

## รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. ชุดโครงการวิจัย : วิจัยการกักกันพืช

2. โครงการวิจัย : การศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชนำเข้า

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าจากต่างประเทศ

(ภาษาอังกฤษ) : Study on Quarantine Pest Associated with Okra 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 นางสาวปรียาพรรณ พงศาพิชณ์ นางสาวชลธิชา รักไคร์ และ นางสาววันเพ็ญ ศรีชาติ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ 10900 โทรศัพท์ 0 2940-6670 ต่อ 102 โทรสาร 0 2579-4129

5. บทคัดย่อ : ประเทศไทยมีการนำเข้ากระเจี๊ยบเขียว (*Abelmoschus esculentum*, Okra) เพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์ ในปี 2556-2557 มีปริมาณนำเข้า 14,370.05 กิโลกรัม จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายกระเจี๊ยบเขียว มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 163 ชนิด ในจัดเป็นแมลง 87 ชนิด ไว 11 ชนิด วัชพืช 5 ชนิด ไส้เดือนฝอย 16 ชนิด เชื้อรา 32 ชนิด แบคทีเรีย 5 ชนิด ไวรัส 6 ชนิด และหุ 1 ชนิด เป็นศัตรูกักกันของกระเจี๊ยบเขียวทั้งสิ้น 13 ชนิด จัดเป็นแมลง 1 ชนิด วัชพืช 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 5 ชนิด เชื้อรา 3 ชนิด แบคทีเรีย 2 ชนิด และไวรัส 1 ชนิด จากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขึ้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้า ในห้องปฏิบัติการ โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าจำนวน 30 ตัวอย่างจาก 5 ประเทศ ได้แก่ ประเทศฟิลิปปินส์ อินเดีย สหรัฐอเมริกา ทานซาเนีย และญี่ปุ่น เพื่อตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าหรือแว่นขยาย พบว่า เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้ามีเมล็ดที่สมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืชหรือการปนเปื้อนของวัชพืช เมื่อนำมาตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขึ้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method, Dilution method และ ELISA ผลการตรวจสอบพบเชื้อรา 7 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Fusarium solani*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium moniliform*, *Alternaria tenuis*, *Chaetomium* sp., *Graphium* sp. และ *Verticillium* sp. เชื้อแบคทีเรีย 1 ชนิด คือ *Streptomyces* sp. เมื่อนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการ

ของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติที่เกิดจากเชื้อโรคศัตรูพืช และจากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแหล่งปลูกของเกษตรกร ไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย

**คำสำคัญ :** เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว, ศัตรูพืช, พืชนำเข้า

**ABSTRACT:** The total of 14,370.05 Kgs. of okra (*Abelmoschus esculentum*) seed has been imported into Thailand between 2013-2014. According to relevant references there are 163 pests associated with okra including 87 insects, 11 mites, 5 weeds, 16 nematodes, 32 fungi, 5 bacteria, 6 viruses and 1 rat. There are 13 quarantine pests associated with okra including 1 insect, 1 weed, 5 nematodes, 3 fungi, 2 bacteria and 1 virus. Visual inspection has been done for consignment on arrival. Thirty samples of seeds imported from Philippines, India, USA, Tanzania and Japan 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 *Fusarium solani*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium moniliform*, *Alternaria tenuis*, *Chaetomium* sp., *Graphium* sp. *Streptomyces* sp. and *Verticillium* sp. No sign or symptoms from seedling symptom test have been observed and no quarantine pest present in imported okra plantation.

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

**6. คำนำ :**กระเจี๊ยบเขียวจัดเป็นสิ่งกักต ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกักต ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 ซึ่งกำหนดให้ส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชในวงศ์ *Mulvaceae* เป็นสิ่งกักต และตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 มาตรา 10 ได้ระบุไว้ว่า การนำเข้าหรือนำผ่านสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกักตจะต้องนำผ่านทางด้านตรวจพืชเพื่อให้พนักงานเจ้าหน้าที่ตรวจ และต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกำหนด แต่เนื่องจากในปัจจุบันยังไม่มีข้อกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว จึงมีความเสี่ยงสูงที่จะมีศัตรูพืชติดเข้ามาพร้อมกับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศได้

ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตกระเจี๊ยบเขียวเพื่อบริโภค และจำหน่ายในรูปฝักสด ซึ่งทำรายได้แก่เกษตรกรจำนวนมาก มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวจากหลายประเทศ เช่น อินเดีย สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ และทาจิกิสถาน ในปี พ.ศ. 2554 ถึง ปี พ.ศ. 2555 มีปริมาณการนำเข้าเฉลี่ยปีละ 10,311.48 กิโลกรัม นำเข้ามาบ่อยครั้งเฉลี่ย 20 ครั้งต่อปี มีการนำเข้ามาทุกเดือน เพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์ในการเพาะปลูก การนำเข้าเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวเข้ามา มีการนำเข้ามาหลายเส้นทาง ได้แก่ เรือ และเครื่องบิน โดยผ่านด่านตรวจพืชด่านใดด่านหนึ่ง ดังนี้ ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ด่านตรวจพืชท่าอากาศยาน

