การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่นำเข้าจากต่างประเทศ

Interception of Quarantine Pest in Imported Corn Seeds Consignments

ชลธิชา รักใคร่ นงพร มาอยู่ดี ศรีวิเศษ เกษสังข์
วันเพ็ญ ศรีชาติ วานิช คำพานิช โสภา มีอำนาจ
กลุ่มวิจัยการักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ข้าวโพด (Corn) มีศัตรูพืชที่เข้าทำลายส่วนต่างๆ ของข้าวโพด จำนวนทั้งหมดรวม 597 ชนิด เป็นไร 12 ชนิด แมลง 212 ชนิด รา 127 ชนิด แบคทีเรีย 23 ชนิด ไวรัส 15 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 58 ชนิด สัตว์ 4 ชนิด หอย/ทาก 1 ชนิด วัชพืช 144 ชนิด จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจาก10 ประเทศ ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา อาร์เจนตินา บราซิล ออสเตรเลีย อินเดีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ เวียดนาม และ ไต้หวัน มาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ลักษณะเมล็ดข้าวโพดมีสีเหลือง เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ *Acremonium sp, Cephaosporium acremonium.*, *Drechslera turcicum*, *Drechslera sorghicola, Drechslera maydis, Curvularia lunata, Curvularia lpallescens, Fusarium moniliforme, Fusarium solani*, และ *Fusarium semitectum* จากการนำเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดมาตรวจด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่สำคัญด้านกักกันพืช และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคบนต้นพืชในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นข้าวโพด จากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากต่างประเทศ ในภาคเหนือ 4 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดตาก ลำปาง เชียงใหม่และเชียงราย และในภาคตะวันออกเฉียงเหนือจำนวน 3 จังหวัดได้แก่ อุดรธานี ชัยภูมิ และขอนแก่น พบอาการผิดปกติในข้าวโพดที่ จังหวัดตาก เชียงใหม่และเชียงราย และในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ที่จังหวัด ชัยภูมิ และขอนแก่น พบเชื้อโรคบนใบของข้าวโพดจำนวน 5 โรค ได้แก่ *Drechslera turcicum ,Drechslera maydis*, *Fusarium moniliforme Cephaosporium acremonium.,และ Drechslera sorghicola,* ซึ่งศัตรูพืชที่พบทั้งในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและตรวจสอบโรคในแปลงปลูก ไม่ใช่ศัตรูพืชด้านกักกันพืชของประเทศไทย

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-03-00-15-56

คำนำ

ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 ภายใต้พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กำหนดให้เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจัดเป็นสิ่งต้องห้าม (Prohibited material) การนำเข้ามายังประเทศไทยต้องแจ้งการนำเข้า และมีใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทางกำกับมาพร้อมกับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้า โดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยกำหนดไว้แต่อย่างใด ในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดสินค้าเกษตรจากต่างประเทศจึง มีโอกาสที่ศัตรูพืชหลายชนิดที่อาจเป็นศัตรูพืชกักกันที่ร้ายแรงหรือศัตรูพืชที่สำคัญที่ก่อความเสียหายกับผลิตผลทางการเกษตรติดเข้ามากับเมล็ดพืชด้วย โดยอาจเป็นศัตรูพืชร้ายแรงที่ไม่มีปรากฏในประเทศไทย โดยเฉพาะในกลุ่มของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดพืช ซึ่งมีการนำเข้ามาเพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์ในการส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกกระจายทั่วประเทศไทย โดยในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เหล่านี้ในปริมาณมาก หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวสามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศไทย จะก่อให้เกิดผลกระทบทำความเสียหายต่อการเกษตรในประเทศและกระทบต่อการส่งออกไปยังต่างประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการตรวจสอบศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับพืชนำเข้า เพื่อให้ทราบชนิด แหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืช มีประโยชน์ใช้อ้างอิงทางวิชาการ นำมาพิจารณาหามาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และกำหนดเป็นมาตรการทางด้านกฎหมายและทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้า ตามพระราชบัญญัติกักพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากต่างประเทศ
2. กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope และ compound microscope
3. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
4. สารเคมีตรวจสอบเชื้อโรคพืช
5. ภาชนะเก็บตัวอย่างพืช
6. ชุดตรวจสอบศัตรูพืช (ELISA Kit)
7. หนังสือ และวารสารทั้งในประเทศและต่างประเทศ

