

## รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. ชุดโครงการวิจัย : วิจัยการกักกันพืช

2. โครงการวิจัย : การศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพีชนำเข้า

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตาที่นำเข้าจากต่างประเทศ

(ภาษาอังกฤษ) : Study on Quarantine Pest Associated with Pea Seed

4. คณะผู้ดำเนินงาน :

หัวหน้าการทดลอง : นางโสภา มีอำนาจ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ 10900 โทรศัพท์ 0 2940-6670 ต่อ 102 โทรสาร 0 2579-4129

ผู้ร่วมงาน : นางสาวศรีวิเศษ เกษสังข์ นางสาวปรียพรรณ พงศาพิชณ์ นางสาวชลธิชา รักใคร่ และ นางสาววันเพ็ญ ศรีชาติ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ 10900 โทรศัพท์ 0 2940-6670 ต่อ 102 โทรสาร 0 2579-4129

5. บทคัดย่อ : ถั่วลันเตา (*Pisum sativum*, Pea) จากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายถั่วลันเตา มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 300 ชนิด จัดเป็นแมลง 105 ชนิด ไร 4 ชนิด วัชพืช 51 ชนิด ไส้เดือนฝอย 30 ชนิด เชื้อรา 69 ชนิด แบคทีเรีย 14 ชนิด และไวรัส 21 ชนิด เป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืชพ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) และ (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 ทั้งสิ้น 35 ชนิด จัดเป็นแมลง 1 ชนิด วัชพืช 18 ชนิด ไส้เดือนฝอย 8 ชนิด เชื้อรา 5 ชนิด และไวรัส 3 ชนิด จากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตานำเข้าในห้องปฏิบัติการ โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตานำเข้าจาก 9 ประเทศ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน ประเทศบัลแกเรีย ไต้หวัน อินเดีย สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น นิวซีแลนด์ อิตาลี และออสเตรเลีย จำนวน 13 ตัวอย่าง น้ำหนัก 30,962.46 กิโลกรัม ทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตานำเข้ามีเมล็ดที่สมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตาในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method และ Dilution technique พบเชื้อรา 2 ชนิด บนเมล็ดถั่วลันเตา ได้แก่ เชื้อรา *Alternaria tenuis curvularia pallenscens* และ *Cladosporium* sp. เป็นเมล็ดนำเข้าจากประเทศไต้หวัน แต่ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และจากการนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกต

อาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นถั่วลันเตา ลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ และจากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแหล่งปลูกของเกษตรกร ไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย

**คำสำคัญ :** เมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตา, ศัตรูพืช, พืชนำเข้า

**ABSTRACT:** The total of 30,962.46 Kgs. of pea (*Pisum sativum*) seed has been imported into Thailand between 2013-2014. According to relevant references there are 300 pests associated with pea including 105 insects, 4 mites, 51 weeds, 30 nematodes, 69 fungi, 14 bacteria and 21 viruses . There are 35 quarantine pests associated with pea including 1 insect, 18 weed, 8 nematodes, 5 fungi and 3 virus. Visual inspection has been done for consignment on arrival. Thirteen samples of seeds imported from China, Bulgaria, Taiwan, India, USA, Japan, New zeland, Italy, Australia and Philippines was collected and table to plant quarantine laboratory for thoroughly inspection by blotter method, dilution method and ELISA method. Laboratory result showed the interception of *Alternaria tenuis curvularia pallescens* and *Cladosporium* sp. No sign or symptoms from seedling symptom test have been observed and no quarantine pest present in imported okra plantation.

**Keywords:** pea seed, pest, imported plant

**6. คำนำ :** พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กำหนดให้เมล็ดพันธุ์พืชผักต่าง ๆ ดอกไม้หรือไม้ประดับหลายชนิดจัดเป็นสิ่งที่จำกัด (Restricted material) และสิ่งไม่ต้องห้าม (unprohibited materials) ในการนำเข้ามายังประเทศไทยต้องแจ้งการนำเข้า และมีใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทางกำกับมาด้วยพร้อมกับเมล็ดพันธุ์นำเข้า โดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยกำหนดไว้แต่อย่างใด การนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศ มีโอกาสที่ศัตรูพืชหลายชนิดที่อาจเป็นศัตรูพืชกักกันที่ร้ายแรงหรือศัตรูพืชที่สำคัญที่ก่อความเสียหายกับผลิตผลทางการเกษตรติดเข้ามาพร้อมกับเมล็ดพืชด้วย โดยอาจเป็นศัตรูพืชร้ายแรงที่ไม่มีปรากฏในประเทศไทย ในกลุ่มของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตา ซึ่งมีการนำเข้ามาเพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์ในการส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกกระจายทั่วประเทศไทย โดยในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เหล่านี้ในปริมาณมาก หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวสามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศไทย จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อเกษตรกรในประเทศและกระทบต่อการส่งออกพืชผักผลไม้ไทยไปยังต่างประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำการตรวจสอบศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับพืชนำเข้า เพื่อทราบชนิดแหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของ

ศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืช มีประโยชน์ใช้อ้างอิงทางวิชาการ นำมาพิจารณาหามาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และกำหนดเป็นมาตรการทางด้านกฎหมาย และทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้า หรือเปลี่ยนแปลงสถานภาพของพืชนำเข้าให้เป็นสิ่งต้องห้ามหรือ สิ่งจำกัดตามพระราชบัญญัติกักพืชต่อไป

## 7. วิธีดำเนินการ :

### - อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงเตานำเข้า
2. แว่นขยาย กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope และ compound microscope
3. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
4. สารเคมีตรวจสอบเชื้อโรคพืช
5. วัสดุอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างพืช
6. หนังสือ และวารสารทั้งในประเทศและต่างประเทศ
7. พื้นที่แปลงปลูกกระเจี๊ยบเขียวของเกษตรกร

### - วิธีการ

#### 1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของถั่วลิสงเตาและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศ เปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเทอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของถั่วลิสงเตา ลักษณะทั่วไปของพืช สายพันธุ์ พื้นที่การเพาะปลูก รายชื่อของประเทศที่ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืชทั้งนอกประเทศและในประเทศ

#### 2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดยกกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงเตานำเข้าในห้องปฏิบัติการ

การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชั้นละเอียดยกบนเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงเตาที่นำเข้าจากต่างประเทศทางด้านตรวจพืช เจ้าหน้าที่จะทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพืชมาทำการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชั้นละเอียดยกในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลง (Borror, 1981) หรือเมล็ดวัชพืช (Linda, 1993)

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (Mathur, 2003) และตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดยกกับเมล็ดพันธุ์นำเข้า

##### 2.2.1 การตรวจสอบเชื้อรา

- 1) การตรวจสอบสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะยังไม่งอก (Dry seed examination)

โดยตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์เชื้อราหรือศัตรูพืชอื่นๆ ซึ่งปะปนมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เช่นเมล็ดพันธุ์มีรูปร่างผิดปกติ หรืออาจติดมา ภายในเมล็ดพันธุ์โดยไม่แสดงอาการ รวมทั้งอาจติดมากับเศษพืชในลักษณะเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์เช่น Pycnidia เป็นต้น