ยานสุวรรณภูมิ ด้านตรวจพืชไปรษณีย์ ด้านตรวจพืชลาดกระบัง เมล็ดกระเจี๊ยบเขียวเป็นพาหะของศัตรูพืช ร้ายแรงหลายชนิดที่ยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทยโดยเฉพาะเชื้อสาเหตุโรคพืช เช่น เชื้อรา *Verticillium dahliae* *Phymatotrichopsis omnivore* และ *Phomopsis longicolla* เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas cichorii* และ *Pantoea agglomerans* ไวรัส *Cotton anthocyanosis virus* แมลง *Sacadoses pyralis* ไร้ เตี อ น ฝ อ ย *Scutellonema bradys*, *Hoplolaimus indicus*, *Paratrichodorus porosus*, *Pratylenchus loosi* และ *Belonolaimus longicaudatus* วัช พื ช *Parthenium hysterophorus* (CABI, 2014) จึงมีความเสี่ยงที่ศัตรูพืชเหล่านี้จะติดเข้ามาและสามารถแพร่กระจายในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย ซึ่งจะก่อให้เกิดผลกระทบต่อเกษตรกรในประเทศและการส่งออกเมล็ดพันธุ์ไปยังต่างประเทศ การศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้ามีวัตถุประสงค์เพื่อให้ทราบชนิดของศัตรูพืช แหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวสามารถใช้เป็นฐานข้อมูล สำหรับอ้างอิงทางวิชาการ เพื่อกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสมรัดกุม และป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศ

## 7. อุปกรณ์และวิธีการ :

### - อุปกรณ์

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

### - วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของกระเจี๊ยบเขียวและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศ เปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเทอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของกระเจี๊ยบเขียว ลักษณะทั่วไปของพืช สายพันธุ์ พื้นที่การเพาะปลูก รายชื่อของประเทศที่ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืชทั้งนอกประเทศและในประเทศ

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าในห้องปฏิบัติการ

การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชั้นละเอียดยบนเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวที่นำเข้ามาจากต่างประเทศทางด่านตรวจพืช เจ้าหน้าที่จะทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพืชมาทำการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชั้นละเอียดยในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลง (Borror, 1981) หรือเมล็ดวัชพืช (Linda, 1993) (ภาพที่ 1)

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (Mathur, 2003) และตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดยกับเมล็ดพันธุ์นำเข้า

### 2.2.1 การตรวจสอบเชื้อรา

#### 1) การตรวจสอบสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะยังไม่งอก (Dry seed examination)

โดยตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์เชื้อราหรือศัตรูพืชอื่นๆ ซึ่งปะปนมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เช่นเมล็ดพันธุ์มีรูปร่างผิดปกติ หรืออาจติดมา ภายในเมล็ดพันธุ์โดยไม่แสดงอาการ รวมทั้งอาจติดมากับเศษพืชในลักษณะเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์เช่น Pycnidia เป็นต้น

#### 2) การตรวจสอบสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะเมล็ดงอก

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

### 2.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

#### 1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

ในกรณีที่เชื้อติดมาในปริมาณมากจะสามารถแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรงหลังจากทำการแยกเชื้อด้วยวิธี Blotter method ได้ หรือทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate โดยสุ่มเมล็ดตามมาตรฐาน นำมาแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที ล้างตามด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เย็น 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 ใช้ไปเปิดตุ่ suspension แต่ละความเข้มข้น จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) แล้วใช้แท่งแก้ว spread ให้

ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป (ภาพที่ 3)

## 2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ดผิติดกับใบพืชหรือต้นพืช

โดยการเพาะเมล็ดในดินนิ่งฆ่าเชื้อที่มีอยู่จริง โดยเพาะ 25-50 เมล็ดต่อถุง และเก็บถุงเพาะที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เมื่อต้นกล้าออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิติดกับพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชื้นเป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิติดกับใบพืช เก็บใบพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

2.1) วิธี Dilution plate ตัดใบพืชที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ แล้วบดชิ้นส่วนในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 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 ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อแล้ววางพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA หรืออาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง (semiselective media) นำจานเลี้ยงเชื้อไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จึงนำมาตรวจสอบหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรียเก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจนครบ 3-5 วัน เพื่อตรวจหาโคโลนีของแบคทีเรียชนิดอื่นจากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และนำไปศึกษาคุณลักษณะเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

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 ก็จะนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

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

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

5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัย (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น  $10^8$  โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปูกลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่น ปูกลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยงหรือเนื้อใบของต้นกระเจี๊ยบเขียวอายุ 2-3 สัปดาห์ ฉีดพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ในอุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจสอบลักษณะอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็นโรคมายกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

### 2.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

1) ปูกลูกสังเกตลักษณะอาการโรคบนต้นกล้า (Seedling symptom test) โดยเพาะเมล็ดพันธุ์ในดินอบฆ่าเชื้อ ตัวอย่าง 50-200 เมล็ด เก็บรักษาไว้ในโรงปลูกพืชกันแมลงเมื่อต้นพืชออกใบจริง 1-2 ใบ จึงตรวจสอบลักษณะอาการโรค ต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ สงสัยว่ามีสาเหตุจากเชื้อไวรัสจะนำใบอ่อนไปตรวจสอบด้วยวิธีการอื่นเพื่อจำแนกชนิดต่อไป (ภาพที่ 4)

2) ปูกลูกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) เตรียมน้ำคั้นพืชสำหรับทดสอบโดยบดใบพืชที่แสดงอาการผิดปกติในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ตรวจสอบเชื้อไวรัสใช้ 0.1 M phosphate buffer pH 7.0) โดยใช้ใบพืชหนัก 1 กรัมต่อบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร ในสภาพเย็น จากนั้นใช้สาลี่หรือนิวที่สะอาดจุ่มน้ำคั้นพืชทาลงบนใบพืชทดสอบ ซึ่งโรยด้วยผงคาร์โบรันดัม (carborundum ขนาด 600 mesh) หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 5 นาที ล้างใบพืชและนำพืชทดสอบไปเก็บไว้ในที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส สังเกตลักษณะอาการบนพืชทดสอบหลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 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 ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้า

ทำการติดตามตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดอุดรธานี 3 แปลง และจังหวัดอุบลราชธานี 2 แปลง ในเขตพื้นที่ภาคเหนือ จำนวน 4 แปลง ได้แก่ จังหวัดลำพูน 2 แปลง และจังหวัดตาก 2 แปลง ในเขตพื้นที่ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดราชบุรี 6 แปลง จังหวัดกาญจนบุรี 8 แปลง และจังหวัดสุพรรณบุรี 3 แปลง โดยทำการ

เก็บตัวอย่างส่วนต่างๆ เช่น ใบ ฟักกระเจี๊ยบเขียว และลำต้นของกระเจี๊ยบเขียวที่พบลักษณะอาการผิดปกติ หรือน่าสงสัย เพื่อนำตัวอย่างที่ได้มาตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชตามขั้นตอนข้อที่ 2

### เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2555 – กันยายน 2557 ( 2 ปี)

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช ด้านตรวจพืช และแปลงปลูกเกษตรกร ในจังหวัดอุดรธานี จังหวัดอุบลราชธานี จังหวัดลำพูน จังหวัดตาก จังหวัดน่าน จังหวัดราชบุรี จังหวัดกาญจนบุรี และจังหวัดสุพรรณบุรี

## 8. ผลการทดลองและวิจารณ์ :

### 1. การรวบรวมข้อมูลทั่วไปของกระเจี๊ยบเขียวและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศ เปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

#### การจำแนกพืช

Domain: Eukaryota

Kingdom: Viridiplantae

Phylum: Spermatophyta

Subphylum: Angiospermae

Class: Dicotyledonae

Order: Malvales

Family: Malvaceae

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Abelmoschus esculentus* L. Moench

ชื่ออื่น ๆ กระเจี๊ยบเขียว Okra, Gumbo, Lady's finger, Quimbamto (อัฟริกา)

ชื่อท้องถิ่น กระเจี๊ยบเขียว กระต๋าด (แถบจังหวัดสมุทรสาคร, สมุทรปราการ), มะเขือมอญ (ภาคกลาง), มะเขือมัน (ภาคเหนือ), ถั่วละ (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ)

#### ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

กระเจี๊ยบเขียวเป็นพืชผักยืนต้น อายุประมาณ 1 ปี มีความสูง 40 เซนติเมตร ถึง 2 เมตร ลำต้น มีขนสั้น ๆ มีหลายสี แตกต่างตามพันธุ์ ใบกระเจี๊ยบเขียว มีลักษณะกว้างเป็นแฉกคล้ายใบละหุ่ง แต่ก้านใบจะสั้นกว่า ดอกมีสีเหลือง โคนดอกด้านในสีม่วง เมื่อบานคล้ายดอกฝ้าย มีเกสรตัวผู้ตัวเมียอยู่ในดอกเดียวกันฝักกระเจี๊ยบเขียวเขียวมีรูปเรียวยาว ปลายฝักแหลม มีทั้งชนิด ฝักกลมและฝักเหลี่ยม ซึ่งมีเหลี่ยม 5-10 เหลี่ยม ขึ้นกับพันธุ์ในแต่ละฝักมีเมล็ด 80-200 เมล็ด เมล็ดมีลักษณะกลมรี ขนาดเดียวกับถั่วเขียว เมล็ดอ่อนมีสีขาว เมื่อแก่มีสีเทา ฝักแก่สีฝักจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และจะแตกออกตามแนวรอยสันเหลี่ยม ทำให้เห็นเมล็ดที่อยู่ข้างใน เป็นพืชผักที่เจริญเติบโตได้ดีในเขตกึ่งร้อนโดยอุณหภูมิสูงสุดประมาณ 35 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิต่ำสุดไม่ต่ำกว่า 18 องศาเซลเซียส (กองส่งเสริมพืชสวน, 2543)

## พันธุ์และแหล่งพันธุ์กระเจียบเขียว

กระเจียบเขียวมีหลายสายพันธุ์ซึ่งมีความแตกต่างกันทั้งความสูงของต้น ความยาวของฝัก และสีฝัก พันธุ์พื้นเมืองเดิมจะมีเหลี่ยมบนฝักมากประมาณ 7-10 เหลี่ยม พันธุ์กระเจียบเขียวที่ใช้ปลูกเพื่อการส่งออกฝักสด และแช่แข็ง จะต้องเป็นพันธุ์ที่มีฝัก 5 เหลี่ยม สีฝักเขียวเข้ม มีเส้นใยน้อย ลำต้นเตี้ย ผิวฝักมีขนละเอียด ฝักตกให้ผลผลิตสูง ซึ่งพันธุ์ที่ใช้ปัจจุบันได้แก่

1. พันธุ์ของประเทศไทยปรับปรุงโดยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ลักษณะฝักมีสีเขียวปานกลาง ฝักเมื่อตัดตามขวางเป็นรูปห้าเหลี่ยม ต้นแข็งแรง ผลผลิตสูง ราคาเมล็ดพันธุ์ 50-80 บาทต่อกิโลกรัม พันธุ์เหล่านี้ผู้ส่งออกและแปรรูปสามารถนำไปทดสอบตลาดได้ โดยเฉพาะตลาดยุโรป หรืออื่น ๆ (ศรานนท์ และคณะ, 2548)

2. พันธุ์ลูกผสมชั่วที่หนึ่ง จากประเทศญี่ปุ่น เป็นพันธุ์ที่มีคุณสมบัติฝักอ่อนที่ตลาดญี่ปุ่นนิยมมาก ลักษณะฝักสีเขียวเข้มมาก ปลายฝักไม่มีงอวยยาว เมื่อตัดตามขวางของฝักเป็นรูป 5 เหลี่ยม ซึ่งมีเหลี่ยมเห็นได้ชัดเจน ต้นแข็งแรง ผลผลิตสูง ราคาเมล็ดพันธุ์แพงมากประมาณ 2,000-5,000 บาทต่อกิโลกรัม (ศรานนท์ และคณะ, 2548)

