รายงานชุดโครงการวิจัย

การกักกันพืช

Plant Quarantine Research Project

นางสาวชลธิชา รักใคร่

หัวหน้าโครงการวิจัยการกักกันพืช

Miss Chonticha Rakkrai

Chief of Project

พ.ศ. 2558

รายงานชุดโครงการวิจัย

การกักกันพืช

Plant Quarantine Research Project

นางสาวชลธิชา รักใคร่

Miss Chonticha Rakkrai

พ.ศ 2558

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	1
บทนำ	2
ชื่อโครงการวิจัยการกักกันพืช	6
กิจกรรมที่ 1 **การศึกษาศัตรูพืชในประเทศเพื่อการค้าระหว่างประเทศ**	7
กิจกรรมที่ 2 การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช	20
กิจกรรมที่ 3 การศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชนำเข้า	27
กิจกรรมที่ 4 วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืชกักกัน	33
กิจกรรมที่ 5 วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกันเพื่อการส่งออก	39
กิจกรรมที่ 6 การเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน	60

กิตติกรรมประกาศ

วิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความร่วมมือของข้าราชการ ผู้บริหาร พนักงานราชการ ลูกจ้าง และผู้ที่เกี่ยวข้องของกรมวิชาการเกษตรทุกท่าน ที่ได้ร่วมกันทำงานวิจัยดีๆ ให้คำเสนอแนะ แนวคิด ตลอดจน แก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ รวมทั้งเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา จนงานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์ ในนามหัวหน้าโครงการวิจัยการกักกันพืช จึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ในนามหัวหน้าโครงการวิจัยการกักกันพืช หวังเป็นอย่างยิ่งว่าผลการวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์แก่นักศึกษา บุคลากรทางการเกษตร เกษตรกร บุคคลากรของบริษัทผู้ผลิตเมล็ดพันธุ์ ผู้ค้าพืชและผลิตผลพืชเพื่อการนำเข้าและส่งออกและ ผู้สนใจทั่วไป ได้รับเป็นประโยชน์องค์ความรู้ต่างๆ สำหรับงานวิจัยนี้ต่อไป

คณะผู้วิจัย

บทนำ

การจัดตั้งองค์การการค้าโลก (World Trade Organization, WTO) ซึ่งทุกประเทศเห็นพ้องต้องกันในการลดกำแพงภาษีสำหรับสินค้าเกษตร เพื่อสนับสนุนให้เกิดการค้าเสรี เพื่อป้องกันมิให้มีการใช้มาตรการกีดกันไม่ใช่ภาษี (non tariff barrier, NTB) อันจะก่อให้เกิดปัญหาอุปสรรคต่อการค้าระหว่างประเทศ จึงมีความตกลงว่าด้วยการใช้บังคับมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, SPS Agreement) ประเทศสมาชิก WTO รวมทั้งประเทศไทยจะใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชได้เท่าที่จำเป็นในการปกป้องสุขภาพของมนุษย์ สัตว์ และพืช (อนันต์, 2543) ดังนั้นประเทศผู้นำเข้าจึงต้องมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis) ของพืชนำเข้าและสามารถกำหนดการห้ามนำเข้าโดยมีเหตุผลสนับสนุนเพียงพอและพิสูจน์ได้ตามหลักวิทยาศาสตร์ (อรุณี, 2543) โดยต้องเร่งทำการวิจัยเกี่ยวกับด้านชนิด จำนวนของศัตรูพืช เพื่อที่จะได้จัดทำบัญชีรายชื่อ การจำแนกพืชอาศัย การทำลาย แหล่งที่พบ ความรุนแรงของศัตรูพืช เอกสารอ้างอิง ฯลฯ ของแมลง/ไร/สัตว์ เชื้อโรคศัตรูพืช และวัชพืชในแปลงที่พบในพืชนำเข้าและพืชส่งออก เพื่อไว้ตรวจสอบกับบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืชที่ประเทศคู่ค้าส่งมา และรวบรวมตัวอย่างศัตรูพืช เก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์เพื่อเป็นหลักฐานสำหรับสืบค้น และอ้างอิงทางวิชาการที่เชื่อถือได้ รวมทั้งนำไปเป็นข้อมูลสำหรับกลุ่มวิจัยการกักกันพืชในการเป็นข้อมูลเพื่อทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ซึ่งปัจจุบันประเทศไทยได้ประกาศพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และ พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ที่มีผลใช้บังคับตั้งแต่ 28 สิงหาคม 2551 โดยแบ่งประเภทของพืชออกเป็น 3 ชนิดคือ สิ่งต้องห้าม สิ่งกำกัด และสิ่งไม่ต้องห้าม โดยสิ่งต้องห้าม สามารถนำเข้ามาในราชอาณาจักรได้ตามวัตถุประสงค์ 3 ประการ คือ 1. เพื่อทำการวิจัย 2. เพื่อการค้า และ 3. เพื่อกิจการอื่น ซึ่งในการนำเข้ามาเพื่อการศึกษาวิจัยจะต้องยื่นขออนุญาตนำเข้าและดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชก่อนจึงจะได้รับการอนุญาตจากอธิบดีกรมวิชาการเกษตร การนำเข้าต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ที่อธิบดีกำหนด ส่วนการนำเข้ามาเพื่อการค้าและเพื่อกิจการอื่น สิ่งต้องห้ามนั้นต้องถูกวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชเสียก่อน กรมวิชาการเกษตรได้ออกประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ “เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550” ในท้ายประกาศดังกล่าวมีการกำหนดชนิดพืชและพาหะจากทุกแหล่งเป็นสิ่งต้องห้าม โดยมีบทเฉพาะกาล เพื่อไม่ให้กระทบต่อการเกษตร ธุรกิจ และอุตสาหกรรม กรมวิชาการเกษตรจึงได้อนุญาตให้ประเทศที่ได้ยื่นความประสงค์และได้รับการอนุมัติสามารถนำสิ่งต้องห้ามที่ได้รับอนุญาตเข้ามาในราชอาณาจักรได้มีจำนวน 34 ประเทศ กับพืช 51 ชนิด และ 4 สกุล โดยปฏิบัติตามสถานภาพเดิมก่อนประกาศมีผลใช้บังคับ และพืชอื่นๆ กับประเทศอื่นๆ ที่ไม่เคยมีการค้าร่วมกับประเทศไทย ให้บุคคลใดหรือประเทศผู้ส่งออกที่ประสงค์จะนำสิ่งต้องห้ามเพื่อการค้าเข้ามาในราชอาณาจักรก็สามารถยื่นเรื่องมายังกรมวิชาการเกษตรซึ่งเป็นหน่วยงานองค์กรอารักขาพืชของประเทศไทยเพื่อให้ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเพื่อให้ได้ชนิดศัตรูพืชกักกันและมาตรการทางวิชาการด้านสุขอนามัยพืชเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันของพืชนำเข้าให้เสร็จสิ้นเสียก่อน จึงถูกเพิกถอนจากการเป็น สิ่งต้องห้าม สินค้านั้นจึงจะนำเข้ามาในราชอาณาจักรได้ โดยปฏิบัติ

ตามหลักเกณฑ์วิธีการและเงื่อนไขตามที่กำหนด ส่วนการนำเข้าพืชและส่วนของพืชมายังประเทศไทย ส่วนใหญ่มีเพียงแค่ใบรับรองปลอดศัตรูพืชจากประเทศต้นทางกำกับมา โดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยกำหนดไว้แต่อย่างใด จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับสินค้าเกษตรที่นำเข้า โดยเฉพาะในกลุ่มของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์และหัวพันธุ์ โดยการนำเข้ามาเพื่อการส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกกระจายทั่วประเทศไทย โดยในแต่ละปีมีการนำเข้าพืชเหล่านี้เป็นปริมาณมาก หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวสามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ในประเทศไทยได้ ดังนั้นเมื่อพืชนำเข้ามายังราชอาณาจักร จึงต้องทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อนำเข้ามาตรวจสอบในเบื้องต้นและตรวจสอบขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ เพื่อตรวจหาเชื้อโรคและศัตรูพืชและจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบเพื่อนำไปเป็นข้อมูลการวิเคราะห์ความเสี่ยงต่อไป โดยในการตรวจสอบศัตรูพืชที่ติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ หัวพันธุ์ หรือส่วนขยายพันธุ์ต่างๆ นั้น ต้องเลือกวิธีการตรวจสอบให้เหมาะสมกับชนิดของเชื้อโรคศัตรูพืชและชนิดของพืชและผลิตผลพืชนั้นๆ จึงนับเป็นปัญหาหลักในการตรวจสอบเชื้อโรคศัตรูพืช เพราะถ้าหากเลือกใช้วิธีการตรวจสอบที่ไม่เหมาะสมหรือไม่มีประสิทธิภาพแล้ว จะก่อให้เกิดความเสียหายต่องานกักกันพืชโดยตรงในแง่ของการนำเข้าคือจะทำให้ศัตรูพืชร้ายแรงจากต่างประเทศเข้ามาระบาดทำความเสียหายต่อการเพาะปลูกพืชของไทย อีกทั้งแต่ละประเทศจำเป็นต้องมีข้อมูลด้านวิชาการที่ชัดเจนเพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนการเจรจาตกลงในเรื่องข้อกำหนดในแต่ละเรื่อง ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องดำเนินการวิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืช ที่ถูกต้อง รวดเร็ว มีความแม่นยำสูง เหมาะสมกับงานด้านกักกันพืช

ในแง่การส่งออก สินค้าเกษตรสำคัญของประเทศไทยหลายชนิดไม่สามารถส่งออกไปจำหน่ายยังประเทศที่เข้มงวดด้านกักกันพืช เนื่องจากประเทศไทยเป็นแหล่งแพร่ระบาดของโรคและศัตรูพืชสำคัญด้านกักกันพืช ยกตัวอย่างเช่น ประเทศไทยมีแมลงวันทองหลายชนิดแพร่ระบาด แต่ที่มีความสำคัญทางด้านกักกันพืชมี 2 ชนิด ได้แก่ แมลงวันทอง (*Bactrocera dorsalis complex*) และแมลงวันแตง (*Bactrocera cucurbitae*) ซึ่งมีความสำคัญทางด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ (White and Elson-Harris, 1992; Iwaizumi, 2004) แมลงวันทองมีพืชอาศัยมากมายหลายชนิด ได้แก่ แมลงวันทอง *B. dorsalis complex* ไม่พบ หรือพบเป็นบางครั้งแต่ได้ถูกกำจัดให้หมดสิ้นไปแล้วในประเทศสหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย ญี่ปุ่น เกาหลี และนิวซีแลนด์ กระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่น (Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, MAFF) ได้กำหนดให้การขออนุญาตนำเข้าสิ่งต้องห้ามที่เป็นพืชอาศัยของแมลงวันทอง ต้องยื่นเสนอแผนการวิจัยการกำจัดแมลงวันทองก่อนการส่งออกไปให้กับ (MAFF) พิจารณาตรวจสอบและให้ความเห็นชอบก่อนโดยที่ขั้นตอนในการวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันทองด้วยต้องเป็นไปตามข้อกำหนด และมีประสิทธิภาพซึ่งได้มาตรฐานตามวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Miyazaki, 2010) วิธีการที่จะส่งสินค้าเกษตรซึ่งเป็นพืชอาศัยของศัตรูพืชสำคัญด้านกักกันพืชเหล่านี้ ออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศได้ ประเทศไทยจำเป็นต้องศึกษาวิจัยและพัฒนาหาวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่เหมาะสมกับพืชแต่ละชนิดที่มีประสิทธิภาพสูงตามมาตรฐานของวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Quarantine treatment) ที่สามารถกำจัดศัตรูพืชในพืชก่อนการส่งออกได้อย่างหมดสิ้นโดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของพืช นอกจากนี้ในการค้าขายกับหลาย ๆ ประเทศที่มีมาตรการกำหนดให้ประเทศไทยต้องดำเนินการกำจัดศัตรูพืชกักกันก่อนการส่งออก เช่น การใช้ความร้อน ความเย็น

การฉายรังสี เป็นต้น ในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2529 กลุ่มวิจัยการกักกันพืช ได้รับความช่วยเหลือทางด้านวิชาการจากรัฐบาลญี่ปุ่นให้ศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการใช้ความร้อนเพื่อกำจัดแมลงวันทอง *B. dorsalis* และแมลงวันแตง *B. cucurbitae* ด้วยวิธีการอบไอน้ำ (Vapor Heat Treatment, VHT) มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันทองทั้ง 2 ชนิด ได้อย่างมีประสิทธิภาพตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Unhawutti *et al*., 1986) และปี พ.ศ. 2534 ได้วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT) ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันทองครอบคลุมมะม่วงถึง 4 พันธุ์ ได้แก่ หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง (Unhawutti *et al*., 1991) วัตถุประสงค์ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ เพื่อวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำสำหรับกำจัดแมลงวันทอง *B. dorsalis* complex ในผลแก้วมังกร มะละกอ มะนาวและลำไย ได้อย่างมีประสิทธิภาพตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ และเพื่อนำข้อมูลเสนอต่อกระทรวงเกษตรป่าไม้ และประมงประเทศญี่ปุ่น ให้พิจารณาเป็นวิธีการกำจัดแมลงวันไม้ในผลแก้วมังกร มะละกอ และมะนาว เพื่อขอเปิดตลาดผลไม้ส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น

ประเทศเกือบทุกประเทศที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ได้นำมาตรการสุขอนามัยพืชมาใช้เป็นข้อต่อรองในการส่งออกและนำเข้า โดยที่ประเทศผู้ส่งออกต้องส่งบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของพืชส่งออกและข้อมูลของศัตรูพืชแต่ละชนิดตามความต้องการของประเทศผู้นำเข้า เพื่อทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชก่อนที่จะอนุญาตให้สินค้าเกษตรนั้นๆเข้าประเทศ ขณะเดียวกันประเทศผู้นำเข้าจำเป็นต้องมีข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูของพืชที่นำเข้าด้วย การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูโดยการศึกษาและการสำรวจแบบติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง (Surveillance) เป็นกระบวนการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งในพื้นที่ โดยเฉพาะศัตรูพืชที่มีการประกาศเป็นศัตรูพืชกักกัน ซึ่งการรวบรวมข้อมูลนั้นสามารถทำได้ 2 แบบ ได้แก่การเฝ้าระวังโดยทั่วไป (general surveillance) โดยการค้นคว้าข้อมูลจากแหล่งข้อมูล ได้แก่ ข้อมูลข่าวสารศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศ เช่นจาก หน่วยงานภาครัฐ มหาวิทยาลัย ภาคเอกชน ตลอดจนข่าวสารจากแหล่งข้อมูลขององค์กรระหว่างประเทศ เช่น องค์การอาหารและเกษตรแห่งชาติ (Food and Agriculture Organization, FAO) องค์การอารักขาพืชระดับภูมิภาค (Regional Plant Protection Organzation, RPPOs) และอื่น ๆ การเฝ้าระวังโดยการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific surveys) สามารถดำเนินการโดยการสำรวจแบบตรวจหา (detection surveys) และการสำรวจแบบมีขอบเขต (delimiting surveys) (McMaugh, 2005) ประโยชน์ของการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงทั้ง 2 วิธีนี้ นอกจากจะสามารถบอกถึงสถานการณ์ของศัตรูพืชในพื้นที่แล้วยังสามารถใช้ข้อมูลที่ได้เป็นการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชในกรณีที่ไม่พบศัตรูพืชในพื้นที่นั้น ๆ เมื่อมีการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชแล้ว การที่จะคงสภาพพื้นที่ปลอดศัตรูพืชจะต้องมีการสำรวจแบบตรวจหาอย่างเป็นระบบ ข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการสำรวจติดตามศัตรูพืชเพื่อการเฝ้าระวังนี้จะส่งให้องค์การอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization, NPPO) นำไปใช้ประโยชน์ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการเฝ้าระวังนี้สามารถนำไปใช้ในด้านต่าง ๆ เช่น ใช้ในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช ตลอดจนที่ดำเนินการโดย NPPO เป็นกระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น การสำรวจ ติดตามและ

ตรวจสอบศัตรูพืชเป็นงานพื้นฐานที่มีความจำเป็นสำหรับใช้ในการดำเนินการด้านอื่นๆ อีก เช่น Pest Risk Analysis, Establishment for pest free area, Pest list, Pest report เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance) จึงดำเนินการวิจัยให้ได้ข้อมูลการปรากฏ/ไม่ปรากฏและการแพร่กระจายของศัตรูพืชสำหรับพืชที่เป็นการค้าระหว่างประเทศ