## 2) การตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะเมล็ดงอก

สุ่มตัวอย่างเมล็ดตามวิธีการมาตรฐาน ในปริมาณที่เหมาะสมวิเคราะห์โดยสุ่มแยกตามสายพันธุ์ มาทดสอบด้วยวิธี Blotter method โดยวางเมล็ดลงบนกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จำนวน 3 แผ่นที่ชุ่มน้ำซึ่งวางอยู่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วางเมล็ดพันธุ์เมลอน 25 เมล็ดต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำจานเพาะเมล็ดไปบ่มเชื้อ (incubate) ได้แสง near ultraviolet (NUV) สลับกับความมืด 12/12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ  $28 \pm 2$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สเตอริโอ-ไมโครสโคป (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope)

### 2.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

#### 1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

ในกรณีที่เชื้อติดมาในปริมาณมากจะสามารถแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรง หลังจากทำการแยกเชื้อด้วยวิธี Blotter method ได้ หรือทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate โดยสุ่มเมล็ดตามมาตรฐาน นำมาแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที ล้างตามด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายใต้กระแสลมตู้เย็น เมื่อได้เมล็ดพันธุ์จึงนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบด แล้วนำผงของเมล็ดใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ (0.85% NaCl) หรือบัฟเฟอร์ จำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยวางบนเครื่องเขย่า จากนั้นนำมาทำให้เจือจางในอาหารเหลว Nutrient broth ให้มีความเจือจางเป็น  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  และ  $10^{-5}$  ตามลำดับ ใช้ไปเปิดจุด suspension แต่ละความเข้มข้น จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) แล้วใช้แท่งแก้ว spread ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

#### 2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ดผิบบนใบพืชหรือต้นพืช

โดยการเพาะเมล็ดในดินนิ่งฆ่าเชื้อที่มีอยู่จริง โดยเพาะ 25-50 เมล็ดต่อถาด และเก็บถาดเพาะที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เมื่อดันกล้าออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิบบนใบพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชุ่มชื้นเป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิบบนใบพืช เก็บใบพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

2.1) วิธี Dilution plate ตัดใบพืชที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้

กระแสมตุ้เชื้อแล้ววัดขึ้นส่วนในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาทำให้เจือจางเป็นลำดับจาก  $10^{-1}$  ถึง  $10^{-5}$  และดำเนินการเช่นเดียวกับ ขั้นตอนในข้อ (1)

2.2) วิธี Tissue transplanting ตัดใบพืชเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 2x2 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายใต้กระแสมตุ้เชื้อแล้ววางพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA หรืออาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง (semiselective media) นำจานเลี้ยงเชื้อไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จึงนำมาตรวจสอบหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรียเก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจนครบ 3-5 วัน เพื่อตรวจหาโคโลนีของแบคทีเรียชนิดอื่น จากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และนำไปศึกษาคุณลักษณะเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

1. ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียได้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

2. ทดสอบแกรม (Gram reaction) โดยใช้สารละลายโปรแตสเซียม-ไฮดรอกไซด์ 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 หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลตดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรคราพืช

4. ทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical properties) เช่น การใช้ยูเรีย การย่อยเจลาติน การย่อยเอสคูลิน และแป้ง reduce ไนเตรต ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นต้น

5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคนบนพืชอาศัย (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น  $10^8$  โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลุกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่น ปลุกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยง หรือเนื้อใบของต้นถั่วลิ้นเต่าอายุ 2-3 สัปดาห์ ฉีดพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจลักษณะอาการโรคหลังปลุกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำไปเป็นโรคมานำแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

### 2.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

1) ปลุกสังเกตลักษณะอาการโรคบนต้นกล้า (Seedling symptom test) โดยเพาะเมล็ดพันธุ์ในดินอบฆ่าเชื้อ ตัวอย่าง 50-200 เมล็ด เก็บรักษาไว้ในโรงปลูกพืชกันแมลงเมื่อต้นพืชออกใบจริง 1-2 ใบ จึงตรวจสอบลักษณะอาการโรค ต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ สงสัยว่ามีสาเหตุจากเชื้อไวรัสจะนำไปอ่อนไปตรวจสอบด้วยวิธีการอื่นเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

2) ปลุกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) เตรียมน้ำคั้นพืชสำหรับทดสอบ โดยบดใบพืชที่แสดงอาการผิดปกติในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ตรวจสอบเชื้อไวรัสใช้ 0.1 M phosphate buffer pH 7.0) โดยใช้ใบพืชหนัก 1 กรัมต่อบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร ในสภาพเย็น จากนั้นใช้สำลีหรือนิ้วที่สะอาดจุ่มน้ำคั้นพืชทาลงบนใบพืชทดสอบ ซึ่งโรยด้วยผงคาร์โบรันดัม (carborundum ขนาด 600 mesh) หลังจากปลุกเชื้อแล้ว 5 นาที ล้างใบพืชและนำพืชทดสอบไปเก็บไว้ในตู้ความชื้นสัมพัทธ์ 25-30 องศาเซลเซียส สังเกตลักษณะอาการบนพืชทดสอบหลังปลุกเชื้อเป็นเวลา 1-4 สัปดาห์ โดยพืชทดสอบจะแสดงอาการแผลเฉพาะแห่ง (local lesion) หรืออาการแบบกระจายทั่วลำต้น (systemic infection)

3) การตรวจสอบด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา (Serological techniques) การตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme – linked Immunosorbent Assay : ELISA เป็นวิธีตรวจสอบเชื้อไวรัสที่มีความไวสูง แม้จะมีเชื้อไวรัสปริมาณต่ำหรืออนุภาคแตกหักก็สามารถตรวจได้ ให้ผลรวดเร็ว แม่นยำ และยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมาก วิธีการที่นำมาใช้เป็นแบบ Indirect ELISA ทำการบันทึกผล

### 3. ติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงเตา นำเข้า

ทำการติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงเตา  
นำเข้าในเขตพื้นที่ภาคเหนือ จำนวน 8 แปลง ได้แก่ จังหวัดตาก 3 แปลง และจังหวัดน่าน 5 แปลง โดยทำ  
การเก็บตัวอย่างส่วนต่างๆ เช่น ใบ พักถั่วลิสงเตา และลำต้นของถั่วลิสงเตาที่พบลักษณะอาการผิดปกติหรือ  
น่าสงสัย เพื่อนำตัวอย่างที่ได้มาตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชตามขั้นตอนข้อที่ 2

#### เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2555 – กันยายน 2557 ( 2 ปี)

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช ด้านตรวจพืช และแปลงปลูกเกษตรกรในเขตจังหวัดน่าน  
และจังหวัดตาก

### 8. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง :

1. การรวบรวมข้อมูลทั่วไปของถั่วลิสงเตาและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศ  
เปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

#### การจำแนกพืช

Domain: Eukaryota

Kingdom: Viridiplantae

Phylum: Spermatophyta

Subphylum: Angiospermae

Class: Dicotyledonae

Order: Fabales

Family: Fabaceae

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Pisum sativum* L.

