

การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว
ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ

Study on Quarantine pest of Imported *Abelmoschus esculentum*

โสภา พิศวรปราการ ศรีวิเศษ เกษสังข์ วันเพ็ญ ศรีชาติ
ปรียพรรณ พงศาพิชณ์ ชลธิชา รักไคร่
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

กระเจี๊ยบเขียว (*Abelmoschus esculentum*, Okra) จากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายกระเจี๊ยบเขียว มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 163 ชนิด จัดเป็นแมลง 87 ชนิด ไโร 11 ชนิด วัชพืช 5 ชนิด ไส้เดือนฝอย 16 ชนิด เชื้อรา 32 ชนิด แบคทีเรีย 5 ชนิด ไวรัส 6 ชนิด และหนู 1 ชนิด เป็นศัตรูกักกันของกระเจี๊ยบเขียวทั้งสิ้น 14 ชนิด จัดเป็นแมลง 1 ชนิด วัชพืช 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 5 ชนิด เชื้อรา 3 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด และไวรัส 1 ชนิด จากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้า ในห้องปฏิบัติการ โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าจาก 3 ประเทศ ได้แก่ ประเทศฟิลิปปินส์ อินเดีย และญี่ปุ่น จำนวน 13 ตัวอย่าง ทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้ามีเมล็ดที่สมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา 4 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Fusarium solani*, *Fusarium semitectum*, *Chetomium sp.* และ *Alternaria sp.* การตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่นำสาบสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และจากการนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นกระเจี๊ยบเขียว ลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ และจากการติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ จำนวน 9 แปลง ตรวจพบศัตรูพืช 9 ชนิด เป็นเชื้อรา 4 ชนิด แมลง 5 ชนิด ระหว่างทำการศึกษาไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-03-00-20-56

คำนำ

พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กำหนดให้เมล็ดพันธุ์พืชผักต่าง ๆ ดอกไม้หรือไม้ประดับหลายชนิดจัดเป็นสิ่งที่จำกัด (Restricted material) และสิ่งไม่ต้องห้าม (unprohibited materials) ในการนำเข้ามายังประเทศไทยต้องแจ้งการนำเข้า และมีใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทางกำกับมาด้วยพร้อมกับเมล็ดพันธุ์นำเข้า โดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยกำหนดไว้แต่อย่างใด การนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศ มีโอกาสที่ศัตรูพืชหลายชนิดที่อาจเป็นศัตรูพืชกักกันที่ร้ายแรงหรือศัตรูพืชที่สำคัญที่ก่อความเสียหายกับผลิตผลทางการเกษตรติดเข้ามาพร้อมกับเมล็ดพืชด้วย โดยอาจเป็นศัตรูพืชร้ายแรงที่ไม่มีปรากฏในประเทศไทย ในกลุ่มของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว ซึ่งมีการนำเข้ามาเพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์ในการส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกกระจายทั่วประเทศ โดยในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เหล่านี้ในปริมาณมาก หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวสามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศไทย จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อเกษตรกรในประเทศและกระทบต่อการส่งออกพืชผักผลไม้ไทยไปยังต่างประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำการตรวจสอบศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับพืชนำเข้า เพื่อทราบชนิดแหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืช มีประโยชน์ใช้อ้างอิงทางวิชาการ นำมาพิจารณาหามาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และกำหนดเป็นมาตรการทางด้านกฎหมายและทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้า หรือเปลี่ยนแปลงสถานภาพของพืชนำเข้าให้เป็นสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งจำกัดตามพระราชบัญญัติกักพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว
2. กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope และ compound microscope
3. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
4. สารเคมีตรวจสอบเชื้อโรคพืช
5. ภาชนะเก็บตัวอย่างพืช
6. ชุดตรวจสอบศัตรูพืช (ELISA Kit)
7. หนังสือ และวารสารทั้งในประเทศและต่างประเทศ
8. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมทั้งการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม” (ISPM No. 11 : Pest risk analysis for quarantine pest including analysis of environmental risk)
9. พื้นที่แปลงปลูกกระเจี๊ยบเขียวของเกษตรกร

วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของกระเจี๊ยบเขียวและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศ เปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเทอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของกระเจี๊ยบเขียว ลักษณะทั่วไปของพืช สายพันธุ์ พื้นที่การเพาะปลูก รายชื่อของประเทศที่ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืชทั้งนอกประเทศและในประเทศ

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าใน ห้องปฏิบัติการ

การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชั้นละเอียดบนเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวที่นำเข้าจากต่างประเทศ ทางด่านตรวจพืช เจ้าหน้าที่จะทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพืชมาทำการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลงหรือเมล็ดวัชพืช

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1999) และตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียด 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 วางเมล็ดพันธุ์เมลอน 25 เมล็ดต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำจานเพาะเมล็ดไปบ่มเชื้อ (incubate) ใต้แสง near ultraviolet (NUV) สลับกับความมืด 12/12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สเตอริโอ-ไมโครสโคป (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope)

2.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

ในกรณีที่เชื้อติดมาในปริมาณมากจะสามารถแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรง หลังจากทำการแยกเชื้อด้วยวิธี Blotter method ได้ หรือทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate โดยสุ่มเมล็ดตามมาตรฐาน นำมาแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที ล้างตามด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 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 ใช้ไปเปิดจุด suspension แต่ละความเข้มข้น จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) แล้วใช้แท่งแก้ว spread ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ดผิปกติบนใบพืชหรือต้นพืช

โดยการเพาะเมล็ดในดินนิ่งฆ่าเชื้อที่มีอยู่จริง โดยเพาะ 25-50 เมล็ดต่อถุง และเก็บถุงเพาะที่อุณหภูมิ 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 ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เชื้อ 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 ภายใต้กระแสลมตู้เชื้อแล้ววางพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 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 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 ไนเตรต ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นต้น

5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัย (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่นปลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยง

หรือเนื้อใบของต้นกระเจี๊ยบเขียวอายุ 2-3 สัปดาห์ ฉีดพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ในที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจสอบลักษณะอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำไปเป็นโรคมานำเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

2.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

1) ปลูกสังเกตลักษณะอาการโรคบนต้นกล้า (Seedling symptom test) โดยเฉพาะเมล็ดพันธุ์ในดินอบฆ่าเชื้อ ตัวอย่าง 50-200 เมล็ด เก็บรักษาไว้ในโรงปลูกพืชกันแมลงเมื่อต้นพืชออกใบจริง 1-2 ใบ จึงตรวจสอบลักษณะอาการโรค ต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ สงสัยว่ามีสาเหตุจากเชื้อไวรัสจะนำไปตรวจสอบด้วยวิธีการอื่นเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

2) ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) เตรียมน้ำคั้นพืชสำหรับทดสอบโดยบดใบพืชที่แสดงอาการผิดปกติในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ตรวจสอบเชื้อไวรัสใช้ 0.1 M phosphate buffer pH 7.0) โดยใช้ใบพืชหนัก 1 กรัมต่อบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร ในสภาพเย็น จากนั้นใช้สำลีหรือนิวที่สะอาดจุ่มน้ำคั้นพืชทาบบนใบพืชทดสอบ 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 แนนอนและยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมาก วิธีการที่นำมาใช้เป็นแบบ Indirect ELISA ทำการบันทึกผล

3. ติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้า

ทำการติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าในเขตพื้นที่ภาคอีสาน ได้แก่ จังหวัดอุดรธานี 3 แปลง และจังหวัดอุบลราชธานี 2 แปลง และในเขตพื้นที่ภาคเหนือ จำนวน 4 แปลง ได้แก่ จังหวัดลำพูน 2 แปลง และจังหวัดตาก 2 แปลง โดยทำการเก็บตัวอย่างส่วนต่างๆ เช่น ใบ พักกระเจี๊ยบเขียว และลำต้นของกระเจี๊ยบเขียวที่พบลักษณะอาการผิดปกติ หรือนำส่งสัย เพื่อนำตัวอย่างที่ได้มาตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชตามขั้นตอนข้อที่ 2

เวลาและสถานที่

เวลา: เดือนตุลาคม 2555 – กันยายน 2556

สถานที่: ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช ด้านตรวจพืช และแปลงปลูกเกษตรกร ในจังหวัดอุดรธานี จังหวัดอุบลราชธานี จังหวัดลำพูน จังหวัดตาก

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมข้อมูลทั่วไปของกระเจี๊ยบเขียวและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

