การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำเข้าจากต่างประเทศ

Study on Quarantine Pests Associated with Imported Sorghum Seeds

ศรีวิเศษ เกษสังข์ วันเพ็ญ ศรีชาติ วานิช คำวานิช
ชลธิชา รักใคร่
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ข้าวฟ่าง (*Sorghum bicolor* (l.) Moench) จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายส่วนต่างๆ ของข้าวฟ่างมีศัตรูพืชทั้งสิ้น 651 ชนิด เป็นแมลง 378 ชนิด ไรและแมงมุม 8 ชนิด ไส้เดือนฝอย 39 ชนิด โปรโตซัว 1 ชนิด เชื้อรา 100 ชนิด แบคทีเรีย 25 ชนิด ไวรัส 10 ชนิด วัชพืช 84 ชนิด และหอยทาก 1 ชนิด และจากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำ เข้าจาก 4 ประเทศ ได้แก่ อาร์เจนตินา ออสเตรเลีย อินเดีย และ สหรัฐอเมริการวม 18 ตัวอย่าง มาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ลักษณะเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis, Alternaria raphani, Cladosporium* sp., *Ulocladium* sp., *Curvularia pallescens* และ *Drechslera halodes* แต่จากการนำเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างมาตรวจด้วยวิธี Dilution plate ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างมาปลูกสังเกตอาการโรค(Seedling symptom test)ในโรงเรือน ปลูกพืชผลปรากฏว่าไม่พบอาการผิดปกติกับต้นข้าวฟ่างและเมื่อติดตามตรวจสอบโรคและศัตรูพืชในแปลงปลูกในท้องที่จังหวัดลพบุรี สระบุรีและเชียงใหม่ ตรวจพบโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Curvularia pallescens* อาการใบจุดพบเชื้อรา *Curvularia lunata* และ *Nigrospora* sp. ซึ่งโรคและศัตรูพืชที่ตรวจพบกับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำเข้าจากต่างประเทศและในแปลงปลูกดังกล่าวไม่นับเป็นโรคและศัตรูพืชที่สำคัญทางกักกันพืช.

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-03-00-13-56

คำนำ

พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กำหนดให้เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง (Sorghum) จัดเป็นสิ่งต้องห้าม (Prohibited material) แต่เนื่องจากในขณะนี้อยู่ในข้อยกเว้นตามบทเฉพาะกาล ดังนั้นการนำข้าเมล็ดพันธุ์พันธุ์ข้าวฟ่างจากแหล่งที่กำหนด จะต้องแจ้งการนำเข้า ณ ด่านตรวจพืชที่นำเข้าและมีใบรับรองสุขอนามัยพืช(Phytosanitary Certificate) และหนังสือรับรองว่าไม่เป็นพืชตัดต่อสารพันธุ์กรรม (Non - GMO_s Certificate) จากประเทศต้นทางกำกับมาด้วย การนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศโอกาสที่ศัตรูพืชหลายชนิดที่อาจเป็นศัตรูพืชที่ร้ายแรงหรือมีความสำคัญที่ก่อให้เกิดความเสียหายกับผลิตผลทางการเกษตรติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์พืชนั้นๆด้วย ซึ่งอาจเป็นศัตรูพืชที่ร้ายแรงที่ไม่มีรายงานในประเทศไทย โดยเฉพาะในกลุ่มของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่ติดมากับข้าวฟ่างซึ่งมีการนำเข้ามาเพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์ ในการส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกกระจายทั่วประเทศไทย โดยในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างเป็นปริมาณมาก ในปี 2556 มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากต่างประเทศจำนวน 228.40 ตัน หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวและสามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศไทย จะก่อให้เกิดผลกระทบทำความเสียหายต่อการเกษตรในประเทศและกระทบต่อการส่งออกไปยังต่างประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการศึกษาถึงชนิดของศัตรูพืชที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้า เพื่อให้ทราบชนิด แหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืช ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการใช้อ้างอิงทางวิชาการ นำมาพิจารณาหามาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และกำหนดเป็นมาตรการทางด้านกฎหมายและทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้าต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง นำเข้าจากต่างประเทศ
2. กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope และ compound microscope
3. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
4. สารเคมีตรวจสอบเชื้อโรคพืช
5. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่าง
6. ชุดตรวจสอบศัตรูพืช (ELISA Kit)
7. หนังสือ และวารสารทั้งในประเทศและต่างประเทศที่เกี่ยวข้องกับเชื้อโรคและศัตรูพืช
8. Diagnostic protocols เช่น EPPO diagnostic protocols.
9. โรงเรือนปลูกพืชเพื่อสังเกตอาการผิดปกติ

