

การศึกษาชนิดของศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดข้าวสาลีที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ  
Interception of Quarantine Pest in Imported Wheat Grain Consignments

นงพร มาอยู่ดี<sup>1/</sup> ชลธิชา รักใคร่<sup>1/</sup> จรรยา มณีโชติ<sup>2/</sup> อีระ รัตนพันธ์<sup>3/</sup> สุทัศน์ แก้วสะอาด<sup>3/</sup>  
<sup>1/</sup> กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช  
<sup>2/</sup> สำนักผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช  
<sup>3/</sup> ด่านตรวจพืชแหลมฉบัง สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

บทคัดย่อ

การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดข้าวสาลี (*Triticum aestivum* L.) วงศ์ Poaceae นำเข้ามาจากต่างประเทศที่กลุ่มวิจัยการกักกันพืช และด่านตรวจพืชแหลมฉบังระหว่างตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2555 โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดข้าวสาลีที่นำเข้ามาจากเครือรัฐออสเตรเลีย อังกฤษ สหรัฐอเมริกา และแคนาดา จำนวน 32 ตัวอย่าง ได้ทำการตรวจและจำแนกชนิดศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการและทำการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชจากประเทศต่างๆทั่วโลก ผลการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายข้าวสาลี พบศัตรูพืชทั้งสิ้น 659 ชนิด จัดเป็น แมลง 440 ชนิด ไร 16 ชนิด เชื้อรา 49 ชนิด แบคทีเรีย 25 ชนิด ไวรัส 20 ชนิด ไล้เดือนฝอย 38 ชนิด หอยทาก 3 ชนิด และ วัชพืช 67 ชนิด จากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคศัตรูพืชชั้นละเอียดด้วยวิธี Visual inspection, Blotter method, Dilution plate method พร้อมทั้งปลูกทดสอบแสดงอาการผิดปกติในโรงเรือนปลูกพืช ผลการตรวจพบเชื้อรา 5 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Septonema chaetospira* ซึ่งเป็นโรคที่ไม่สำคัญด้านกักกันพืช พบเมล็ดวัชพืชจำนวน 17 ชนิด เป็นวัชพืชกักกันที่สำคัญด้านกักกันพืช 5 ชนิด ได้แก่ *Avena fatua*, *Chenopodium album*, *Galium aparine*, *Polygonum convolvulus* และ *Thlaspi arvense* ส่วนวัชพืชที่ไม่มีความสำคัญด้านกักกันพืชจำนวน 12 ชนิด ได้แก่ *Ambrosia* sp., *Amaranthus* sp., *Brassica* sp., *Kochia scoparia*, *Lithospermum arvense* *Lolium* sp., *Polygonum persicaria*, *Setaria viridis*, *Setaria* sp., *Silene dioica*, *Tragus australianus* และ *Rumex crispus* ได้ทำการควบคุมวัชพืชกักกันภายใต้พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 เพื่อป้องกันมิให้วัชพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศไทย

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-00-08-54

## คำนำ

ข้าวสาลี (Wheat: *Triticum aestivum* L) วงศ์ Poaceae พืชพวกหญ้าไม้ล้มลุกอายุหนึ่งปี ลำต้นสูงประมาณ 40-150 เซนติเมตร มีการแตกกอเป็นกระจุกหนาแน่น มีข้อและปล้อง 4- 7 ปล้อง ลำต้นรูปทรงกระบอกกลวง บริเวณโคนใหญ่ส่วนปลายเรียว มีรากแขนงจำนวนมาก ใบเป็นใบเดี่ยว การเรียงใบแบบสลับ ใบเจริญออกจากข้อของลำต้นโดยเรียงออกไปทางด้านข้างเป็น 2 แถว แผ่นใบแบนเรียบริ้วรูปแถบยาว 15-40 เซนติเมตร กว้าง 1-3 เซนติเมตร ช่อดอกแบบเชิงลาดยาว 5-15 เซนติเมตร เป็นดอกแบบสมบูรณ์เพศ ผลแบบธัญพืชมีลักษณะรี มีร่องตรงกลาง สีน้ำตาลแดง เหลืองขาว ข้าวสาลี จะแก่จัดพร้อมเก็บเกี่ยวภายใน 30-45 วัน หลังจากออกรวง ได้มีการนำเข้าข้าวสาลีจากประเทศอังกฤษ ออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา และแคนาดา ประมาณ 42,302,678 กิโลกรัม มูลค่า 511,190,512 บาท พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กำหนดให้เมล็ดพันธุ์ข้าวสาลีจัดเป็นสิ่งกักตุน (Restricted material) ในการนำเข้ามายังประเทศไทยต้องแจ้งการนำเข้า และมีใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทางกำกับมาเท่านั้น โดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยกำหนดไว้แต่อย่างใด การนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศ มีโอกาสที่ศัตรูพืชหลายชนิดที่อาจเป็นศัตรูพืชกักกันที่ร้ายแรงหรือศัตรูพืชที่สำคัญที่ก่อความเสียหายกับผลิตผลทางการเกษตรติดเข้ามาพร้อมกับเมล็ดพืชด้วย โดยอาจเป็นศัตรูพืชร้ายแรงที่ไม่มีปรากฏในประเทศไทย โดยเฉพาะในกลุ่มของเมล็ดวัชพืชร้ายแรง ซึ่งมีการนำเข้ามาเพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์หรือเป็นต้นพันธุ์ในการส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกกระจายทั่วประเทศไทย โดยในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เหล่านี้ในปริมาณมาก หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวสามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศไทย จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อเกษตรกรในประเทศและกระทบต่อการการเกษตรของประเทศไทย รวมทั้งกระทบต่อการส่งออกเมล็ดพันธุ์เพื่อการค้าไปยังประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำการตรวจสอบศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับพืชนำเข้า โดยต้องเพื่อทราบชนิดแหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืช มีประโยชน์ใช้อ้างอิงทางวิชาการ นำมาพิจารณาหามาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และกำหนดเป็นมาตรการทางด้านกฎหมายและทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้า หรือเปลี่ยนแปลงสภาพของพืชนำเข้าให้เป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืชต่อไป