ชื่ออื่น ๆ ถั่วลันเตา sugar pea, garden pea

### ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ถั่วลันเตาเป็นพืชผักที่มีเถาเลื้อย สูงได้ถึง ๒ เมตร เป็นพืชที่ชอบอากาศเย็นจึงปลูกได้ดีในช่วงฤดูหนาว ถั่วลันเตาสามารถขึ้นได้ในดินแทบทุกชนิดโดยเฉพาะดินร่วนปนเหนียว ควรเป็นดินที่ค่อนข้างมีความเป็นกรดเล็กน้อย ผลเป็นฝักแบบถั่ว แต่ละฝักจะมีเมล็ด ๓-๑๐ เมล็ดขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด อายุการเก็บเกี่ยวแต่ละพันธุ์ไม่เหมือนกัน โดยทั่วไปจะเก็บเกี่ยวหลังการปลูก ๖๐ - ๙๐ วัน

### พันธุ์และแหล่งพันธุ์ถั่วลันเตา

ถั่วลันเตาเป็นไม้เลื้อยมีถิ่นกำเนิดอยู่เอธิโอเปีย ปัจจุบันเป็นที่รู้จักและแพร่ขยายไปทั่วโลก แหล่งปลูกแหล่งใหญ่ของโลกอยู่ในเขตอบอุ่นจนถึงเขตกึ่งร้อน เช่น อินเดีย พม่า โมร็อกโก และ แอมะริกาใต้

ถั่วลันเตาแบ่งได้เป็น 2 ชนิด ได้แก่ แบบกินฝักและกินเมล็ด แบบกินเมล็ดมีเมล็ดค่อนข้างใหญ่เจริญเติบโตได้ดีในดินทุกชนิด โดยเฉพาะในดินร่วนปนเหนียว ชอบความชื้นแต่ไม่แฉะ ชอบแสงแดด เติบโตได้ดีในช่วงฤดูหนาว (วารสารณ, 2548)

### แหล่งปลูก

ในประเทศไทยนิยมปลูกถั่วลันเตากันมากในทุกภาค ส่วนใหญ่ปลูกในแถบที่มีอากาศเย็นและชุ่มชื้น เช่น จังหวัดเพชรบูรณ์ ลำปาง เชียงใหม่ ตาก นครสวรรค์ นครราชสีมา ปราจีนบุรี กาญจนบุรี นครปฐม สุราษฎร์ธานี (วารสารณ, 2548)

### ปริมาณการนำเข้า

ประเทศไทยมีการนำเข้าจาก 9 ประเทศ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน ประเทศบัลแกเรีย ไต้หวัน อินเดีย สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น นิวซีแลนด์ อิตาลี และออสเตรเลีย จำนวน 13 ตัวอย่าง น้ำหนัก 21,883.75 กิโลกรัม (กลุ่มวิจัยการกักกันพืช, 2556)

### ศัตรูพืชที่พบเข้าทำลายถั่วลันเตา

จากการสืบค้นข้อมูล พบว่า ศัตรูพืชที่ทำลายทุกส่วนของถั่วลันเตา เช่น ใบ ผล ลำต้น ราก และเมล็ด เป็นต้น มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 300 ชนิด จัดเป็นแมลง 105 ชนิด ได้แก่ *Acyrtosiphon pisum* (pea aphid), *Adelphocoris lineolatus* (lucerne bug), *Agrotis ipsilon* (black cutworm), *Bruchus pisorum* (pea weevil), *Chrysodeixis eriosoma* (green looper caterpillar), *Diaboloatantops axillaris* (devil grasshopper), *Frankliniella intonsa* (thrips, flower), *Frankliniella occidentalis* (western flower thrips), *Halysmorpha halys* (brown marmorated stink bug),

*Helicoverpa armigera* (cotton bollworm), *Helicoverpa punctigera* (native budworm), *Lampides boeticus* (pea blue butterfly), *Liriomyza sativae* (vegetable leaf miner), *Liriomyza trifolii* (American serpentine leafminer), *Loxostege sticticalis* (beet webworm), *Mamestra brassicae* (cabbage moth), *Megalurothrips usitatus* (bean flower thrips), *Ophiomyia centrosematis* (stemfly), *Pseudococcus calceolariae* (scarlet mealybug), *Riptortus clavatus* (bean bug), *Sitona lineatus* (pea leaf weevil), *Spodoptera albula* (costa Rican armyworm), *Spodoptera exigua* (beet armyworm), *Spodoptera littoralis* (cotton leafworm), *Thrips angusticeps* (field thrips), *Thrips flavus* (honeysuckle thrips), *Tribolium castaneum* (red flour beetle), *Acrosternum hilare* (green stink bug), *Aphis fabae* (black bean aphid), *Autographa nigrisigna* (beet worm), *Callosobruchus analis* (weevil, bean), *Callosobruchus maculatus* (cowpea weevil), *Crociosema aporema* (bud borer), *Delia platura* (bean seed fly), *Diabrotica speciosa* (cucurbit beetle), *Edessa meditabunda* (green and brown stink bug), *Ephestia kuehniella* (Mediterranean flour moth), *Heliothis virescens* (tobacco budworm), *Liriomyza bryoniae* (miner, tomato leaf), *Mamestra configurata* (bertha armyworm), *Megalurothrips distalis*, *Megalurothrips sjostedti* (bean flower thrips), *Melanagromyza sojae* (soyabean stem miner), *Melanoplus sanguinipes* (lesser migratory grasshopper), *Mythimna separata* (paddy armyworm), *Myzus persicae* (green peach aphid), *Ophiomyia phaseoli* (bean fly), *Peridroma saucia* (pearly underwing moth), *Phyllophaga smithi* (white grub), *Piezodorus guildinii* (stink bug), *Sitona humeralis*, *Sitophilus oryzae* (lesser grain weevil), *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm), *Thrips imaginis* (plague thrips), *Thysanoplusia orichalcea* (slender burnished brass moth), *Tipula paludosa* (European crane fly), *Trichoplusia ni* (cabbage looper), *Xestia c-nigrum* (spotted cutworm), *Acrionicta rumicis* (knotgrass moth), *Pyrilla perpusilla* (sugarcane planthopper), *Acanthoscelides obtectus* (bean bruchid), *Agriotes lineatus* (wireworm), *Agriotes ustulatus*, *Agrotis biconica*, *Bruchidius incarnates*, *Callosobruchus chinensis* (Chinese bruchid), *Callosobruchus theobromae*, *Chrysodeixis includens* (soybean looper), *Contarinia pisi* (midge, pea), *Cydia nigricana* (pea moth), *Euchrysops cnejus* (bean blue), *Heliothis peltigera*, *Kakothrips pisivorus* (bean thrips), *Lacanobia oleracea* (bright-line brown-eye moth), *Sitona macularius* (weevil, spotted bean), *Spilarctia obliqua* (hairy, caterpillar, common), *Spodoptera ornithogalli* (yellow striped armyworm), *Tychius quinquepunctatus*, *Chromatomyia horticola* (pea leaf miner), *Amphimallon majalis* (European chafer), *Aphis craccivora* (groundnut aphid), *Apogonia destructor*, *Bemisia tabaci* (tobacco whitefly), *Bemisia tabaci* (B biotype)



