มีประสิทธิภาพ
2. พบศัตรูพืชกักกันตามแนบท้ายประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าข้าวโพดจากสาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมา พ.ศ. 2556 ที่มีชีวิต 1 ครั้ง ในกรณีที่เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดผ่านการ กำจัดศัตรูพืชด้วยสารรมฟอสฟีน	ไม่มีประสิทธิภาพควรมีการทบทวน
3. พบศัตรูพืชกักกันชนิดอื่นนอกเหนือจากที่แนบท้ายในประกาศฯ ที่ ไม่มีวิธีการกำจัด (ในเงื่อนไขการนำเข้าอนุญาตให้มีการกำจัดศัตรูพืช กักกันนอกเหนือจากที่ระบุในเงื่อนไขที่ประเทศไทยหากมีวิธีการกำจัด)	
4. พบศัตรูพืชกักกันชนิดอื่นที่มีชีวิตนอกเหนือจากที่แนบท้ายใน ประกาศฯ และมีวิธีการกำจัด (ต้องกำจัดก่อนอนุญาตให้นำเข้า โดย จำนวนครั้งที่พบมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 5 ของจำนวนครั้ง (shipment) ที่นำเข้า	

หมายเหตุ กรณีตรวจพบสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นที่ไม่เป็นศัตรูพืชกักกันหลายครั้ง ต้องบันทึกข้อมูลชนิดที่พบเพื่อวิเคราะห์ ความเสี่ยงศัตรูพืชและทบทวนมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าต่อไป

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการดำเนินงานขั้นตอนที่ 1 และ 3 มาประเมินประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืชโดย ใช้หลักเกณฑ์ในขั้นตอนที่ 4

- เวลาและสถานที่

ระยะ เวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2558 - กันยายน 2560 (2 ปี)

สถานที่ 1) ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

- 2) ด้านตรวจพืชของสำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ได้แก่ ด้านตรวจพืชท่าลี่ จังหวัดเลย ด้านตรวจพืชภูคู้ จังหวัดอุดรธานี ด้านตรวจพืชแม่สอด จังหวัดตาก ด้านตรวจพืชเชียงแสน จังหวัดเชียงราย

8. ผลการทดลองและวิจารณ์ :

- ผลการประเมินมาตรการสุขอนามัยพืชที่กำหนดในการนำเข้าเมล็ด ผัก ชั่งข้าวโพดนำเข้าจากประเทศลาว

ขั้นตอนที่ 1

1. ผลการตรวจสอบเอกสาร/ ฉลาก บรรจุภัณฑ์ และการขนส่ง/ เก็บรวบรวมข้อมูลข้าวโพดนำเข้าจากประเทศลาว ณ จุดนำเข้า

จากการศึกษาเอกสารพบว่าระหว่างเดือนตุลาคม 2558 – มิถุนายน 2559 มีการนำเข้าเมล็ดข้าวโพดจากประเทศลาวจำนวน 7 ครั้ง ปริมาณรวม 5,700 ตัน (Table 1) จากด่านตรวจพืชท่าลี่ จังหวัดเลย ผลการตรวจสอบเอกสารใบรับรองสุขอนามัยพืช มีการแสดงข้อมูล ชนิดพืช ปริมาณที่นำเข้า การรับรองสุขอนามัยพืช ชื่อประเทศต้นทาง การกำจัดศัตรูพืช และข้อความพิเศษ ตรงตามที่กำหนดในเงื่อนไขการนำเข้า (Figure1) โดยข้อมูลแสดงหมายเลขใบรับรองสุขอนามัยพืช ชื่อวิทยาศาสตร์ของสินค้า น้ำหนักที่นำเข้า วันที่ออกใบรับรองสุขอนามัยพืช การปฏิบัติตามข้อกำหนดด้านสุขอนามัยพืชคือการรมด้วยสารรมฟอสฟีนในอัตรา 8 กรัมต่อลูกบาศก์เมตร ระยะเวลา 160 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และการระบุข้อความรับรองพิเศษ (additional declaration) ตามที่กำหนดคือ

“The consignments were produced and prepared for export in accordance with the conditions for import of (imported plant parts) from Lao PDR to Thailand. and these consignments were inspected and found free from *Trogoderma granarium*.”

ซึ่งพบว่าข้อความที่กำหนดไม่เป็นไปตามจุดประสงค์ที่ต้องการให้ระบุในประเด็นที่มีวงเล็บนั้นควรระบุส่วนของพืชที่ส่งออกมาในใบรับรองสุขอนามัยพืชว่าเป็น corn grain หรือ corn cob หรือ corn ear

ขั้นตอนที่ 2 การสุ่มเก็บตัวอย่าง

2.1 ผลการสุ่มตัวอย่าง เจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชท่าลี่ จังหวัดเลย ได้สุ่มตัวอย่างเมล็ดข้าวโพดที่นำเข้าตามมาตรฐานของ ISTA จำนวน 7 ครั้ง ได้ตัวอย่างรวม 7 ตัวอย่าง (Figure 2) และตรวจสอบศัตรูพืชในเบื้องต้นด้วยตาเปล่าสังเกตอาการผิดปกติ เมล็ดวัชพืช เมล็ดพืชอื่น เศษดิน ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและตรวจสอบหาเชื้อสาเหตุโรคพืชและศัตรูพืชชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการและในโรงเรือนปลูกพืช และสุ่มตัวอย่างชั่งข้าวโพด เจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชท่าลี่ จังหวัดเลยที่นำเข้าจำนวน 1 ครั้ง ได้ 1 ตัวอย่าง ตามวิธีการของ Whyte (2009) เพื่อตรวจสอบศัตรูพืชโดยตรวจสอบเบื้องต้นด้วยตาเปล่าเพื่อสังเกตอาการผิดปกติ เมล็ดวัชพืช และเศษดิน