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวสาลี
2. กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope และ compound microscope
3. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

4. สารเคมีตรวจสอบเชื้อโรคพืช
5. ภาชนะเก็บตัวอย่างพืช
6. หนังสือ และวารสารทั้งในประเทศและต่างประเทศ
7. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมทั้งการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม”  
(ISPM No. 11 : Pest risk analysis for quarantine pest including analysis of environmental risk )

### วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของข้าวสาลีและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเทอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของแตงกวา ลักษณะทั่วไปของพืช สายพันธุ์ พื้นที่การเพาะปลูก รายชื่อของประเทศที่ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืช ทั้งนอกประเทศและในประเทศ

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ข้าวสาลีนำเข้าในห้องปฏิบัติการ

การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชั้นละเอียดบนเมล็ดพันธุ์ข้าวสาลีที่นำเข้าจากต่างประเทศ เจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืช จะทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดข้าวสาลี มาทำการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ที่กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลงหรือเมล็ดวัชพืช

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA และตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์นำเข้า

2.2.1 การตรวจสอบเชื้อรา โดยตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์เชื้อราหรือศัตรูพืชอื่นๆ ซึ่งปะปนมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เช่นเมล็ดพันธุ์มีรูปร่างผิดปกติ หรืออาจติดมา ภายในเมล็ดพันธุ์โดยไม่แสดงอาการ รวมทั้งอาจติดมากับเศษพืชในลักษณะเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์เช่น Pycnidia เป็นต้น 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 แล้วจึงนำเมล็ด

พันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สเตอริโอ-ไมโครสโคป (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope)

## 2.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

### 1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

ในกรณีที่เชื้อติดมาในปริมาณมากจะสามารถแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรงหลังจากทำการแยกเชื้อด้วยวิธี Blotter method ได้ หรือทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate โดยสุมเมล็ดตามมาตรฐาน นำมาแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที ล้างตามด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ 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 ใช้ไปเปดต์ดูด suspension แต่ละความเข้มข้น จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) แล้วใช้แท่งแก้ว spread ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

### 2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ดผิปกติบนใบพืชหรือต้นพืช โดยการเพาะเมล็ดในดินหนึ่งฆ่าเชื้อที่มีอยู่จริง โดยเพาะ 25-50 เมล็ดต่อถาด และเก็บถาดเพาะที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เมื่อต้นกล้าออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิปกติบนพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชุ่มชื้นเป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิปกติบนใบพืช เก็บใบพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

#### 2.1) วิธี Dilution plate ตัดใบพืชที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ แล้วบดชิ้นส่วนในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาทำให้เจือจางเป็นลำดับจาก $10^{-1}$ ถึง $10^{-5}$ และดำเนินการเช่นเดียวกับขั้นตอนในข้อ (1)

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

### การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

1. ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

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 หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลตดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรครีซ

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

5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคนพืชอาศัย (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น  $10^8$  โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลุกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่น ปลุกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยง หรือเนื้อใบของต้นแตงกวาอายุ 2-3 สัปดาห์ ฉีดพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ในอุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจสอบลักษณะอาการโรคหลังปลุกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำไปเป็นโรคมายกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