บทคัดย่อ

งานด้านกักกันพืชมีการปฏิบัติตามมาตรการสุขอนามัยพืชเพื่อใช้เป็นข้อต่อรองในการส่งออกและนำเข้า จากการศึกษาศัตรูพืชในประเทศเพื่อการค้าระหว่างประเทศ โดยการสำรวจชนิดของแมลง/ไร/สัตว์ศัตรูพืช โรคพืช และวัชพืชในแปลงปลูกพืชชนิดต่างๆ ของพืชส่งออก ได้แก่ มะละกอ มะพร้าวน้ำหอม ข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง เผือกและฟักทอง พืชนำเข้า ได้แก่ ปาล์มน้ำมัน หัวพันธุ์ไม้ดอก อ้อย ข้าวฟ่าง มันสำปะหลังและยาสูบ ได้ข้อมูลศัตรูพืชของพืชที่เป็นการค้าระหว่างประเทศ เช่น รายชื่อศัตรูพืช การจำแนก พืชอาศัย การทำลาย แหล่งที่พบ ความรุนแรงของศัตรูพืช เอกสารอ้างอิง ฯลฯ และรวบรวมตัวอย่างศัตรูพืช เก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์เพื่อเป็นหลักฐานสำหรับสืบค้น และอ้างอิงทางวิชาการที่เชื่อถือได้ในการศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชตามบทเฉพาะกาล ได้แก่ เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากญี่ปุ่น, ผลพลัมสดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา, ผลสาลี่สดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา, ผลพลับสดนำเข้าจากออสเตรเลีย, เมล็ดพันธุ์พิทูเนียนำเข้าจากญี่ปุ่น, ผลอะโวกาโดสดนำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลีย, เมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินโดนีเซีย, ข้าวฟ่างนำเข้าจากอินเดีย, เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน, ผลแอปเปิลสดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา, เมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา, เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากอิตาลี, ผลมะเดื่อฝรั่งสดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา, ข้าวฟ่างนำเข้าจากออสเตรเลีย และการศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของพืชตาม พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ได้แก่ เมล็ดพันธุ์ส้มนำเข้าจากสาธารณรัฐแอฟริกาใต้, เมล็ดพันธุ์ยาสูบนำเข้าจากบราซิล,เมล็ดพันธุ์แคนตาลูปนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา, เมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากญี่ปุ่น, หัวมันฝรั่งเพื่อการแปรรูปนำเข้าจากสาธารณรัฐอินเดียและอียิปต์, ผลพลับสดนำเข้าจากรัฐอิสราเอล และ ผลองุ่นสดนำเข้าจากสหรัฐเม็กซิโก ชนิดศัตรูพืชกักกันและมาตรการทางวิชาการด้านสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชนำเข้าจากต่างประเทศ

การศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชนำเข้า ได้แก่ เมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมัน, เมล็ดพันธุ์พริก, หัวพันธุ์ทิวลิป, เมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลี กวางตุ้ง และ กะหล่ำดอก, เมล็ดพันธุ์มะเขือยาว, เมล็ดพันธุ์ทานตะวัน, เมล็ดพันธุ์ผักชี, เมล็ดข้าวสาลี, เมล็ดพันธุ์แตงกวา, การศึกษาเชื้อ *Columnea latent viroid* (CLVd) ที่ติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ, หัวพันธุ์มันฝรั่ง, เมล็ดพันธุ์ฟักทอง สควัอช และแว๊กกราวด์, เมล็ดพันธุ์ทานตะวัน, เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง, เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ, เมล็ดพันธุ์ข้าวโพด, หัวพันธุ์แกลดิโอลัส, เมล็ดพันธุ์เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง, เมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี, เมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตา, เมล็ดพันธุ์มะระ, เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบ, หอมแดงและหอมหัวใหญ่, เมล็ดพันธุ์แครอท, ผลส้ม พริก กระเทียมและองุ่น พบชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับพืชที่นำเข้าจากต่างประเทศ และเก็บรักษาตัวอย่างเพื่อเป็นหลักฐานสำหรับสืบค้น และอ้างอิงทางวิชาการที่เชื่อถือได้ ซึ่งศัตรูพืชที่พบไม่ใช่ศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

จากการวิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืชกักกัน ได้แก่ การผลิตแอนติซีรัมของเชื้อไวรัส Potato virus A ทำให้ชุดตรวจเชื้อไวรัสกับหัวพันธุ์มันฝรั่งและจากการพัฒนาเทคนิคการตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* ด้วยวิธี PCR-ELISA สามารถตรวจสอบศัตรูพืชกักกันได้อย่างถูกต้อง รวดเร็วและแม่นยำเหมาะสม กับงานด้านกักกันพืช

ในส่วนของการวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกันเพื่อการส่งออก คือ การกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลแก้วมังกร, ผลมะนาว, ผลมะละกอ,ผลลำไย ได้อุณหภูมิและเวลา รวมถึงสภาพที่เหมาะสมในการกำจัดแมลงวันผลไม้ของพืชแต่ละชนิด

จากการสำรวจเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกันกับพืชอาศัยในแปลงปลูกตามภาคต่างๆ ได้แก่ ไรแดง *Amphitetranychus viemmensis* (Zacher) ศัตรูพืชกักกันของแอปเปิ้ล, เพลี้ยแป้ง *Cataenococcus hispidus* Green และ *Planococcus lichi* Cox ในลิ้นจี่, หนอนเจาะผล *Cryptophlebia ombrodelta* ในลิ้นจี่, เพลี้ยไก่แจ้ (Trioza erytreae (Del Guercio) ในแหล่งปลูกส้มจังหวัดเชียงใหม่, ราเขม่าดำ *Urocystis cepulae* ในพื้นที่ปลูกหอมแดงและกระเทียม, ราสนิมข้าวโพด *Puccinia polysora* และ P. *sorghi*, ราน้ำค้างข้าวโพด: *Peronosclerospora philippinensis*, แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ในพื้นที่ปลูกหอมแดงและกระเทียม, *Pantoea agglomerans* ในพื้นที่ผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด, โรคไวรัสของมันฝรั่งที่เกิดจากไวรัส PVA, PVM, PVT, PVX, PVS และ PLRV, แบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis. ในพื้นที่ผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ, ไร *Tyrophagus similis* Volgnin และ *Sancassania mycophagus* (Megnin) ของหอมแดง หอมหัวใหญ่ และ กระเทียม, ราสนิม (Tropical Corn Rust) : *Physopella zeae* (Mains) Cummins & Ramachar และ (Common Corn Rust) : *Puccinia sorghi* Schwein. ในข้าวโพด, ราน้ำค้าง (Graminicola Downy Mildew) : *Sclerospora graminicola* (Sacc.) J. Schröt. และ (Philippine Downy Mildew) : *Peronosclerospora philippinensis* (W. Weston) C.G. Shaw ในข้าวโพด, รา *Clavicep* ในประเทศไทย , แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* ในพืชตระกูลแตง, แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ในพื้นที่ปลูกข้าวโพด ไม่ปรากฏศัตรูพืชดังกล่าวในประเทศไทย

กิจกรรมที่ 1 การศึกษาศัตรูพืชในประเทศเพื่อการค้าระหว่างประเทศ

ลักขณา บำรุงศรี เกศสุดา สนศิริ สุนัดดา เชาวลิต ยุวรินทร์ บุญทบ ชมัยพร บัวมาศ
อิทธิพล บรรณาการ สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง ปราสาททอง พรหมเกิด
พรพิมล อธิปัญญาคม ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล เยาวภา ตันติวานิช นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด
สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ชนินทร ดวงสะอาด ธิติยา สารพัฒน์ ศิริพร ซึงสนธิพร จรัญญา ปิ่นสุภา
ธัญชนก จงรักไทย ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย กลอยใจ คงเจี้ยง

คำสำคัญ (keywords) กักกันพืช รายชื่อศัตรูพืช แมลง ไร ไรแมงมุม ไรแดง แมงมุม สัตว์ โรคพืช ไวรอยด์ เชื้อสาเหตุ ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช วัชพืช อนุกรมวิธาน วงศ์ พืชส่งออก พืชนำเข้า มะละกอ มะพร้าวน้ำหอม ข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง เผือก ฟักทอง ปาล์มน้ำมัน หัวพันธุ์ไม้ดอก อ้อย ข้าวฟ่าง มันสำปะหลัง ยาสูบ plant quarantine, pest list, insect, mite, spider mite, red mite, spider, animal, plant disease, viroid, pathogen, plant parasitic nematode, weeds, taxonomy, family, exported plant, imported plant Papaya, Young coconut, Baby corn, Mango, Taro, Pumpkin, Oil palm, Bulb, Sugar cane, Sorghum Cassava, Tobacco

บทคัดย่อ

ประเทศไทยมีการเตรียมข้อมูลเพื่อส่งออกพืชบางชนิดไปยังประเทศเครือรัฐออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา อิหร่าน นิวซีแลนด์ และสำหรับพืชนำเข้า วัตถุประสงค์ของการศึกษาเพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืช ที่ถูกต้องตามหลักวิทยาศาสตร์ นำตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน รวมทั้งตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบัน (validation) ของแมลงศัตรูพืชทั้งหมดที่พบ ในการศึกษาครั้งนี้พบแมลงศัตรูพืชทั้งหมด 6 อันดับ 24 วงศ์ 58 ชนิด โดยพบแมลงศัตรูพืชในพืชส่งออก ได้แก่ **มะพร้าวน้ำหอม** พบแมลงศัตรูพืชทั้งหมด 3 อันดับ 8 วงศ์ 8 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera 3 วงศ์ 3 ชนิด Lepidoptera 3 วงศ์ 3 ชนิด และอันดับ Hemiptera 2 วงศ์ 2 ชนิด ส่วนเชื้อโรคที่พบ โรคใบจุด สาเหตุเกิดจาก *Pestalotiopsis* โรคใบจุดสาหร่ายสาเหตุเกิดจาก *Cephaleuros virescens* โรคเปลือกแตกยางไหลสาเหตุเกิดจากรา *Ceratocystis paradoxa* โรคยอดเน่าและผลเน่าสาเหตุเกิดจาก *Phytophthora palmivora* โรครากเน่า สาเหตุเกิดจากรา *Ganoderma* และวัชพืชที่พบทั้งสิ้น 106 ชนิด 80 สกุล 31 วงศ์, **มะละกอ** พบ 2 อันดับ 3 วงศ์ 4 ชนิด ได้แก่ อันดับ Thysanoptera 1 วงศ์ 2 ชนิด และอันดับ Hemiptera 2 วงศ์ 2 ชนิด ส่วนเชื้อโรคที่พบ คือ โรคแอนแทรคโนสบนผล สาเหตุเกิดจาก *Colletotrichum gloeosporioides* โรคผลเน่า สาเหตุเกิดจาก *Lasiodiplodia theobromae* โรคจุดดำ สาเหตุเกิดจาก *Asperisporium caricae* โรคใบจุด สาเหตุเกิดจาก *Alternaria alternate, Corynespora cassiicola, Cercospora, Phoma* และ *Mycosphaerella* โรครากเน่าโคนเน่า สาเหตุเกิดจาก *Phytophthora plamivora* โรคราแป้ง สาเหตุเกิด

จาก *Oidium* โรคจุดวงแหวน สาเหตุเกิดจาก *Papaya ringspot virus* พบวัชพืชทั้งสิ้น 122 ชนิด กระจายใน 94 สกุล 32 วงศ์, **ข้าวโพดฝักอ่อน (Baby corn, *Zea mays* Linn.)** พบแมลงศัตรูพืช ทั้งหมด 5 อันดับ 9 วงศ์ 18 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด อันดับ Hemiptera 4 วงศ์ 6 ชนิด อันดับ Lepidoptera 2 วงศ์ 7 ชนิด อันดับ Orthoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด และอันดับ Thysanoptera 1 วงศ์ 3 ชนิด, พบ**โรคราน้ำค้าง** สาเหตุเกิดจากรา *Peronosclerospora sorghi* และพบโรคใบไหม้แผลใหญ่ สาเหตุเกิดจากรา *Exserohilum turcicum* พบวัชพืชทั้งหมด 94 ชนิด เป็นวัชพืชประเภทใบแคบ (วงศ์หญ้า Poaceae) 22 ชนิด ประเภทใบกว้าง จำนวน 68 ชนิด และประเภทกกจำนวน 4 ชนิด 72 สกุล 31 วงศ์, **มะม่วง (Mango, *Mangifera indica* Linn.)** พบแมลงศัตรูพืชทั้งหมด 5 อันดับ 12 วงศ์ 26 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera 2 วงศ์ 5 ชนิด อันดับ Diptera 2 วงศ์ 3 ชนิด อันดับ Hemiptera 6 วงศ์ 16 ชนิด อันดับ Lepidoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด และอันดับ Thysanoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด, พบโรคแอนแทรคโนส สาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum gloeosporioidea* โรคราแป้ง สาเหตุเกิดจากรา *Oidium mangiferae* โรคจุดสาหร่าย สาเหตุเกิดจาก*Cephaleuros virescens* โรคราสีชมพู สาเหตุเกิดจากรา *Corticium salmonicolor,* **เผือก (Taro, *Colocasia esculenta* (L.) Schott)** พบแมลงศัตรูพืชทั้งหมด 3 อันดับ 4 วงศ์ 4 ชนิด ได้แก่ อันดับ Hemiptera 2 วงศ์ 2 ชนิด อันดับ Lepidoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด และอันดับ Thysanoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด, **ฟักทอง (Pumpkin, *Cucurbita moschata* Decne)** พบทั้งหมด 5 อันดับ 6 วงศ์ 9 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera 1 วงศ์ 2 ชนิด อันดับ Diptera 1 วงศ์ 1 ชนิด อันดับ Hemiptera 2 วงศ์ 2 ชนิด อันดับ Lepidoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด และอันดับ Thysanoptera 1 วงศ์ 3 ชนิด และพืชนำเข้า **ได้แก่ ปาล์มน้ำมัน** พบแมลงศัตรูพืช 2 อันดับ 6 วงศ์ 8 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera 3 วงศ์ 4 ชนิด และอันดับ Lepidoptera 3 วงศ์ 4 ชนิด เชื้อโรคที่พบ คือ ใบไหม้ปาล์มน้ำมัน สาเหตุเกิดจาก *Curvularia eragrostidis* โรค crown diseases โรคทางใบบิด โรคใบจุดสาหร่าย อาการขาดธาตุโปตัสเซียม อาการขาดธาตุไนโตรเจน พบเชื้อโรค ได้แก่ อาการขาดธาตุโบรอน ราดำ และโรคลำต้นเน่า สาเหตุเกิดจาก *Ganoderma boninense* พบวัชพืชทั้งสิ้น 156 ชนิด 121 สกุล อง 47 วงศ์, **หัวพันธุ์ไม้ดอก** พบแมลงศัตรูพืช 1 อันดับ 1 วงศ์ 1 ชนิด ส่วนโรคที่พบ ได้แก่ ลิลลี่ พบอาการใบจุด สาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum gloeosporioides, Alternaria, Phoma, Mycosphaerella* โรคใบไหม้ สาเหตุเกิดจากรา *Botrytis cinerea* ทิวลิป พบอาการหัวเน่า พบรา *Fusariom oxysporum* พบวัชพืชทั้งสิ้น 74 ชนิด 59 สกุล ของ 26 วงศ์, **อ้อย (Sugar cane, *Saccharum officinarum* Linn.)** พบแมลงศัตรูพืชทั้งหมด 4 อันดับ 14 วงศ์ 19 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera 3 วงศ์ 3 ชนิด อันดับ Hemiptera 8 วงศ์ 10 ชนิด อันดับ Lepidoptera 2 วงศ์ 4 ชนิด และอันดับ Orthoptera 1 วงศ์ 2 ชนิด, พบโรคแส้ดำ สาเหตุเกิดจากรา *Ustilago scitaminea* โรคราสนิม สาเหตุเกิดจากรา *Puccinia melanocephala* โรคใบจุดวงแหวน สาเหตุเกิดจากรา *Leptosphaeria sacchari* โรคใบจุดรูปตา สาเหตุเกิดจากรา *Bipolaris sacchari* โรคเส้นใบแดง สาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum falcatum* โรคเหี่ยวเน่าแดง สาเหตุเกิดจากรา *Fusarium monilifome* โรคปล้องเน่า สาเหตุเกิดจากรา *Schizophyllum commune* พบวัชพืชทั้งหมด 124 ชนิด กระจายตัวใน 94 สกุล ของ 48 วงศ์ เป็นวัชพืชประเภทใบแคบ 22 ชนิด ประเภทใบกว้าง จำนวน 95 ชนิด และประเภทกกจำนวน 7 ชนิด, **ข้าวฟ่าง (Sorghum, *Sorghum***

***bicolor* L.)** พบแมลงศัตรูพืชทั้งหมด 3 อันดับ 7 วงศ์ 11 ชนิด ได้แก่ อันดับ Diptera 1 วงศ์ 1 ชนิด อันดับ Hemiptera 3 วงศ์ 5 ชนิด และอันดับ Lepidoptera 3 วงศ์ 5 ชนิด, พบโรคแอนแทรคโนส สาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum graminicola* โรคใบจุด สาเหตุเกิดจากรา *Phyllachora sorghi* โรคราสนิม สาเหตุเกิดจากรา *Puccinia purpurea* โรคลำต้นเน่า สาเหตุเกิดจากรา *Fusarium moniliforme* โรคเมล็ดเน่า สาเหตุเกิดจากรา *Fusarium moniliforme* พบวัชพืชทั้งหมด 75 ชนิด กระจายตัวใน 63 สกุล ของ 22 วงศ์ เป็นวัชพืชประเภทใบแคบ 18 ชนิด ประเภทใบกว้าง จำนวน 55 ชนิด และประเภทกกจำนวน 2 ชนิด **มันสำปะหลัง (Cassava, *Manihot esculenta* L.)** พบ 2 อันดับ 4 วงศ์ 9 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด และอันดับ Hemiptera 4 วงศ์ 8 ชนิด, **ยาสูบ (Tobacco, *Nicotiana tabacum* L.)** พบ 3 อันดับ 4 วงศ์ 9 ชนิด ได้แก่ อันดับ Hemiptera 2 วงศ์ 2 ชนิด อันดับ Lepidoptera 1 วงศ์ 4 ชนิด และอันดับ Thysanoptera 1 วงศ์ 3 ชนิด ทั้งนี้ได้บรรยายลักษณะทางสัณฐานวิทยา การวินิจฉัย และลักษณะทางชีววิทยาเบื้องต้นโดยสังเขป