วิธีการ

1.รวบรวมข้อมูลทั่วไปของข้าวโพดและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเตอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของข้าวโพด ลักษณะทั่วไปของพืช สายพันธุ์ พื้นที่การเพาะปลูก รายชื่อของประเทศที่ประเทศไทยมีการการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืชทั้งนอกประเทศและในประเทศ

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าในห้องปฏิบัติการ

ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์**ข้าวโพด**ที่นำเข้าจากต่างประเทศมาทำการตรวจวินิจฉัยโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลง เมล็ดวัชพืช หรือลักษณะเมล็ดด่าง มีสีดำ บิดงอ ขนาดเล็ก ที่มีสาเหตุจากเชื้อโรค

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 2007) และตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์นำเข้า

2.2.1 การตรวจสอบเชื้อรา

1) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะยังไม่งอก (Dry seed examination)

โดยตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์เชื้อราหรือศัตรูพืชอื่นๆ ซึ่งปะปนมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เช่นเมล็ดพันธุ์มีรูปร่างผิดปกติ หรืออาจติดมา ภายในเมล็ดพันธุ์โดยไม่แสดงอาการ รวมทั้งอาจติดมากับเศษพืชในลักษณะเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์เช่น Pycnidia เป็นต้น

2) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะเมล็ดงอก

สุ่มตัวอย่างเมล็ดตามวิธีการมาตรฐาน ในปริมาณที่เหมาะสมวิเคราะห์โดยสุ่มแยกตามสายพันธุ์ มาทดสอบด้วยวิธี Blotter method โดยวางเมล็ดลงบนกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จำนวน 3 แผ่นที่ชุ่มน้ำซึ่งวางอยู่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วางเมล็ดพันธุ์ฟักทอง สควัอชและแว๊กกราวด์ 10 เมล็ดต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวน 200 เมล็ด จากนั้นนำจานเพาะเมล็ดไปบ่มเชื้อ (incubate) ใต้แสง near ultraviolet (NUV) สลับกับความมืด 12/12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอไมโครสโคป (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope)

2.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

ในกรณีที่เชื้อติดมาในปริมาณมากจะสามารถแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรงหลังจากทำการแยกเชื้อด้วยวิธี Blotter method ได้ หรือทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate โดยสุ่มเมล็ดตามมาตรฐาน นำมาแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที ล้างตามด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ เมื่อได้ เมล็ดพันธุ์จึงนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบด 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 ใช้ไปเปตต์ดูด suspension แต่ละความเข้มข้น จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) แล้วใช้แท่งแก้วลนไฟฆ่าเชื้อ spread ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ดผิดปกติ

โดยการเพาะเมล็ดในดินนึ่งฆ่าเชื้อ โดยเพาะ 25-50 เมล็ดต่อถุง และเก็บถุงเพาะที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส รดน้ำเช้าเย็นในโรงเรือนกักกันพืช ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช เมื่อต้นกล้าออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชุ่มชื้นเป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนใบ กิ่ง ลำต้น โค่นต้น และราก เก็บส่วนของพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

2.1) วิธี Dilution plate ตัดใบพืชที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ 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 ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อแล้ววางชิ้นพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA หรืออาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง (semiselective media) นำจานเลี้ยงเชื้อไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จึงนำมาตรวจสอบหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรียเก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจนครบ 3-5 วัน เพื่อตรวจหาโคโลนีของแบคทีเรียชนิดอื่นจากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และนำไปศึกษาคุณลักษณะเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

1. ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

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 ใบเลี้ยง หรือเนื้อใบของต้นข้าวโพด อายุ 2-3 สัปดาห์ ฉีดพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจลักษณะอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็นโรค

มาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบที่สั่งนำเข้าจากต่างประเทศโดย นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

2.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

1) ปลูกสังเกตลักษณะอาการโรคบนต้นกล้า (Seedling symptom test) โดยเพาะ เมล็ดพันธุ์ในดินอบฆ่าเชื้อ ตัวอย่าง 50-200 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. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์นำเข้าในพื้นที่ของเกษตรกร