ขั้นตอนที่ 3 การตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับเมล็ด หรือซัง หรือฝักข้าวโพดนำเข้าจากประเทศลาว

3.1 ผลการตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำเพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลง หรือเมล็ดวัชพืช

3.1.1 ผลการตรวจสอบและจำแนกแมลงศัตรูพืช จากตัวอย่างเมล็ด 7 ตัวอย่าง ที่เก็บในกล่องที่มีตาข่ายพลาสติกปิด พบว่ามีแมลงติดมากับเมล็ดข้าวโพดนำเข้าจากประเทศลาว 7 ครั้ง โดยเก็บแมลงที่อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน ถึง 1 เดือน และเมื่อนำไปจำแนกชนิดพบแมลง 7 ชนิดจากตัวอย่างที่สุ่มทั้ง 7 ตัวอย่าง ได้แก่ 1) ตัวงวงงข้าวโพด *Sitophilus zeamais* 2) มอดแป้ง *Tribolium castaneum* 3) มอดสยาม *Lophocateres pusillus* 4) มอดหนวดยาว *Cryptolestes* sp. 5) เทาหนังสือ *Liposcelis* spp. 6) แตนเบียนมอด *Anisopteromalus calandrae* และ 7) มวนหอม *Xylocoris flavipes* แมลงทั้งหมดยังมีชีวิต และเป็นแมลงที่มีรายงานพบในประเทศไทยแล้ว

3.1.2 ผลการตรวจหาเมล็ดวัชพืชที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดข้าวโพดด้วยตาเปล่า แวนขยาย หรือภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ พบว่าไม่พบเมล็ดวัชพืชติดมากับเมล็ดข้าวโพดนำเข้าทั้ง 7 ตัวอย่าง และซังข้าวโพด 1 ตัวอย่าง

3.2 ผลการตรวจวินิจฉัยเชื้อสาเหตุโรคพืชชั้นละเอียด

3.2.1 ผลการตรวจหาเชื้อรา

● เมล็ดข้าวโพด

1) ตรวจเมล็ดข้าวโพดขณะยังไม่งอก เพื่อตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อรา เช่น เส้นใย หรือส่วนขยายพันธุ์ pycnidia บนเมล็ดข้าวโพดด้วยตาเปล่า แวนขยายหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ไม่พบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อรา

2) นำเมล็ดข้าวโพดมาทำ washing test ผลไม่พบสปอร์ของ smut

3) Blotter method พบเชื้อรา 7 ชนิด ได้แก่ *Cephalosporium* sp., *Emercella* sp., *Fusarium moniliforme* และ *Phomopsis* sp., *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* และ *Penicillium* sp. จาก 7 ตัวอย่าง (Figure 3; Table 2) ที่ตรวจสอบจาก 400 เมล็ดต่อ 1 ตัวอย่าง โดยพบเชื้อรา *Cephalosporium* sp. และ *Fusarium moniliforme* มากในทุกตัวอย่างและพบเชื้อราในโรงเก็บเปอร์เซ็นต์สูง

4) Deep freeze blotter method พบเชื้อรา 7 ชนิด ได้แก่ *Cephalosporium* sp., *Collectotrichum* sp., *Fusarium moniliforme* และ *Phomopsis* sp., *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* และ *Penicillium* sp. (Figure 3; Table 3) ที่ตรวจสอบจาก 400 เมล็ดต่อ 1 ตัวอย่าง โดยพบเชื้อรา *Cephalosporium* sp. และ *Fusarium moniliforme* มากในทุกตัวอย่างและพบ *Collectotrichum* sp. จาก 1 ตัวอย่าง รวมถึงเชื้อราในโรงเก็บเปอร์เซ็นต์สูง ซึ่งมักพบมากในเมล็ดพันธุ์ที่เก็บไว้เป็นเวลานาน มีผลทำให้คุณภาพของเมล็ดพันธุ์เสื่อมลง ซึ่งเชื้อราโรงเก็บบางชนิดสามารถสร้างสารที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์เมื่อนำไปบริโภค กัญจน (2538) รายงานว่าเมล็ดพืชเมื่อเก็บรักษาไว้ระยะเวลาหนึ่งจะปรากฏเชื้อราในโรงเก็บหลายชนิด

เช่น เชื้อรา *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. และยีสต์เจริญอยู่บนเมล็ดพืชและทำความเสียหายให้กับแก่เมล็ดพืช

3.2.2 ผลการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย จากเมล็ดข้าวโพด 7 ตัวอย่าง ด้วยวิธีการดังนี้