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), ถั่วและ (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

กระเจี๊ยบเขียวเขียว เป็นพืชผักยืนต้น อายุประมาณ 1 ปี มีความสูง 40 เซนติเมตร ถึง 2 เมตร ลำต้น มีขนสั้น ๆ มีหลายสี แตกต่างตามพันธุ์ ใบกระเจี๊ยบเขียวเขียว มีลักษณะกว้างเป็น แฉกคล้ายใบละหุ่ง แต่ก้านใบจะสั้นกว่า ดอกมีสีเหลือง โคนดอกด้านในสีม่วง เมื่อบานคล้ายดอกฝ้าย มีเกสรตัวผู้ตัวเมียอยู่ในดอกเดียวกันฝักกระเจี๊ยบเขียวเขียวมีรูปร่างยาว ปลายฝักแหลม มีทั้งชนิด ฝักกลมและฝักเหลี่ยม ซึ่งมีเหลี่ยม 5-10 เหลี่ยม ขึ้นกับพันธุ์ในแต่ละฝักมีเมล็ด 80-200 เมล็ด เมล็ดมีลักษณะกลมรี ขนาดเดียวกับ ถั่วเขียว เมล็ดอ่อนมีสีขาว เมื่อแก่มีสีเทา ฝักแก่สีฝักจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และจะแตกออกตามแนวรอยสัน เหลี่ยมทำให้เห็น เมล็ดที่อยู่ข้างใน

พันธุ์และแหล่งพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว

กระเจี๊ยบเขียว มีพันธุ์ต่าง ๆ มากมายซึ่งมีความแตกต่างกันทั้งความสูงของต้น ความยาวของฝักและสีฝัก พันธุ์พื้นเมืองเดิมจะมีเหลี่ยมบนฝักมากประมาณ 7-10 เหลี่ยม พันธุ์กระเจี๊ยบเขียวที่ใช้ปลูกเพื่อการส่งออกฝักสด และแช่แข็ง จะต้องเป็นพันธุ์ที่มีฝัก 5เหลี่ยม สีฝักเขียวเข้ม มีเส้นใยน้อย ลำต้นเตี้ย ผิวฝักมีขนละเอียด ฝักดกให้ผลผลิตสูง ซึ่งพันธุ์ที่ใช้ปัจจุบันได้แก่

1. พันธุ์ของประเทศไทยปรับปรุงโดยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ลักษณะฝักมีสีเขียวปานกลาง ฝักเมื่อตัดตามขวางเป็นรูปห้าเหลี่ยม ต้นแข็งแรง ผลผลิตสูง ราคาเมล็ดพันธุ์ 50-80 บาทต่อกิโลกรัม พันธุ์เหล่านี้ผู้ส่งออกและแปรรูปสามารถนำไปทดสอบตลาดได้ โดยเฉพาะตลาดยุโรป หรืออื่น ๆ

2. พันธุ์ลูกผสมชั่วที่หนึ่ง จากประเทศญี่ปุ่น เป็นพันธุ์ที่มีคุณสมบัติฝักอ่อนที่ตลาดญี่ปุ่นนิยมมาก ลักษณะฝักสีเขียวเข้มมาก ปลายฝักไม่มีจอยยาว เมื่อตัดตามขวางของฝักเป็นรูป 5 เหลี่ยม ซึ่งมีเหลี่ยมเห็นได้ชัดเจน ต้นแข็งแรง ผลผลิตสูง ราคาเมล็ดพันธุ์แพงมากประมาณ 2,000-5,000 บาทต่อกิโลกรัม

3. พันธุ์ผสมเปิดจากต่างประเทศ ได้แก่ เคลมสัน สพายน์เลส ซึ่งฝักกลมป้อมและ

พันธุ์ควอร์ฟกรีน สปายน์เลส ซึ่งมีฝักเรียวยาว เป็นพันธุ์ที่มี 8 เหลี่ยม สีเขียวปานกลางใช้ในการแปรรูปบรรจุกระป๋อง

4. พันธุ์ที่เกษตรกรเก็บพันธุ์เอง ซึ่งต้องทำอย่างถูกวิธีจะมีผลต่อคุณภาพฝักมาก อย่างไรก็ตามพันธุ์ที่จะใช้ขึ้นอยู่กับผู้ซื้อที่กำหนดเป็นประการสำคัญ ซึ่งผู้ปลูกต้องทำการตกลงกับผู้ซื้อก่อนปลูก

