

การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พืชวงศ์กะหล่ำ
ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ

Study on Quarantine Pests Associated with Some Imported
Brassica Seeds (*Brassica* sp.)

ศรีวิเศษ เกษสังข์ วันเพ็ญ ศรีชาติ วานิช คำพานิช
ปรียพรรณ พงศาพิชณ์ ชลธิชา รักไคร้ โสภาก พิศวงปราการ
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

กะหล่ำดอก (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.) กะหล่ำปลี (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) และกวางตุ้ง (*Brassica chinensis* var. *parachinensis*) จัดเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์กะหล่ำ (Family Brassicaceae) จากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายทุกส่วนของพืช **กะหล่ำดอก** มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 104 ชนิด จัดเป็นแมลง 47 ชนิด โปรโตซัว 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 6 ชนิด เชื้อรา 25 ชนิด แบคทีเรีย 12 ชนิด ไวรัส 4 ชนิด และ วัชพืช 9 ชนิด **กะหล่ำปลี** มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 143 ชนิด จัดเป็นแมลง 78 ชนิด โปรโตซัว 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 14 ชนิด หอยทาก 1 ชนิด เชื้อรา 24 ชนิด แบคทีเรีย 13 ชนิด ไวรัส 3 ชนิด และ วัชพืช 9 ชนิด **กวางตุ้ง** มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 48 ชนิด จัดเป็นแมลง 19 ชนิด โปรโตซัว 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 2 ชนิด เชื้อรา 12 ชนิด แบคทีเรีย 9 ชนิด ไวรัส 4 ชนิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการ โดยการส่องตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พืชทั้ง 3 ชนิด ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2554 และตรวจสอบเชื้อโรคและศัตรูพืช ด้วยตาเปล่า (Visual inspection) Blotter method และ Dilution plate method พบว่า**เมล็ดพันธุ์กะหล่ำดอก** ที่นำเข้ามาจาก 10 ประเทศ ได้แก่ ไต้หวัน ญี่ปุ่น สาธารณรัฐประชาชนจีน สหรัฐอเมริกา อิตาลี อินเดีย ซิลี เนเธอร์แลนด์ ฝรั่งเศส และเม็กซิโก จำนวน 70 ตัวอย่าง ปริมาณนำเข้า 8.63 ตัน ตรวจพบเชื้อ *Alternaria brassicicola*, *A. tenuis*, *Cladosporium* sp., *Curvularia lunata*, *Fusarium semitectum*, *F. solani*, *Stemphylium solani* และ *Ulocladium* sp. **เมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลี** นำเข้ามาจาก 9 ประเทศ ได้แก่ ญี่ปุ่น ซิลี สาธารณรัฐประชาชนจีน สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย ไต้หวัน เกาหลีใต้ เนเธอร์แลนด์ นิวซีแลนด์ จำนวน 84 ตัวอย่าง น้ำหนัก 44.04 ตัน ตรวจพบเชื้อ *Alternaria brassicicola*, *A. tenuis*, *Cladosporium* sp., *Curvularia lunata*, *Fusarium semitectum*, *F. solani*, *Phoma* sp., *Ulocladium* sp. และ *Stachybotrys* sp. และ**เมล็ดพันธุ์กวางตุ้ง** นำเข้ามาจาก 7 ประเทศ ได้แก่

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-00-04-54

นิวซีแลนด์ สาธารณรัฐประชาชนจีน เดนมาร์ก อิตาลี ไต้หวัน ญี่ปุ่น และฮ่องกง จำนวน 57 ตัวอย่าง น้ำหนัก 341.83 ตัน ตรวจพบเชื้อ *Alternaria brassicicola*, *A. tenuis*, *Fusarium semitectum* และ *Ulocladium* sp. และจากการนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการของโรค (Seedling symptom test) ในสถานกักกันพืช ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นพืชวงศ์กะหล่ำทั้ง 3 ชนิด ดังกล่าว