1) การทำ Dilution plate พบเชื้อแบคทีเรีย (Figure 3) แยกจากเมล็ดข้าวโพดได้จำนวน 17 ไอโซเลท โคโลนีมีสีขาวอ่อน ขาวขุ่น เหลืองอ่อนจนถึงสีเหลืองเข้ม และเมื่อนำมาทดสอบแกรมโดยใช้สารละลาย 3% KOH พบว่าได้เชื้อแบคทีเรีย แกรมบวก 3 ไอโซเลท และ แกรมลบ 14 ไอโซเลท เมื่อนำแบคทีเรียแกรมบวก 3 ไอโซเลท ตรวจสอบลักษณะรูปร่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงโดยใช้สารละลาย crystal violet พบว่าเชื้อไม่มีรูปร่างคล้ายกระบองที่เป็นลักษณะของเชื้อ *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskense* เชื้อสาเหตุโรค

สำหรับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบนำไปทดสอบ Hypersensitivity กับใบยาสูบ *Nicotiana tabacum* โดยฉีดสารละลายแบคทีเรียที่อายุ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้นประมาณ 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ในใบยาสูบบริเวณใต้ใบ โดยฉีดเข้าเนื้อใบระหว่างเส้นใบ สังเกตลักษณะอาการเซลล์ตายตรงเนื้อใบหลังการฉีดเชื้อ 24-48 ชั่วโมง ไม่พบใบยาสูบแสดงอาการผิดปกติที่ชัดเจนและ เมื่อนำแบคทีเรียแกรมลบทั้ง 14 ไอโซเลท ไปทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคบนข้าวโพดหวานอายุ 14 วัน โดยการตัดปลายใบ และหยอดสารแขวนลอยเซลล์แบคทีเรียที่หยอด โดยใช้ น้ำกลั่นหนึ่งเป็นตัวควบคุม พบว่าแบคทีเรียแกรมลบทั้ง 14 ไอโซเลท ไม่ก่อให้เกิดโรคบนข้าวโพดหวาน (Figure 4) นอกจากนี้ได้นำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 14 ไอโซเลท มาตรวจสอบเชื้อ *Pantoea stewartii* ด้วยวิธี ELISA โดยใช้แอนติบอดีที่จำเพาะเจาะจงต่อเชื้อ *Pantoea stewartii* พบว่าผลของปฏิกิริยาของเชื้อแบคทีเรีย 14 ไอโซเลท ไม่พบแบคทีเรีย *Pantoea stewartii*

2) การแยกเชื้อจากต้นกล้า เมื่อนำเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดทั้ง 7 ตัวอย่าง ไปปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (seedling symptom test) ตาม ข้อ 3.2.2 ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติจากต้นกล้าจากทุกตัวอย่าง (Figure 5)

3.2.3 ผลการตรวจสอบเชื้อไวรัส โดยเพาะเมล็ดให้งอกในกระถางที่ปลูกในโรงเรือน ผลไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ

3.2.4 ผลการตรวจสอบไส้เดือนฝอย ผลการตรวจสอบไส้เดือนฝอย ที่แยกจากเมล็ดโดยตรง และการสังเกตต้นกล้าที่เพาะจากเมล็ดไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ และเมื่อเอาใบยอดมาฉีกและแช่น้ำไว้ 1 ชั่วโมง นำมาตรวจสอบไม่พบไส้เดือนฝอยจากใบพืช

● ชั่งข้าวโพด

ผลการสุ่มตัวอย่างชั่งข้าวโพดที่นำเข้าจำนวน 1 ตัวอย่าง ตามวิธีการของ Whyte (2009) เพื่อตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่า เพื่อสังเกตอาการผิดปกติ เมล็ดวัชพืช เมล็ดพืชอื่น เศษดิน และนำชั่งที่สุ่มไปตรวจสอบเชื้อรา โดยการวางชั่งในกล่องพลาสติกที่สะอาด ให้ความชื้นเช่นเดียวกับการทำ Blotter method ผลการตรวจสอบพบรา *Aspergillus* spp. และพบแมลง *Tribolium castanum* แต่ไม่มีชีวิต

ขั้นตอนที่ 4 ผลการประเมินมาตรการสุขอนามัยพืช

ผลการประเมินการตรวจสอบเอกสารพบว่าการออกใบรับรองสุขอนามัยพืช ในช่องระบุข้อความพิเศษเพิ่มเติมที่ว่า “The consignments were produced and prepared for export in accordance with the conditions for import of (imported plant parts) from Lao PDR to Thailand.” และ “These consignments were inspected and found free from *Trogoderma granarium*.” พบว่าข้อความ “(imported plant parts)” ควรเป็นการระบุส่วนของสิ่งต้องห้ามที่นำเข้าจริงว่าเป็น (corn grain) หรือ (corn cob) หรือ (corn ear) จึงควรทำความเข้าใจกับเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชของประเทศลาวในการระบุส่วนของพืชที่ส่งมาให้ชัดเจนว่าเป็นส่วนใด