3. พันธุ์ผสมเปิดจากต่างประเทศ ได้แก่ เคลมสัน สปายน์เลส ซึ่งฝักกลมป้อมและพันธุ์ดอว์ฟกรีน สปายน์เลส ซึ่งมีฝักเรียวยาว เป็นพันธุ์ที่มี 8 เหลี่ยม สีเขียวปานกลางใช้ในการแปรรูปบรรจุกระป๋อง (ศรานนท์ และคณะ, 2548)

4. พันธุ์ที่เกษตรกรเก็บพันธุ์เอง ซึ่งต้องทำอย่างถูกวิธีจะมีผลต่อคุณภาพฝักมาก อย่างไรก็ตามพันธุ์ที่จะใช้ขึ้นอยู่กับผู้ซื้อกำหนดเป็นประการสำคัญ ซึ่งผู้ปลูกต้องทำการตกลงกับผู้ซื้อก่อนปลูก

## แหล่งปลูก

ในประเทศไทยนั้นพื้นที่ที่มีการปลูกกระเจียบเขียวมาก ส่วนใหญ่อยู่ในภาคกลาง เช่น จังหวัดนครปฐม ปทุมธานี นนทบุรี สุพรรณบุรี สมุทรสาคร พิจิตร กาญจนบุรี ราชบุรี ระยอง และจังหวัดนครนายก เป็นต้น

## ปริมาณการนำเข้า

ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ ทานซาเนีย และอินเดีย ปี 2556-2557 ปริมาณ 14,370.05 กิโลกรัม (กลุ่มวิจัยการกักกันพืช, 2557)

## ศัตรูพืชที่พบเข้าทำลายกระเจียบเขียว

จากการสืบค้นข้อมูล พบว่า ศัตรูพืชที่ทำลายทุกส่วนของกระเจียบเขียว เช่น ใบ ผล ลำต้น ราก และเมล็ด เป็นต้น มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 163 ชนิด จัดเป็นแมลง 87 ชนิด ได้แก่ *Acrosternum marginatum* (stink bug), *Agrotis ipsilon* (black cutworm), *Agrotis segetum* (turnip moth), *Alabama argillacea* (cotton leaf worm), *Amrasca biguttula* (Indian cotton jassid), *Anomis flava* (cotton semi-looper), *Anomis illita* (okra leafworm), *Argyrogramma signata* (green semi-looper), *Aspisoma ignitum*, *Bemisia tabaci* (tobacco whitefly), *Chrysodeixis eriosoma*



(green looper caterpillar), *Chrysodeixis includens* (soybean looper), *Corizus vicenti*, *Corythuca gossypii* (cotton lacebug), *Crociosema plebejana* (cotton tipworm), *Diablocatantops axillaris* (devil grasshopper), *Diabrotica graminea* (beetle, green), *Dysdercus andreae* (cotton stainer), *Dysdercus cingulatus* (red cotton stainer), *Dysdercus fulvoniger discolor* (cotton stainer), *Earias biplaga* (spiny bollworm), *Edessa meditabunda* (green and brown stink bug), *Ferrisia virgata* (striped mealybug), *Frankliniella intonsa* (thrips, flower), *Haritalodes derogata* (cotton leaf roller), *Helicoverpa armigera* (cotton bollworm), *Helicoverpa zea* (American cotton bollworm), *Heliothis virescens* (tobacco budworm), *Homalodisca coagulata* (glassy winged sharpshooter), *Liriomyza sativae* (vegetable leaf miner), *Liriomyza trifolii* (American serpentine leafminer), *Maconellicoccus hirsutus* (pink hibiscus mealybug), *Nezara viridula* (green stink bug), *Omolicna cubana*, *Pectinophora gossypiella* (pink bollworm), *Phyllophaga* (white grubs), *Pseudaulacaspis pentagona* (mulberry scale), *Saissetia coffeae* (hemispherical scale), *Spodoptera littoralis* (cotton leafworm), *Spodoptera litura* (taro caterpillar), *Tarachidia flavibasis*, *Xanthodes transversa*, *Zeuzera coffeae* (coffee carpenter), *Acrosternum hilare* (green stink bug), *Aonidiella aurantii* (red scale), *Aphis gossypii* (cotton aphid), *Atherigona orientalis* (pepper fruit fly), *Bemisia tabaci* (B biotype) (silverleaf whitefly), *Eutinobothrus brasiliensis* (cotton root borer), *Hilda patruelis*, *Horcias nobilellus* (cotton bug), *Megalurothrips usitatus* (bean flower thrips), *Murgantia histrionica* (harlequin bug), *Myzus persicae* (green peach aphid), *Pachnoda interrupta* (chafer beetle), *Piezodorus hybneri* (legume stink bug), *Sacadodes pyralis* (Trinidad bollworm), *Solenopsis invicta* (red imported fire ant), *Spodoptera exigua* (beet armyworm), *Trichoplusia ni* (cabbage looper), *Coleomegilla maculata* (beetle, Spotted ladybird), *Cricula trifenestrata* (tea flush worm), *Solenopsis geminata* (tropical fire ant), *Zelus longipes*, *Desmidophorus hebes*, *Dysdercus cardinalis*, *Dysdercus koenigii*, *Earias cupreoviridis* (cotton green moth), *Empoasca decipiens* (leafhopper, cotton), *Epilachna ocellata*, *Lohita grandis*, *Melanagromyza hibisci*, *Nisotra sjostedti*, *Ochropleura flammata* (Indian cutworm), *Podagrica uniformis*, *Trachys herilla*, *Chromatomyia horticola* (pea leaf miner), *Euproctis minor*, *Euproctis virguncula*, *Euproctis xanthorrhoea*, *Phenacoccus madeirensis* (cassava mealybug) ไร่ 11 ชนิด ได้แก่ *Eriophyes hibisci* (Hibiscus mite), *Eutetranychus orientalis* (Citrus brown mite), *Tetranychus cinnabarinus* (carmine spider mite), *Tetranychus marianae*, *Tetranychus urticae* (two-spotted spider mite), *Brevipalpus californicus* (citrus flat mite), *Bakerdania gracilis*, *Bakerdania mesembrinae*