คำนำ

พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กำหนดให้เมล็ดพันธุ์พืชผักต่าง ๆ ดอกไม้หรือไม้ประดับหลายชนิดจัดเป็นสิ่งกักกัก (Restricted material) และสิ่งไม่ต้องห้าม (unprohibited materials) ในการนำเข้ามายังประเทศไทยต้องแจ้งการนำเข้า มีใบรับรองสุขอนามัยพืชและหนังสือรับรองว่าไม่เป็นพืชที่ได้จากการตัดต่อสารพันธุกรรมจากประเทศต้นทางกำกับมาด้วยพร้อมกับเมล็ดพันธุ์นำเข้า การนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศ มีโอกาสที่ศัตรูพืชหลายชนิดที่อาจเป็นศัตรูพืชกักกันที่ร้ายแรงหรือศัตรูพืชที่สำคัญที่ก่อความเสียหายกับผลิตผลทางการเกษตรติดเข้ามาพร้อมกับเมล็ดพืชด้วย โดยอาจเป็นศัตรูพืชร้ายแรงที่ไม่มีปรากฏในประเทศไทย โดยเฉพาะในกลุ่มของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่ติดมากับพืชวงศ์กะหล่ำ ซึ่งมีการนำเข้ามาเพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์ให้เกษตรกรเพาะปลูกกระจายทั่วไปในประเทศไทย โดยในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เหล่านี้ในปริมาณมาก หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวสามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศไทย จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อเกษตรกรในประเทศและกระทบต่อการส่งออกพืชผักผลไม้ไทยไปยังต่างประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำการตรวจสอบศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับพืชนำเข้า เพื่อทราบชนิดและแหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้าและเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืช มีประโยชน์ใช้อ้างอิงทางวิชาการ นำมาพิจารณากำหนดมาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และมาตรการทางด้านกฎหมายและทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้า หรือเพื่อกำหนดสถานภาพของพืชนำเข้าให้เป็นสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกักกักตามพระราชบัญญัติกักพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พืชวงศ์กะหล่ำ 3 ชนิด ได้แก่ กะหล่ำดอก กะหล่ำปลี และกวางตุ้งที่นำเข้าจากต่างประเทศ
2. กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope และ Compound microscope
3. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

4. สารเคมีตรวจสอบเชื้อโรคพืช
5. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างพืช
6. ชุดตรวจสอบศัตรูพืช (ELISA Kit)
7. หนังสือ และเอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้องกับเชื้อโรคและศัตรูพืช
8. Diagnostic protocols เช่น EPPO diagnostic protocols

วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของกะหล่ำดอก กะหล่ำปลี กวางตุ้งและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเทอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของกะหล่ำดอก กะหล่ำปลี กวางตุ้ง ลักษณะทั่วไปของพืช รายชื่อของประเทศที่ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืชทั้งนอกประเทศและในประเทศ

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขึ้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำดอก กะหล่ำปลี กวางตุ้งนำเข้าในห้องปฏิบัติการ

การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขึ้นละเอียดบนเมล็ดพันธุ์กะหล่ำดอก กะหล่ำปลี กวางตุ้งที่นำเข้าจากต่างประเทศทางด้านตรวจพืช เจ้าหน้าที่จะทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพืชมาทำการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขึ้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลงหรือเมล็ดวัชพืช

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1999) และตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขึ้นละเอียด เมล็ดพันธุ์นำเข้า

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 วางเมล็ดพันธุ์กะหล่ำดอก กะหล่ำปลี กวางตุ้ง 25 เมล็ดต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำจานเพาะเมล็ดไปบ่มเชื้อ (incubate) ได้แสง near ultraviolet (NUV) สลับกับความมืด 12/12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สเตอริโอไมโครสโคป (Stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope)

2.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

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

2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ดผิปกติบนใบพืชหรือต้นพืช

โดยการเพาะเมล็ดในดินหนึ่งฆ่าเชื้อที่มีอยู่จริง โดยเพาะ 100 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 ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสมดู่เข็ญเชื้อ 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 ภายใต้กระแสมดู่เข็ญเชื้อแล้ววางพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA หรืออาหารเลี้ยงเชื้อกึ่ง