บทนำ

การจัดตั้งองค์การการค้าโลก (World Trade Organization, WTO) ซึ่งทุกประเทศเห็นพ้องต้องกันในการลดกำแพงภาษีสำหรับสินค้าเกษตร เพื่อสนับสนุนให้เกิดการค้าเสรี เพื่อป้องกันมิให้มีการใช้มาตรการกีดกันไม่ใช่ภาษี (non tariff barrier, NTB) อันจะก่อให้เกิดปัญหาอุปสรรคต่อการค้าระหว่างประเทศ จึงมีความตกลงว่าด้วยการใช้บังคับมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, SPS Agreement) ประเทศสมาชิก WTO รวมทั้งประเทศไทยจะใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชได้เท่าที่จำเป็นในการปกป้องสุขภาพของมนุษย์ สัตว์ และพืช (อนันต์, 2543) ดังนั้นประเทศผู้นำเข้าจึงต้องมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis) ของพืชนำเข้าและสามารถกำหนดการห้ามนำเข้าโดยมีเหตุผลสนับสนุนเพียงพอและพิสูจน์ได้ตามหลักวิทยาศาสตร์ (อรุณี, 2543)

การที่ประเทศไทยมีเขตการค้าเสรี (Free Trade Area, FTA) กับประเทศต่างๆเพิ่มขึ้น สินค้าที่เคยมีการนำเข้าแล้วจะมีปริมาณนำเข้าเพิ่มขึ้น และยังเปิดโอกาสให้มีการนำเข้าสินค้าชนิดใหม่จากต่างประเทศอีกด้วย หากประเทศไทยไม่มีมาตรการสุขอนามัยพืชที่เข้มงวด นอกจากจะเสียเปรียบต่อประเทศคู่ค้าแล้วอาจก่อให้เกิดปัญศัตรูพืชหลายชนิดที่ไม่เคยพบในประเทศติดเข้ามากับสินค้าได้ซึ่งจะแพร่กระจายและเพิ่มปริมาณจนเกิดเป็นการระบาดของศัตรูพืชชนิดใหม่ขึ้น ส่งผลเสียต่อเศรษฐกิจของประเทศอย่างโดยเฉพาะการเกษตรกรรม จึงจำเป็นจะต้องมีมาตรการสุขอนามัยพืชกับพืชที่มีการนำเข้าทั้งหมด โดยเฉพาะอย่างยิ่งสินค้าที่มีปริมาณนำเข้ามากมาจากแหล่งที่มีความเสี่ยงศัตรูพืชสูง จะมีศัตรูพืชเล็ดลอดติดเข้ามาโดยต้องเร่งทำการวิจัยเกี่ยวกับด้านชนิด จำนวนของศัตรูพืช เพื่อที่จะได้จัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่พบในพืชนำเข้า 2 ชนิด และพืชส่งออก 2 ชนิด เพื่อไว้ตรวจสอบกับบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืชที่ประเทศคู่ค้าส่งมา รวมทั้งนำไปเป็นข้อมูลสำคัญของกลุ่มวิจัยการกักกันพืชในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชต่อไป

ระเบียบวิธีการวิจัย

การทดลองที่ 1.1 การศึกษาชนิดของแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชของพืชส่งออก ได้แก่ เผือก และ ฟักทอง พืชนำเข้า ได้แก่ มันสำปะหลัง และ ยา สูบ

- **สิ่งที่ใช้ในการทดลอง**

1. วัสดุและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ ได้แก่ อาหารสำหรับแยกเชื้อ สารเคมี และอุปกรณ์ในการทำสไลด์ กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope
2. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างศัตรูพืช เช่น ถุงพลาสติก กล่องพลาสติก กล่องรักษาความเย็น
3. หนังสือ ตำรา วารสาร และเอกสารที่เกี่ยวข้องเพิ่มเติม
4. วัสดุสำนักงานและวัสดุคอมพิวเตอร์ เช่น หมึกพิมพ์ กระดาษ และแผ่นบันทึกข้อมูล เป็นต้น
5. วัสดุเกษตร เช่น ดินผสม กระถาง ปุ๋ย ยาฆ่าแมลง เป็นต้น

- **วิธีปฏิบัติการทดลอง**

1. การตรวจเอกสาร: โดยการสืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของแมลง / ไร / สัตว์ศัตรูพืชจากเอกสารที่มีการรายงานไว้ในประเทศไทยและต่างประเทศ

2. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่าง แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช จากแหล่งปลูกของเผือก ฟักทอง มันสำปะหลัง และยาสูบ ที่มีแมลง สัตว์ศัตรูพืชเข้าทำลาย โดยเก็บตัวอย่างจากจังหวัดต่าง ๆ ในประเทศไทย

แมลง ใช้สวิงโฉบ/เคาะหรือเขย่ากิ่งหรือต้นพืชให้แมลงตกลงมาบนอุปกรณ์ที่รองรับ/ใช้พู่กันเขี่ยใส่ขวดบรรจุน้ำยาดอง แมลงที่มีขนาดลำตัวใหญ่ เช่น ด้วง มวน และตั๊กแตนเมื่อทำการโฉบหรือจับมาได้ฆ่าโดยใช้ killing jar ซึ่งบรรจุน้ำยา ethyl acetate หลังจากแมลงตาย ใช้ปากคีบ คีบตัวแมลงใส่ซองกระดาษห่อ หากตัวอย่างแมลงที่รวบรวมได้อยู่ในระยะหนอน/ตัวอ่อน ต้องนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย แมลงจำพวกปากดูดที่มีขนาดเล็ก จะเขี่ยใส่ขวดที่บรรจุน้ำยาดอง (AGA หรือแอลกอฮอล์ 80%) นำกลับมาทำสไลด์ถาวรที่ห้องปฏิบัติการ บันทึกข้อมูลเบื้องต้น เช่น พืชอาหาร สถานที่ วัน เดือน ปี พิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ทุกครั้งที่เก็บตัวอย่าง

ไร โดยเก็บใบ กิ่ง ผล หรือส่วนต่าง ๆ ของพืช ที่แสดงอาการผิดปกติ ลงในกล่องพลาสติก หรือถุงกระดาษพับปากถุง บันทึกข้อมูลเกี่ยวกับตัวอย่างไร เช่น ชื่อพืช ผู้เก็บ สถานที่ที่เก็บตัวอย่างไร บันทึกข้อมูลพิกัด จากนั้นนำตัวอย่างแช่ลงในกระติกน้ำแข็งก่อนนำกลับมายังห้องปฏิบัติการ

สัตว์ โดยใช้มือจับหรือตาข่ายกั้น สำหรับตัวอย่างหอยศัตรูพืช นำตัวอย่างที่ได้มาศึกษาสัณฐานวิทยาของเปลือก โดยนำเปลือกหอยมาล้างทำความสะอาดในน้ำสบู่อ่อนๆ ใช้แปรงสีฟันหรือพู่กันขัดเบาๆ เพื่อให้โคลนดินหลุดออก ทำให้เห็นลายของเปลือกและรายละเอียดอื่นๆได้ชัดเจน ง่ายต่อการจำแนก นำมาผึ่งให้แห้ง แล้วนำมาเคลือบด้วย liquid paraffin เพื่อให้คงทนต่อการเก็บรักษา นำตัวอย่างที่ได้มาถ่ายภาพ/วาดภาพ และศึกษาสัณฐานวิทยาของเปลือก และจำแนกชนิดตามระบบอนุกรมวิธานของหอย ตามวิธีการของ Abbott (1989), Laws (1973), Panha (1996) และ Vaught (1989)

1. ตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด

3.1 จัดเตรียมตัวอย่าง

แมลง

- นำตัวอย่างแมลงที่เก็บรวบรวมได้มาจัดรูปร่าง (set) บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) ตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณด้านหน้าตรงมุมของปีกขวา (บริเวณมุมที่ปีกจรดกัน) ใช้ปากคีบจัดขาทั้งสามคู่ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดินโดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด ตัวเต็มวัยขนาด เช่น เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดด และด้วงที่มีขนาดเล็กให้ติดลงบนกระดาษรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง อุณหภูมิ 50-60^{O}C ใช้เวลา 30 – 60 วัน ขึ้นกับขนาดของแมลง

- ทำสไลด์ถาวร แมลงจำพวกปากดูดที่มีขนาดเล็กเช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอย ต้องนำมาทำสไลด์ถาวร และนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50-60^{O}C เพื่อจำแนกชนิด

ไร ทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereomicroscope หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้ชัดเจน โดยจัดท่าทางของไรให้อยู่ในท่าคว่ำและท่าตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะต่างๆที่ใช้ในการจำแนก จากนั้นปิดสไลด์ด้วย coverglass ใช้ปากกาเขียวแก้ววงกลมล้อมรอบตัวไรทันทีหลังจากทำสไลด์เรียบร้อยแล้ว เพื่อสะดวกในการหาตัวไรได้ง่ายขึ้น นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 ^{O}C ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ covergrass ด้วยน้ำยา ทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บและพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

สัตว์ ถ่ายภาพ ทำให้ตายและเก็บตัวอย่างเปลือกหอย

3.1 จัดเตรียมตัวอย่าง

3.2 ตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด

ตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานโดยใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของแมลง/ ไร/ หอยศัตรูพืช ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์

3.3 จัดทำป้ายบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลรายละเอียดบนป้ายบันทึกที่ต้องติดไว้กับตัวอย่างแมลง/ไร/หอยแต่ละตัว ได้แก่ชื่อวิทยาศาสตร์ วัน/เดือน/ ปีและสถานที่จับ วัน / เดือน / ปี ที่ทำสไลด์ถาวร ชื่อน้ำยาที่ใช้เมาท์ (mount) สไลด์

4. เก็บรักษาตัวอย่าง

นำตัวอย่างแมลง/ไร/หอยศัตรูพืชที่ได้ศึกษาวิจัยแล้วเก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากล (แมลง/ไร/หอยศัตรูพืชทุกชนิดที่รายงานไว้ต้องมีตัวอย่างจริงเก็บรักษาไว้เพื่อการตรวจสอบ/ สืบค้น/ อ้างอิง)

5. จัดทำรายชื่อและข้อมูลศัตรูพืช

รวบรวมข้อมูลทั้งหมดจัดทำรายชื่อและข้อมูลศัตรูพืชตามระบบสากล

- **การบันทึกข้อมูล**

บันทึกรายละเอียดของแมลง/ ไร/ หอยศัตรูพืช ส่วนของพืชที่พบตัวอย่าง ลักษณะการทำลาย วัน /เดือน /ปี สถานที่ แหล่งที่พบ พิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งบันทึกโดยการถ่ายภาพ

- **สถานที่ทำการทดลองและเก็บข้อมูล**

1. แหล่งปลูกทั่วทุกภาคของประเทศ
2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

การทดลองที่ 1.2 การศึกษาชนิดของโรคพืชของพืชส่งออก ได้แก่ เผือก และ ฟักทอง พืชนำเข้า มันสำปะหลัง และ ยาสูบ

1. สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

- อุปกรณ์เก็บตัวอย่างได้แก่ ถุงพลาสติก กระดาษบันทึก ปากกาเคมี เครื่องระบุพิกัดภูมิศาสตร์

- วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อ

- อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง ขวดดูแรน บีกเกอร์ สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์ กระบอกตวง แท่งแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอลิ์เข็มเขี่ยปลายแหลม ห่วงถ่ายเชื้อ ปากคีบ ใบมีดผ่าตัด

- กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และ stereo พร้อมกล้องถ่ายภาพ

- อาหารแยกและเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ water agar (WA) และ potato dextrose agar (PDA)

- สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ ได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ และ เอธิลแอลกอฮอล์ 75%

- อุปกรณ์ทำตัวอย่างแห้ง เช่น กระดาษหนังสือพิมพ์ ไม้อัดตัวอย่าง กระดาษฟาง ซอง กระดาษสำหรับใส่ตัวอย่าง

2. แบบและวิธีการทดลอง

-วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูล (2557)

สืบค้นข้อมูลโรคของ เผือก ฟักทอง มันสำปะหลัง และ ยาสูบ ที่ระบาดในประเทศไทย จากเอกสาร
ต่าง ๆ หรือจากข้อมูลอิเลคโทรนิค

2. การสำรวจโรค (2557-2558)

เก็บตัวอย่างโรคของ เผือก ฟักทอง มันสำปะหลัง และ ยาสูบ ที่แสดงอาการโรคที่ใบ ดอก ผล ลำต้น และราก โดยเก็บตัวอย่างจากจังหวัดต่าง ๆ ในประเทศไทย ห่อตัวอย่างพืชที่เก็บมาด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติค บันทึกข้อมูลสถานที่เก็บ วันที่เก็บ ผู้เก็บ และข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์ นำตัวอย่าง

มาศึกษาลักษณะอาการในห้องปฏิบัติการ จัดเก็บโรคพืชที่แสดงอาการที่ใบอัดทับเป็นตัวอย่างแห้งเข้าพิพิธภัณฑ์โรคพืช ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ ฯ

3. การศึกษาสาเหตุโรคพืช (2557-2558)

- การศึกษาสาเหตุจากตัวอย่างพืชเป็นโรค

ศึกษาสาเหตุจากตัวอย่างพืชที่เป็นโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เขี่ยเชื้อจากตัวอย่างดอก ใบ ผล กิ่ง ลำต้น ราก ที่เป็นโรคลงบนแผ่นสไลด์ (slide) แล้วตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์

-การศึกษาเชื้อสาเหตุโดยวิธีแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชเป็นโรค

แยกเชื้อจากส่วนที่เป็นโรคของ เผือก ฟักทอง มันสำปะหลัง และ ยาสูบ ตัดตัวอย่างโรคพืชบริเวณที่เป็นรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติขนาดประมาณ 2x2 มิลลิเมตร ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวพืชโดยแช่ชิ้นส่วนพืชลงในสารละลายโซเดียมไฮโปร์คลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจนแห้งสนิท นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนอาหาร half strength Potato Dextrose Agar (1/2 PDA) แล้วบ่มไว้ในห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-3 วัน ตรวจดูเส้นใยราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ตัด hyphal tip ของราที่เจริญออกมาจากชิ้นตัวอย่างพืช วางลงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปศึกษารายละเอียดของราเพื่อการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุต่อไป

แยกเชื้อสาเหตุที่เกิดจากแบคทีเรียและไส้เดือนฝอยและตรวจสอบอาการที่เกิดจากไวรัส

4. การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุโรคพืช (2557-2558)

- ศึกษารูปร่างลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ compound microscope โดยตรวจดูลักษณะเส้นใย conidiophore และสปอร์ และศึกษาลักษณะของสปอร์และโครงสร้างอื่น ๆ ของเชื้อรา โดยการ mount slide ด้วยน้ำหรือ shear's solution

- ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สีลักษณะของสปอร์ conidiophore สี ขนาด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound บันทึกขนาด รูปร่าง วาดภาพ และบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ

<u>การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช</u>

แยกจากส่วนของพืชที่มีอาการของโรค ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 4 ตร.มม. ระหว่างรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แต่ละชิ้นตัวอย่างนำมาล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70% 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งแล้ว 3 ครั้ง หลังจาก surface sterilize แล้วนำมาบดในน้ำกลั่น ใช้ loop จุ่มในพืชที่บด นำมา streak บนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PSA(Potato semisynthetic agar) หลังจากนั้นเก็บจานเลี้ยงเชื้อในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 280 ซ. นาน 72 ชั่วโมง แล้วเก็บโคโลนี ทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธี streak plate หลาย ๆ ครั้ง เก็บ single colony เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์

จำแนกลักษณะแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

- จำแนกแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชตามลักษณะทาง สรีรวิทยา และสัณฐานวิทยา ศึกษาลักษณะบนอาหารสังเคราะห์ ลักษณะและสีของโคโลนี ของแบคทีเรีย
- จำแนกลักษณะสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชตามคุณสมบัติทางชีวเคมีและฟิสิกส์

ทดสอบการเกิดโรคกับพืชอาศัยชนิดต่างๆ (Pathogenicity test) เพื่อพิสูจน์โรคตามวิธีการของ Koch (Koch's patulation)

<u>การตรวจสอบโรคพืชที่เกิดจากเชื้อไวรัส</u>

1. ตรวจดูจากลักษณะอาการภายนอก

ส่วนใหญ่พืชที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลายจะมีการเจริญที่ผิดปกติในส่วนต่างๆ ของพืชที่มีการเจริญเติบโต โดยเฉพาะบริเวณใบอ่อนหรือยอดอ่อน อาการผิดปกติรวมไปถึงรูปร่างและสีของใบ ดอก ผล เช่น อาการใบด่าง ดอกด่าง ผลบิดเบี้ยว ต้นพืชเตี้ยแคระแกร็นกว่าปกติ