ผลการประเมินมาตรการสุขอนามัยพืชกับเมล็ดไม่พบแมลงศัตรูพืชกักกันที่มีชีวิต (*Trogoderma granarium*) และศัตรูพืชกักกันชนิดอื่นนอกเหนือจาก *T. granarium* เมื่อเก็บเมล็ดไว้ 14 วัน แต่เมื่อครบ 1 เดือน พบแมลง *Sitophilus zeamais* จากทุกตัวอย่าง ซึ่งเป็นแมลงที่มีแล้วในประเทศไทย ไม่ใช่แมลงศัตรูพืชกักกัน และพบเชื้อราศัตรูพืชที่ไม่ใช่ศัตรูพืชกักกัน และราในโรงเก็บ ทำให้ทราบว่าเมล็ดนั้นเก่า อาจมีการเก็บรักษาที่ไม่มีประสิทธิภาพ และมีพบแมลงมีชีวิตแม้จะมีหลักฐานว่าได้มีการรมด้วยสารรมก็ตาม

ผลการประเมินมาตรการสุขอนามัยพืชกับซึ่งตรวจสอบพบรา *Aspergillus* spp. และพบแมลง *Tribolium castanum* แต่ไม่มีชีวิต ซึ่งไม่ใช่ศัตรูพืชกักกัน และการศึกษาไม่พบการนำเข้าไปในลักษณะฝักจึงไม่มีข้อมูลพิจารณาในส่วนนี้

ดังนั้นมาตรการที่กำหนดยังมีประสิทธิภาพแต่ควรมีการเก็บตัวอย่างตรวจสอบแมลงที่มีโอกาสติดมานานกว่า 14 วัน และศึกษาการรมด้วยสารรมว่าดำเนินการอย่างไร เพื่อมิให้พบแมลงศัตรูพืชที่มีชีวิตและเชื้อราสาเหตุโรคแม้จะมีปรากฏในประเทศไทยแล้วก็ตาม

- ผลการประเมินมาตรการสุขอนามัยพืชที่กำหนดในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์และเมล็ดข้าวโพดจากประเทศเมียนมา

ขั้นตอนที่ 1 ผลการตรวจสอบเอกสาร/ ฉลาก บรรจุภัณฑ์ และการขนส่ง/ เก็บรวบรวมข้อมูลข้าวโพดนำเข้าจากประเทศเมียนมา ณ จุดนำเข้า

ผลการตรวจสอบเอกสารพบว่าระหว่างเดือนตุลาคม 2559 – ธันวาคม 2559 ไม่พบว่ามี การนำเข้าเมล็ดพันธุ์และเมล็ดข้าวโพดจากประเทศเมียนมามายังประเทศไทย ณ ด่านตรวจพืชเชียงใหม่ เชียงราย และด่านตรวจพืชแม่สอด จังหวัดตาก จึงไม่มีการบันทึกข้อมูลการตรวจสอบเอกสาร/ ฉลาก บรรจุภัณฑ์ และการขนส่ง/ เก็บรวบรวมข้อมูลข้าวโพดนำเข้า จากประเทศเมียนมา ณ จุดนำเข้า เนื่องจากปัญหาราคาเมล็ดข้าวโพดในประเทศ จึงไม่อนุญาตให้เมล็ดข้าวโพดจากประเทศเมียนมาเข้ามาในประเทศ แต่อย่างไรก็ตามผู้วิจัยได้สืบค้นและรวบรวมข้อมูลการนำเข้าของปี 2559 เพื่อให้ได้ข้อมูลของเมล็ดพันธุ์และเมล็ดข้าวโพดจากประเทศเมียนมา ณ จุดนำเข้า พบว่าข้อมูลที่มีการบันทึกในปี 2559 มีการนำเข้าเมล็ดข้าวโพดเพื่อเลี้ยงสัตว์ ผ่านด่านตรวจพืชแม่สอด รวม 46 ครั้ง ระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ ถึง เดือนเมษายน 2559 ปริมาณรวมทั้งหมด 5,240 ตัน คิดเป็นมูลค่า 53.16 ล้านบาท

โดยผู้นำเข้าคือ สหกรณ์การเกษตรแม่ระมาด สหกรณ์นิคมแม่ระมาด สหกรณ์นิคมแม่สอด สหกรณ์การเกษตรพบพระ แต่ไม่มีเอกสารให้พิจารณาเนื่องจากด่านตรวจพืชได้จัดส่งต้นสังกัดไปแล้ว

ขั้นตอนที่ 2 การสุ่มเก็บตัวอย่าง

สืบเนื่องจากไม่มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์หรือเมล็ดในช่วงระยะเวลาที่ศึกษาเดือนตุลาคม 2559 – มิถุนายน 2560 จึงไม่มีตัวอย่างให้ศึกษา ผู้วิจัยได้นำตัวอย่างเมล็ดข้าวโพดที่ด่านตรวจพืชแม่สอดได้สุ่มตัวอย่างและเก็บไว้ในปี 2559 มาศึกษา จำนวน 2 ตัวอย่าง

ขั้นตอนที่ 3 ผลการตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์และเมล็ดข้าวโพดจากประเทศเมียนมา

พบแมลงศัตรูพืช 4 ชนิด ได้แก่ 1) ตัววงวงข้าวโพด *Sitophilus zeamais* 2) มอดแป้ง *Tribolium castanum* 3) มอดข้าวเปลือก *Rhizopertha dominica* และ 4) *Cryptolestes* sp. และพบเชื้อรา *Aspergillus* spp. แต่ไม่พบแมลง *Trogoderma granarium* ที่เป็นศัตรูพืชด้วยกัน ไม่พบเมล็ดวัชพืชปนเปื้อนในเมล็ดข้าวโพดทั้ง 2 ตัวอย่าง