(silverleaf whitefly), *Caliothrips indicus* (onion thrips), *Ceresa alta* (buffalo treehopper), *Chromatomyia horticola* (pea leaf miner), *Diabrotica virgifera* (western corn rootworm), *Empoasca fabae* (potato leafhopper), *Etiella zinckenella* (pea pod borer), *Gonocephalum macleayi* (southern false wireworm), *Hadula trifolii* (clover cutworm), *Heliothis virescens* (flax, budworm), *Maruca vitrata* (lima bean pod borer), *Melanagromyza dolichostigma* (miner, soybean root), *Omiodes diemenalis* (soybean leaf folder), *Omiodes indicata* (soybean webworm), *Phenacoccus madeirensis* (cassava mealybug), *Piezodorus hybneri* (legume stink bug), *Planococcoides njalensis* (west African cocoa mealybug), *Riptortus linearis*, *Sphenarches caffer* (pod borer), *Spodoptera litura* (taro caterpillar), *Tenebrio molitor* (European meal worm), *Thrips palmi* (melon thrips) ไร 4 ชนิด ได้แก่ *Halotydeus destructor* (redlegged earth mite), *Acarus siro* (flour mite), *Polyphagotarsonemus latus* (broad mite), *Tetranychus urticae* (two-spotted spider mite) วัชพืช 51 ชนิด ได้แก่ *Amaranthus blitoides* (spreading amaranth), *Asphodelus tenuifolius* (onionweed), *Anthemis cotula* (dog fennel), *Capsella bursa-pastoris* (shepherd's purse), *Cirsium arvense* (creeping thistle), *Datura stramonium* (jimsonweed), *Digitaria sanguinalis* (large crabgrass), *Elymus repens* (quackgrass), *Emex australis* (Doublegee), *Fumaria officinalis* (common fumitory), *Galinsoga parviflora* (gallant soldier), *Lolium temulentum* (darnel), *Melilotus indica* (Indian sweetclover), *Orobanche* (broomrape), *Phalaris minor* (littleseed canarygrass) *Polygonum aviculare* (prostrate knotweed), *Polygonum hydropiper* (marsh pepper), *Raphanus raphanistrum* (wild radish), *Senecio vulgaris* (Grinning (or Grundie)-swallow), *Setaria viridis* (green foxtail), *Solanum nigrum* (black nightshade), *Spergula arvensis* (corn spurry), *Stellaria media* (common chickweed), *Tagetes minuta* (stinking Roger), *Thlaspi arvense* (field pennycress), *Acanthospermum hispidum* (bristly starbur), *Amaranthus hybridus* (smooth pigweed), *Anagallis arvensis* (scarlet pimpernel), *Avena fatua* (wild oat), *Cirsium vulgare* (spear thistle), *Lolium multiflorum* (Italian ryegrass), *Nicandra physalodes* (apple of Peru), *Orobanche aegyptiaca* (Egyptian broomrape), *Orobanche crenata* (crenate broomrape), *Orobanche ramosa* (branched broomrape), *Phalaris paradoxa* (awned canary-grass), *Polygonum convolvulus* (black bindweed), *Polygonum persicaria* (redshank), *Rumex crispus* (curled dock), *Sonchus arvensis* (perennial sowthistle), *Echinochloa crus-galli* (barnyard grass), *Poa annua* (annual meadowgrass), *Polygonum lapathifolium* (pale persicaria), *Convolvulus arvensis* (bindweed), *Corchorus aestuans* (east Indian jew's-mallow (USA)), *Fimbristylis littoralis*, *Lindernia ciliate*, *Trianthema*

*portulacastrum* (horse purslane) ไล่เดือนฝอย 30 ชนิด ได้แก่ *Ditylenchus dipsaci* (stem and bulb nematode), *Helicotylenchus dihystera* (common spiral nematode), *Heterodera cajani* (pigeon pea cyst nematode), *Heterodera goettingiana* (pea cyst eelworm), *Heterodera schachtii* (beet cyst eelworm), *Longidorus* (longidorids), *Meloidogyne arenaria* (peanut root-knot nematode), *Pratylenchus penetrans* (nematode, northern root lesion), *Pratylenchus vulnus* (walnut root lesion nematode), *Trichodorus* (stubby root nematodes), *Trichodorus primitives*, *Trichodorus viruliferus* (stubby root nematode), *Tylenchorhynchus claytoni* (stunt nematode), *Zygotylenchus guevarai*, *Belonolaimus longicaudatus* (sting nematode), *Ditylenchus africanus* (peanut pod nematode), *Helicotylenchus multicinctus* (banana spiral nematode), *Helicotylenchus pseudorobustus* (spiral nematode), *Heterodera ciceri* (chickpea cyst nematode), *Heterodera glycines* (soybean cyst nematode), *Hoplolaimus indicus* (lance nematode), *Meloidogyne chitwoodi* (columbia root-knot nematode), *Pratylenchus loosi* (root lesion nematode), *Pratylenchus thornei*, *Rotylenchulus reniformis* (reniform nematode), *Xiphinema diversicaudatum* (dagger nematode), *Hoplolaimus seinhorsti* (lance nematode), *Meloidogyne hapla* (root knot nematode), *Meloidogyne incognita* (root-knot nematode), *Meloidogyne javanica* (sugarcane eelworm) เชื้อรา 69 ชนิด ได้แก่ *Alternaria brassicae* (dark spot), *Ascochyta pisi* (blight), *Aphanomyces euteiches* (Aphanomyces root rot), *Botryotinia fuckeliana* (grey mould-rot), *Chalara elegans* (black root rot), *Choanephora cucurbitarum* (Choanephora fruit rot), *Colletotrichum truncatum* (soybean anthracnose), *Corticium rolfsii* (sclerotium rot), *Didymella pinodes* (foot rot: pea), *Erysiphe diffusa* (soybean powdery mildew), *Erysiphe pisi* var. *pisi* (powdery mildew of pea), *Gibberella avenacea* (Fusarium blight), *Golovinomyces orontii* (powdery mildew), *Macrophomina phaseolina* (charcoal rot), *Peronospora viciae* (downy mildew: legumes), *Peronospora viciae* f.sp. *pisi* (downy mildew of pea), *Phoma pinodella* (leaf spot), *Pythium aphanidermatum* (damping-off), *Pythium ultimum* (black-leg of seedlings), *Sclerotinia sclerotiorum* (cottony soft rot), *Uromyces viciae-fabae* (rust of broad bean), *Aspergillus flavus* (Aspergillus ear rot), *Aspergillus niger* (collar rot), *Botrytis fabae* (chocolate spot: broad bean), *Cochliobolus lunatus* (head mould), *Cochliobolus sativus* (root and foot rot), *Colletotrichum lindemuthianum* (anthracnose of bean), *Didymella rabiei* (chick pea blight), *Fusarium sporotrichioides* (kernel rot), *Glomerella cingulata* (anthracnose), *Nectria haematococca* (dry rot), *Phakopsora meibomia* (soybean rust), *Phomopsis longicolla* (pod and stem blight), *Phytophthora cambivora* (root rot),