2. การถ่ายทอดโรคโดยวิธีกล

เป็นการทดสอบโดยการบดใบพืชที่สงสัยว่าจะมีเชื้อไวรัสในสารละลายบัฟเฟอร์ และนำน้ำคั้นไปทาลงบนพืชทดสอบที่ทำให้เกิดบาดแผลขนาดเล็กบนใบด้วยผงคาร์บอรันดัม เก็บพืชที่ปลูกเชื้อไว้ในโรงเรือนเพื่อตรวจสอบอาการของโรค

3. การถ่ายทอดโรคโดยวิธีติดตาหรือทาบกิ่ง

เหมาะสำหรับการตรวจสอบวินิจฉัยไวรัสในพืชยืนต้น และเป็นไม้เนื้อแข็ง โดยตัดส่วนตาหรือกิ่งจากต้นพืชที่ต้องการตรวจหาเชื้อไวรัส นำมาติกตาหรือทาบกิ่งลงบนต้นกล้าของพืชชนิดเดียวกันหรือสายพันธุ์ที่ใกล้เคียงกันที่ปราศจากโรค ถ้าต้นที่นำมาทดสอบมีเชื้อไวรัส อาการก็จะปรากที่บริเวณยอดอ่อนหรือใบอ่อนของต้นตอ

4. การถ่ายทอดโดยแมลงพาหะ

นิยมใช้ในพืชตระกูลหญ้า หรือพืชผัก ที่ไม่สามารถใช้วิธีกลหรือติดตาได้ โดยใช้แมลงพาหะเป็นตัวนำเชื้อไวรัสจากต้นเป็นโรคไปสู่พืชทดสอบ ซึ่งอาจเป็นพืชชนิดเดียวกันหรือต่างชนิดกันก็ได้ แมลงพาหะที่นิยมใช้ เช่น เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เพลี้ยกระโดด ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อไวรัส โดยการให้แมลงดูดกินต้นพืชหรือชิ้นส่วนพืชที่ต้องการตรวจสอบ ประมาณ 48 ชั่วโมง จากนั้นจึงย้ายแมลงไปให้ดูดกินพืชทดสอบนาน 48 ชั่วโมงหรือมากกว่า และจึงกำจัดแมลงบนต้นพืชทดสอบ แล้วตรวจสอบอาการโรคภายในระยะเวลา 7-10 วัน

5. การตรวจสอบด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา

โดยอาศัยปฏิกิริยาจำเพาะที่เกิดขึ้นระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี วิธีที่นิยมใช้ ได้แก่ Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) อาศัยหลักการพ่วงเอนไซม์บางชนิดเข้ากับแอนติบอดี เมื่อเกิดปฏิกิริยาจำเพาะระหว่างแอนจิเจน (ไวรัส) และแอนติบอดี สามารถเติมสับสเตรทลงไป

เอนไซม์ที่พ่วงติดอยู่กับแอนติบอดีจะเปลี่ยนสับสเตรทให้เป็นสารประกอบที่มีสี มองเห็นได้ง่าย แสดงว่ามีเชื้อไวรัสในตัวอย่างนั้นๆ

6. การตรวจหากรดนิวคลีอิกของเชื้อไวรัส ซึ่งวิธีการที่นิยมใช้ในการตรวจมี 2 วิธีหลัก คือ

- Molecular hybridization อาศัยหลักการจับคู่กันของเบสตรงกันข้ามบนเส้นดีเอ็นเอหรืออาร์เอ็นเอสายเดี่ยว จึงมีการใช้ดีเอ็นเอตัวตรวจ (DNA probe) ซึ่งเป็นชิ้นดีเอ็นเอสั้นๆ ที่สามารถจับคู่กับยีนหรือยีนบางส่วนของไวรัส ดีเอ็นเอจะถูกติดฉลากด้วยสารเคมี เมื่อยีนของไวรัสจับคู่กับดีเอ็นตัวตรวจ ก็สามารถติดตามดีเอ็นเอตัวตรวจด้วยวิธีการที่เหมาะสม ที่ทำให้เกิดสี ซึ่งก็แสดงว่าตัวอย่างที่ตรวจนั้นมีเชื้อไวรัส

- Polymerase chain reaction (PCR) อาศัยหลักการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอสายคู่ด้วยเอนไซม์ DNA polymerase โดยอาศัยไพรเมอร์ ซึ่งจะมีความจำเพาะเจาะจงในการจับคู่กับดีเอ็นเอแต่ละสาย โดยการเกิดปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องในเครื่อง Thermocycler หรือที่เรียกกันทั่วไปว่าเครื่อง PCR เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาจะได้ดีเอ็นที่ถูกสร้างขึ้นมาจำนวนมาก สามารถตรวจดูได้โดยอาศัย gel electrophoresis และย้อมสีด้วย ethidium bromide ซึ่งถ้าพบว่ามีปริมาณดีเอ็นจำนวนมากก็แสดงว่าตัวอย่างที่นำมาตรวจนั้นเป็นโรคไวรัส

7. วิธีการตรวจหาอนุภาคไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

เพื่อตรวจลักษณะ รูปร่างและขนาดของอนุภาคไวรัส

<u>การแยกเชื้อไส้เดือนฝอยสาเหตุ โรคพืช</u>

การเก็บตัวอย่างดิน

เก็บตัวอย่างดินจากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย โดยใช้ท่อเก็บตัวอย่างดินขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 นิ้ว เก็บดินลึกประมาณ 20 เซนติเมตร โดยสุ่มเก็บจำนวน 20 จุดต่อ 1 ตัวอย่าง บันทึกวันที่เก็บตัวอย่าง ชนิดพืช ชนิดดิน อุณหภูมิของดินในขณะเก็บตัวอย่าง บันทึกพิกัดทางภูมิศาสตร์โดยใช้เครื่อง GPS

แยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดินและจัดจำแนก

แยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่างดินโดยวิธีการรินผ่านตะแกรง ร่วมกับการใช้ถาดแยกตัวอย่าง (Decanting and Sieving with Baermann's Tray Technique) คงสภาพไส้เดือนฝอยใน Glycerol และทำสไลด์ถาวร (Cob's Slide) จัดจำแนกไส้เดือนฝอยโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา บันทึกภาพ

5. การทดสอบการเกิดโรค (2557-2558)

สำหรับโรคที่พบใหม่นั้นให้ทำการพิสูจน์การเกิดโรค โดยทำการปลูกเชื้อส่วนของเผือก ฟักทอง มันสำปะหลัง และ ยาสูบ โดยทำแผลและไม่ทำแผล เปรียบเทียบกับการเกิดโรคบนส่วนที่ไม่ปลูกเชื้อด้วยวิธีเดียวกันแยกเชื้อสาเหตุจากต้นที่แสดงอาการโรค เปรียบเทียบชนิดของราสาเหตุโรคใช้ในการปลูกเชื้อ

3. สถานที่ทำการทดลอง

- กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
- แปลงเกษตรกรปลูก เผือก ฟักทอง มันสำปะหลัง และ ยาสูบ

การทดลองที่ 1.3 การศึกษาชนิดของวัชพืชของพืชส่งออก ได้แก่ เผือก และ ฟักทอง พืชนำเข้า ได้แก่ มันสำปะหลัง และยาสูบ

-สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1) กล้องถ่ายรูปแบบดิจิตอล
2) เครื่องวัดพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS)
3) กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope)
4) เลนส์ขยาย 10 เท่า สำหรับการตรวจสอบเบื้องต้นในภาคสนาม
5) กรรไกร มีด เสียม หรือพั่ว สำหรับตัด/ขุด ตัวอย่างพืช
6) แผงอัดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมกระดาษฟูก ฟองน้ำและหนังสือพิมพ์ พร้อมเชือกไส้ตะเกียงและป้ายชื่อสำหรับผูกตัวอย่างพืช
7) กระดาษติดตัวอย่างพืช
8) กล่องใส่เมล็ดพืช
9) ขวดแก้ว และน้ำยาสำหรับดองตัวอย่างพืช (หากจำเป็น)
10) น้ำยาชุบตัวอย่างวัชพืช ประกอบด้วย ฟีนอล เมอคิวริคคลอไรด์
11) การบูร
12) อุปกรณ์อื่นๆ ที่จำเป็น เช่น ถุงพลาสติกขนาดต่างๆ กระถางขนาดต่างๆ พร้อมดินและป้ายปักสำหรับปลูกพืชตัวอย่างเพื่อเก็บเมล็ด และศึกษารายละเอียดของพืชเพิ่มเติม
13) สมุดบันทึก

- วิธีการทดลอง การสำรวจแบบสืบพบ โดยการเดินสำรวจในพื้นที่ที่สามารถเข้าถึงด้วยรถยนต์ หรืออยู่ในระยะที่เดินเข้าได้
- วิธีปฏิบัติการทดลอง

1) ตรวจสอบสืบค้น ข้อมูล เอกสาร งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
2) กำหนดพื้นที่ วางแผนการสำรวจเก็บตัวอย่าง ในแหล่งปลูกพืชทั้งสี่ชนิด ในภาคกลาง ตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ
3) ดำเนินการสำรวจวัชพืชในแปลงปลูกเผือก ฟักทอง มันสำปะหลัง และยาสูบ ตามภาคต่างๆ ของประเทศ โดยการเดินเป็นแนวเส้นตรงตั้งฉากกับขอบแปลงอย่างน้อย 3 แนว และเดินตามขอบแปลง หรือเส้นทแยงมุม หากแปลงขนาดใหญ่มาก บันทึกชื่อวัชพืชทุกชนิดที่พบ หากไม่สามารถระบุชื่อได้ เก็บตัวอย่างพืชทั้งสดและแห้ง เพื่อศึกษารายละเอียดเพิ่มเติม และตรวจสอบชนิดวัชพืชต่อไป

4) การบันทึกข้อมูล ทำการบันทึก พื้นที่ – ที่ตั้ง (พิกัดภูมิศาสตร์-GPS) สภาพพื้นที่ สภาพนิเวศ อายุหรือระยะพืชปลูก ชนิดลักษณะวัชพืชที่พบ และข้อมูลอื่นๆ ที่จำเป็น

5) การจัดทำตัวอย่างแห้ง เก็บวัชพืชที่มีใบและดอกสมบูรณ์ ไม่ถูกแมลงทำลาย หากพืชมีขนาดเล็กควรมีราก ต้น ใบ –ดอก ครบ หากเป็นพืชไร้ดอก ควรมีส่วนที่ใช้ในการขยายพันธุ์ หรือลักษณะอื่นที่สามารถใช้ในการตรวจวิเคราะห์ชนิดได้ อัดในแผงอัดพรรณไม้ ขนาดประมาณ 50 x30 เซนติเมตร อย่างน้อยชนิดละ 2 ตัวอย่าง เมื่อแห้งแล้วติดลงบนกระดาษขาว ขนาด 45 x 30 เซนติเมตร พร้อมติดป้าย ระบุ ชื่อวัชพืช สถานที่ – นิเวศน์ พืชอาศัย วัน-เวลา ชื่อผู้เก็บ เก็บรักษา ณ กลุ่มวิจัยวัชพืช และพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ กรมวิชาการเกษตร

6) การตรวจสอบชนิดพืช ทำโดยการเทียบตัวอย่างพืชในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ อาคารพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร กรมวิชาการเกษตร หอพรรณไม้ กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช พิพิธภัณฑ์พืชของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น และองค์การสวนพฤกษศาสตร์ รวมถึงสอบถามจากผู้ทรงคุณวุฒิ ของแต่ละวงศ์หรือสกุลของพืชนั้น ๆ ตลอดจนการตรวจสอบกับเอกสารคู่มือต่างๆ

-การบันทึกข้อมูล

1. ชื่อพืชปลูกและวัชพืช
2. สถานที่
3. สภาพนิเวศ
4. วัน เดือนปี ที่พบ

ผลการทดลองและอภิปราย

การสำรวจรวบรวมตัวอย่างแมลง/ไร/สัตว์ เชื้อโรคศัตรูพืช และวัชพืชในแปลงปลูกพืช ตามภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคใต้ พืชส่งออก ได้แก่ มะละกอ มะพร้าวน้ำหอม ข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง เผือกและฟักทอง พืชนำเข้า ได้แก่ ปาล์มน้ำมัน หัวพันธุ์ไม้ดอก อ้อย ข้าวฟ่าง มันสำปะหลัง และยาสูบ ได้บัญชีรายชื่อพืชส่งออก ได้แก่ มะละกอ มะพร้าวน้ำหอม ข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง เผือกและฟักทอง พืชนำเข้า ได้แก่ ปาล์มน้ำมัน หัวพันธุ์ไม้ดอก อ้อย ข้าวฟ่าง มันสำปะหลัง และยาสูบ และตัวอย่างศัตรูพืชเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยพบแมลงศัตรูพืชในพืชส่งออก ได้แก่

มะพร้าวน้ำหอม พบแมลงศัตรูพืชทั้งหมด 3 อันดับ 8 วงศ์ 8 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera 3 วงศ์ 3 ชนิด Lepidoptera 3 วงศ์ 3 ชนิด และอันดับ Hemiptera 2 วงศ์ 2 ชนิด ส่วนเชื้อโรคที่พบ โรคใบจุดสาเหตุเกิดจาก *Pestalotiopsis* โรคใบจุดสาหร่ายสาเหตุเกิดจาก *Cephaleuros virescens* โรคเปลือกแตกยางไหลสาเหตุเกิดจากรา *Ceratocystis paradoxa* โรคยอดเน่าและผลเน่าสาเหตุเกิดจาก *Phytophthora palmivora* โรครากเน่า สาเหตุเกิดจากรา *Ganoderma* และวัชพืชที่พบทั้งสิ้น 106 ชนิด 80 สกุล 31 วงศ์,

มะละกอ พบแมลงศัตรูพืชทั้งหมด 2 อันดับ 3 วงศ์ 4 ชนิด ได้แก่ อันดับ Thysanoptera 1 วงศ์ 2 ชนิด และอันดับ Hemiptera 2 วงศ์ 2 ชนิด ส่วนเชื้อโรคที่พบ คือ โรคแอนแทรคโนสบนผล สาเหตุเกิดจาก *Colletotrichum gloeosporioides* โรคผลเน่า สาเหตุเกิดจาก *Lasiodiplodia theobromae* โรคจุดดำ

สาเหตุเกิดจาก *Asperisporium caricae* โรคใบจุด สาเหตุเกิดจาก *Alternaria alternate, Corynespora cassiicola, Cercospora, Phoma* และ *Mycosphaerella* โรครากเน่าโคนเน่า สาเหตุเกิดจาก *Phytophthora plamivora* โรคราแป้ง สาเหตุเกิดจาก *Oidium* โรคจุดวงแหวน สาเหตุเกิดจาก *Papaya ringspot virus* พบวัชพืชทั้งสิ้น 122 ชนิด กระจายใน 94 สกุล 32 วงศ์

ข้าวโพดฝักอ่อน (Baby corn, *Zea mays* Linn.) พบแมลงศัตรูพืช ทั้งหมด 5 อันดับ 9 วงศ์ 18 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด อันดับ Hemiptera 4 วงศ์ 6 ชนิด อันดับ Lepidoptera 2 วงศ์ 7 ชนิด อันดับ Orthoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด และอันดับ Thysanoptera 1 วงศ์ 3 ชนิด, พบโรคราน้ำค้าง สาเหตุเกิดจากรา *Peronosclerospora sorghi* และพบโรคใบไหม้แผลใหญ่ สาเหตุเกิดจากรา *Exserohilum turcicum* พบวัชพืชทั้งหมด 94 ชนิด เป็นวัชพืชประเภทใบแคบ (วงศ์หญ้า Poaceae) 22 ชนิด ประเภทใบกว้าง จำนวน 68 ชนิด และประเภทกกจำนวน 4 ชนิด 72 สกุล 31 วงศ์

มะม่วง (Mango, *Mangifera indica* Linn.) พบแมลงศัตรูพืชทั้งหมด 5 อันดับ 12 วงศ์ 26 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera 2 วงศ์ 5 ชนิด อันดับ Diptera 2 วงศ์ 3 ชนิด อันดับ Hemiptera 6 วงศ์ 16 ชนิด อันดับ Lepidoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด และอันดับ Thysanoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด, พบโรคแอนแทรคโนส สาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum gloeosporioidea* โรคราแป้ง สาเหตุเกิดจากรา *Oidium mangiferae* โรคจุดสาหร่าย สาเหตุเกิดจาก*Cephaleuros virescens* โรคราสีชมพู สาเหตุเกิดจากรา *Corticium salmonicolor* โรคช่อดอกดำ สาเหตุเกิดจากราหลายชนิด ได้แก่ *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alternaria* และ *Pestalotiopsis* โรคราดำ สาเหตุเกิดจากรา *Capnodium mangiferae* และราดำ สาเหตุเกิดจากรา *Meliola mangiferae* โรคใบจุด สาเหตุเกิดจากรา *Phyllosticta mangiferae* โรคเปลือกแตกยางไหล สาเหตุเกิดจากรา *Lasiodiplodia theobromae* โรคผลเน่า สาเหตุเกิดจากรา *Lasiodiplodia theobromae* พบวัชพืชทั้งหมด 122 ชนิด กระจายตัวใน 89 สกุล ใน 29 วงศ์เป็น วัชพืชประเภทใบแคบ (วงศ์หญ้า Poaceae) 30 ชนิด ประเภทใบกว้าง จำนวน 51 ชนิด และประเภทกกจำนวน 8 ชนิด