3.2 ผลการตรวจวินิจฉัยเชื้อสาเหตุโรคพืชชั้นละเอียด

3.2.1 ผลการตรวจหาเชื้อรา

1) ตรวจเมล็ดข้าวโพดขณะยังไม่งอกเพื่อตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อรา เช่น เส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์ เช่น pycnidia บนเมล็ดข้าวโพดด้วยตาเปล่า แวนขยายหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ไม่พบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อรา

2) นำเมล็ดข้าวโพดมาทำ washing test ผลไม่พบสปอร์ของ smut

3) Blotter method พบเชื้อรา *Aspergillus* spp. และ *Penicillium* sp. จาก 2

ตัวอย่าง

4) Deep freeze blotter method พบเชื้อรา *Aspergillus* spp. และ

Penicillium sp. จาก 2 ตัวอย่าง

3.2.2 ผลการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย ไม่พบแบคทีเรียจากทั้ง 2 ตัวอย่าง เมื่อทำ dilution

plate

3.2.3 ผลการตรวจสอบเชื้อไวรัส โดยเพาะเมล็ดให้งอกพบว่าเมล็ดทั้ง 2 ตัวอย่าง ไม่งอก จึงไม่สามารถสังเกตอาการได้ อาจเนื่องจากเมล็ดข้าวโพดเก็บไว้นานเกินไป

3.2.4 ผลการตรวจสอบไส้เดือนฝอย พบไส้เดือนฝอยที่แยกจากเมล็ดโดยตรง

ผู้วิจัยได้เดินทางเพื่อเก็บตัวอย่างเมล็ดที่อาจคงค้างในโกดังของผู้นำเข้า และกลุ่มสหกรณ์ เพื่อนำตัวอย่างมาตรวจสอบ พบว่า สินค้าปี 2559 ได้ถูกนำไปใช้หมดแล้ว และไม่มีการนำเข้าใหม่ เนื่องจากไม่ได้รับอนุญาตให้มีการนำเข้าได้

ขั้นตอนที่ 4 ผลการประเมินมาตรการสุขอนามัยพืช

ไม่สามารถประเมินผลมาตรการสุขอนามัยพืชในช่วงเวลาที่ศึกษาได้ มีเพียงข้อมูลเบื้องต้นจากเมล็ดข้าวโพดที่มีสุ่มเก็บไว้ โดยตรวจไม่พบแมลง *Trogoderma granarium* ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกัน แต่พบแมลงศัตรูพืชในโรงเก็บที่มีชีวิตและมีรายงานพบในประเทศไทยแล้ว

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ :

ผลการประเมินประสิทธิภาพของมาตรการสุขอนามัยพืชในการนำเข้าเมล็ดฝัก และซังข้าวโพดจากประเทศลาวที่กำหนดมีประสิทธิภาพในการควบคุมศัตรูพืช ความถูกต้องของมาตรการทางกฎระเบียบ ใบรับรองสุขอนามัยพืช และการระบุข้อความรับรองพิเศษเพิ่มเติม และผลการตรวจที่ไม่พบศัตรูพืชกักกันที่กำหนด หรือศัตรูพืชกักกันชนิดอื่น แต่พบแมลงที่มีชีวิตหลายชนิด จึงควรติดตามวิธีการกำจัดศัตรูพืช

ผลการประเมินมาตรการสุขอนามัยพืชในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์และเมล็ดข้าวโพดจากประเทศเมียนมา ไม่สามารถประเมินผลได้เนื่องจากไม่มีการนำเข้าในช่วงเวลาที่ทำการศึกษาวิจัย

ผลการตรวจสอบศัตรูพืช พบแมลงศัตรูพืชที่มีชีวิตและเชื้อราสาเหตุโรคพืช แต่มีใช้ศัตรูพืชกักกันที่กำหนด ซึ่งการนำเข้าได้กำหนดให้กำจัดแมลงศัตรูพืชกักกันด้วยสารรมเมทิลโบรไมด์ หรือสารรมฟอสฟิน ซึ่งในอัตราดังกล่าวจะกำจัดแมลงศัตรูพืชในโรงเก็บได้ แต่จากการตรวจสอบพบแมลงศัตรูพืชที่มีชีวิต จึงควรรหาข้อมูลการกำจัดว่าดำเนินการที่ใด เมื่อไร เนื่องจากอาจดำเนินการก่อนการส่งออกนแล้วเนื่องจากผลการตรวจเชื้อรา *Aspergillus* spp หรือ *Penicillium* spp. ซึ่งจะพบกับเมล็ดที่เก็บไว้นาน อย่างไรก็ตามการนำเข้าที่ต้องนำมาเก็บในโรงเก็บนานก็อาจทำให้เกิดการขยายพันธุ์ของแมลงเพิ่มขึ้น แม้จะเป็นแมลงที่มีรายงานในประเทศไทยแล้ว แต่ทำให้คุณภาพเมล็ดลดลงและเกิดความเสียหายได้ แนวทางในการดำเนินการคือ ใช้ให้หมด หรือรมยากำจัดอีกครั้ง และมีโรงเก็บสินค้านำเข้าแยกจากสินค้าในประเทศ โดยทั้งหมดต้องสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้น