วิธีการ

1.รวบรวมข้อมูลทั่วไปของข้าวฟ่างและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเตอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของข้าวฟ่างลักษณะทั่วไปของพืช สายพันธุ์ พื้นที่การเพาะปลูก รายชื่อของประเทศที่

ประเทศไทยมีการการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืชทั้งนอกประเทศและในประเทศ

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการกับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างนำเข้าจากต่างประเทศ

ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำเข้าจากต่างประเทศมาทำการตรวจวินิจฉัยโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลง เมล็ดวัชพืช หรือลักษณะเมล็ดที่แสดงอาการผิดปกติ ที่มีสาเหตุจากเชื้อโรค

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

2.2.1 การตรวจสอบเชื้อรา

1) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะยังไม่งอก (Dry seed examination)

โดยตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์เชื้อราหรือศัตรูพืชอื่นๆ ซึ่งปะปนมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เช่นเมล็ดพันธุ์มีรูปร่างผิดปกติ หรืออาจติดมา ภายในเมล็ดพันธุ์โดยไม่แสดงอาการ รวมทั้งอาจติดมากับเศษพืชในลักษณะเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์เช่น Pycnidia เป็นต้น

2) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะเมล็ดงอก (Germinated seed examination)

สุ่มตัวอย่างเมล็ดตามวิธีการมาตรฐาน ในปริมาณที่เหมาะสมวิเคราะห์โดยสุ่มแยกตามสายพันธุ์ มาทดสอบด้วยวิธี Blotter method โดยวางเมล็ดลงบนกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จำนวน 3 แผ่นที่ชุ่มน้ำซึ่งวางอยู่ในจานเลี้ยงเชื้อ วางเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง 25 เมล็ดต่อจานเลี้ยงเชื้อ จำนวน 400 เมล็ด จากนั้นนำจานเพาะเมล็ดไปบ่มเชื้อ (incubate) ใต้แสง near ultraviolet (NUV) สลับกับความมืด 12/12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอไมโครสโคป (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope) ต่อไป

2.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

ในกรณีที่เชื้อติดมาในปริมาณมากจะสามารถแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรงหลังจากทำการแยกเชื้อด้วยวิธี Blotter method ได้ หรือทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate โดยสุ่มเมล็ดตามมาตรฐาน นำมาแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายในตู้เขี่ยเชื้อ เมื่อเมล็ดแห้งแล้วจึงนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบด แล้วเทใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ (0.85% NaCl) หรือบัฟเฟอร์ จำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยวางบนเครื่องเขย่า จากนั้นนำมาทำให้เจือจางให้มีความเจือจางเป็น 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} และ 10^{-5} ตามลำดับ ใช้ไปเปตต์ดูด suspension แต่ละความเข้มข้น

จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) แล้วใช้แท่งแก้วลนไฟฆ่าเชื้อ spread ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งแสดงอาการผิดปกติ

โดยการเพาะเมล็ดในดินนึ่งฆ่าเชื้อ จำนวน 100 เมล็ดต่อถาดเพาะเมล็ด และนำถาดเพาะเมล็ดเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส รดน้ำเช้าเย็นในโรงเรือนปลูกพืช ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช เมื่อต้นกล้าออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิดปกติของพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชุ่มชื้นเป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนใบ กิ่ง ลำต้น โค่นต้น และราก เก็บส่วนของพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

2.1) วิธี Dilution plate ตัดใบพืชตัดบริเวณรอยต่อส่วนที่เป็นโรคและปกติ ที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายในตู้เขี่ยเชื้อ จากนั้นบดชิ้นส่วนของพืชในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาทำให้เจือจางเป็นลำดับจาก 10^{-1} ถึง 10^{-5} และดำเนินการเช่นเดียวกับ ขั้นตอนในข้อ (1)

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

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

1. ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงหรือกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

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 หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช

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

5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัย (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^{8} โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่นปลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ฉีดพ่นน้ำ

ให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจลักษณะอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

2.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

1) ปลูกสังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้นกล้า (Seedling symptom test) โดยเพาะเมล็ดพันธุ์ในดินอบฆ่าเชื้อ ตัวอย่าง 100 เมล็ด เก็บรักษาไว้ในโรงปลูกพืชกันแมลงเมื่อต้นพืชออกใบจริง 1-2 ใบ จึงตรวจสอบลักษณะอาการโรค ต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ สงสัยว่ามีสาเหตุจากเชื้อไวรัสจะนำใบอ่อนไปตรวจสอบด้วยวิธีการอื่นเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

2) ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) เตรียมน้ำคั้นพืชสำหรับทดสอบโดยบดใบพืชที่แสดงอาการผิดปกติในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ตรวจสอบเชื้อไวรัสใช้ 0.1 M phosphate buffer pH 7.0) โดยใช้ใบพืชหนัก 1 กรัมต่อบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร ในสภาพเย็น จากนั้นใช้สำลีหรือนิ้วที่สะอาดจุ่มน้ำคั้นพืชทาลงบนใบพืชทดสอบ ซึ่งโรยด้วยผงคาร์โบรันดัม (carborundum ขนาด 600 mesh) หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 5 นาที ล้างใบพืชและนำพืชทดสอบไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 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

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกข้าวฟ่างในท้องที่ภาคกลางและภาคเหนือ

ทำการติดตามตรวจสอบต้นพืชที่มีการนำเมล็ดพันธุ์นำเข้าไปเพาะปลูกในแปลงปลูกข้าวฟ่างในภาคกลางและภาคเหนือ โดยสังเกตอาการปกติของต้นพืชทั้ง โคนต้น ราก ลำต้น ใบและเมล็ดพืช และทำการเก็บตัวอย่างอาการดังกล่าว นำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง แยกเชื้อ จัดจำแนกชนิดของเชื้อ และทดสอบการเกิดโรคกับพืชในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวินิจฉัยเชื้อโรคศัตรูพืชอย่างละเอียด เช่นเดียวกับในขั้นตอนที่ 2

4. การบันทึกข้อมูลเชื้อโรคและศัตรูพืชที่ตรวจพบในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและศัตรูพืชที่ตรวจพบในแปลงปลูก และสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

โดยการจัดทำข้อมูลเชื้อโรคและศัตรูพืชที่ตรวจพบในห้องปฏิบัติการทั้งจากเมล็ดพันธุ์นำเข้าและศัตรูพืชตรวจพบในแปลงปลูกข้าวฟ่างและสรุปการทดสอบ

เวลาและสถานที่

เวลา: เดือนตุลาคม 2555 – กันยายน 2556

สถานที่: ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตรและแปลงปลูกข้าวฟ่างในท้องที่ภาคกลางและภาคเหนือ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมข้อมูลทั่วไปของข้าวฟ่าง และข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ข้าวฟ่าง (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)

Kingdom : Viridiplantae
Phylum : Spermatophyta
Class : Monocotyledonae
Order : Cyperales
Family : Poaceae
Genus : Sorghum
Species : *Sorghum bicolor*

แหล่งปลูกข้าวฟ่างในประเทศไทย

1. ภาคเหนือ : นครสวรรค์ เพชรบูรณ์
2. ภาคกลาง : ลพบุรี สระบุรี สุพรรณบุรี

ปริมาณการนำเข้า

ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากต่างประเทศระหว่างเดือน ตุลาคม 2555 – กันยายน 2556 ปริมาณนำเข้า 228,402.50 กิโลกรัม มูลค่าการนำเข้า 13,463,213.42 บาท โดยนำเข้าจาก อาร์เยนตินา ออสเตเลีย อินเดีย และสหรัฐอเมริกา และให้ดำเนินการสุ่มตัวอย่าง เมื่อตรวจสอบศัตรูพืชจำนวน 18 ตัวอย่าง

ศัตรูพืชที่พบเข้าทำลายข้าวฟ่างการศึกษาเบื้องต้นในการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช พบว่า ขั้นตอนการจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest categorization) มีสิ่งมีชีวิตที่เป็นศัตรูพืช 651 ชนิด เป็นแมลง 378 ชนิด ไรและแมงมุม 8 ชนิด ไส้เดือนฝอย 39 ชนิด โปรโตซัว 1 ชนิด เชื้อรา 100 ชนิด แบคทีเรีย 25 ชนิด ไวรัส 10 ชนิด วัชพืช 84 ชนิด และหอยทาก 1 ชนิด จากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเบื้องต้นสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากต่างประเทศเข้ามาในราชอาณาจักร พบศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทย และเป็นศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงสูงที่อาจติดเข้ามาและก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชผลในประเทศ ดังนั้นเพื่อเป็นการป้องกันการระบาดของศัตรูพืชดังกล่าว หรือศัตรูชนิดใหม่จึงทำการตรวจสอบหาศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างเป็นข้อมูลในการหามาตรการที่เหมาะสมกับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง จากต่างประเทศเข้ามาในราชอาณาจักรต่อไป