*Pythium irregulare* (dieback: carrot), *Pythium myriotylum* (brown rot), *Verticillium dahliae* (verticillium wilt), *Acremonium strictum* (acremonium wilt), *Clonostachys rosea*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* (Fusarium wilt), *Gliocladium catenulatum*, *Hypocrea rufa* (green mould), *Pythium oligandrum*, *Trichoderma harzianum*, *Alternaria alternata* (alternaria leaf spot), *Alternaria tenuissima*, *Aphanomyces euteiches* f.sp. *pisi*, *Fusarium oxysporum* (basal rot), *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* (fusarium wilt), *Fusarium poae*, *Fusarium redolens* (root rot), *Fusarium solani* f.sp. *pisi* (root rot), *Gibberella intricans* (damping-off), *Gibberella pulicaris* (basal canker), *Gibberella tricineta* (blight), *Myrothecium roridum* (blight), *Nectria haematococca* (dry rot), *Nectria radicola* (black root), *Penicillium notatum* (storage rot), *Phoma medicaginis* var. *medicaginis*, *Sclerotinia minor*, *Uromyces minor*, *Uromyces pisi*, *Cochliobolus heterostrophus*, *Gibberella zeae*, *Pythium graminicola*, *Pythium splendens*, *Phymatotrichopsis omnivora*, *Thanatephorus cucumeris* **แบคทีเรีย** 14 ชนิด ได้แก่ *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (bacterial blight), *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (bacterial canker or blast), *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* (wildfire), *Rhizobium radiobacter* (crown gall), *Rhizobium rhizogenes* (gall), *Xanthomonas axonopodis* pv. *alfalfae* (bacterial alfalfa leaf spot), *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (bean blight), *Pectobacterium rhapontici* (rhubarb crown rot), *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* (halo blight), *Pseudomonas viridiflava* (bacterial leaf blight), *Rhodococcus fascians* (fasciation: leafy gall), *Burkholderia cepacia* (sour skin), *Pseudomonas fluorescens* (pink eye), *Pseudomonas syringae* **และไวรัส** 27 ชนิด ได้แก่ *Bean leafroll virus*, *Broad bean wilt virus*, *Clover yellow mosaic virus*, *Cucumber mosaic virus*, *Milk vetch dwarf luteovirus*, *Pea early-browning virus*, *Pea enation mosaic virus-1*, *Pea seed-borne mosaic virus*, *Pea streak virus*, *Peanut mottle virus*, *Peanut stunt virus*, *Soybean dwarf virus*, *Tobacco streak virus*, *Tomato spotted wilt virus*, *Beet western yellows virus*, *Alfalfa mosaic virus*, *Clover yellow vein virus*, *Cowpea Moroccan aphid-borne mosaic virus*, *Faba bean necrotic yellows virus*, *Lettuce mosaic virus*, *Tobacco necrosis virus*, *Turnip mosaic virus*, *Watermelon mosaic virus*, *Broad bean mottle virus*, *Red clover vein mosaic virus*, *Bean common mosaic necrosis virus*, *Bean pod mottle virus* (กิตติพงษ์, 2531) (นิรนาม, 2502) (ประไพศรี และคณะ, 2527) (วิรัช และคณะ, 2525) (สมศิริ, 2532) (สุดฤดี และกิตติ, 2528) (สุรณี และดวงใจ, 2525) (อนงค์, 2528) (CABI, 2014) (Chandrasrikul, 1968) เป็นศัตรูพืชที่กักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืชพ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) และ (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 ทั้งสิ้น 35 ชนิด จัดเป็นแมลง 1 ชนิด วัชพืช 18 ชนิด ไส้เดือนฝอย 8 ชนิด เชื้อรา 5 ชนิด และไวรัส 3

ชนิด ได้แก่ แมลง 1 ชนิด คือ *Liriomyza bryoniae* วัชพืช 18 ชนิด ได้แก่ *Amaranthus blitoides*, *Asphodelus tenuifolius*, *Avena fatua*, *Capsella bursa pastoris*, *Cirsium arvense*, *Cirsium vulgare*, *Lolium temulentum*, *Orobanche aegyptiaca*, *Orobanche crenata*, *Orobanche ramosa*, *Phalaris minor*, *Polygonum aviculare*, *Polygonum convolvulus*, *Senecio vulgaris*, *Spergula arvensis*, *Stellaria media*, *Thlaspi arvense* และ *Vicia sativa* ไส้เดือนฝอย 8 ชนิด ได้แก่ *Belonolaimus longicaudatus*, *Heterodera glycines*, *Ditylenchus dipsaci*, *Hoplolaimus indicus*, *Pratylenchus loosi*, *Trichodorus viruliferus* และ *Xiphinema diversicaudatum* เชื้อรา 5 ชนิด ได้แก่ *Chalara elegans*, *Fusarium graminearum*, *Phomopsis longicolla*, *Phytophthora cryptogea* และ *Verticillium ahlia* เชื้อไวรัส 3 ชนิด ได้แก่ *Alfalfa mosaic virus*, *Tomato streak virus* และ *Tomato spotted wilt virus* (CABI, 2014)

## 2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงนำเข้าในห้วงปฏิบัติการ

### 2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากทุกประเทศในเบื้องต้น พบว่าลักษณะของเมล็ดปกติ เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด(ภาพที่1)

### 2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1999) (Mathur, 2003) และการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดเมล็ดพันธุ์นำเข้าในห้วงปฏิบัติการ

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงเตาที่นำเข้าจาก 9 ประเทศ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน ประเทศบัลแกเรีย ไต้หวัน อินเดีย สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น นิวซีแลนด์ อิตาลี และออสเตรเลีย จำนวน 13 ตัวอย่าง น้ำหนัก 21,883.75 กิโลกรัม ซึ่งจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงเตาในห้วงปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method (ภาพที่2) และ พบเชื้อรา 2 ชนิด บนเมล็ดถั่วลิสงเตา ได้แก่ เชื้อรา *Alternaria tenuis* และ เชื้อรา *curvularia pallescens* เป็นเมล็ดนำเข้าจากประเทศไต้หวันส่วนการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงเตาในห้วงปฏิบัติการด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคร่วมกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว(ภาพที่ 3) และจากการนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) (ภาพที่ 4) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นถั่วลิสงเตา ต้นเจริญสมบูรณ์