การศึกษานี้ไม่มีตัวอย่างการนำเข้าจากด่านตรวจพืชภูดู่ จังหวัดอุดรดิตถ์ เนื่องจากไม่มีเจ้าหน้าที่อยู่ประจำ แต่จะดำเนินการเมื่อมีผู้มาแจ้งการนำเข้าโดยให้เจ้าหน้าที่จากด่านตรวจพืชเชียงแสน จังหวัดเชียงราย ดำเนินการ ซึ่งไม่มีการแจ้งขอนำเข้าในระหว่างศึกษา จึงอาจมีความจำเป็นต้องส่งเจ้าหน้าที่ไปอยู่ประจำในช่วงฤดูกาลที่มีการนำเข้าข้าวโพดด้วย

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ :

เพื่อใช้ในการปรับปรุงมาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสมต่อการนำเข้าเมล็ดฝัก และซังข้าวโพดจากประเทศลาวให้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น เพื่อลดการปนเปื้อนของแมลงศัตรูพืชและเป็นการเพิ่มคุณภาพของสินค้าก่อนการนำเข้า สำหรับผลการประเมินมาตรการสุขอนามัยพืชในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์และเมล็ดข้าวโพดจากประเทศเมียนมา ไม่สามารถประเมินผลได้เนื่องจากไม่มีการนำเข้าในช่วงเวลาที่ทำการศึกษาวิจัยนั้น ทำให้ทราบแนวทางในการดำเนินงานวิจัยในเรื่องนี้ว่าควรมีการศึกษาแนวโน้มการนำเข้า โดยพิจารณาประกอบกับนโยบายของรัฐบาลที่ส่งเสริมหรือชลอการนำเข้าสินค้าเกษตร เพื่อลดอุปสรรคในการศึกษาที่อาจจะเกิดจากการไม่นำเข้าสินค้าได้

11. คำขอบคุณ :

ขอขอบคุณ พนักงานเจ้าหน้าที่ ณ ด้านตรวจพืชทำลี และด้านตรวจพืชแม่สอด สำนักควบคุมพืชและวัสดุ การเกษตร ที่ประสานข้อมูลการนำเข้าและสุ่มตัวอย่างข้าวโพดสำหรับตรวจสอบศัตรูพืชกักกัน และผู้ร่วมงานวิจัย ทุกท่านที่ช่วยสนับสนุนข้อมูลในการทำวิจัยในด้านต่าง ๆ ด้วยดีเสมอมา จึงขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

12. เอกสารอ้างอิง :

กัญญา พุทธสมัย. 2538. *โรคเมล็ดพันธุ์และเชื้อราในโรงเก็บ*. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชและผลิตผล เกษตรกองโรคพืช และจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 46 หน้า.

วลัยกร รัตนเดชากุล มานิตา คงชื่นสิน ปรียพรรณ พงศาพิชณ์ และชัมย์พร บัวมาศ. 2556. *ศึกษา ประสิทธิภาพมาตรการสุขอนามัยพืชกับผลสัมมนำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลีย*. สำนักวิจัย พัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

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

International Seed Testing Association (ISTA). 2016. *International Rules for Seed Testing*.

International Seed Testing Association (ISTA). Bassersdorf, Switzerland.

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

Whyte, C.F. 2009. *Explanatory document on international standard for phytosanitary measures No.31 (Methodologies for sampling of consignments)*. (Online). Available.

http://www.ippc.int/file_uploaded/1252507962732_ISPM31_E_Din_f-oramat.pdf. (April 15, 2011).

13. ภาคผนวก :

Table 1 The detection of Phytosanitary certificate (PC) for corn importation

No. of PC	Plant part	Volume (KG)	Date of PC	Exporting Country	Phytosanitary measure	Additional declaration
000866/15/0802	<i>Zea mays</i>	100,000	11/23/2015	Lao PDR ^{1/}	Fumigate ^{2/}	The consignments... ^{3/}
000873/15/0802	<i>Zea mays</i>	1,000,000	11/27/2015	Lao PDR ^{1/}	Fumigate ^{2/}	The consignments... ^{3/}
000882/15/0802	<i>Zea mays</i>	400,000	12/04/2015	Lao PDR ^{1/}	Fumigate ^{2/}	The consignments... ^{3/}
000088/16/0802	<i>Zea mays</i>	1,000,000	01/27/2016	Lao PDR ^{1/}	Fumigate ^{2/}	The consignments... ^{3/}
000096/16/0802	<i>Zea mays</i>	1,000,000	01/29/2016	Lao PDR ^{1/}	Fumigate ^{2/}	The consignments... ^{3/}
000349/16/0802	<i>Zea mays</i>	2,000,000	03/30/2016	Lao PDR ^{1/}	Fumigate ^{2/}	The consignments... ^{3/}
000362/16/0802	<i>Zea mays</i>	200,000	04/05/2016	Lao PDR ^{1/}	Fumigate ^{2/}	The consignments... ^{3/}

^{1/} Lao People's Democratic Republic

^{2/} Fumigating with phosphine, 8 g/m³ and 160 hr at 25°C

^{3/}The consignments were produced and prepared for export in accordance with the conditions for import of (imported plant parts) from Lao PDR to Thailand. and these consignments were inspected and found free from *Trogoderma granarium*.