เผือก (Taro, *Colocasia esculenta* (L.) Schott) พบแมลงศัตรูพืชทั้งหมด 3 อันดับ 4 วงศ์ 4 ชนิด ได้แก่ อันดับ Hemiptera 2 วงศ์ 2 ชนิด อันดับ Lepidoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด และอันดับ Thysanoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด

ฟักทอง (Pumpkin, *Cucurbita moschata* Decne) พบทั้งหมด 5 อันดับ 6 วงศ์ 9 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera 1 วงศ์ 2 ชนิด อันดับ Diptera 1 วงศ์ 1 ชนิด อันดับ Hemiptera 2 วงศ์ 2 ชนิด อันดับ Lepidoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด และอันดับ Thysanoptera 1 วงศ์ 3 ชนิด

สำหรับพืชนำเข้า **ได้แก่**

ปาล์มน้ำมัน พบแมลงศัตรูพืช 2 อันดับ 6 วงศ์ 8 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera 3 วงศ์ 4 ชนิด และอันดับ Lepidoptera 3 วงศ์ 4 ชนิด เชื้อโรคที่พบ คือ ใบไหม้ปาล์มน้ำมัน สาเหตุเกิดจาก *Curvularia eragrostidis* โรค crown diseases โรคทางใบบิด โรคใบจุดสาหร่าย อาการขาดธาตุโปตัสเซียม อาการขาด

ธาตุไนโตรเจน พบเชื้อโรค ได้แก่ อาการขาดธาตุโบรอน ราดำ และโรคลำต้นเน่า สาเหตุเกิดจาก *Ganoderma boninense* พบวัชพืชทั้งสิ้น 156 ชนิด 121 สกุล อง 47 วงศ์,

หัวพันธุ์ไม้ดอก พบแมลงศัตรูพืช 1 อันดับ 1 วงศ์ 1 ชนิด ส่วนโรคที่พบ ได้แก่ ลิลลี่ พบอาการใบจุด สาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum gloeosporioides, Alternaria, Phoma, Mycosphaerella* โรคใบไหม้ สาเหตุเกิดจากรา *Botrytis cinerea* ทิวลิป พบอาการหัวเน่า พบรา *Fusariom oxysporum* พบวัชพืชทั้งสิ้น 74 ชนิด 59 สกุล ของ 26 วงศ์

อ้อย (Sugar cane, *Saccharum officinarum* Linn.) พบแมลงศัตรูพืชทั้งหมด 4 อันดับ 14 วงศ์ 19 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera 3 วงศ์ 3 ชนิด อันดับ Hemiptera 8 วงศ์ 10 ชนิด อันดับ Lepidoptera 2 วงศ์ 4 ชนิด และอันดับ Orthoptera 1 วงศ์ 2 ชนิด, พบโรคแส้ดำ สาเหตุเกิดจากรา *Ustilago scitaminea* โรคราสนิม สาเหตุเกิดจากรา *Puccinia melanocephala* โรคใบจุดวงแหวน สาเหตุเกิดจากรา *Leptosphaeria sacchari* โรคใบจุดรูปตา สาเหตุเกิดจากรา *Bipolaris sacchari* โรคเส้นใบแดง สาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum falcatum* โรคเหี่ยวเน่าแดง สาเหตุเกิดจากรา *Fusarium monilifome* โรคปล้องเน่า สาเหตุเกิดจากรา *Schizophyllum commune* พบวัชพืชทั้งหมด 124 ชนิด กระจายตัวใน 94 สกุล ของ 48 วงศ์ เป็นวัชพืชประเภทใบแคบ 22 ชนิด ประเภทใบกว้าง จำนวน 95 ชนิด และประเภทกก จำนวน 7 ชนิด

ข้าวฟ่าง (Sorghum, *Sorghum bicolor* L.) พบแมลงศัตรูพืชทั้งหมด 3 อันดับ 7 วงศ์ 11 ชนิด ได้แก่ อันดับ Diptera 1 วงศ์ 1 ชนิด อันดับ Hemiptera 3 วงศ์ 5 ชนิด และอันดับ Lepidoptera 3 วงศ์ 5 ชนิด, พบโรคแอนแทรคโนส สาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum graminicola* โรคใบจุด สาเหตุเกิดจากรา *Phyllachora sorghi* โรคราสนิม สาเหตุเกิดจากรา *Puccinia purpurea* โรคลำต้นเน่า สาเหตุเกิดจากรา *Fusarium moniliforme* โรคเมล็ดเน่า สาเหตุเกิดจากรา *Fusarium moniliforme* พบวัชพืชทั้งหมด 75 ชนิด กระจายตัวใน 63 สกุล ของ 22 วงศ์ เป็นวัชพืชประเภทใบแคบ 18 ชนิด ประเภทใบกว้าง จำนวน 55 ชนิด และประเภทกกจำนวน 2 ชนิด

มันสำปะหลัง (Cassava, *Manihot esculenta* L.) พบ 2 อันดับ 4 วงศ์ 9 ชนิด ได้แก่ อันดับ Coleoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด และอันดับ Hemiptera 4 วงศ์ 8 ชนิด

ยาสูบ (Tobacco, *Nicotiana tabacum* L.) พบ 3 อันดับ 4 วงศ์ 9 ชนิด ได้แก่ อันดับ Hemiptera 2 วงศ์ 2 ชนิด อันดับ Lepidoptera 1 วงศ์ 4 ชนิด และอันดับ Thysanoptera 1 วงศ์ 3 ชนิด

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการสำรวจรวบรวมตัวอย่างแมลง/ไร/สัตว์ เชื้อโรคศัตรูพืช และวัชพืชในแปลงปลูกพืช ตามภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคใต้ พืชส่งออก ได้แก่ มะละกอ มะพร้าวน้ำหอม ข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง เผือกและฟักทอง พืชนำเข้า ได้แก่ ปาล์มน้ำมัน หัวพันธุ์ไม้ดอก อ้อย ข้าวฟ่าง มันสำปะหลัง และยาสูบ ได้บัญชีรายชื่อพืชส่งออก ได้แก่ มะละกอ มะพร้าวน้ำหอม ข้าวโพดฝักอ่อน มะม่วง เผือกและฟักทอง พืชนำเข้า ได้แก่ ปาล์มน้ำมัน หัวพันธุ์ไม้ดอก อ้อย ข้าวฟ่าง มันสำปะหลัง และยาสูบ และ

ตัวอย่างศัตรูพืชเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์ ซึ่ง แมลง/ไร/สัตว์ เชื้อโรคศัตรูพืช และวัชพืช ที่พบเป็นศัตรูพืชที่พบได้ในประเทศไทย ซึ่งตัวอย่างศัตรูพืชที่ได้จะนำเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ เพื่อเป็นหลักฐานสำหรับสืบค้นและอ้างอิงทางวิชาการ และเพื่อเป็นฐานข้อมูลสามารถนำไปขอเปิดตลาดและประกอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

กิจกรรมที่ 2 การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

วรัญญา มาลี วลัยกร รัตนเดชากุล คมศร แสงจินดา สุรพล ยินอัศวพรรณ
ณัฏฐพร อุทัยมงคล สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ วาสนา ฤทธิ์ไธสง อลงกต โพธิ์ดี
ปรียพรรณ พงศาพิชณ์ วรัญญา มาลี วันเพ็ญ ศรีชาติ

คำสำคัญ (keywords) วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ศัตรูพืชกักกัน เมล็ดพันธุ์ข้าวโพด ผลพลัมสด ผลพลับสด เมล็ดพันธุ์พิทูเนีย ผลอะโวกาโดสด เมล็ดพันธุ์พริก เมล็ดพันธุ์แคนตาลูป หัวมันฝรั่ง ข้าวฟ่าง เมล็ดพันธุ์ส้ม หน่อสับปะรด ผลเนคทารีนสด ผลแอปริคอทสด ผลเชอรี่สด ผลสาลี่สด แอปเปิ้ล เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ ผลแอปเปิลสด ผลมะเดื่อฝรั่ง ผลองุ่นสด เมล็ดพันธุ์แตงโม เมล็ดพันธุ์ยาสูบ เมล็ดพันธุ์ข้าว ออสเตรเลีย ญี่ปุ่น สาธารณรัฐแอฟริกาใต้ ฟิลิปปินส์ สหรัฐอเมริกา สเปน สาธารณรัฐอินเดีย ออสเตรเลีย สาธารณรัฐอาร์เจนตินา สาธารณรัฐประชาชนจีน อิตาลี อินโดนีเซีย อียิปต์ บราซิล อิสราเอล สหรัฐเม็กซิโก pest risk analysis, quarantine pest, Maize seed, Plum, Persimmon, Petunia seed, Avocado, Pepper seed Cantalope seed, Potato, Sorghum, Orange seed, plineapple sucke, Pomegranates, Nectarine, Cherry, Pear, Tomato seed, Apple, Fig, Grape, Watermelon seed, Seed potato, Tobacco seed, Rice seed, Australia, Agentina, China, Italy, Indonesia, India, Brasil, Isarael, Mexico

บทคัดย่อ

ในการศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชตามบทเฉพาะกาล และการศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของพืชตามพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ได้แก่ เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากญี่ปุ่น, ผลพลัมสดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา, ผลสาลี่สดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา, ผลพลับสดนำเข้าจากออสเตรเลีย, เมล็ดพันธุ์พิทูเนียนำเข้าจากญี่ปุ่น, ผลอะโวกาโดสดนำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลีย, เมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินโดนีเซีย, ข้าวฟ่างนำเข้าจากอินเดีย, เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน, ผลแอปเปิลสดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา, เมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา, เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากอิตาลี, ผลมะเดื่อฝรั่งสดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา, ข้าวฟ่างนำเข้าจากออสเตรเลีย, เมล็ดพันธุ์ส้มนำเข้าจากสาธารณรัฐแอฟริกาใต้, เมล็ดพันธุ์ยาสูบนำเข้าจากบราซิล,เมล็ดพันธุ์แคนตาลูปนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา, เมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากญี่ปุ่น, หัวมันฝรั่งเพื่อการแปรรูปนำเข้าจากสาธารณรัฐอินเดียและอียิปต์, ผลพลับสดนำเข้าจากรัฐอิสราเอล และ ผลองุ่นสดนำเข้าจากสหรัฐเม็กซิโก ได้ค้นหาข้อมูลพืช (crop information) เช่น พันธุ์ แหล่งปลูก ผลผลิต รวมทั้งข้อมูลการนำเข้าของพืชที่จะวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช รายชื่อศัตรูพืชของพืชนำเข้าที่มีรายงานในประเทศต้นทางและประเทศไทย รายชื่อศัตรูพืชทำลายส่วนของพืชที่นำเข้าที่มีรายงานพบในประเทศต้นทางแต่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทยสำหรับนำไปวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช และได้ชนิดศัตรูพืชกักกันและมาตรการ

ทางวิชาการด้านสุขอนามัยพืชเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันของพืชที่นำเข้าจากประเทศต่างๆ ควรมีมาตรการทางวิชาการ และมาตรการทางกฎหมายเพื่อทำการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันทุกชนิด

บทนำ

ตามที่พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และ พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ที่มีผลใช้บังคับตั้งแต่ 28 สิงหาคม 2551 โดยแบ่งประเภทของพืชออกเป็น 3 ชนิดคือ สิ่งต้องห้าม สิ่งกำกัด และสิ่งไม่ต้องห้าม โดยสิ่งต้องห้าม สามารถนำเข้ามาในราชอาณาจักรได้ตามวัตถุประสงค์ 3 ประการ คือ 1. เพื่อทำการวิจัย 2. เพื่อการค้า และ 3. เพื่อกิจการอื่น ซึ่งในการนำเข้ามาเพื่อการศึกษาวิจัยจะต้องยื่นขออนุญาตนำเข้า และดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชก่อนจึงจะได้รับการอนุญาตจากอธิบดีกรมวิชาการเกษตร การนำเข้าต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ที่อธิบดีกำหนด ส่วนการนำเข้ามาเพื่อการค้าและเพื่อกิจการอื่น สิ่งต้องห้ามนั้นต้องถูกวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชเสียก่อน กรมวิชาการเกษตรได้ออกประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ “เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550” ในท้ายประกาศดังกล่าวมีการกำหนดชนิดพืชและพาหะจากทุกแหล่งเป็นสิ่งต้องห้าม โดยมีบทเฉพาะกาล เพื่อไม่ให้กระทบต่อการเกษตร ธุรกิจ และอุตสาหกรรม กรมวิชาการเกษตรจึงได้อนุญาตให้ประเทศที่ได้ยื่นความประสงค์และได้รับการอนุมัติสามารถนำสิ่งต้องห้ามที่ได้รับอนุญาตเข้ามาในราชอาณาจักรได้มีจำนวน 34 ประเทศ กับพืช 51 ชนิด และ 4 สกุล โดยปฏิบัติตามสถานภาพเดิมก่อนประกาศมีผลใช้บังคับ

ปัจจุบันประเทศไทยได้ออกประกาศชนิดของศัตรูพืชกักกันที่เป็นอันตรายร้ายแรงที่สุดของผลไม้ เช่น ได้แก่แมลงวันผลไม้ (Fruit flies) Anastrepha fraterculus (Wiedemann), Anastrepha grandis (Macquart), Anastrepha ludens (Loew), Anastrepha obliqua (Macquart), Anastrepha serpentina (Wiedemann), Anastrepha striata Schiner, Anastrepha suspensa (Loew), Bactrocera aquilonis (May), Bactrocera caryeae (Kapoor), Bactrocera cucumis (French), Bactrocera frauenfeldi (Schiner), Bactrocera jarvisi (Tryon) , Bactrocera kandiensis Drew & Hancock,Bactrocera kirki (Froggatt), Bactrocera melanotus (Coquillett), Bactrocera minax (Enderlein), Bactrocera musae (Tryon), Bactrocera neohumeralis (Hardy), Bactrocera occipitalis (Bezzi), Bactrocera passiflorae (Froggatt), Bactrocera philippinensis Drew & Hancock,Bactrocera psidii (Froggatt), Bactrocera trilineola Drew, Bactrocera trivialis (Drew), Bactrocera tryoni (Froggatt), Bactrocera tsuneonis (Miyake), Bactrocera xanthodes (Broun), Ceratitis capitata (Wiedemann),Ceratitis cosyra (Walker), Ceratitis rosa Karsch, Rhagoletis cerasi (Linnaeus) Rhagoletis cingulata (Loew), Rhagoletis completa Cresson, Rhagoletis fausta (Osten Sacken), Rhagoletis indifferens Curran, Rhagoletis mendax Curran, Rhagoletis pomonella (Walsh) หรือ เพลี้ยหอย (Scale Insect) Aspidiotus nerii (Bouche) และด้วง

(Beetle/Weevil) Conotrachelus nenuphar (Herbst), Pantomorus cervinus (Boheman), Popillia japonica Newman ศัตรูพืชกักกันที่เกิดกับ เมล็ดพริก มะเขือเทศ เช่น ไวรัส Tomato ringspot virus ไวรอยด์ Columnea latent viroid (CLVd), Chrysanthemum stunt viroid, Pepino mosaic virus, Arabis mosaic virus ศัตรูพืชเหล่านี้ มีรายงานทำความเสียหายให้กับพืชผลเกษตรของหลายๆประเทศจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชให้กับพืชที่อนุญาตให้นำเข้าโดยเฉพาะพืชที่มาจากแหล่งที่มีศัตรูพืชกักกันแพร่ระบาดอยู่ เช่น ผลแอปเปิลจากประเทศสหรัฐอเมริกา มีศัตรูพืชกักกันที่สำคัญ เช่น Mediterranean fruit fly: Ceratitis capitata, Queensland fruit fly: Bactrocera tryoni, Mexican fruit fly: Anastrepha ludens และที่มีพืชอาศัยที่สำคัญคือผลไม้ของประเทศไทย เช่น มะม่วง มังคุด ลิ้นจี่ ลำไย ที่เป็นพืชธุรกิจสำคัญของประเทศไทย และศัตรูพืชเหล่านี้จัดเป็นศัตรูพืชกักกันของหลายๆประเทศเช่นกัน 2.) กลุ่มเมล็ดพันธุ์พืชผัก เช่น เมล็ดพันธุ์ผักในกลุ่ม Solanaceae เช่นเมล็ดพันธุ์พริกจากจากประเทศสหรัฐอเมริกา, มะเขือเทศจากประเทศจีน และเมล็ดพันธุ์พืชไร่ เช่น ข้าวฟ่างจากอินเดียและออสเตรเลีย เป็นต้น เมล็ดพันธุ์เหล่านี้จะนำเข้ามาเพื่อทำพันธุ์ปลูกหรือเพื่อการปรับปรุงพันธุ์และยังใช้เพื่อผลิตเป็นเมล็ดพันธุ์เพื่อส่งขายในรูปเมล็ดพันธุ์ขายทั่วโลกอีกด้วย แต่การนำเข้าจากแหล่งต่างๆ นั้นพบว่ามีศัตรูพืชกักกันที่สำคัญหลายชนิดที่สามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์เหล่านั้นและยังสามารถถ่ายทอดโรคทางเมล็ดพันธุ์ได้ ศัตรูพืชเหล่านี้ยากต่อการตรวจสอบด้วยตาเปล่า แต่จะสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้นาน ยากต่อการกำ จัด บางชนิดเพิ่งสามารถจำแนกชนิดได้ หากติดเข้ามาและอยู่รอดจะยากต่อการกำจัด หรือต้องเสียค่าใช้จ่ายในการกำจัดและ เสียเวลาเพื่อคัดเลือกพันธุ์ต้านทานและจะมีผลต่อการส่งออกอาจทำให้เสียตลาดไปได้ เช่น กลุ่ม Solanaceae มีศัตรูพืชกักกันที่เกิดกับ เมล็ดพริก มะเขือเทศ เช่น ไวรัส Tomato ringspot virus ไวรอยด์ Columnea latent viroid (CLVd), Chrysanthemum stunt viroid, Pepino mosaic virus, Arabis mosaic virus. และเชื้อรา Peronoscerospora philippinensis กับข้าวฟ่างได้แก่ Corynebacterium michiganense subsp. nebraskenses จึงจำเป็นต้องดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงให้แล้วเสร็จเพื่อกำหนดมาตรการเหมาะสมต่อไป

หลังจากพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ที่มีผลใช้บังคับตั้งแต่ 28 สิงหาคม 2551 แล้ว บุคคลใดหรือประเทศผู้ส่งออกประสงค์จะนำสิ่งต้องห้ามเพื่อการค้าเข้ามาในราชอาณาจักร ก็สามารถยื่นเรื่องมายังกรมวิชาการเกษตรซึ่งเป็นหน่วยงานองค์กรอารักขาพืชของประเทศไทยเพื่อให้ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชให้เสร็จสิ้นเสียก่อน จึงถูกเพิกถอนจากการเป็นสิ่งต้องห้าม สินค้านั้นจึงจะนำเข้ามาในราชอาณาจักรได้ โดยปฏิบัติตามหลักเกณฑ์วิธีการและเงื่อนไขตามที่กำหนด โดยพืชที่ขอนำเข้าเพื่อให้วิเคราะห์ได้แก่ มันฝรั่งเพื่อแปรรูป จากอินเดียและอิยิปต์ ผลพลับสดจากอิสราเอล และผลอุ่นสดจากเม็กซิโก นอกจากนี้ยังมีพืชบางชนิดที่ปัจจุบันจัดเป็นสิ่งกำกัดตามพระราชบัญญัติกักพืช การนำเข้าเพื่อการค้ามีเงื่อนไขเพียงแนบใบรับรองสุขอนามัยพืชพืช เท่านั้น แต่เนื่องจากมีการนำเข้ามาปริมาณมากจากหลายประเทศเพื่อการขยายพันธุ์ เช่น เมล็ดพันธุ์แตงโม และแคนตาลูป ซึ่งมีการนำเข้า ประมาณ 6 ตัน ในปี 2550-2552 คิดเป็นมูลค่ากว่า 82 ล้านบาท โดยนำเข้าสาธารณรัฐประชาชนจีน ไต้หวัน เกาหลีใต้ ญี่ปุ่น อินโดนีเซีย ฮอลแลนด์ และสหรัฐอเมริกา การนำเข้าพืชดังกล่าวอาจมีศัตรูพืชร้ายแรงหลายชนิดที่ไม่มีรายงานการปรากฏ

ในประเทศไทย และศัตรูพืชบางชนิดเป็นศัตรูพืชกักกัน มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ เช่น แบคทีเรีย (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*) เชื้อรา (*Chalara elegans, Verticillium dahliae*) และไวรัส (*Tobacco ringspot virus, Squash mosaic virus*) เป็นต้น ด้วยเหตุผลดังกล่าวข้างต้นจึงจำเป็นต้องดำเนินการวิจัยเพื่อกำหนดชนิดศัตรูพืชกักกันและมาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสม นำไปปรับปรุงแก้ไขกฎระเบียบด้านกักกันพืชเพื่อควบคุมการนำเข้าให้มีประสิทธิภาพ ต่อไป

ระเบียบวิธีการวิจัย

- **สิ่งที่ใช้ในการทดลอง**

1. เมล็ดพันธุ์พืชนำเข้า ได้แก่ เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างจากอินเดียและออสเตรเลีย เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน และอิตาลี เมล็ดพันธุ์พริกจากสหรัฐอเมริกา เมล็ดพันธุ์แคนตาลูปจากสหรัฐอเมริกา และเมล็ดพันธุ์แตงโมจากญี่ปุ่น

2. วัสดุคอมพิวเตอร์ เช่น หมึกพิมพ์ และแผ่นบันทึกข้อมูล เป็นต้น

3. วัสดุและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ ได้แก่ อาหารสำหรับแยกเชื้อ สารเคมี และอุปกรณ์ในการทำสไลด์ กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope

4. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างศัตรูพืช เช่นถุงพลาสติก กล่องพลาสติ กล่องรักษาความเย็น เป็นต้น

5. หนังสือ ตำรา วารสาร และเอกสารที่เกี่ยวข้องเพิ่มเติม

- **วิธีดำเนินการ**

ขั้นตอนการศึกษาวิเคราะห์แและประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

1. การรวบรวมข้อมูลพืชและศัตรูพืช โดยทำการสืบค้นและรวบรวมข้อมูลทั่วไป เช่น ชื่อ ชนิด สายพันธุ์ แหล่งกำเนิด ปริมาณการนำเข้า ผลผลิต และศัตรูพืชและการจัดกลุ่มของศัตรู เช่น ชื่อ ชนิด สายพันธุ์ พืชอาศัย รายงานการแพร่ระบาด ความเสียหาย ทั้งในประเทศทั่วโลกต่อประเทศคู่ค้า

2. การตรวจสอบศัตรูจากพืชที่นำเข้า โดยการตรวจเชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส และไส้เดือนฝอย

3. การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชดำเนินการตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช (ISPM) ฉบับที่ 11 เรื่อง คำแนะนำสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกักกัน รวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม (Pest risk analysis for quarantine pests including analysis of environmental risks and living modified organism) คือ

ขั้นตอนที่ 1: การเริ่มขบวนการวิเคราะห์ (Initiation)

- จุดเริ่มต้นการวิเคราะห์ (Initiation point)
- การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเริ่มต้นโดยการจำแนกเส้นทางศัตรูพืช (PRA initiated by the identification of a pathway)
- การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเริ่มต้นโดยการจำแนกศัตรูพืช (PRA initiated by the identification of a pest)

- การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเริ่มต้นโดยการทบทวนหรือการปรับปรุงนโยบาย (PRA initiated by the review or revision of a policy)
- การจำแนกพื้นที่ที่ทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Identification of PRA area)
- รวบรวมข้อมูลสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช
- ตรวจสอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่มีการดำเนินการแล้ว
- ข้อสรุปของขั้นตอนการเริ่มกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

ขั้นตอนที่ 2: การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk assessment)

2.1 การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest categorization)

2.2 การประเมินโอกาสการเข้ามาตั้งรกรากและการแพร่ระบาด (Assessment of the probability of introduction and spread)

2.3 การประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจ (Assessment of potential economic consequence)

2.4 ระดับความไม่แแน่นอน (Degree of Uncertainties)

2.5 สรุปผลการประเมินความเสี่ยง (Conclusion for the Risk Assessment)

ขั้นตอนที่ 3: การจัดการความเสี่ยง (Risk management)

- ค้นหามาตรการจัดการความเสี่ยงของศัตรูพืชนั้นๆ
- กำหนดมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชและกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าตาม พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และ พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551

ผลการทดลองและอภิปราย

ในการศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชตามบทเฉพาะกาล และการศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของพืชตามพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ได้แก่ เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากญี่ปุ่น, ผลพลัมสดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา, ผลสาลี่สดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา, ผลพลับสดนำเข้าจากออสเตรเลีย, เมล็ดพันธุ์พิทูเนียนำเข้าจากญี่ปุ่น, ผลอะโวกาโดสดนำเข้าจากเครือรัฐออสเตรเลีย, เมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินโดนีเซีย, ข้าวฟ่างนำเข้าจากอินเดีย, เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน, ผลแอปเปิลสดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา, เมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา, เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากอิตาลี, ผลมะเดื่อฝรั่งสดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา, ข้าวฟ่างนำเข้าจากออสเตรเลีย, เมล็ดพันธุ์ส้มนำเข้าจากสาธารณรัฐแอฟริกาใต้, เมล็ดพันธุ์ยาสูบนำเข้าจากบราซิล,เมล็ดพันธุ์แคนตาลูปนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา, เมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากญี่ปุ่น, หัวมันฝรั่งเพื่อการแปรรูปนำเข้าจากสาธารณรัฐอินเดียและอียิปต์, ผลพลับสดนำเข้าจากรัฐอิสราเอล และ ผลองุ่นสดนำเข้าจากสหรัฐเม็กซิโก ได้ค้นหาข้อมูลพืช (crop information) เช่น พันธุ์ แหล่งปลูก ผลผลิต รวมทั้งข้อมูลการนำเข้าของพืชที่จะวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช รายชื่อศัตรูพืชของพืชนำเข้าที่มีรายงานในประเทศต้นทางและประเทศไทย รายชื่อศัตรูพืชทำลายส่วนของพืชที่นำเข้าที่มีรายงานพบในประเทศต้นทางแต่

ไม่มีรายงานพบในประเทศไทยสำหรับนำไปวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช และได้ชนิดศัตรูพืชกักกันและมาตรการทางวิชาการด้านสุขอนามัยพืชเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันของพืชที่นำเข้าจากประเทศต่างๆ ควรมีมาตรการทางวิชาการ และมาตรการทางกฎหมายเพื่อทำการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันทุกชนิด

มาตรการจัดการความเสี่ยงของศัตรูพืชแต่ละชนิดมีวิธีการแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดศัตรูพืช

ศัตรูพืชเป็นเชื้อโรคกักกัน มีมาตรการจัดการความเสี่ยง ได้แก่ **1) แหล่งผลิต** : เมล็ดพันธุ์หรือหัวพันธุ์ควรมาจากพื้นที่ที่ประกาศว่าเป็นเขตปลอดศัตรูพืช (Pest Free areas หรือ Pest free production site) ที่ได้รับการรับรองอย่างเป็นทางการ หรือเมล็ดมาจากแหล่งปลูกที่ผ่านการตรวจสอบในระยะการเจริญเติบโตและผ่านการตรวจในห้องปฏิบัติการก่อนส่งออกว่าปลอดจากศัตรูพืช **2) ระบบการควบคุมศัตรูพืช:** มีระบบที่มีประสิทธิภาพในแปลงปลูก การใช้เมล็ดพันธุ์และหัวพันธุ์ที่ปราศจากศัตรูพืช เช่น การคลุกเมล็ดหรือหัวพันธุ์ด้วยสารเคมีก่อนปลูกเพื่อกำจัดศัตรูพืช การดูแลแปลงปลูกให้ปราศจากพืชอาศัยโดยตรงและพืชอาศัยสลับควบคุมพาหะต่างๆการใช้สารเคมีควบคุมโรคแมลงในระหว่างปลูก **3)ระบบการติดตาม** (monitoring) ในแปลงปลูกสำรวจตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูก รวมทั้งพืชอาศัย หรือแมลงศัตรูพืชที่อาจเป็นพาหะ เก็บตัวอย่างที่สงสัยนำมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ และ **4) ระบบการจัดการในสถานที่คัดและบรรจุ** ต้องมีระบบทำความสะอาดคัดเลือกเมล็ดพันธุหรือหัวพันธุ์ที่ดีมีคุณภาพ เมล็ดหรือหัวพันธุ์สมบูรณ์ ไม่มีเศษพืชติดไป **5) ระบบการติดตามในห้องปฏิบัติการ** มีการสุ่มตัวอย่างเมล็ดหรือหัวพันธุ์มาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการด้วยวิธีการที่เหมาะสมกับศัตรูพืชชนิดนั้นๆ เพื่อให้ปราศจากศัตรูพืชดังกล่าว **6) การจัดการหลังการเก็บเกี่ยว และก่อนส่งออก** ได้แก่ เมล็ดปราศจากแมลงที่มีชีวิต ดิน ส่วนอาการของโรค เมล็ดวัชพืช ชิ้นส่วนของพืช เช่น ใบ ก้าน เศษซากพืช เป็นต้น **7) การจัดการเมื่อนำเข้า** ได้แก่ ต้องมีการสุ่มตรวจสอบศัตรูพืชกักกัน และพบว่าปลอดจากศัตรูพืชกักกัน หากตรวจพบศัตรูพืชกักกันจะสินค้านั้นจะถูกทำลายหรือให้ส่งกลับ อาจใช้มาตรการดำเนินการวิธีเดียวหรือหลายๆ วิธีมาปฏิบัติร่วมกันได้

ศัตรูพืชในกลุ่มของแมลงศัตรูพืชกักกัน มีมาตรการจัดการความเสี่ยง ดังนี้

- การจัดการความเสี่ยงก่อนการส่งออก ณ ประเทศต้นทาง

2.1 การจดทะเบียนสวนที่จะส่งออกเพื่อการตรวจสอบย้อนกลับกรณีตรวจพบศัตรูพืชในสินค้า

2.2 การจัดการก่อนการเก็บเกี่ยว ต้องมีการบริหารจัดการที่ดีในแปลงปลูก ได้แก่ การป้องกันกาจัดศัตรูพืชในแปลงปลูกอย่างถูกต้องและเหมาะสม

2.3 การจัดการขณะเก็บเกี่ยว ต้องมีการจัดการที่ดี การเก็บผลผลิตต้องมีภาชนะรองรับ การขนย้ายผลผลิตต้องแน่ใจว่าไม่มีศัตรูพืชเข้าทาลายซ้ำ

2.4 การจัดการหลังการเก็บเกี่ยว: การจัดการในโรงคัดบรรจุที่ได้มาตรฐาน มีกระบวนการคัดเลือกผลผลิตให้ได้มาตรฐาน โดยคัดผลที่ดีไม่มีรอยทำลายของแมลงหรือผลแตก ล้าง ทำความสะอาด เพื่อกำจัดศัตรูพืชบางชนิดที่ทำลายอยู่บนผิวของผลไม้สด สุ่มตรวจศัตรูพืช และบรรจุในภาชนะที่ป้องกันการเข้าทาลายซ้ำของศัตรูพืชได้

- ข้อกำหนดสำหรับศัตรูพืชกักกัน

1. แมลงวันผลไม้

1.1 ผลไม้สดต้องมาจากแปลงปลูกในพื้นที่ปลอดแมลงวันผลไม้

1.2 ผลไม้สดจากแปลงปลูกนอกพื้นที่ปลอดแมลงวันผลไม้ต้องกำจัดแมลงวันผลไม้โดยวิธีการกำจัดศัตรูด้วยความเย็นก่อนส่งออก

2. เพลี้ยหอย Ceroplastes destructor, Parthenolecanium persicae, Aspidiotus nerii เพลี้ยแป้ง Pseudococcus calceolariae ด้วงฟูลเลอร์โรส Pantomorus cervinus และหนอนเจาะผล Epiphyas postvittana , Isotenes miserana ใช้วิธีการ System approach

- ทำการสุ่มตรวจผลไม้สดก่อนส่งออกด้วยกระบวนการที่เหมาะสม
- มีใบรับรองสุขอนามัยพืชแนบมาสินค้าโดยระบุข้อความพิเศษถึงมาตรการที่ใช้ในการกาจัดแมลงวันผลไม้
- การจัดการความเสี่ยง ณ จุดนำเข้าที่ด่านตรวจพืช
- การตรวจนำเข้าเจ้าหน้าที่กักพืช ตรวจเอกสารการนำเข้าตามเงื่อนไข และสุ่มผลไม้เพื่อตรวจสอบว่ามีศัตรูพืชติดมาหรือไม่ดังนี้ (1) นำเข้าจำนวนน้อยกว่า 1,000 ผล สุ่มตัวอย่างผลไม้ จำนวน 450 ผล หรือทั้งหมด (2) นำเข้าจำนวนเท่ากับหรือมากกว่า 1,000 ผล สุ่มตัวอย่างผลไม้จำนวน 600 ผล (Whyte, 2009)

หากพบศัตรูพืชกักกันให้ดาเนินการ ปฏิเสธการนำเข้ายึดเพื่อทำลาย หรือกำจัดศัตรูพืช ตามความเหมาะสม

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

1. ได้ข้อมูลพืช (crop information) เช่น พันธุ์ แหล่งปลูก ผลผลิต รวมทั้งข้อมูลการนำเข้าของพืชที่จะวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกับพืชนำเข้าจากต่างประเทศ

2. ได้รายชื่อศัตรูพืชของพืชนำเข้าที่มีรายงานในประเทศต้นทางและประเทศไทย

3. ได้รายชื่อศัตรูพืชทำลายส่วนของพืชที่นำเข้าที่มีรายงานพบในประเทศต้นทางแต่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทยสำหรับนำไปวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นต่อไป

4. ได้ชนิดศัตรูพืชกักกันและมาตรการทางวิชาการด้านสุขอนามัยพืชเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันพืชนำเข้าจากต่างประเทศ

5. ได้แนวทางเพื่อการออกประกาศเงื่อนไขการนำเข้าพืชนำเข้าจากประเทศต่างๆ

เอกสารอ้างอิง

Whyte, C. F. 2009. Explanatory Document on International Standard for Phytosanitary Measures No.31 (Methodologies for Sampling of Consignments). Retrive: April 15, 2012 from http://www.ippc.int/file_uploaded/1252507962732_ISPM31_ED_in_format.pdf