เฉพาะเจาะจง (semiselective media) นำจานเลี้ยงเชื้อไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วันจึงนำมาตรวจสอบหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรียเก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจนครบ 3-5 วัน เพื่อตรวจหาโคโลนีของแบคทีเรียชนิดอื่นจากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และนำไปศึกษาคุณลักษณะเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

1. ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนีตรวจสอบรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

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 หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลตดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรครดพิษ

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

5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคนบนพืชอาศัย (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่น ปลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยง หรือเนื้อใบของต้นกะหล่ำดอก กะหล่ำปลี กวางตุ้งอายุ 2-3 สัปดาห์ ฉีดพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจสอบลักษณะอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็นโรคนมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

2.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

1) ปลูกสังเกตลักษณะอาการโรคนต้นกล้า (Seedling symptom test) โดยเพาะเมล็ดพันธุ์ในดินอบฆ่าเชื้อ ตัวอย่างละ 200 เมล็ด เก็บรักษาไว้ในโรงปลูกพืชกันแมลงเมื่อต้น

พืชออกไปจริง 1-2 ใบ จึงตรวจสอบลักษณะอาการโรค ต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ สงสัยว่ามีสาเหตุจากเชื้อไวรัสจะนำไปอ่อนไปตรวจสอบด้วยวิธีการอื่นเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

2) plugged leaf test (Infectivity test) เตรียมน้ำคั้นพืชสำหรับทดสอบโดยบดใบพืชที่แสดงอาการผิดปกติในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ตรวจสอบเชื้อไวรัสใช้ 0.1 M phosphate buffer pH 7.0) โดยใช้ใบพืชหนัก 1 กรัมต่อบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร ในสภาพเย็น จากนั้นใช้สาลีหรือนิวที่สะอาดจุ่มน้ำคั้นพืชทาลงบนใบพืชทดสอบ ซึ่งโรยด้วยผงคาร์โบรันดัม (carborundum ขนาด 600 mesh) หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 5 นาที ล้างใบพืชและนำพืชทดสอบไปเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 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

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2553 – กันยายน 2555 (2 ปี)

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และด่านตรวจพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมข้อมูลทั่วไปของกะหล่ำดอก กะหล่ำปลี กวางตุ้งและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

Domain: Eukaryota

Kingdom: Viridiplantae

Phylum: Spermatophyta

class angiospermae

subclass Dicotyledeonae

order Brassicales

family Brassicaceae

กะหล่ำดอก (Cauliflower) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Brassica oleracea* var. *botrytis* L.
กะหล่ำปลี (Cabbage) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Brassica oleracea* var. *capitata* L. กวางตุ้ง (Pakchoi, Mustard) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Brassica chinensis* var. *parachinensis*

ปริมาณการนำเข้าระหว่างเดือนตุลาคม 2553-กันยายน 2554

ประเทศไทยมีการนำเข้า**เมล็ดพันธุ์กะหล่ำดอก** เป็นปริมาณ 8.63 ตัน โดยนำเข้าจาก 10 ประเทศ ได้แก่ ไต้หวัน 4.62 ตัน ญี่ปุ่น 1.99 ตัน สาธารณรัฐประชาชนจีน 1.92 ตัน สหรัฐอเมริกา 1.30 กิโลกรัม อิตาลี 80.61 กิโลกรัม อินเดีย 10.02 กิโลกรัม ซิลี 0.754 กิโลกรัม เนเธอร์แลนด์ 0.14 กิโลกรัม ฝรั่งเศส 0.09 กิโลกรัม และเม็กซิโก 0.02 กิโลกรัม จำนวน 70 ตัวอย่าง **เมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลี** นำเข้าจาก 9 ประเทศ น้ำหนัก 44.04 ตัน โดยนำเข้าจาก ญี่ปุ่น 41.97 ตัน ซิลี 0.8 ตัน สาธารณรัฐประชาชนจีน 0.44 ตัน สหรัฐอเมริกา 0.41 ตัน ออสเตรเลีย 0.15 ตัน ไต้หวัน 0.11 ตัน เกาหลีใต้ 0.09 ตัน และเนเธอร์แลนด์ 0.02 ตัน นิวซีแลนด์ 100 กรัม จำนวน 84 ตัวอย่าง และ**เมล็ดพันธุ์กวางตุ้ง** นำเข้าจาก 7 ประเทศ น้ำหนัก 341.83 ตัน โดยนำเข้าจาก นิวซีแลนด์ 285.65 ตัน สาธารณรัฐประชาชนจีน 27.14 ตัน เดนมาร์ก 16.78 ตัน อิตาลี 5.5 ตัน ไต้หวัน 3.01 ตัน ญี่ปุ่น 2.78 ตัน และฮ่องกง 1 ตัน จำนวน 7 ตัวอย่าง