(mushroom red pepper mite), *Oligonychus biharensis*, *Tetranychus macfarlanei*, *Tetranychus neocaledonicus* (spider mite) วัชพืช 5 ชนิด *Murdannia nudiflora* (doveweed), *Parthenium hysterophorus* (*Parthenium* weed), *Acanthospermum hispidum* (bristly starbur), *Dactyloctenium aegyptium* (crowfoot grass), *Phyllanthus urinaria* (leafflower) ได้แก่ ไล้เดือนฝอย 16 ชนิด ได้แก่ *Helicotylenchus dihystra* (common spiral nematode), *Meloidogyne arenaria* (peanut root-knot nematode), *Meloidogyne incognita* (root-knot nematode), *Pratylenchus penetrans* (nematode, northern root lesion), *Rotylenchulus reniformis* (reniform nematode), *Belonolaimus longicaudatus* (sting nematode), *Hirschmanniella oryzae* (rice root nematode), *Hoplolaimus indicus* (lance nematode), *Meloidogyne javanica* (sugarcane eelworm), *Paratrichodorus porosus*, *Pratylenchus brachyurus* (root-lesion nematode), *Pratylenchus loosi* (root lesion nematode), *Scutellonema bradys* (yam nematode), *Scutellonema bradys* (yam nematode), *Xiphinema ifacolum* (dagger nematode), *Paecilomyces lilacinus* เชื้อรา 32 ชนิด ได้แก่ *Alternaria brassicae* (dark spot of crucifers), *Ascochyta abelmoschi* (pod spot of okra), *Cercospora malayensis*, *Choanephora cucurbitarum* (*Choanephora* fruit rot), *Colletotrichum coccodes* (anthracnose), *Colletotrichum dematium* (leaf spot), *Golovinomyces cichoracearum* (powdery mildew), *Macrophomina phaseolina* (charcoal rot of bean/tobacco), *Phoma exigua* var. *exigua* (leaf spot), *Phymatotrichopsis omnivora* (cotton root rot), *Pseudocercospora abelmoschi* (leaf spot of okra), *Pseudocercospora brachypoda*, *Pythium aphanidermatum* (damping-off), *Sclerotinia sclerotiorum* (cottony soft rot), *Aspergillus flavus* (*Aspergillus* ear rot), *Aspergillus niger* (collar rot), *Chalara elegans* (black root rot), *Cochliobolus lunatus*, *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* , *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* (vascular cotton wilt), *Leveillula taurica* (powdery mildew of cotton), *Nectria haematococca* (dry rot of potato), *Penicillium digitatum* (green mould), *Phomopsis longicolla* (pod and stem blight), *Verticillium dahliae* (*verticillium* wilt), *Nectria ventricosa*, *Verticillium chlamydosporium* (nematode egg parasite), *Alternaria alternata* (*alternaria* leaf spot), *Alternaria zinniae* (leaf spot of zinnia), *Fusarium oxysporum* (basal rot), *Lasiodiplodia theobromae* (*diplodia* pod rot of cocoa), *Rhizopus stolonifer* (bulb rot) แบคทีเรีย 5 ชนิด ได้แก่ *Pantoea agglomerans* (bacterial grapevine blight), *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (bacterial canker or blast (stone and pom), *Xanthomonas campestris* pv. *esculenti* (leaf spot), *Pseudomonas cichorii* (bacterial blight of endive) ไวรัส 6 ชนิด ได้แก่ *Cotton Yellow Mosaic* (yellow mosaic of cotton), *Cucumber mosaic virus* (cucumber

mosaic), *Hibiscus yellow vein mosaic disease*, *Cotton anthocyanosis virus* (vermelhao disease), *Turnip mosaic virus* (cabbage A virus mosaic), *Okra mosaic virus* และหนู 1 ชนิด คือ *Rattus argentiventer* (rice field rat) เป็นศัตรูพืชที่พบในประเทศไทยทั้งสิ้น 68 ชนิด (Chandrasrikul, 1962; พิพัฒน์ เชียงหลิว, 2528; นิยมรัฐ และคณะ, 2531; วสันต์ และมานะ, 2532; นิยมรัฐ และลักษณะ, 2533; พัฒนา และคณะ, 2542; CABI, 2014) เป็นศัตรูกักกันของกระเจี๊ยบเขียวทั้งสิ้น 13 ชนิด จัดเป็นแมลง 1 ชนิด วัชพืช 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 5 ชนิด เชื้อรา 3 ชนิด แบคทีเรีย 2 ชนิด และไวรัส 1 ชนิด ดังนี้ แมลง 1 ชนิด คือ *Sacadodes pyralis* วัชพืช 1 ชนิด คือ *Parthenium hysterophorus* ไส้เดือนฝอย 5 ชนิด ได้แก่ *Belonolaimus longicaudatus*, *Hoplolaimus indicus*, *Paratrichodorus porosus*, *Pratylenchus loosi* และ *Scutellonema bradys* เชื้อรา 3 ชนิด ได้แก่ *Phomopsis longicolla*, *Phymatotrichopsis omnivore* และ *Verticillium ahlia* แบคทีเรีย 2 ชนิด ได้แก่ *Pantoea agglomerans* และ *Pseudomonas cichorii* และไวรัส 1 ชนิด คือ *Cotton anthocyanosis virus* (CABI , 2014)