#### 2.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

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

2) ปลุกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) เตรียมน้ำคั้นพืชสำหรับทดสอบโดยบดใบพืชที่แสดงอาการผิดปกติในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ตรวจสอบเชื้อไวรัสใช้ 0.1 M phosphate buffer pH 7.0) โดยใช้ใบพืชหนัก 1 กรัมต่อบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร ในสภาพเย็น จากนั้นใช้สาลีหรือน้ำที่สะอาดจุ่มน้ำคั้นพืชทาลงบนใบพืชทดสอบ ซึ่งโรยด้วยผงคาร์โบรันดัม (carborundum

ขนาด 600 mesh) หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 5 นาที ลำใบพืชและนำพืชทดสอบไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 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 แน่นอน และยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมาก วิธีการที่นำมาใช้เป็นแบบ Indirect ELISA ทำการบันทึกผล

2.2.4 การตรวจเมล็ดพืชชั้นละเอียดโดยทำการคัดแยกองค์ประกอบทางกายภาพได้แก่ เมล็ดพืชบริสุทธิ์ สิ่งเจือปน เมล็ดพืชอื่น นำเมล็ดพืชที่ตรวจพบมาทำการจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ใช้คู่มือจำแนกเมล็ดพืช

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ข้าวสาธิตนำเข้าไปในพื้นที่ของเกษตรกร โดยติดตามตรวจสอบในแปลงปลูกที่มีการนำเมล็ดพันธุ์นำเข้า ให้สังเกตอาการความผิดปกติของต้นพืช ทั้ง โคนต้น ราก ลำต้น ใบและผลของพืช และทำการเก็บตัวอย่างนำมาแยกเชื้อและทดสอบการเกิดโรคกับพืชในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวินิจฉัยเชื้อโรคศัตรูพืชอย่างละเอียด

#### เวลาและสถานที่ (เริ่มต้น-สิ้นสุด)

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2553 – กันยายน 2555 ( 2 ปี)

กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ด้านตรวจพืชฯ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร และแหล่งปลูกภายหลังการนำเข้า

#### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. จากการรวบรวมข้อมูลทั่วไปของข้าวสาธิตและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานทั้งในประเทศและต่างประเทศ พบว่าประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดข้าวสาธิตเป็นปริมาณมาก และจากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชของข้าวสาธิต พบว่าศัตรูพืช สามารถเข้าทำลายได้ทุกส่วนของข้าวสาธิต เช่น ใบ ผล ลำต้น ราก และเมล็ด เป็นต้น ข้าวสาธิตมีศัตรูพืชจำนวนทั้งสิ้น 659 ชนิด จัดเป็นแมลง 440 ชนิด ไร 16 ชนิด เชื้อรา 49 ชนิด แบคทีเรีย 25 ชนิด ไวรัส 20 ชนิดไส้เดือนฝอย 38 ชนิด หอยทาก 3 ชนิด และวัชพืช 67 ชนิด

2. ตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ข้าวสาธิตในห้องปฏิบัติการ

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากทุกประเทศในเบื้องต้น พบว่าลักษณะของเมล็ดมีสี เมล็ดสมบูรณ์ พบสิ่งเจือปนเล็กน้อยสงสัยอาจจะเป็นเมล็ดวัชพืช ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1999) และการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดยเมล็ดพันธุ์นำเข้าใน ห้องปฏิบัติการ จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวสาลี ที่นำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลีย อังกฤษ สหรัฐอเมริกา และแคนาดา จำนวน 32 ตัวอย่าง จากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์ข้าว สาลี ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method และ Dilution technique พบเชื้อรา 5 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp. และ *Septonema chaetospira* ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคร่วมกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และพบเมล็ดวัชพืช 17 ชนิด ซึ่งจัดเป็นวัชพืชที่สำคัญด้านกักกันพืชจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *Avena fatua*, *Chenopodium album*, *Galium aparine*, *Polygonum convolvulus* และ *Thlaspi arvense* ส่วนวัชพืชที่ไม่มีความสำคัญด้านกักกันพืชจำนวน 12 ชนิด ได้แก่ *Ambrosia* sp., *Amaranthus* sp., *Brassica* sp., *Kochia scoparia*, *Lithospermum arvense*, *Lolium* sp., *Polygonum persicaria*, *Setaria viridis*, *Setaria* sp., *Silene dioica*, *Tragus australianus* และ *Rumex crispus* ได้ทำการควบคุมวัชพืชกักกันภายใต้พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไข เพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่3) พ.ศ. 2551

#### สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวสาลี (*Triticum aestivum* L.) วงศ์ Poaceae นำเข้าจากต่างประเทศ โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวสาลีนำเข้าตั้งแต่เดือนตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2554 จาก 4 ประเทศ ได้แก่ เครือรัฐออสเตรเลีย อังกฤษ สหรัฐอเมริกา และแคนาดา จำนวน 32 ตัวอย่าง ผลการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายเมล็ดพันธุ์ข้าวสาลี มีศัตรูพืชจำนวน 659 ชนิด จัดเป็นแมลง 440 ชนิด ไร 16 ชนิด เชื้อรา 49 ชนิด แบคทีเรีย 25 ชนิด ไวรัส 20 ชนิดไส้เดือนฝอย 38 ชนิด หอยทาก 3 ชนิด และวัชพืช 67 ชนิด และจากตรวจวินิจฉัยเชื้อโรค และศัตรูพืชชั้นละเอียดยในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Visual inspection, Blotter method, Dilution plate method และปลูกทดสอบแสดงอาการผิดปกติในโรงเรือน ผลการตรวจพบเชื้อรา 5 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., และ *Septonema chaetospira* ซึ่งเป็นเชื้อโรคพืชที่ไม่สำคัญด้านกักกันพืช พบเมล็ดวัชพืชพบเมล็ดวัชพืช จำนวน 17 ชนิดเป็นวัชพืชกักกันที่สำคัญด้านกักกันพืช 5 ชนิด ได้แก่ *Avena fatua*, *Chenopodium album*, *Galium aparine*, *Polygonum convolvulus* และ *Thlaspi arvense* ส่วนวัชพืชที่ไม่มีความสำคัญด้านกักกันพืชจำนวน 12 ชนิด ได้แก่ *Ambrosia* sp., *Amaranthus* sp., *Brassica* sp., *Kochia scoparia*, *Lithospermum arvense*, *Lolium* sp., *Polygonum persicaria*, *Setaria viridis*, *Setaria* sp., *Silene dioica*, *Tragus australianus* และ *Rumex crispus* เนื่องจากสินค้าข้าวสาลี ล็อตที่ตรวจพบเมล็ดวัชพืชเป็นข้าวสาลีที่นำเข้ามาผลิตแบ่งไม่ได้

นำไปปลูก เจ้าหน้าที่กักกันพืชได้ให้ทำความสะอาดและควบคุมให้นำไปเข้าโรงงานแปรรูปเป็นแป้ง และควบคุมวัชพืชกักกันภายใต้พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่3) พ.ศ. 2551 เพื่อป้องกันมิให้วัชพืชจากต่างประเทศเข้ามาแพร่ระบาดภายในประเทศไทย

#### คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณวิชาญ สมานิ คุณวิภา เกิดพิพัฒน์ คุณสุธรรม คงเอียด คุณชัยรัตน์ หมั่นการ และน้องๆ ในห้องปฏิบัติการที่ช่วยสนับสนุนในการทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

#### เอกสารอ้างอิง

CAB INTERNATIONAL (2007). Crop Protection Compendium. CAB INTERNATIONAL, Wallingford, UK.

CABI. 2005. Crop Protection Compendium [CD-ROM]. CAB International. Wallingford, UK.

CISRO. 2004. Taxon Attribute Profiles *Marsilea drummondii* A.Braun.

<http://www.anbg.gov.au/cpbr/WfHC/Marsilea-drummondii/index.html>.

Extension Plant Pathology. 2010 . Diseases of melon ( *Cucumis melo* ) in Arizona. The University of Arizona. USA.

(<http://cals.arizona.edu/PLP/plpext/diseases/vegetables/melon/melon.html>)

Friend, E. 1983. Queensland Weed Seeds. Queensland Department of Primary Industries, Brisbane. 206p.

Holm, G.L., D.L. Plucknett, J.V. Pancho and J.P. Herberger. 1977. The World ' s Worst Weeds, Distribution and Biology. The University Press of Hawaii, Honolulu 609 pp.

Holm, G.L., J.V. Pancho, J.P. herberger and D.L. Plucknett. 1979. A Geographical Atlas of World Weeds. John Wiley & sons., Inc., New York. 391 pp.

Horlock, C. and McGrath, M. T. 2004. Powdery mildew of melons (watermelon, rockmelon and honeydew). Department of Primary Industries. Queensland government. Australia. (<http://www2.dpi.qld.gov.au/horticulture/11644.html>)

NIAB. 2004. Seed Identification Handbook. Official seed Testing station for England and Wales. Huntingdon road, Cambridge, UK. 94 pp.

Singh, S. 2001. Interception of weeds in imported wheat grain consignments. Journal Annals of Agricultural Research, Vol. 22, No. 1, pp. 83-87.



เมล็ดพืชที่ปะปนมากับเมล็ดข้าวสาลีที่นำเข้าจากต่างประเทศ



*Avena fatua* L. (0.65X)

F. Poaceae



*Chenopodium album* L. (1.25X)

F. chenopodiaceae



*Galium aparine* L. (1.6X)

F. Rubiaceae



*Polygonum convolvulus* L. (1.25X)

F. Polygonaceae



*Thlaspi arvense* L. (1.25X)

F. Brassicaceae



*Lithospermum arvense* L. (1.25X)

F. Boraginaceae