ศัตรูพืชที่พบเข้าทำลายกะหล่ำดอก กะหล่ำปลี และกวางตุ้ง

จากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายพืชวงศ์กะหล่ำ พบว่า **กะหล่ำดอก** มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 104 ชนิด จัดเป็นแมลง 47 ชนิด โปรโตซัว 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 6 ชนิด เชื้อรา 25 ชนิด แบคทีเรีย 12 ชนิด ไวรัส 4 ชนิด และ วัชพืช 9 ชนิด **กะหล่ำปลี** มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 143 ชนิด จัดเป็นแมลง 73 ชนิด โปรโตซัว 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 14 ชนิด หอยทาก 1 ชนิด เชื้อรา 24 ชนิด แบคทีเรีย 13 ชนิด ไวรัส 3 ชนิด และ วัชพืช 9 ชนิด **กวางตุ้ง** มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 48 ชนิด จัดเป็นแมลง 19 ชนิด โปรโตซัว 1 ชนิด ไร 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 2 ชนิด เชื้อรา 12 ชนิด แบคทีเรีย 9 ชนิด ไวรัส 4 ชนิด

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำดอก กะหล่ำปลี กวางตุ้งที่นำเข้าจากต่างประเทศ

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากทุกประเทศในเบื้องต้น พบว่า เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือการปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืช

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1999) และการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์เพื่อดำเนินการตรวจสอบเชื้อโรคและศัตรูพืช ด้วยวิธีตรวจสอบด้วยตาเปล่า (Visual inspection) Blotter method และ Dilution plate method พบว่า**เมล็ดพันธุ์กะหล่ำดอก** ที่นำเข้าจาก 10 ประเทศ ได้แก่ ไต้หวัน ญี่ปุ่น สาธารณรัฐประชาชนจีน สหรัฐอเมริกา อิตาลี อินเดีย ซิลี เนเธอร์แลนด์ ฝรั่งเศส และเม็กซิโก ตรวจพบเชื้อ *Alternaria brassicicola*, *A. tenuis*, *Cladosporium* sp., *Curvularia lunata*, *Fusarium semitectum*, *F. solani*, *Stemphylium solani* และ *Ulocladium* sp. **เมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลี** นำเข้าจาก 9 ประเทศ ได้แก่ ญี่ปุ่น ซิลี สาธารณรัฐประชาชนจีน สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย ไต้หวัน เกาหลีใต้ เนเธอร์แลนด์ นิวซีแลนด์ จำนวน ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อ *Alternaria brassicicola*, *A. tenuis*,

Cladosporium sp., *Curvularia lunata*, *Fusarium semitectum*, *F. solani*, *Phoma* sp., *Ulocladium* sp. และ *Stachybotrys* sp. และ**เมล็ดพันธุ์กวางตุ้ง** นำเข้าจาก 7 ประเทศ ได้แก่ นิวซีแลนด์ สาธารณรัฐประชาชนจีน เดนมาร์ก อิตาลี ไต้หวัน ญี่ปุ่น และฮ่องกง ตรวจพบเชื้อ *Alternaria brassicicola*, *A. tenuis*, *Fusarium semitectum* และ *Ulocladium* sp. และจากการนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการของโรค (Seedling symptom test) ในสถานกักกันพืช ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นพืชวงศ์กะหล่ำทั้ง 3 ชนิด