## 2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบนำเข้าใน ห้องปฏิบัติการ

### 2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากทุกประเทศในเบื้องต้น พบว่าลักษณะของเมล็ดปกติ เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด (ภาพที่ 1)

### 2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (Mathur, 2003) และการ ตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดเมล็ดพันธุ์นำเข้าในห้องปฏิบัติการ

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวที่นำเข้าจาก 5 ประเทศ ได้แก่ ประเทศฟิลิปปินส์ อินเดีย สหรัฐอเมริกา ทานซาเนีย และญี่ปุ่น จำนวน 30 ตัวอย่าง น้ำหนักรวม 14,370.05 กิโลกรัม ซึ่งจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method และ Dilution method พบเชื้อรา 7 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Fusarium solani*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium moniliform*, *Alternaria tenuis*, *Chaetomium sp.*, *Graphium sp.* และ *Verticillium sp.* และเชื้อแบคทีเรีย 1 ชนิด คือ *Streptomyces sp.* และจากการนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom test) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นกระเจี๊ยบเขียวต้นเจริญสมบูรณ์ (ตารางที่ 1)

## 3. การติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบ เขียวนำเข้า

ทำการติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดอุดรธานี 3 แปลง และจังหวัด

อุบลราชธานี 2 แปลง ในเขตพื้นที่ภาคเหนือ จำนวน 4 แปลง ได้แก่ จังหวัดลำพูน 2 แปลง และจังหวัดตาก 2 แปลง ในเขตพื้นที่ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดราชบุรี 6 แปลง จังหวัดกาญจนบุรี 8 แปลง จังหวัดสุพรรณบุรี 3 แปลง รวมทั้งหมด 30 แปลง (ภาพที่ 5) ตรวจพบศัตรูพืชทั่วไป 33 ชนิด เป็นเชื้อรา 5 ชนิด ไวรัส 1 ชนิด แมลง 8 ชนิด วัชพืช 18 ชนิด ไล่เดือนฝอย 1 ชนิด ระหว่างทำการศึกษาไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย

#### 9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ :

กระเจี๊ยบเขียว (*Abelmoschus esculentum*, Okra) จากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายกระเจี๊ยบเขียวมีศัตรูพืชทั้งสิ้น 163 ชนิด จัดเป็นแมลง 87 ชนิด ไโร 11 ชนิด วัชพืช 5 ชนิด ไล่เดือนฝอย 16 ชนิด เชื้อรา 32 ชนิด แบคทีเรีย 5 ชนิด ไวรัส 6 ชนิด และหนู 1 ชนิด เป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) และ (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 ทั้งสิ้น 13 ชนิด จัดเป็นแมลง 1 ชนิด วัชพืช 1 ชนิด ไล่เดือนฝอย 5 ชนิด เชื้อรา 3 ชนิด แบคทีเรีย 2 ชนิด และไวรัส 1 ชนิด จากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้า ในห้องปฏิบัติการ โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าจาก 5 ประเทศ ได้แก่ ประเทศฟิลิปปินส์ อินเดีย สหรัฐอเมริกา ทานซาเนีย และญี่ปุ่น จำนวน 30 ตัวอย่าง น้ำหนักรวม 14,370.05 กิโลกรัม ทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้ามีเมล็ดที่สมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช ไม่พบสิ่งปนเปื้อน เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา 7 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Fusarium solani*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium moniliform*, *Alternaria tenuis*, *Chaetomium* sp., *Graphium* sp. และ *Verticillium* sp. และเชื้อแบคทีเรีย 1 ชนิด คือ เชื้อ *Streptomyces* sp. การตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และจากการนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นกระเจี๊ยบเขียว ลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ และจากการติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคกลาง จำนวน 30 แปลง ตรวจพบศัตรูพืชทั่วไป 33 ชนิด เป็นเชื้อรา 5 ชนิด ไวรัส 1 ชนิด แมลง 8 ชนิด วัชพืช 18 ชนิด ไล่เดือนฝอย 1 ชนิด ระหว่างทำการศึกษาไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย ข้อมูลเบื้องต้นนี้จะนำไปใช้ประโยชน์ในการสร้างฐานข้อมูลศัตรูพืชจากต่างประเทศ จัดทำคู่มือการวินิจฉัยศัตรูพืชเบื้องต้น รวมทั้งเตรียมความพร้อมในการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช การติดตามเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกันเป้าหมายของกระเจี๊ยบเขียว ตลอดจนเป็นภารกิจสำคัญด้านกักกันพืชและอารักขาพืชเพื่อป้องกันศัตรูพืชแปลกใหม่รุกรานเข้ามาในประเทศไทย

#### 10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ :

1. กำหนดมาตรการทางวิชาการ/กฎหมาย ด้านสุขอนามัยพืชสำหรับการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช กักกัน กับเมล็ดพันธุ์พืชจากประเทศต้นทางก่อนการนำเข้า

2. จัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืชด้านกักกันพืช ได้จัดทำรายชื่อและข้อมูลศัตรูพืชของพืชนำเข้าจาก ต่างประเทศ 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 ผู้เชี่ยวชาญ อุดร อุณหวุฒิ คุณสุรพล ยินอัศวพรธณ คุณศรีวิเศษ เกษสังข์ คุณชลธิชา รักไคร้ คุณปรียพรธณ พงศาพิชณ์ คุณนงพร มาอยู่ดี คุณวลัยกร รัตนเดชากุล คุณวานิช คำพานิช และคุณวันเพ็ญ ศรีชาติ ที่ช่วยแนะนำแนวทางการวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณ คุณชัยรัตน์ หมั่น การ คุณยุทธนา ประมาณ คุณวิชาญ สมาธิ คุณวิภา เกิดพิพัฒน์ คุณอรนุช นาคะโร คุณสุธรรม คงเอียด คุณจิรวัดณ์ ไกรนรา และคุณอัญชลี ราสี และพี่ๆน้องๆ ในห้องปฏิบัติการที่ช่วยสนับสนุนในการทำงาน วิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

#### **12. เอกสารอ้างอิง :**

กลุ่มวิจัยการกักกันพืช. 2557. สมุดลงรับหนังสือส่งพืช/ผลผลิตพืชนำเข้าจากด่าน.

กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร. 2543. คู่มือพืชสวนเศรษฐกิจ. น. 183-186.

พัฒนา สนธิรัตน์, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวรรณ, ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์, วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน.

2542. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานโรคพืช กองป้องกันและกำจัด ศัตรูพืช

กรมส่งเสริมการเกษตร.

พิพัฒน์ เชียงหลิว. 2528. โรคราแป้งขาว. วารสารโรคพืช 5(3) : 71-94

นิยมรัฐ ไตรศรี และ ลักษณะนา วรณภีร์. 2533. โรคที่สำคัญของกระเจี๊ยบเขียวเพื่อการ ส่งออก. น. 53-56.

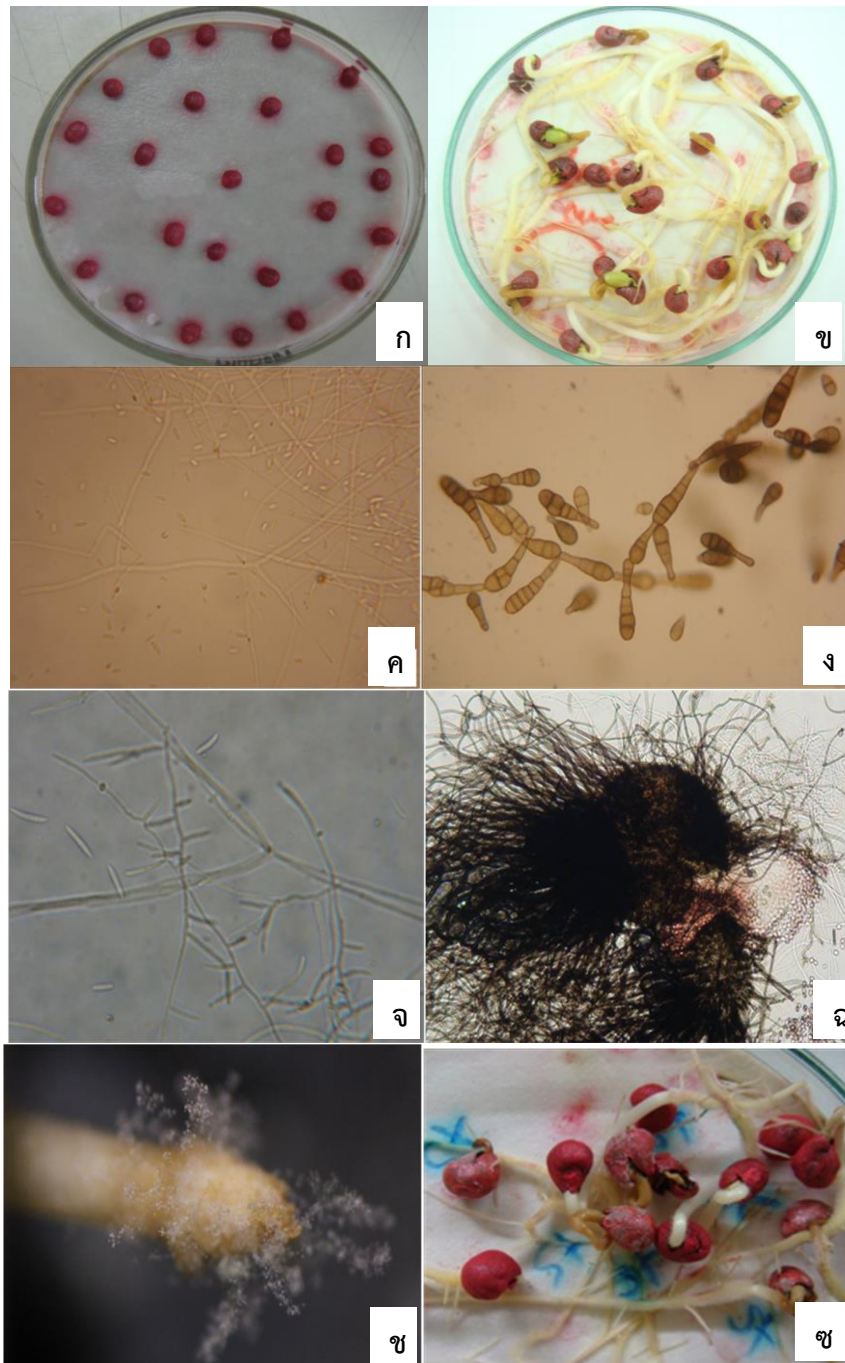
ใน เอกสารประกอบการสัมมนาปัญหาโรคพืช. สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