Table 2 The pacentage of all fungi were detected on corn seed from the Laos LPD by Blotter method (400 seeds/ sample)

Fungi	Sample						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>Aspergillus flavus</i>	17.5	40.25	28.5	94.5	70.25	38	24.75
<i>Aspergillus niger</i>	3.25	2.5	3.75	10	26.75	3.25	0
<i>Cephalosporium</i> sp.	15.5	24	8.75	2.25	4.75	17	16.75
<i>Colletotrichum</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0
<i>Emercella</i> sp.	0	0	0	0	0	0.25	0
<i>Fusarium moniliforme</i>	13.25	29	43.25	9	9	7.5	12.75
<i>Penicillium</i> sp.	4	31.25	45.5	35	35	73.25	64
<i>Phomopsis</i> sp.	1	0.5	0.5	0	0	0	0

Table 3 The pacentage of all fungi were detected on corn seed from the Laos LPD by deep freeze method (400 seeds/ sample)

Fungi	Sample						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>Aspergillus flavus</i>	64	40.5	40	85.75	59.25	46	0
<i>Aspergillus niger</i>	0	0.5	0	0	3	0.75	0
<i>Cephalosporium</i> sp.	45	21.5	32	3.25	38.75	12.75	53.75
<i>Colletotrichum</i> sp.	0	0.5	0	0	0	0	0
<i>Emercella</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0
<i>Fusarium moniliforme</i>	13	37	27	5.25	33	49.25	38.75
<i>Penicillium</i> sp.	42.5	44	60	5.25	72.75	30.5	78.25

Phomopsis sp.

0

0.5

0.5

0

0

0.75

0



ສາທາລະນະລັດ ປະຊາທິປະໄຕ ປະຊາຊົນລາວ
 LAO PEOPLE'S DEMOCRATIC REPUBLIC
 ສັນຕິພາບ ເອກະລາດ ປະຊາທິປະໄຕ ເອກະພາບ ວັດທະນາຖາວອນ
 PEACE INDEPENDENCE DEMOCRACY UNITY PROSPERITY
 MINISTRY OF AGRICULTURE AND FORESTRY
 DEPARTMENT OF AGRICULTURE

ORIGINAL

ໃບຢັ້ງຢືນ ສຸຂານາໄມພືດ
 PHYTOSANITARY CERTIFICATE

No. 000096/16/0802

ຈາກ: The National Plant Protection Organization of FROM: LAO PEOPLE'S DEMOCRATIC REPUBLIC		ເຖິງ: The National Plant Protection Organization(s) of TO: THAILAND	
I. ປະເພດສິນຄ້າ / DESCRIPTION OF CONSIGNMENT			
ຊື່ ແລະ ທີ່ຢູ່ ຂອງ ຜູ້ສົ່ງອອກ Name and address of exporter		ຊື່ ແລະ ທີ່ຢູ່ ຂອງ ຜູ້ຮັບ Declared name and address of consignee	
OULAIVANH CO.,LTD KENTHAO DISTRICT SAYABOURY PROVINCE, LAO PDR		SUTHAD RUNGRUANG LTD.PART HOUSE NO. 192, MOO 6, NONGPHUE VILLAGE, THALI DISTRICT, LOEI PROVINCE, THAILAND	
ຈຳນວນ ແລະ ລັກສະນະການຫຸ້ມຫໍ່ Number and description of packages		ເຄື່ອງໝາຍທີ່ເດັ່ນ Distinguishing marks	
1 LOT		NIL	
ແຫຼ່ງທີ່ມາ ຂອງ ສິນຄ້າ Place of origin	ວິທີການຂົນສົ່ງ Declared means of conveyance	ຈຸດແຈ້ງ ການນຳເຂົ້າ Declared point of entry	
LAO PEOPLE'S DEMOCRATIC REPUBLIC	BY TRUCK	THALI	
ຊື່ ຂອງ ສິນຄ້າ ແລະ ຈຳນວນທີ່ແຈ້ງ Name of product and quantity declared		ຊື່ວິທະຍາສາດ ຂອງ ພືດ Botanical name of plants	
MAIZE G.W: 1,000,000 KG(S) N.W: 1,000,000 KG(S)		Zea mays	
ຂໍຢັ້ງຢືນວ່າ ພືດ ແລະ ຜະລິດຕະພັນພືດ ຫຼື ວັດຖຸອື່ນຂ້າງເທິງນີ້ ໄດ້ຜ່ານການກວດກາ ແລະ ພົບວ່າ ບໍ່ອາດເຮັດໃຫ້ເກີດຜົນກະທົບ ແລະ ສັດຕູພືດອື່ນໆ ທີ່ເປັນອັນຕະລາຍ ຊຶ່ງສອດຄ່ອງກັບ ລະບຽບການປ້ອງກັນພືດ ຂອງ ປະເທດ ທີ່ນຳເຂົ້າ. This is to certify that the plant and plant products or other regulated articles described herein have been inspected and/or tested according to appropriate official procedures and are considered to be free from the quarantine pests specified by the importing contracting party and to conform with the current phytosanitary requirements of the importing contracting party, including those for regulated non-quarantine pest.			
II. ແຈ້ງເພີ່ມເຕີມ(ຖ້າມີ)/ ADDITIONAL DECLARATION			
The consignments were product and prepared for export in accordance with the conditions for import of (imported plant part) from Lao PDR to Thailand & The consignments were inspected and found free from Trogoderma granarium.			
III. ການເຮັດຄວາມສະອາດ ແລະ ການຂ້າເຊື້ອ/ DISINFESTATION AND/OR DISINFECTION TREATMENT			
ວັນທີ ເຮັດຄວາມສະອາດຂ້າເຊື້ອ Treatment Date:	01/22/2016	ວິທີເຮັດຄວາມສະອາດຂ້າເຊື້ອ Treatment:	FUMIGATE
ສານເຄມີ (ສ່ວນປະກອບທີ່ອາກລິດ) Chemical (Active ingredients):	PH3	ໄລຍະເວລາ ແລະ ຈຸນຮະພູມ Duration & temperature:	160 HRS & 25°C
ຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນ Concentration:	8G/M3	ຂໍ້ມູນເພີ່ມເຕີມ Additional Information:	NIL
ວັນທີ ກວດກາ Date Inspected:	01/29/2016	ຊື່ ແລະ ລາຍເຊັນເຈົ້າໜ້າທີ່ປ້ອງກັນພືດ Name and Signature of Authorized Officer	
ວັນທີ ອອກໃບຢັ້ງຢືນ Date Issued:	01/29/2016		
ສະຖານທີ່ ອອກໃບຢັ້ງຢືນ Place of Issued:	NAMHEUANG, LAO PDR		