แหล่งปลูก

ในประเทศไทยนั้นพื้นที่ที่มีการปลูกกระเจี๊ยบเขียวมาก ส่วนใหญ่อยู่ในภาคกลาง ได้แก่ นครปฐม ปทุมธานี นนทบุรี สุพรรณบุรี สมุทรสาคร พิจิตร กาญจนบุรี ราชบุรี ระยอง และ นครนายก

ปริมาณการนำเข้า

ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศ ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ และอินเดีย ปี 2556 ปริมาณ 6,467 กิโลกรัม (กลุ่มวิจัยการกักกันพืช, 2556)

ศัตรูพืชที่พบเข้าทำลายกระเจี๊ยบเขียว

จากการสืบค้นข้อมูล พบว่า ศัตรูพืชที่ทำลายทุกส่วนของกระเจี๊ยบเขียว เช่น ใบ ผล ลำต้น ราก และเมล็ด เป็นต้น มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 163 ชนิด จัดเป็นแมลง 87 ชนิด ไร 11 ชนิด วัชพืช 5 ชนิด ไส้เดือนฝอย 16 ชนิด เชื้อรา 32 ชนิด แบคทีเรีย 5 ชนิด ไวรัส 6 ชนิด และหนู 1 ชนิด (พัฒนา และคณะ, 2542) (นิยมรัฐ และลักษณะ, 2533) (วสันต์ และมานะ, 2532) (นิยมรัฐ และคณะ, 2531) (พิพัฒน์ เชียงหลิว, 2528) (Chadrasikul, 1962) (CPC, 2007))

เป็นศัตรูกักกันของกระเจี๊ยบเขียวทั้งสิ้น 14 ชนิด จัดเป็นแมลง 1 ชนิด วัชพืช 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 5 ชนิด เชื้อรา 3 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด และไวรัส 1 ชนิด ดังนี้ แมลง 1 ชนิด คือ *Sacadoses 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 dahliae* แบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas cichorii* และ *Pseudomonas corrugate* และไวรัส 1 ชนิด คือ Cotton anthocyanosis virus (CPC, 2007)

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขึ้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบนำเข้าในห้องปฏิบัติการ

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากทุกประเทศในเบื้องต้น พบว่าลักษณะของเมล็ดปกติ เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด (รูปที่1)



รูปที่ 1 ลักษณะเมล็ดพันธุ์และบรรจุภัณฑ์ของเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าจากต่างประเทศ

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

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวที่นำเข้าจากประเทศญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ และอินเดีย จำนวน 13 ตัวอย่าง ซึ่งจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method (รูปที่ 2) และ Dilution technique พบเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์ 4 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Fusarium solani*, *Fusarium semitectum*, *Chetomium sp.* และ *Alternaria sp.* ไม่พบแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคร่วมกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และจากการนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) (รูปที่ 3) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นกระเจี๊ยบเขียว ต้นเจริญสมบูรณ์



รูปที่ 2 ขั้นตอนการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method



รูปที่ 3 ขั้นตอนการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรครากเน่าและเน่าโคนเน่าในแปลงปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี Seedling Symptom Test

3. การติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแปลงปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้า

ทำการติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแปลงปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดอุดรธานี 3 แปลง และจังหวัดอุบลราชธานี 2 แปลง (รูปที่ 4) และในเขตพื้นที่ภาคเหนือ จำนวน 4 แปลง ได้แก่ จังหวัดลำพูน 2 แปลง และจังหวัดตาก 2 แปลง ตรวจพบศัตรูพืช 9 ชนิด เป็นเชื้อรา 4 ชนิด แมลง 5 ชนิด (รูปที่ 5) ระหว่างทำการศึกษายังไม่พบศัตรูพืชที่กักกันเป้าหมาย