- นิยมรัฐ ไตรศรี, ลักษณะ วรณภีร์, สิริลักษณ์ โสฬ์สวัสดิ์ และ พัฒนา สนธิรัตน์. 2531. ประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคใบจุดกระเจี๊ยบเขียว, น. 112-116. ใน รายงาน ผลงานวิจัย พ.ศ. 2531. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผักไม้ดอกและไม้ประดับ. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร.
- วสันต์ เพชรรัตน์ และ มานะ กาญจนนเสถียร. 2532. เชื้อรา *Cercospora* สาเหตุโรคพืชในภาคใต้ของประเทศไทย. วารสารโรคพืช 9 (1) : 15-22.
- ศรานนท์ เจริญสุข, ผดุงศักดิ์ เกตุแก้วสุวรรณ และ ชันวา อินทรโยธิน. 2548. ผักสวนครัว. น. 128-137
- 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).
- Chandrasikul, 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

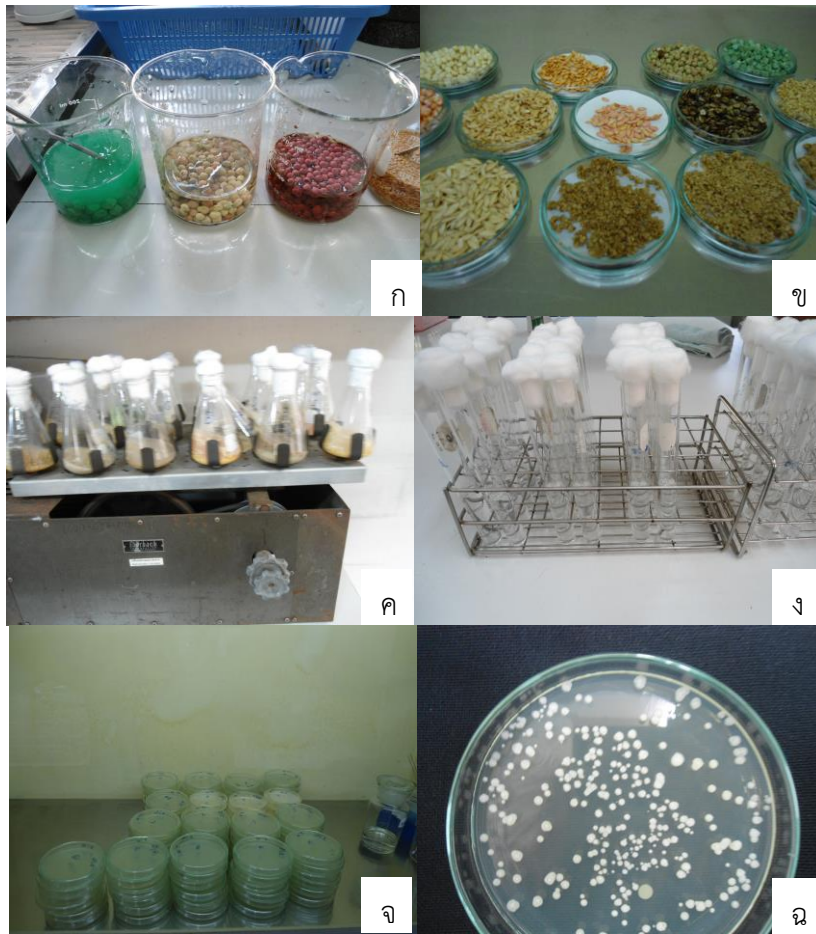


ภาพที่ 1 ลักษณะบรรจุภัณฑ์และเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าจากต่างประเทศ  
ก-ง บรรจุภัณฑ์ของเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าจากต่างประเทศ  
จ-ช เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าจากต่างประเทศ



**ภาพที่ 2** ก-ข) การตรวจสอบเชื้อสาเหตุโรคที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์โดย Botter method  
 ค) ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา *Alternaria tenuis* กำลังขยาย 400 เท่า  
 ง) ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา *Fusarium solani* กำลังขยาย 400 เท่า  
 จ) ลักษณะก้านชูสปอร์และสปอร์ของเชื้อรา *Fusarium semitectum* กำลังขยาย 400 เท่า  
 ฉ) ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา *Chaetomium* sp. กำลังขยาย 200 เท่า  
 ช) ลักษณะของเชื้อรา *Verticillium* sp. บนเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว กำลังขยาย 50 เท่า  
 ซ) ลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* sp. บนเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว





ภาพที่ 3 ตรวจสอบศัตรูพืชชั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าจากต่างประเทศด้วยวิธีการ

Dilution technique

- ก) ล้างเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวด้วยคลอรีน 10 %
- ข) ตากเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวให้แห้งก่อนนำไปบดละเอียด
- ค) เขย่าเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวที่บดในสารละลายโซเดียมคลอไรด์
- 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 ตรวจสอบศัตรูพืชชั้นละเอียดของเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าจากต่างประเทศในโรงเรือน ด้วยวิธีการ Seedling symptom test  
ก-ง) ลักษณะของต้นกระเจี๊ยบเขียวงอก หลังเพาะ 10 วัน



ภาพที่ 5 สำรวจศัตรูพืชในแปลงปลูกกระเจี๊ยบเขียวเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคกลาง

ตารางที่ 1 ศัตรูพืชที่ตรวจพบบนเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าจากต่างประเทศด้วยวิธีการตรวจสอบ

Blotter method

ประเทศ	จำนวนนำเข้า (ครั้ง)	น้ำหนัก (กก.)	เชื้อสาเหตุ
อินเดีย	19	11,753.25	<i>Alternaria tenuis</i> <i>Fusarium moniliform</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Graphium</i> sp. <i>Verticillium</i> sp. <i>Chaetomium</i> sp.
ญี่ปุ่น	4	62.396	<i>Alternaria tenuis</i> <i>Fusarium semitectum</i> <i>Streptomyces</i> sp.
ฟิลิปปินส์	4	354.4	-
สหรัฐอเมริกา	2	2,050	<i>Alternaria tenuis</i>
ทานซาเนีย	1	150	-
5 ประเทศ	30 ครั้ง	14,370.05 กก.	