## 3. การติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงเตานำเข้า

ทำการติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงเตานำเข้าในเขตพื้นที่ภาคเหนือ จำนวน 8 แปลง ได้แก่ จังหวัดตาก 3 แปลง และจังหวัดน่าน 5 แปลง (ภาพที่5) ตรวจพบศัตรูพืชทั่วไป 5 ชนิด เป็นเชื้อรา 1 ชนิด คือ ราแป้ง แมลง 1 ชนิด คือ หนอนชอนใบ และวัชพืช 3 ชนิด ได้แก่ สาบแสรงสาบกา หญ้ายาง และโพงเทง (ภาพที่ 6) ระหว่างทำการศึกษาไม่พบศัตรูพืชที่ชุกกันเป้าหมาย

## 9. สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ :

ถั่วลันเตา (*Pisum sativum*, Pea) จากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายถั่วลันเตา มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 304 ชนิด จัดเป็นแมลง 107 ชนิด ไร 4 ชนิด วัชพืช 52 ชนิด ไส้เดือนฝอย 30 ชนิด เชื้อรา 69 ชนิด แบคทีเรีย 14 ชนิด และไวรัส 28 ชนิด เป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืชพ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) และ (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 ทั้งสิ้น 35 ชนิด จัดเป็นแมลง 1 ชนิด วัชพืช 18 ชนิด ไส้เดือนฝอย 8 ชนิด เชื้อรา 5 ชนิด และไวรัส 3 ชนิด จากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตานำเข้า ในห้องปฏิบัติการ โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตานำเข้าจาก 10 ประเทศ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน ประเทศบัลแกเรีย ไต้หวัน อินเดีย สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น นิวซีแลนด์ อิตาลี ออสเตรเลีย และฟิลิปปินส์ จำนวน 16 ตัวอย่าง น้ำหนัก 30,962.46 กิโลกรัม ทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตานำเข้ามีเมล็ดที่สมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช ไม่พบสิ่งปนเปื้อน เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตาในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method และ Dilution technique พบเชื้อรา 2 ชนิด บนเมล็ดถั่วลันเตา ได้แก่ เชื้อรา *Alternaria tenuis* และ เชื้อรา *curvularia pallescens* เป็นเมล็ดนำเข้ามาจากประเทศไต้หวัน แต่ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่นำส่งจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และจากการนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นถั่วลันเตา ลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ และจากการติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกในเขตพื้นที่ภาคเหนือ จังหวัดตาก และจังหวัดน่าน จำนวน 8 แปลง ตรวจพบศัตรูพืชทั่วไป 5 ชนิด เป็นเชื้อรา 1 ชนิด คือ ราแป้ง แมลง 1 ชนิด คือ หนอนขนอบ และวัชพืช 3 ชนิด ได้แก่ สาบแครงสาบกา หย้ายาง และโง้งเหง ระหว่างทำการศึกษาไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย ข้อมูลเบื้องต้นนี้จะนำไปใช้ประโยชน์ในการสร้างฐานข้อมูลศัตรูพืชจากต่างประเทศ จัดทำคู่มือการวินิจฉัยศัตรูพืชเบื้องต้น รวมทั้งเตรียมความพร้อมในการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช การติดตามเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกันเป้าหมายของถั่วลันเตา ตลอดจนเป็นภารกิจสำคัญด้านกักกันพืชและอารักขาพืชเพื่อป้องกันศัตรูพืชแปลกใหม่รุกรานเข้ามาในประเทศไทย

## 10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ :

1. กำหนดมาตรการทางวิชาการ/กฎหมาย ด้านสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกัน กับเมล็ดพันธุ์พืชจากประเทศต้นทางก่อนการนำเข้า
2. จัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืชด้านกักกันพืช ได้จัดทำรายชื่อและข้อมูลศัตรูพืชของพืชนำเข้าจากต่างประเทศ โดยเฉพาะศัตรูพืชที่ยังไม่เคยมีรายงานพบมาก่อนในประเทศไทย

กลุ่มเป้าหมายที่ได้รับประโยชน์ คือ

1. หน่วยงานของกรมวิชาการเกษตรที่รับผิดชอบด้านกักกันพืช ได้แก่ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช และด่านตรวจพืชต่างๆ ทั่วประเทศและหน่วยงานอื่นภายในกรมวิชาการเกษตร
2. หน่วยงานด้านกักกันพืชของประเทศที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก
3. มหาวิทยาลัย, สถาบันการศึกษา
4. ผู้ประกอบธุรกิจนำเข้าและส่งออกพืช หัวพันธุ์พืช และผลิตผลพืช
5. กรมส่งเสริมการเกษตร
6. ผู้ประกอบธุรกิจเกี่ยวกับการกำจัดศัตรูพืช
7. เกษตรกร

## 11. คำขอบคุณ :

ขอขอบคุณ ผู้เชี่ยวชาญอุดร อุณหุฒิ คุณสุรพล ยินอัครพรรณ คุณศรีวิเศษ เกษสังข์ คุณชลธิชา รักไคร่ คุณปรียพรรณ พงศาพิชณ์ ที่ช่วยแนะนำแนวทางการวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณ คุณวานิช คำพานิช และคุณวันเพ็ญ ศรีชาติ คุณชัยรัตน์ หมั่นการ คุณยุทธนา ประมาณ คุณวิชาญ สมานิ คุณวิภา เกิดพิพัฒน์ คุณอรนุช นาคะโร คุณสุธรรม คงเอียด คุณจิรวุฒน์ ไกรนรา และคุณอัญชลี ราศี และน้องๆ ในห้องปฏิบัติการที่ช่วยสนับสนุนในการทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

## 12. เอกสารอ้างอิง :

- กิตติพงษ์ ศิริวานิชกุล. 2531. การสำรวจโรคของถั่วลิ้นเต่าและการศึกษาโรคใบจุดของถั่ว ลิ้นเต่าที่เกิดจาก *Ascochyta pinnodes* Jones. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ 189 น.
- กลุ่มวิจัยการกักกันพืช. 2556. สมุดลงรับหนังสือนำส่งพืช/ผลิตผลพืชนำเข้าจากด่าน เล่ม 6-7.
- นิรนาม. 2502. การตรวจโรคพืชให้แก่ประชาชนและหน่วยราชการ. หน้า 208-215. ใน รายงานประจำปี แผนกโรคพืช. กองพืชพันธุ์. กรมกสิกรรม.
- ประไพศรี พิทักษ์ไพรวิน, ศิริพงษ์ คุ่มภยวิรัช ชูบำรุง และพัฒนา สนธิรัตน์. 2527. ศึกษาเชื้อ ราที่ทำให้เกิดโรคกับถั่วไร่รับประทานฝักสด, น.39-49. ใน รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2527 เล่มที่3. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร.
- วรภรณ์ วิษณุรัฐ. 2548. เพื่อนร่วมวิถีชีวิตเศรษฐกิจพอเพียง : ไม่เลื่อยกินได้. น. 77-79. วิรัช ชูบำรุง, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวิน, พัฒนา สนธิรัตน์ และปิยเกียรติก้อง. 2525. การศึกษาเชื้อรา ในตระกูลราแป้ง ERYSIHACRAE, ไม่มีเลขหน้า. ใน รายงานผลการ ทดลอง พ.ศ.2525 เล่มที่ 1. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร.
- สมศิริ แสงโชติ. 2532. โรคพืชเศรษฐกิจ พืชผัก. บริษัทประชาชนจำกัด. 74 น.