กิจกรรมที่ 3 การศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชนำเข้า

สุรพล ยินอัศวพรรณ ณัฏฐพร อุทัยมงคล ชลธิชา รักใคร่ ศรีวิเศษ เกษสังข์ นงพร มาอยู่ดี
ปรียพรรณ พงศาพิชณ์ วันเพ็ญ ศรีชาติ วานิช คาพานิช โสภา มีอานาจ จรรยา มณีโชติ
ชาญชัย แสงหิรัญ ธีระ รัตนพันธ์ สุทัศน์ แก้วสะอาด วันเพ็ญ ศรีทองชัย
ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์ กาญจนา วาระวิชะนี กฤษณะ หาญพิพัฒน์

คำสำคัญ (keywords) หัวพันธุ์แกลดิโอลัส หอมแดง หอมหัวใหญ่ กระเทียม กะหล่ำดอก เมล็ดพันธุ์ทานตะวัน เมล็ดพันธุ์มะระ เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง มล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง เมล็ดพันธุ์กวางตุ้ง พืชวงศ์แตง เมล็ดพันธุ์ฟักทอง เมล็ดพันธุ์สควัอช เมล็ดพันธุ์แว๊กกราวด์ เมล็ดพันธุ์แครอท Gladiolus, Shallot, Onion, Garlic, Chinese lettuce, Cauliflower, Sun flower seed, Chinese bitter seed, Sorghum seed, Soy bean seed, edible rape, seed, Cucurbitaceae seed, Pumpkin seed, Squash seed, Wax gourd seed, Carrot seed

บทคัดย่อ

การศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชนำเข้า ได้แก่ เมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมัน, เมล็ดพันธุ์พริก, หัวพันธุ์ทิวลิป, เมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลี กวางตุ้ง และ กะหล่ำดอก, เมล็ดพันธุ์มะเขือยาว, เมล็ดพันธุ์ทานตะวัน, เมล็ดพันธุ์ผักชี, เมล็ดข้าวสาลี, เมล็ดพันธุ์แตงกวา, การศึกษาเชื้อ *Columnea latent viroid* (CLVd) ที่ติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ, หัวพันธุ์มันฝรั่ง, เมล็ดพันธุ์ฟักทอง สควัอช และแว๊กกราวด์, เมล็ดพันธุ์ทานตะวัน, เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง, เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ, เมล็ดพันธุ์ข้าวโพด, หัวพันธุ์แกลดิโอลัส, เมล็ดพันธุ์เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง, เมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี, เมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตา, เมล็ดพันธุ์มะระ, เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบ, หอมแดงและหอมหัวใหญ่, เมล็ดพันธุ์แครอท, ผลส้ม พริก กระเทียมและองุ่น พบว่าเชื้อโรคและศัตรูพืชที่ตรวจ ณ ด่านตรวจพืช แหล่งจำหน่ายพืชสด สุ่มตรวจวินิจฉัยขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ในโรงเรือน และสำรวจในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ที่มีการนำเข้า นำมาจัดทำเป็นบัญชีรายชื่อและรวบรวมตัวอย่างเก็บรักษาไว้ ซึ่งเชื้อโรคและศัตรูพืชที่พบ ไม่เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

บทนำ

พืชที่ได้ทำการศึกษาชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชนำเข้าได้แก่ เมล็ดพันธุ์ มะระ หัวพันธุ์หอมแดงและหอมหัวใหญ่ เมล็ดพันธุ์แครอท ผลส้มนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา ผลองุ่นสดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา และพริกนำเข้าจากกัมพูชา การนำเข้าพืชเหล่านี้ ต้องแจ้งการนำเข้า และมีใบรับรองปลอดศัตรูพืชกำกับมาด้วย ในกรณีบางชนิดจัดอยู่ในประเภทสิ่งกำกัด (Restricted materials) ซึ่งมีเพียงแค่ใบรับรองปลอดศัตรูพืชจากประเทศต้นทางกำกับมาโดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยกำหนดไว้แต่อย่างใดจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับสินค้าเกษตรที่นำเข้า โดยเฉพาะในกลุ่มของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่ติดมากับเมล็ด

พันธุ์และหัวพันธุ์ ได้แก่ มะระ หอมแดง หอมใหญ่ แครอท ผลส้มสด พริก กระเทียม และองุ่นผลสดเป็นต้น ซึ่งพืชต่างๆ เหล่านี้มีการนำเข้ามาเพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์หรือเป็นต้นพันธุ์ในการส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกกระจายทั่วประเทศไทย โดยในแต่ละปีมีการนำเข้าพืชเหล่านี้เป็นปริมาณมาก หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวสามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศไทย จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อการเกษตรในประเทศและการส่งออกพืชผักผลไม้ไทยไปยังต่างประเทศที่เข้มงวดด้านกักกันพืช ดังนั้นจึงทำการศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชนำเข้า เพื่อให้ทราบชนิดแหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืช มีประโยชน์ใช้อ้างอิงทางวิชาการนำไปใช้ในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อกำหนดเงื่อนไขการนำเข้า เป็นการป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชกักกันเข้ามาและแพร่ระบาดทำความเสียหายต่อการเกษตรในประเทศต่อไป

ระเบียบวิธีการวิจัย

- สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. วัสดุและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ ได้แก่ อาหารสำหรับแยกเชื้อ สารเคมี และอุปกรณ์ในการทำสไลด์ กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope
2. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างศัตรูพืช เช่น ถุงพลาสติก ป้ายกล่องพลาสติก กล่องรักษาความเย็น
3. หนังสือ ตำรา วารสาร และเอกสารที่เกี่ยวข้องเพิ่มเติม
4. วัสดุสำนักงานและวัสดุคอมพิวเตอร์ เช่น หมึกพิมพ์ กระดาษ และแผ่นบันทึกข้อมูล เป็นต้น
5. วัสดุเกษตร เช่น ดินผสม กระถาง ปุ๋ย ยาฆ่าแมลง เป็นต้น
6. โรงปลูกพืช

- **วิธีปฏิบัติการทดลอง**

การทดลองเป็นเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ

1. การสืบค้นข้อมูลและตรวจเอกสาร โดยทำการสืบค้นข้อมูลพืช รายชื่อของประเทศที่ประเทศไทยมีการการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า รายชื่อศัตรูพืชกักกันที่สำคัญของประเทศไทยกับเมล็ดพันธุ์ และวิธีการตรวจศัตรูพืชกักกันเป้าหมายของแต่ละประเทศ (ปี 56 และ ปี 57)

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าตามมาตรฐาน ISTA ทำการสุ่มตัวอย่าง ณ จุดนำเข้า โดยทำการสุ่มตัวอย่างจากด่านตรวจพืชต่างๆ ที่มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ และทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบเมล็ดด้วยตาเปล่า สังเกตลักษณะสี ผิว และรูปร่างว่ามีอะไรผิดปกติหรือไม่ มีรอยเจาะ หรือแตกกะเทาะของเมล็ดหรือไม่ และจึงนำเมล็ดพันธุ์ที่สุ่มได้นำไปตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ (ปี 56 และ ปี 57)

3. ตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อรา,แบคทีเรียและเชื้อไวรัสสาเหตุโรคพืชในห้อง ปฏิบัติการ ทำการแยกเชื้อหรือตรวจสอบศัตรูพืชที่พบด้วยวิธีการมาตรฐานในการตรวจหาศัตรูพืชและศัตรูพืชกักกันชนิด

ต่างๆ เช่น การตรวจสอบด้วยเทคนิค Blotter method, Dilution plate technique, Seedling symptom test, ELISA และ Molecular biology (ปี 56 และ ปี 57)

4. ปลูกเมล็ดพันธุ์ในโรงเรือนเพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติของต้นพืชของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช โดยการปลูกเมล็ดพันธุ์ในถุงบรรจุดินจำนวน 100 เมล็ด ทำการสังเกตดูลักษณะอาการบริเวณโคนต้น ลำต้น ใบเลี้ยง และใบ ของต้นพืช บันทึกผล กรณีถ้าพบอาการผิดปกติให้นำส่วนของพืชไปทำการแยกเชื้อและทดสอบการเกิดโรคกับต้นพืชอีกครั้ง (ปี 56 และ ปี 57)

5. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้าในแหล่งปลูกของเกษตรกร โดยทำการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดกับเมล็ดพันธุ์นำเข้าในแปลงปลูกในพื้นที่ของเกษตรกร โดยติดตามตรวจสอบในแปลงปลูกที่มีการนำเมล็ดพันธุ์นำเข้า ให้สังเกตอาการความผิดปกติของต้นพืชทั้ง โคนต้น ราก ลำต้น ใบและผลของพืช และทำการเก็บตัวอย่างนำมาแยกเชื้อและทดสอบการเกิดโรคกับพืช (ปี 56 และ ปี 57)

6. จัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบและสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช (ปี 56 และ ปี 57)

7. เก็บรักษาตัวอย่างเชื้อและอาการของเชื้อโรคพืชที่พบจากห้องปฏิบัติการและที่ได้จากการติดตามตรวจสอบในแปลงปลูก (ปี 56 และ ปี 57)

- **การบันทึกข้อมูล**

  บันทึกการตรวจพบศัตรูพืช ผู้นำเข้า ประเทศที่นำเข้า ข้อมูลการนำเข้า ชนิดศัตรูพืช เป็นต้น

- **สถานที่ดำเนินการ**

  1. ห้องปฏิบัติการ โรงเรือนทดลองกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
  2. ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร
  3. แหล่งปลูกของพืชนำเข้าของเกษตรกร

- **การบันทึกข้อมูล**

  บันทึกการตรวจพบศัตรูพืช ผู้นำเข้า ประเทศที่นำเข้า ข้อมูลการนำเข้า ชนิดศัตรูพืช เป็นต้น

- **สถานที่ดำเนินการ**

  1. ห้องปฏิบัติการ โรงเรือนทดลองกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
  2. ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร
  3. แหล่งปลูกของพืชนำเข้าของเกษตรกร

การทดลองที่เป็นหัวพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ

1. การสืบค้นข้อมูลและตรวจเอกสาร โดยทำการสืบค้นข้อมูลพืช รายชื่อของประเทศที่ประเทศไทยมีการการนำเข้าเมล็ดและหัวพันธุ์พืช ปริมาณการนำเข้า รายชื่อศัตรูพืชกักกันที่สำคัญของประเทศไทยกับเมล็ดและหัวพันธุ์พืชและวิธีการตรวจศัตรูพืชกักกันเป้าหมายของแต่ละประเทศ

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดและหัวพันธุ์ ที่นำเข้าตามมาตรฐาน ISTA และสุ่ม ทำการสุ่มตัวอย่าง ณ จุดนำเข้า โดยทำการสุ่มตัวอย่างจากด่านตรวจพืชต่างๆ ที่มีการนำเข้าเมล็ดและหัวพันธุ์พืช และทำการตรวจสอบ

ศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบเมล็ดและหัวพันธุ์ด้วยตาเปล่า โดยสังเกตลักษณะสี ผิว และรูปร่างว่าของเมล็ดและหัวพันธุ์ว่าผิดปกติหรือไม่ และจึงนำเมล็ดและหัวพันธุ์ที่สุ่มได้นำไปตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

3. ตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อรา, แบคทีเรียและเชื้อไวรัสสาเหตุโรคพืชในห้องปฏิบัติการ ทำการแยกเชื้อหรือตรวจสอบศัตรูพืชที่พบด้วยวิธีการมาตรฐานในการตรวจหาศัตรูพืชและศัตรูพืชกักกันชนิดต่างๆ เช่น การตรวจสอบด้วยเทคนิค Blotter method, Dilution plate technique, Seedling symptom test, ELISA, Molecular biology และ แยกไส้เดือนฝอยด้วยเทคนิค Ultrasonic

4. ปลูกเมล็ดและพันธุ์ในโรงเรือนเพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติของต้นพืชของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช โดยการปลูกเมล็ดพันธุ์ในถุงบรรจุดินจำนวน 100 เมล็ด หรือหัวพันธุ์ จำนวน 30 หัว ทำการสังเกตดูลักษณะอาการบริเวณโคนต้น ลำต้น ใบเลี้ยง และใบ ของต้นพืช บันทึกผล กรณีถ้าพบอาการผิดปกติให้นำส่วนของพืชไปทำการแยกเชื้อและทดสอบการเกิดโรคกับต้นพืชอีกครั้ง

5. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้าในแหล่งปลูกของเกษตรกร โดยทำการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดกับเมล็ดและหัวพันธุ์นำเข้าในแปลงปลูกในพื้นที่ของเกษตรกร โดยติดตามตรวจสอบในแปลงปลูกที่มีการนำเมล็ดและหัวพันธุ์นำเข้า ให้สังเกตอาการความผิดปกติของต้นพืชทั้ง โคนต้น ราก ลำต้น ใบและผลของพืช และทำการเก็บตัวอย่างนำมาแยกเชื้อและทดสอบการเกิดโรคกับพืช

6. จัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบและสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช (ปี 57 และ ปี 58)

7. เก็บรักษาตัวอย่างเชื้อและอาการของเชื้อโรคพืชที่พบจากห้องปฏิบัติการและที่ได้จากการติดตามตรวจสอบในแปลงปลูก (ปี 57 และ ปี 58)

- **การบันทึกข้อมูล**

  บันทึกการตรวจพบศัตรูพืช ผู้นำเข้า ประเทศที่นำเข้า ข้อมูลการนำเข้า ชนิดศัตรูพืช เป็นต้น

- **สถานที่ดำเนินการ**

  1. ห้องปฏิบัติการ โรงเรือนทดลองกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
  2. ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร
  3. แหล่งปลูกของพืชนำเข้าของเกษตรกร

การทดลองที่เป็นผลสดนำเข้าจากต่างประเทศ

1. การสืบค้นข้อมูลและตรวจเอกสาร โดยทำการสืบค้น ปริมาณการนำเข้า รายชื่อศัตรูพืชกักกันที่สำคัญของประเทศไทยกับผลสดนำเข้า รายชื่อศัตรูและวิธีการตรวจศัตรูพืชกับผลสดที่นำเข้าจากต่างประเทศ

2. สุ่มตัวอย่างผลสดที่นำเข้าจากต่างประเทศ ทำการสุ่มตัวอย่าง ณ จุดนำเข้า โดยทำการสุ่มตัวอย่างจากด่านตรวจพืชต่างๆ ที่มีการนำเข้าผลสดที่นำเข้าจากต่างประเทศ และทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบผลส้มด้วยตาเปล่า สังเกตุลักษณะสี ผิว และรูปร่างว่ามีอะไรผิดปกติหรือไม่ มีรอยเจาะหรือไม่

ตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชระยะไกลผ่านระบบอินเตอร์เนท (Remote microscope diagnosis) และจึงนำผลสดที่นำเข้าจากต่างประเทศ ที่สุ่มได้นำไปตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ (ปี 57 และ ปี 58)

3. ตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อรา,แบคทีเรียและเชื้อไวรัสสาเหตุโรคพืชในห้องปฏิบัติการ ทำการแยกเชื้อหรือตรวจสอบศัตรูพืชที่พบด้วยวิธีการมาตรฐานในการตรวจหาศัตรูพืชและศัตรูพืชกักกันชนิดต่างๆ เช่น Molecular biology (ปี 57 และ ปี 58)

4. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้าในศูนย์กระจายสินค้าหรือแหล่งที่จำหน่ายและสวนที่ปลูกผลสดที่นำเข้าจากต่างประเทศ โดยทำการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมา ทำการเก็บตัวอย่างตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบผลส้มด้วยตาเปล่า สังเกตุลักษณะสี ผิว และรูปร่างว่ามีอะไรผิดปกติหรือไม่ มีรอยเจาะ หรือไม่ และจึงนำผลส้มสดที่สุ่มได้นำไปตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ (ปี 57 และ ปี 58)

5. จัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบและสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช (ปี 57 และ ปี 58)

6. เก็บรักษาตัวอย่างศัตรูพืชและอาการของเชื้อโรคพืชที่พบจากการสุ่มตรวจ ณ ด่านตรวจพืช และติดตามในแปลงปลูกพืช (ปี 57 และ ปี 58)

- **การบันทึกข้อมูล**

  บันทึกการตรวจพบศัตรูพืช ผู้นำเข้า ประเทศที่นำเข้า ข้อมูลการนำเข้า ชนิดศัตรูพืช เป็นต้น

- **สถานที่ดำเนินการ**

  1. ห้องปฏิบัติการ โรงเรือนทดลองกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
  2. ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร
  3. แหล่งปลูกของพืชนำเข้าของเกษตรกร

ผลการทดลองและอภิปราย

1. ได้ข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศต้นทางที่นำเข้าของ เมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมัน, เมล็ดพันธุ์พริก, หัวพันธุ์ทิวลิป, เมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลี กวางตุ้ง และ กะหล่ำดอก, เมล็ดพันธุ์มะเขือยาว, เมล็ดพันธุ์ทานตะวัน, เมล็ดพันธุ์ผักชี, เมล็ดข้าวสาลี, เมล็ดพันธุ์แตงกวา, การศึกษาเชื้อ *Columnea latent viroid* (CLVd) ที่ติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ, หัวพันธุ์มันฝรั่ง, เมล็ดพันธุ์ฟักทอง สควอช และแว๊กกราวด์, เมล็ดพันธุ์ทานตะวัน, เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง, เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ, เมล็ดพันธุ์ข้าวโพด, หัวพันธุ์แกลดิโอลัส, เมล็ดพันธุ์เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง, เมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี, เมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตา, เมล็ดพันธุ์มะระ, เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบ, หอมแดง และหอมหัวใหญ่, เมล็ดพันธุ์แครอท, ผลส้ม พริก กระเทียมและองุ่น