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างนำเข้าจากต่างประเทศในห้องปฏิบัติการ

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากทุกประเทศในเบื้องต้น พบว่าลักษณะของเมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช

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

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำเข้าจาก 4 ประเทศ ได้แก่ อาร์เจนตินา ออสเตรเลีย อินเดีย และ สหรัฐอเมริกา มาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าลักษณะเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืชและจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อราจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis, Alternaria raphani, Cladosporium* sp., *Ulocladium* sp., *Curvularia pallescens* และ *Drechslera halodes* แต่จากการนำเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างมาตรวจด้วยวิธี Dilution plate ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคบนต้นพืชในโรงเรือน (Seedling symptom test) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นข้าวฟ่างลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ไม่แสดงอาการโรค

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างในแปลงปลูกในท้องที่ภาคกลางและภาคเหนือ

จากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างในแปลงปลูกในท้องที่จังหวัดลพบุรี สระบุรีและเชียงใหม่ ตรวจพบโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Curvularia pallescens* อาการใบจุดพบเชื้อรา *Curvularia lunata* และ *Nigrospora* sp. ซึ่งโรคและศัตรูพืชที่ตรวจพบกับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำเข้าและในแปลงปลูกไม่นับเป็นโรคและศัตรูพืชที่สำคัญทางกักกันพืช

4. การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและศัตรูพืชที่ติดตามตรวจสอบในแปลงปลูก และสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำเข้าจากต่างประเทศ ที่ตรวจพบพบศัตรูพืช และจากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำเข้าจากต่างประเทศ

ตารางที่ 1 ผลการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำเข้าจากต่างประเทศ (ระหว่าง เดือนตุลาคม 2555- กันยายน 2556)

ลำดับที่	ประเทศ	ปริมาณ (กก.)	จำนวนตัวอย่าง	ด่านตรวจพืช	เชื้อโรคศัตรูพืชที่ตรวจพบ
1.	อาร์เยนตินา	2.50	12	สุวรรณภูมิ	*Alternaria raphani* 0.3 % *Drechslera halodes* 0.25 % *Ulocladium* sp. 1.6 %
2.	ออสเตรเลีย	18,000.00	2	สุวรรณภูมิ	-
3.	อินเดีย	10,400.00	2	ลาดกระบัง	*Alternaria tenuis* 3.5 % *Cladosporium* sp. 0.5 % *Curvularia pallescens* sp. 1.5%
4.	สหรัฐอเมริกา	200,000.00	2	สุวรรณภูมิ	*Alternaria tenuis* 28.50 %
รวม 4 ประเทศ		228,402.50	18		

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างที่นำเข้าจาก 4 ประเทศ ได้แก่ อาร์เจนตินา ออสเตรเลีย อินเดีย และ สหรัฐอเมริกา มาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ลักษณะเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืช หรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืชและจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดที่มากับเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis, Alternaria raphani, Cladosporium* sp., *Ulocladium* sp., *Curvularia pallescens* และ *Drechslera halodes* แต่จากการนำเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างมาตรวจด้วยวิธี Dilution plate ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคบนต้นพืชในโรงเรือน (Seedling symptom test) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นข้าวฟ่างลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ไม่แสดงอาการโรค

จากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างนำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งศัตรูพืชที่พบทั้งในเมล็ดพันธุ์และตรวจสอบโรคในแปลงปลูก ไม่ใช่ศัตรูพืชด้านกักกันพืชของประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณชัยรัตน์ หมั่นการ คุณวิภา เกิดพิพัฒน์ คุณอรนุช นาคะโร คุณยุทธนา ประมาณ คุณวิชาญ สมาธิ คุณสุธรรม คงเอียด คุณจิรวัฒน์ ไกรนรา คุณชลิตา ดาหาญ และคุณอัญชลี ราศรี ตลอดจนด่านตรวจพืชท่าเรือ ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ด่านตรวจพืชไปรษณีย์ ด่านตรวจพืชลาดกระบังและด่านตรวจพืชแหลมฉบัง สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตรและน้องๆ ในห้องปฏิบัติการที่ช่วยสนับสนุนในการทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

Ellis, M.B. 1976. More Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England.

Tarr, S.A.J. 1962. Diseases of Sorghum, Sadan. Grese and Broom corn. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England.

Nelson, P.E. Toussoun, T.A. and Marasas, W.F.O. 1983. Fusarium Species: An Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania State University Press. University Park.