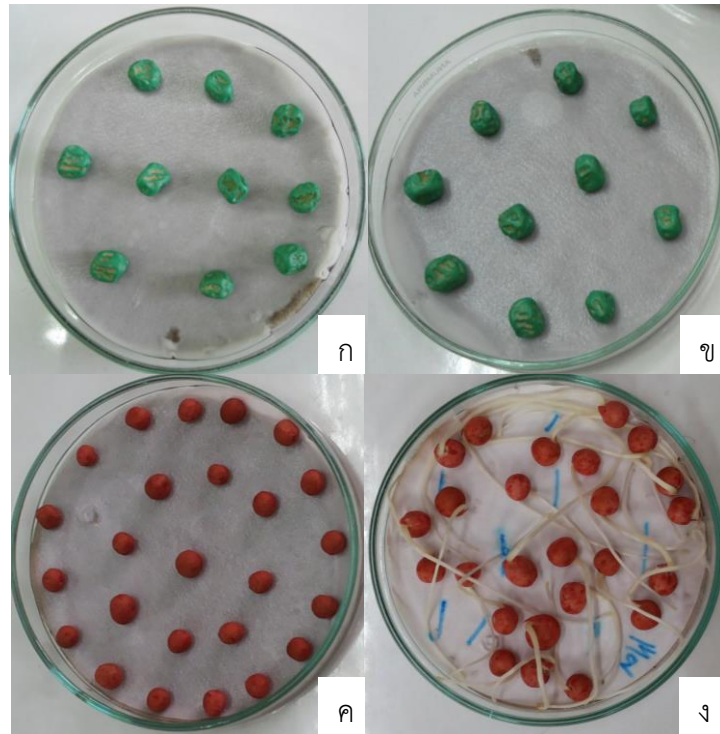
- สุดฤดี ประเทืองวงศ์ และ กิตติ ศิริวานิชกุล. 2528. โรคของถั่วลันเตาในท้องที่ภาคเหนือของประเทศไทย หน้า 386-402. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 23 สาขาพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.
- สุรภี กীরติยะอังกูร และ ดวงใจ ชูปัญญา. 2525. โรคใบจุดวงแหวนของมะละกอในประเทศไทย. วารสารโรคพืช 2(2): 17-21.
- อนงค์ จันทร์ศรีกุล. 2528. โรคและศัตรูบางชนิดของผักและการป้องกันกำจัด. สำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช จำกัด กรุงเทพฯ. 141 น.
- Blancard, D, H. Lot. and B. Maisonneuve. 2006. A Color Atlas of Disease of Lettuce and Related Salad Crops Observation, Biology and Control. Academic Press, San Diego. 375 pp.
- Borror, D.J. 1981. An Introduction to the Study of Insects 827 pages with 672 figures and 12 tables. 827 p.
- CABI. 2014. Crop Protection Compendium (2014 edition). Copyright © 2014 CABI. CAB International is a registered EU trademark. Available source: <http://www.cabi.org/CABI/> (site date: April 20, 2014).
- Chandrasrikul, A. 1962. A supplementary host of plant diseases in Thailand. Tech. Bull. No. 9, Dept. of Agr., Bangkok. 14pp.
- Crop Protection Compendium. 2007. ed. Wallingford, UK: CABI . (<http://www.cabicompendium.org/CABI> )
- Linda, W. Davis. 1993. Weed Seeds of the Great Plains A Handbook for Identification. 208 p.
- Mathur, S.B. and O. Kongdal. 2003. Common laboratory seed health testing methods for detecting fungi. First Edition. ISTA, Rome.
- Puckdeedindan, P. 1966. A supplementary host list of plant diseases in Thailand. Tech. Bull. No. 7, Dept. of Agr., Bangkok. 24 p.
- Richardson, M.J. 1990. An Annotated List of Seed-Borne Diseases. 4 th Ed. International Seed Testing Association, Zurich.
- Xu, Z.G, A.J. Cockbain, R.D. Woods and D.A. Govier. 1988. The serological relationships are some other properties of isolates of broad bean wilt virus from faba bean and pea in China. Annals of Applied Biology. 113(2):287-296.

13. ภาคผนวก :

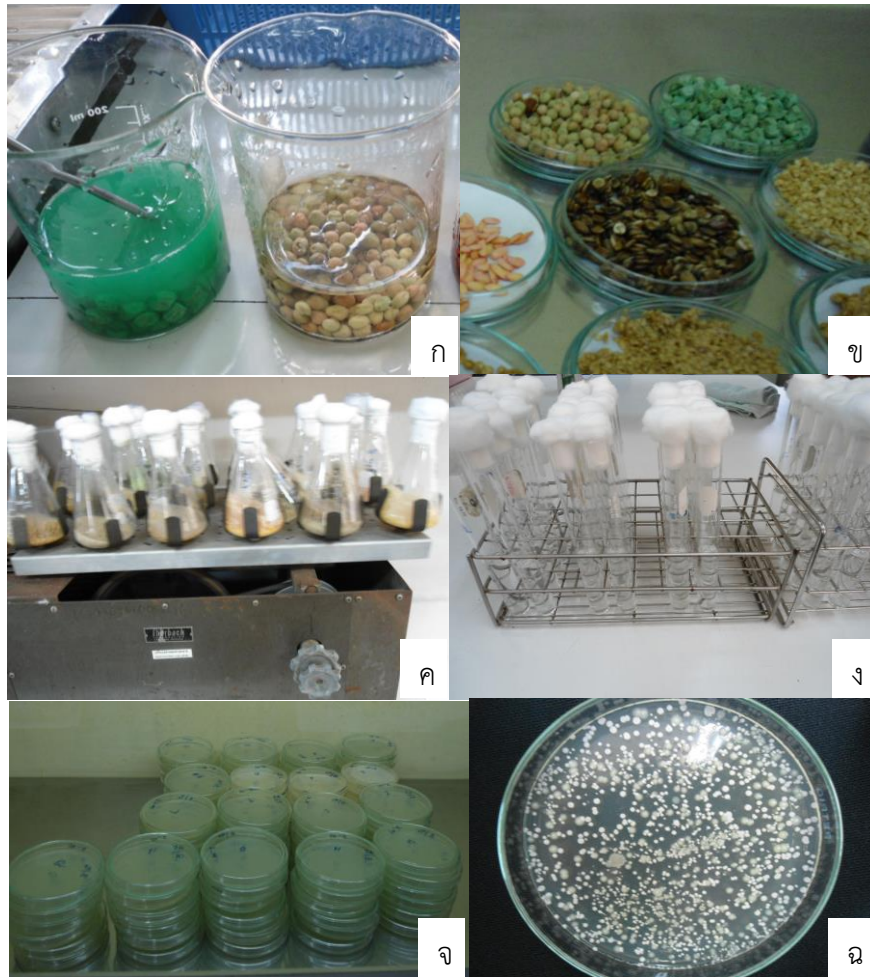


ภาพที่ 1 ลักษณะเมล็ดพันธุ์และบรรจุภัณฑ์ของเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตานำเข้าจากต่างประเทศ  
ก-ข บรรจุภัณฑ์ของเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตานำเข้าจากต่างประเทศ  
ค-ง เมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตานำเข้าจากต่างประเทศ