รูปที่ 4 แปลงปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ



รูปที่ 5 ศัตรูพืชที่ตรวจพบในแปลงปลูกกระเจี๊ยบเขียว

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

กระเจี๊ยบเขียว (*Abelmoschus esculentum*, Okra) จากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลาย กระเจี๊ยบเขียว มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 163 ชนิด จัดเป็นแมลง 87 ชนิด ไโร 11 ชนิด วัชพืช 5 ชนิด ไส้เดือนฝอย 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 14 ชนิด จัดเป็นแมลง 1 ชนิด วัชพืช 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 5 ชนิด เชื้อรา 3 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด และไวรัส 1 ชนิด จากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้า ในห้องปฏิบัติการ โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้าจาก 3 ประเทศ ได้แก่ ประเทศฟิลิปปินส์ อินเดีย และญี่ปุ่น จำนวน 13 ตัวอย่าง ทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวนำเข้ามีเมล็ดที่สมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา 4 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Fusarium solani*, *Fusarium semitectum*, *Chetomium sp.* และ *Alternaria sp.* การตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และจากการนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นกระเจี๊ยบเขียว ลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ และจากการติดตาม ตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชในแหล่งปลูกในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ จำนวน 9 แปลง ตรวจพบศัตรูพืช 9 ชนิด เป็นเชื้อรา 4 ชนิด แมลง 5 ชนิด ระหว่างทำการศึกษาไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย ข้อมูลเบื้องต้นนี้จะนำไปใช้ประโยชน์ในการสร้างฐานข้อมูลศัตรูพืชจากต่างประเทศ จัดทำคู่มือการวินิจฉัยศัตรูพืชเบื้องต้น รวมทั้งเตรียมความพร้อมในการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช การติดตามเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกันเป้าหมายของกระเจี๊ยบเขียว ตลอดจนเป็นภารกิจสำคัญด้านกักกันพืชและอารักขาพืชเพื่อป้องกันศัตรูพืชแปลกใหม่รุกรานเข้ามาในประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ผู้เชี่ยวชาญ อุดร อุณหวุฒิ คุณศรีวิเศษ เกษสังข์ คุณชลธิชา รักไคร่ คุณปรียาพรรณ พงศาพิชณ์ ที่ช่วยแนะนำแนวทางการวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณ คุณวานิช คำพานิช และคุณวันเพ็ญ ศรีชาติ คุณชัยรัตน์ หมั่นการ คุณยุทธนา ประมาณ คุณวิภา งามาธิ คุณวิภา เกิดพิพัฒน์ คุณอรนุช นาคะโร คุณสุธรรม คงเอียด คุณจิรวัดน์ ไกรนรา และคุณอัญชลี ราศี และน้องๆ ในห้องปฏิบัติการที่ช่วยสนับสนุนในการทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

พัฒนา สนธิรัตน์, ประไพศรี พิทักษ์พรวัน, ธนวัฒน์ กำแพงฤทธิ์รงค์, วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2542. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานโรคพืช กองป้องกันและกำจัดศัตรูพืช กรมส่งเสริมการเกษตร.

- นิยมรัฐ ไตรศรี และ ลักษณะ วรณภีร์. 2533 โรคที่สำคัญของกระเจี๊ยบเขียวเพื่อการส่งออก, น. 53-56. ในเอกสารประกอบการสัมมนาปัญหาโรคพืช. สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.
- นิยมรัฐ ไตรศรี, ลักษณะ วรณภีร์, สิริลักษณ์ โล่ห์สวัสดิ์ และ พัฒนา สนธิรัตน์. 2531. ประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคใบจุดกระเจี๊ยบเขียว, น. 112-116. ใน รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2531. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผักไม้ดอกและไม้ประดับ. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา.กรมวิชาการเกษตร.
- พิพัฒน์ เขียงหลิว. 2528. โรคราแป้งขาว. วารสารโรคพืช 5(3) : 71-94.
- วสันต์ เพชรรัตน์ และ มานะ กาญจนเสถียร. 2532. เชื้อรา *Cercospora* สาเหตุโรคพืชในภาคใต้ของประเทศไทย. วารสารโรคพืช 9 (1) : 15-22.
- Chadrasikul, A. 1962. A preliminary host of plant diseases in Thailand. Tech. Bull. No. 9, Dept. of Agr., Bangkok. 14p.
- Crop Protection Compendium. 2007. ed. Wallingford, UK: CPC.
(<http://www.cabicompendium.org/cpc>)
- Puckdeedindan, P.1966. A supplementary host list of plant diseases in Thailand. Tech. Bull. No. 7, Dept. of Agr., Bangkok.24 p.