— SENGATHIT LAOBEARYATHOR
 VICE CHIEF OF AGRICULTURE SECTION

Department of Agriculture, P.O.Box:811, Vientiane, Lao PDR. Tel: (856) 21 412350 Fax: (856) 21 412349
 Email: pqdlaoyahoo.com

Nº 028307

Figure 1 Phytosanitary certificate for corn seeds from the Lao PDR to the Kingdom of Thailand



Figure 2 Samples of imported corn seeds from the Lao PDR and visual inspection at entry point in the Kingdom of Thailand

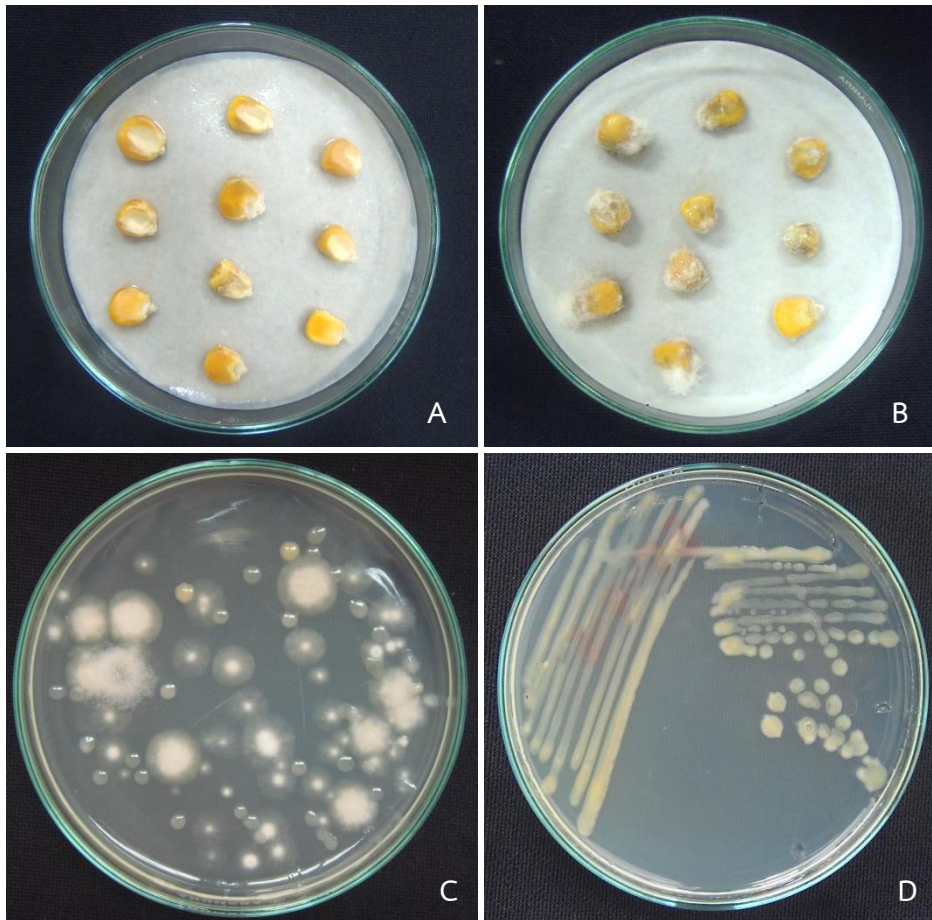


Figure 3 Diagnostic techniques of imported corn seeds A) Blotter method, B) Deep freeze method, C) Dilution plate method and D) Streak plate method



Figure 4 Inoculation test of bacterial suspension into tobacco and maize leaves.



Figure 5 Seedling symptom test of imported corn seeds in greenhouse condition.