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เมล็ดพันธุ์วงศ์กะหล่ำ ได้แก่ กะหล่ำดอก กะหล่ำปลี และกวางตุ้ง จากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลาย**กะหล่ำดอก** มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 104 ชนิด จัดเป็นแมลง 47 ชนิด โปรโตซัว 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 6 ชนิด เชื้อรา 25 ชนิด แบคทีเรีย 12 ชนิด ไวรัส 4 ชนิด และ วัชพืช 9 ชนิด **กะหล่ำปลี** มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 143 ชนิด จัดเป็นแมลง 78 ชนิด โปรโตซัว 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 14 ชนิด หอยทาก 1 ชนิด เชื้อรา 24 ชนิด แบคทีเรีย 13 ชนิด ไวรัส 3 ชนิด และ วัชพืช 9 ชนิด **กวางตุ้ง** มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 48 ชนิด จัดเป็นแมลง 19 ชนิด โปรโตซัว 1 ชนิด ไร 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 2 ชนิด เชื้อรา 12 ชนิด แบคทีเรีย 9 ชนิด ไวรัส 4 ชนิด และจากการตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการ โดยการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พืชทั้ง 3 ชนิด ที่นำเข้าจากต่างประเทศระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2554 และดำเนินการตรวจสอบเชื้อโรคและศัตรูพืช ด้วยวิธีตรวจสอบด้วยตาเปล่า (Visual inspection) Blotter method และ Dilution plate method พบว่า**เมล็ดพันธุ์กะหล่ำดอก** ที่นำเข้าจาก 10 ประเทศ ตรวจพบเชื้อ *Alternaria brassicicola*, *A. tenuis*, *Cladosporium* sp., *Curvularia lunata*, *Fusarium semitectum*, *F. solani*, *Stemphylium solani* และ *Ulocladium* sp. **เมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลี** นำเข้าจาก 9 ประเทศ ตรวจพบเชื้อ *Alternaria brassicicola*, *A. tenuis*, *Cladosporium* sp., *Curvularia lunata*, *Fusarium semitectum*, *F. solani*, *Phoma* sp., *Ulocladium* sp. และ *Stachybotrys* sp. และ**เมล็ดพันธุ์กวางตุ้ง** นำเข้าจาก 7 ประเทศ ตรวจพบเชื้อ *Alternaria brassicicola*, *A. tenuis*, *Fusarium semitectum* และ *Ulocladium* sp. และจากการนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการของโรค (Seedling symptom test) ในสถานกักกันพืช ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นพืชวงศ์กะหล่ำทั้ง 3 ชนิด

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณชัยรัตน์ หมั่นการ คุณยุทธนา ประมาณ คุณวิชาญู สมานธิ คุณวิภา เกิดพิพัฒน์ คุณอรนุช นาคะโร คุณสุธรรม คงเอียด คุณจิรวุฒน์ ไกรนรา และคุณอัญชลี ราศี ที่ทำงานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยดี ตลอดจนเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ที่ให้ความร่วมมือในการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ เพื่อตรวจสอบในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช

เอกสารอ้างอิง

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ และ วันเพ็ญ ศรีทองชัย. 2545. โรคไวรัสที่สำคัญของพืชผักและพืชน้ำมัน. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ. 88 หน้า.

Crop Protection Compendium. 2007. ed. Wallingford, UK: CPC.

(<http://www.cabicompendium.org/cpc>)

Denis, P. 1994. Diseases of vegetable crops. Department of Primary Industries. Australia 164 pp.

Hutchins, J.D. and Reeves, J.C. 1997. Seed Health Testing Progress Towards the 21th Century. CAB International. UK 263 pp.