ภาพที่ 2 (ก-ง) การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตาในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method



ภาพที่ 3 การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Dilution technique

- ก) ล้างเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงเตาด้วยคลอรีน 10 %
- ข) ตากเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงเตาให้แห้งก่อนนำไปบดละเอียด
- ค) เขย่าเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงเตาที่บดในสารละลายโซเดียมคลอไรด์
- ง) เจือจางเป็น  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  และ  $10^{-5}$
- จ) เลี้ยงเชื้อบนอาหาร Nutrient agar (NA)
- ฉ) ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่เจริญบนอาหาร Nutrient agar (NA)



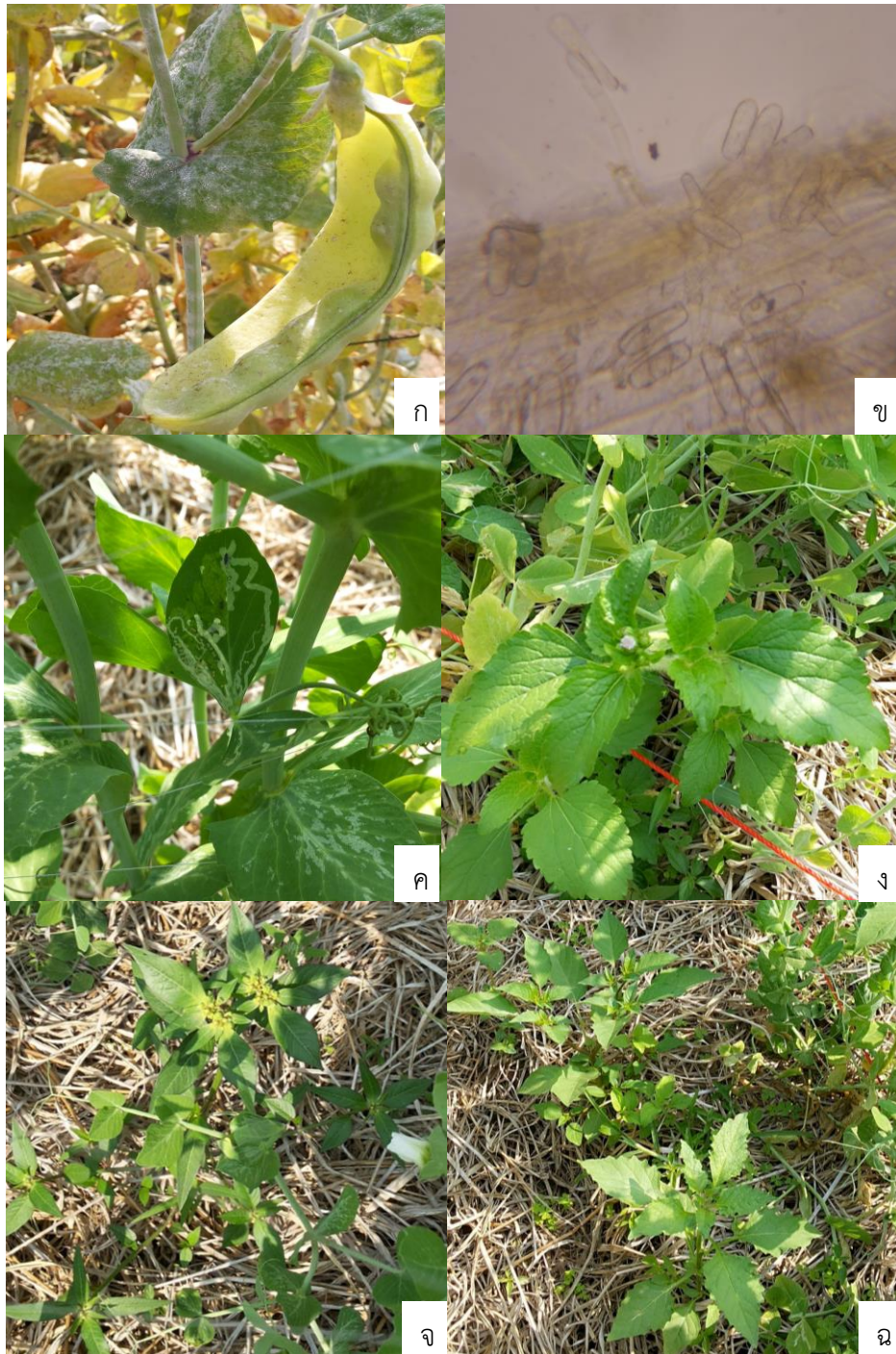


ภาพที่ 4 การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชชั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตาในโรงเรือน  
ด้วยวิธี Seedling Symptom Test  
ก-ง) ลักษณะของต้นถั่วลันเตาออก หลังเพาะ 14 วัน



Figure 5 สภาพแปลงปลูกถั่วลันเตาที่ใช้เมล็ดนำเข้าจากต่างประเทศในเขตพื้นที่ภาคเหนือ





ภาพที่ 6 ศัตรูพืชที่สำรวจพบในแปลงปลูกถั่วลิ้นเตาของเกษตรกรในเขตพื้นที่ภาคเหนือ

- ก) อาการโรคราแป้งของถั่วลิ้นเตา
- ข) ลักษณะสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคราแป้ง กำลังขยาย 200 เท่า
- ค) อาการหนอนซอนใบของถั่วลิ้นเตา
- ง) วัชพืช สาบแรังสาบกาที่พบในแปลงปลูกถั่วลิ้นเตา
- จ) วัชพืช หญ้าฝอยที่พบในแปลงปลูกถั่วลิ้นเตา
- ฉ) วัชพืช โทงเทงที่พบในแปลงปลูกถั่วลิ้นเตา

ตารางที่ 1 ศัตรูพืชที่ตรวจพบบนเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงนำเข้าจากต่างประเทศด้วยวิธีการตรวจสอบ  
Blotter method

ประเทศ	จำนวนนำเข้า (ครั้ง)	น้ำหนัก (กก.)	เชื้อสาเหตุ
ออสเตรเลีย	2	21,065	<i>Cladosporium</i> sp. 0.5%
บัลแกเรีย	1	2,680	-
จีน	4	3,939.1	-
อินเดีย	1	820	-
ญี่ปุ่น	2	20.9	-
นิวซีแลนด์	1	0.24	-
ไต้หวัน	1	300	<i>Alternaria tenuis</i> 1%, <i>Curvularia pallescens</i> 1%
สหรัฐอเมริกา	2	27.22	-
อิตาลี	1	2,110	-
ฟิลิปปินส์	1	4	-
10 ประเทศ	16 ครั้ง	30,962.46 กก.	3 ชนิด