ทำการติดตามตรวจสอบต้นพืชที่มีการนำเมล็ดพันธุ์นำเข้าไปเพาะปลูกในแปลงปลูกของเกษตรกรตามภาคต่างๆ โดยสังเกตอาการความผิดปกติของต้นพืชทั้ง โคนต้น ราก ลำต้น ใบและผลของพืช และทำการสุ่มเก็บตัวอย่างอาการดังกล่าว นำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง แยกเชื้อ จัดจำแนกชนิดของเชื้อ และทดสอบการเกิดโรคกับพืชในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวินิจฉัยเชื้อโรคศัตรูพืชอย่างละเอียด เช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 2

เวลาและสถานที่

เวลา: เดือนตุลาคม 2555 – กันยายน 2556

สถานที่: ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช ด่านตรวจพืช และและแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ประเทศไทยมีการนำเข้าข้าวโพดเพื่อการบริโภค การอุตสาหกรรม หรือใช้เป็นอาหารสัตว์ โดยนำเข้าจาก10 ประเทศ ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา อาร์เจนตินา บราซิล ออสเตรเลีย อินเดีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ เวียดนาม และ ไต้หวัน และประเทศไทยยังเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์

ข้าวโพดลูกผสม(Hybrid corn)ที่ใหญ่แห่งหนึ่งในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้แหล่งปลูกข้าวโพดของประเทศจะอยู่เขตภาคกลางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในปี 2554/2555 ประเทศไทย มีพื้นที่เพาะปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ประมาณ 8.87 ล้านไร่ ให้ผลผลิต 5.45 ล้านตัน ส่งออก 1.28 ล้านตันไปยังประเทศเวียดนาม มาเลเซีย อินโดนีเซีย สิงคโปร์ ฯลฯ มูลค่าประมาณ 4,315 ล้านบาท ข้าวโพดมีศัตรูพืชจำนวนทั้งหมดรวม 597 ชนิด เป็นไร 12 ชนิด แมลง 212 ชนิด รา 127 ชนิด แบคทีเรีย 23 ชนิด ไวรัส 15 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 58 ชนิด สัตว์ 4 ชนิด หอย/ทาก 1 ชนิด วัชพืช 144 ชนิด

2.การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากต่างประเทศในห้องปฏิบัติการ

2.1 **การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ**

จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากทุกประเทศในเบื้องต้น พบว่าลักษณะของเมล็ดมีสีเหลือง เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด

2.2 จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด นำเข้าจาก 10 ประเทศ ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา อาร์เจนตินา บราซิล ออสเตรเลีย อินเดีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ เวียดนาม และ ไต้หวัน และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดในห้องปฏิบัติการ ผลการตรวจพบเชื้อรา จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ *Acremonium sp, Cephaosporium acremonium.*, *Drechslera turcicum*., *Drechslera sorghicola, Drechslera maydis, Curvularia lunata, Curvularia lpallescens , Fusarium moniliforme, Fusarium solani*, และ *Fusarium semitectum* ไม่พบศัตรูพืชเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส และวัชพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคบนต้นพืชในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นข้าวโพด

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์นำเข้าในพื้นที่ของเกษตรกร

จากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากต่างประเทศ ในภาคเหนือ 4 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดตาก ลำปาง เชียงใหม่และเชียงราย และในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 3 จังหวัดได้แก่ อุดรธานี ชัยภูมิ และขอนแก่น พบอาการผิดปกติในข้าวโพดที่ จังหวัดตาก เชียงใหม่และเชียงราย และในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ที่จังหวัด ชัยภูมิ และขอนแก่น พบเชื้อโรคบนใบของข้าวโพดจำนวน 5 โรค ได้แก่ *Drechslera turcicum ,Drechslera maydis*, *Fusarium moniliforme Cephaosporium acremonium.,และ Drechslera sorghicola,* ซึ่งศัตรูพืชที่พบทั้งในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและตรวจสอบโรคในแปลงปลูก ไม่ใช่ศัตรูพืชด้านกักกันพืชของประเทศไทย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ข้าวโพด มีศัตรูพืชที่เข้าทำลายส่วนต่างๆ ของข้าวโพด จำนวนทั้งหมดรวม 597 ชนิด เป็นไร 12 ชนิด แมลง 212 ชนิด รา 127 ชนิด แบคทีเรีย 23 ชนิด ไวรัส 15 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 58 ชนิด สัตว์ 4 ชนิด หอย/ทาก 1 ชนิด วัชพืช 144 ชนิดได้สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่นำเข้าจากต่างประเทศจำนวน 10 ประเทศ ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา อาร์เจนตินา บราซิล ออสเตรเลีย อินเดีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ เวียดนาม และ ไต้หวัน มาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วย ตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ลักษณะเมล็ดข้าวโพดมีสีเหลือง เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่

ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดที่ปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดในห้องปฏิบัติการพบเชื้อรา จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ *Acremonium sp, Cephaosporium acremonium.*, *Drechslera turcicum*., *Drechslera sorghicola, Drechslera maydis, Curvularia lunata, Curvularia lpallescens , Fusarium moniliforme, Fusarium solani*, และ *Fusarium semitectum* ผลการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดข้าวโพดเข้าจากต่างประเทศ ในภาคเหนือ 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดตาก เชียงใหม่และเชียงราย และในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 2 จังหวัดได้แก่ ชัยภูมิ และขอนแก่น พบเชื้อราสาเหตุโรคพืชบนใบของข้าวโพดจำนวน 5 โรค ได้แก่ *Drechslera turcicum ,Drechslera maydis, Fusarium moniliforme Cephaosporium acremonium.,และ Drechslera sorghicola,* ซึ่งศัตรูพืชที่พบทั้งในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและตรวจสอบโรคในแปลงปลูก ไม่ใช่ศัตรูพืชที่สำคัญด้านด้านกักกันพืชของประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณศรีวิเศษ เกษสังข์ คุณนงพร มาอยู่ดี ที่ช่วยแนะนำแนวทางการวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณ วันเพ็ญ ศรีชาติ คุณยุทธนา ประมาณ คุณวิชาญ สมาธิ คุณวิภา เกิดพิพัฒน์ ช่วยสนับสนุนและเตรียมงานในห้องปฏิบัติการ และน้องๆ ในห้องปฏิบัติการที่ช่วยสนับสนุนในการทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2547. เอกสารวิชาการ ศัตรูพืชกักกันที่สำคัญของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ

ดารา เจตนะจิตร, นงรัตน์ นิลพานิชย์, พากเพียร อรัญนารถ, วิชิต ศิริสันธนะ, วิชชุดา รัตนกาญจน์, รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์, เยาวภา ตันติวานิช, วันชัย โรจนหัสดิน และจรรยา อารยาพันธ์. 2545. คู่มือโรคข้าว. กลุ่มงานวิจัยโรคข้าวและธัญพืชเมืองหนาว. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 40 หน้า.

เตือนใจ บุญ-หลง, ประดิษฐ์ โกวิทเทวาวงศ์, ดิลก อัญชลิสังกาศ และสำอางค์ วงศ์แก้ว. 2539. เชื้อสาเหตุ ลักษณะอาการ และการแพร่ระบาดของโรคใบจุดข้าวโพดที่พบใหม่ในประเทศไทย. บทคัดย่อการประชุมวิชาการข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ ครั้งที่ 27. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. หน้า 34.

Anonymous. 2007. International rules for seed testing. Seed Science and Technology. Rules, Vol. 21 supplement. 287 pp.

Crop Protection Compendium. 2007. ed. Wallingford, UK: CPC. (http://www.cabicompendium.org/cpc)

Mc Gee, D.C. 1988. Maize Disease. APS Press, St. Paul Minnesota. 150 pp.

Schaad, N.W. 1988. Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria, 2nd, APS Press, St. Paul, Minnesota.

MAF BIOSECURITY NEW ZEALAND. 2005. Maize pest. Available source:
http://www.biosecurity.govt.nz/pest/search
MAF BIOSECURITY NEW ZEALAND. 2009. Maize pest. Available source:
http://www.biosecurity.govt.nz/regs/exports/plants/icpr/kr/see-gra-sow-maize