2. ได้ตัวอย่างพืชและเชื้อโรคศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้าของเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมัน, เมล็ดพันธุ์พริก, หัวพันธุ์ทิวลิป, เมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลี กวางตุ้ง และ กะหล่ำดอก, เมล็ดพันธุ์มะเขือยาว, เมล็ดพันธุ์ทานตะวัน, เมล็ดพันธุ์ผักชี, เมล็ดข้าวสาลี, เมล็ดพันธุ์แตงกวา, การศึกษาเชื้อ *Columnea latent viroid* (CLVd) ที่ติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ, หัวพันธุ์มันฝรั่ง, เมล็ดพันธุ์ฟักทอง สควอช และแว๊กกราวด์, เมล็ดพันธุ์

ทานตะวัน, เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง, เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ, เมล็ดพันธุ์ข้าวโพด, หัวพันธุ์แกลดิโอลัส, เมล็ดพันธุ์เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง, เมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี, เมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตา, เมล็ดพันธุ์มะระ, เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบ, หอมแดงและหอมหัวใหญ่, เมล็ดพันธุ์แครอท, ผลส้ม พริก กระเทียมและองุ่น

3. ได้ติดตามตรวจสอบศัตรูพืชภายหลังการนำเข้า ในแปลงปลูกของเกษตรกรในภาคต่างๆ ที่นำเมล็ดพันธุ์นำเข้าไปเพาะปลูก พบตัวอย่างศัตรูพืช และลักษณะอาการโรคต่างๆ ซึ่งโรคและศัตรูพืชที่พบว่าเป็นมีการระบาดโดยทั่วไปในพื้นที่เพาะปลูกพืชในประเทศไทย และติดตามตรวจสอบศัตรูพืชภายหลังการนำเข้า ณ ด่านตรวจพืชที่นำเข้าผลส้มจากประเทศสหรัฐอเมริกา เมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจากราชอาณาจักรกัมพูชา และผลองุ่นสดที่นำเข้าจากสหรัฐอเมริกา ไม่พบศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

4. จัดทำรายงานศัตรูพืชที่ตรวจพบของเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมัน, เมล็ดพันธุ์พริก, หัวพันธุ์ทิวลิป, เมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลี กวางตุ้ง และ กะหล่ำดอก, เมล็ดพันธุ์มะเขือยาว, เมล็ดพันธุ์ทานตะวัน, เมล็ดพันธุ์ผักชี, เมล็ดข้าวสาลี, เมล็ดพันธุ์แตงกวา, การศึกษาเชื้อ *Columnea latent viroid* (CLVd) ที่ติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ, หัวพันธุ์มันฝรั่ง, เมล็ดพันธุ์ฟักทอง สควัอช และแว๊กกราวด์, เมล็ดพันธุ์ทานตะวัน,เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่าง, เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ, เมล็ดพันธุ์ข้าวโพด, หัวพันธุ์แกลดิโอลัส, เมล็ดพันธุ์เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง, เมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลี, เมล็ดพันธุ์ถั่วลันเตา, เมล็ดพันธุ์มะระ, เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบ, หอมแดงและหอมหัวใหญ่, เมล็ดพันธุ์แครอท, ผลส้ม พริก กระเทียมและองุ่น

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

1. ได้ข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศต้นทางที่นำเข้าของพืชนำเข้าจากแต่ละประเทศ

2. ได้ตัวอย่างพืชและเชื้อโรคศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้าจากต่างประเทศ

3. ได้รายชื่อเชื้อโรคและศัตรูพืชติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้าในแหล่งผลิตของเกษตรกร

4. จัดทำรายงานเชื้อโรคและศัตรูพืชที่พืชนำเข้าในห้องปฏิบัติการ โรงเรือน และจากแปลงปลูกของเกษตรกร

5. สามารถนำข้อมูลที่ได้ใช้เพื่อกำหนดมาตรการทางวิชาการ/กฎหมาย ด้านสุขอนามัยพืชสำหรับจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกัน กับเมล็ดพันธุ์จากประเทศต้นทางก่อนการนำเข้า

6. จัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืชด้านกักกันพืช ได้จัดทำรายชื่อและข้อมูลศัตรูพืชของพืชนำเข้าจากต่างประเทศ โดยเฉพาะศัตรูพืชที่ยังไม่เคยมีรายงานพบมาก่อนในประเทศไทย

กิจกรรมที่ 4 วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืชกักกัน (2 การทดลอง)

สิทธิศักดิ์ แสไพศาล ชลธิชา รักใคร่ ปรียพรรณ พงศาพิชณ์ วันเพ็ญ ศรีชาติ
ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล กาญจนา วาระวิชะนี

คำสำคัญ (keywords) แอนติซีรัม, มันฝรั่ง, *Potato virus* A, PVA, *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, PCR-ELISA

บทคัดย่อ

การพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืชกักกันได้อย่างถูกต้อง รวดเร็วและแม่นยำเหมาะสมกับงานด้านกักกันพืช โดยการผลิตแอนติซีรัมของเชื้อไวรัส potato virus A (PVA) สาเหตุโรคในหัวมันฝรั่ง โดยการสังเคราะห์ดีเอ็นเอในส่วน coat protein gene (CP) ของ Potato virus A ขนาด 789 คู่เบส (bp) และต่อเชื่อม (ligation) PCR product เข้าสู่พลาสมิดพาหะ (plasmid vector) โดยนำดีเอ็นเอสังเคราะห์ผสมกับเวคเตอร์ pET 101/D-TOPO® (Invitrogen) และทำการคัดเลือกเฉพาะโคลนที่มีชิ้นดีเอ็นเอส่วนของ CP gene ที่ใส่เข้าไปใน vector นำมาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี miniprep และส่งไปตรวจสอบหาลำดับเบส พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ 789 bp หลังจากนั้น subclone ยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของไวรัส PVA-CP เข้าสู่ protein expression vector (pET 200/D-TOPO) และ transform เข้า *E. coli* Top 10 และคัดเลือกโคลนที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้ในเซลล์ของ *E. coli* BL21 ในอาหาร 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร และชักนำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีนด้วย Isopropyl-β-D thiogalactopyranoside (IPTG) ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงได้แอนติซีรัมของเชื้อ PVA สำหรับตรวจสอบเชื้อ PVA ในมันฝรั่ง และจากการพัฒนาเทคนิคการการตรวจสอบเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Aac.) ที่แยกได้จากผลแตงโม ด้วยวิธี PCR-ELISA และ วิธี direct-PCR โดยใช้ไพรเมอร์ WFBA (F)/WFBA (R) : WFBA (F) 5’-CGA CCA GCC ACA CTG GGA -3’/ WFBA (R) 5’- CCT CTG CCG TAC TCC AGC G-3’ ส่วน Probe จำนวน 1 เส้น คือ 5'-BIO-CCG TAA GAA TAA GCA CCG GC-3' พบว่าสามารถตรวจสอบเชื้อที่ความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 1 cfu/ml ซึ่งการตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR-ELISA แสดงผลเป็นสีน้ำเงินชัดเจน แต่ส่วนการตรวจสอบด้วยวิธี direct PCR พบว่าแถบ ดีเอ็นเอเกิดบางๆ และการตรวจสอบเชื้อ Aac. ด้วยเทคนิค DAS-ELISA พบว่าสามารถตรวจสอบเชื้อที่ความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 10^2 cfu/ml และการตรวจสอบเชื้อทั้ง 3 วิธีข้างต้น สามารถตรวจเชื้อได้ที่ความเข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 10^7 cfu/ml และไม่สามารถตรวจสอบเชื้อ Aac. ด้วยชุดตรวจวินิจฉัยโรคผลเน่าแบคทีเรีย ของสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติได้ เมื่อเปรียบเทียบการตรวจสอบทั้ง 4 วิธีเบื้องต้น พบว่าเทคนิค PCR-ELISA สามารถตรวจเชื้อ Aac. ในปริมาณที่ต่ำได้ดีและให้ผลชัดเจนที่สุด ซึ่งเทคนิคนี้สามารถนำไปพัฒนาในการตรวจสอบเชื้อ Aac. ที่อาจปนเปื้อนในเมล็ดพันธุ์ในปริมาณที่ต่ำต่อไปได้

บทนำ

การที่ประเทศไทยยังคงปลอดจากการแพร่ระบาดของโรคและศัตรูพืชสำคัญด้านกักกันพืชหลายชนิด จึงจำเป็นที่จะต้องป้องกันโรคและศัตรูพืชเหล่านั้นไม่ให้เข้ามาในประเทศไทย โดยกำหนดมาตรการห้ามนำเข้าสินค้าเกษตรจากแหล่งแพร่ระบาดและจำเป็นต้องพัฒนาหาวิธีการที่มีประสิทธิภาพสำหรับใช้ ในการตรวจสอบโดย ต้องทำการตรวจสอบอย่างละเอียด ในส่วนของพืชที่นำเข้าการตรวจสอบจะมุ่งเน้นถึงเชื้อโรคศัตรูพืชที่ร้ายแรงทางกักกันพืชและไม่มีรายงานในประเทศไทย เชื้อโรคศัตรูพืชมีอยู่ด้วยกันหลายชนิดและสามารถจำแนกออกเป็นกลุ่มๆ ได้ดังนี้คือ เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส ไวรอยด์ และมายโคพลาสมา แต่ละกลุ่มของเชื้อก็ยังจำแนกออกเป็นสายพันธุ์ของเชื้อ (races หรือ strains) แต่ละชนิดของเชื้อโรคนั้นต้องใช้เทคนิคในการตรวจสอบที่มีความเฉพาะเจาะจงแตกต่างกันไป การที่จะเลือกวิธีการตรวจสอบให้เหมาะสมกับชนิดของเชื้อโรคศัตรูพืชและชนิดของพืชและผลิตผลพืชนั้นๆ จึงนับเป็นปัญหาหลักในการตรวจสอบเชื้อโรคศัตรูพืช เพราะถ้าหากเลือกใช้วิธีการตรวจสอบที่ไม่เหมาะสมหรือไม่มีประสิทธิภาพแล้ว จะก่อให้เกิดความเสียหายต่องานกักกันพืชโดยตรงในแง่ของการนำเข้าคือจะทำให้ศัตรูพืชร้ายแรงจากต่างประเทศเข้ามาระบาดทำความเสียหายต่อการเพาะปลูกพืชของไทย อีกทั้งแต่ละประเทศจำเป็นต้องมีข้อมูลด้านวิชาการที่ชัดเจนเพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนการเจรจาตกลงในเรื่องข้อกำหนดในแต่ละเรื่อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้อมูลด้านศัตรูพืชเป็นต้นในระยะเวลาที่ผ่านมาประเทศไทยได้มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักชนิดต่างๆมากกว่าปีละ 8,000-12,000 ตัน จากหลายประเทศ ทั้งจากประเทศออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา เนเธอร์แลนด์ เป็นต้น เนื่องจากประเทศไทยไม่สามารถผลิตให้เพียงพอต่อความต้องการของผู้ปลูก แต่จากการนำเข้าจากต่างประเทศมีปัญหาการติดเชื้อโรคศัตรูพืชเข้ามา โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อโรคศัตรูพืชที่ไม่เคยพบว่ามีรายงานในประเทศไทยมาก่อน จึงจำเป็นต้องศึกษาพัฒนาวิธีการตรวจสอบที่สามารถตรวจสอบได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ สะดวกและรวดเร็ว ส่วนในด้านการส่งออก ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ที่สำคัญเพื่อส่งออกไปจำหน่ายยังหลายประเทศ ซึ่งในการส่งออกต้องมีการรับรองการปลอดเชื้อโรคศัตรูพืชที่สำคัญตามเงื่อนไขของประเทศปลายทาง ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องดำเนินการวิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืช ที่ถูกต้อง รวดเร็ว มีความแม่นยำสูง เหมาะสมกับงานด้านกักกันพืช

ระเบียบวิธีการวิจัย

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

- กระต่ายพันธุ์ New Zealand White
- เครื่อง centrifuge
- เครื่อง Spectrophotometer
- เครื่อง Utra schall Bandelin Sonopuls HD
- ตู้แช่แข็ง -20 และ -80 0C
- ไนโตรเจนเหลว
- สาร Ni-NTA resin (QIAGEN, USA)
- อาหารเหลว 2XYT

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. เก็บตัวอย่างมันฝรั่งที่มีอาการของเชื้อไวรัส *Potato virus* A เพื่อเตรียมแอนติเจน

ทำการเก็บตัวอย่างมันฝรั่งที่พบลักษณะอาการใบด่าง จากแปลงปลูกของเกษตรกรในพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง เพื่อตรวจหาเชื้อไวรัส PVA และทำการเตรียมต้นพืชปลอดโรคและเป็นโรค รวมทั้งปลูกพืชทดสอบเพื่อเตรียมเพิ่มปริมาณเชื้อ และเนื่องจากเชื้อไวรัส PVA เป็นศัตรูพืชกักกันซึ่งอาจไม่สามารถตรวจพบเชื้อได้ ในกรณีนี้จึงได้เตรียมที่จะทำการสั่งสังเคราะห์ DNA ขึ้นมาในส่วนของ coat protein ของเชื้อ PVA เพื่อนำมาผลิตแอนติซีรัมโดยใช้ระบบเซลล์แบคทีเรียต่อไป

2. สืบค้นข้อมูล ออกแบบไพรเมอร์และสังเคราะห์ยีน

ทำการออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อชิ้น DNA เฉพาะส่วนของ cp gene ของเชื้อไวรัส PVA ภายหลังที่ได้สังเคราะห์ยีนแล้ว เพิ่มปริมาณชิ้น DNA ให้ได้ PCR product ในส่วน coat Protein (CP) แล้วนำ PCR product ไปต่อเชื่อม (ligation) เข้า expression vector pET101 (Invitrogen) และ transformation เข้า *E. coli* ที่ 42°C นาน 90 วินาที แล้วแช่ในน้ำแข็งทันที นาน 3 นาที เติมอาหาร SOC ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ก่อนนำไปเขย่าที่ 37°C หลังจากนั้นเทแผ่ลงบนอาหารแข็ง 2XYT Agar (ที่มี ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร) บ่มที่ 37°C ข้ามคืน

3. การสกัดพลาสมิดสายผสมออกจากเซลล์ของ *E. coli* โดยวิธี Alkaline lysis

คัดเลือกเฉพาะโคโลนีสีขาวบนอาหารแข็ง 2XYT โดยใช้ไม้จิ่มฟันที่ปราศจากเชื้อแล้วนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว 2XYT (ที่มี ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร ผสมอยู่) เขย่าด้วยความเร็ว 250 รอบต่อนาที ที่ 37°C ข้ามคืน นำเชื้อที่อยู่ในอาหารเหลว 1 มิลลิลิตร มาหมุนเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที เก็บตะกอนที่ได้มาละลายใน Solution I (25 mM Tris HCl pH 8.0, 50 mM glucose และ 10 mM EDTA) 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วเติม Solution II (0.2 N NaOH, 1% SDS) 200 ไมโครลิตร เขย่าหลอดก่อนที่จะเติม Solution III (3 M potassium acetate pH 5.2) 150 ไมโครลิตร และ chloroform : isoamyl alcohol (24 :1) 150 ไมโครลิตร เขย่าและแช่บนน้ำแข็ง 10 นาที แล้วนำไปหมุนเหวี่ยง ที่ 10,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที นำส่วนของน้ำใสมาเติมด้วย หนึ่งเท่าโดยปริมาตรของ isopropanol และนำไปหมุนเหวี่ยง ที่ 10,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ล้างตะกอนที่ได้ด้วย 70% ethanol และหมุนเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็วรอบและเวลาเท่าเดิม แล้วละลายตะกอนพลาสมิดด้วยน้ำ (มี RNase 2 % ผสมอยู่) 30 ไมโครลิตร ตั้งไวที่ 37°C นาน 30 นาที นำพลาสมิดที่สกัดได้มาตรวจหาส่วนของ cp gene ด้วย PCR เพื่อตรวจสอบพลาสมิดและส่วนของยีน CP บน 1% agarose gel electrophoresis และนำพลาสมิดสายผสมไป sequence เพื่อหาลำดับเบสของ ยีน CP ด้วยเครื่อง Sequencer

4. การวิเคราะห์ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการชักนำการสังเคราะห์ recombinant protein ในเซลล์แบคทีเรีย

เลี้ยงแบคทีเรีย *E. coli* (DH 5α) ที่มีพลาสมิดสายผสม pET101 ในอาหารเหลว 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร เขย่า 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง ทำการย้ายเชื้อที่เลี้ยงลงในอาหารเหลว 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร ใน

อัตราส่วนของเชื้อ 15% ของอาหาร เขย่าต่ออีก 2 ชั่วโมง จนวัดค่า OD 600 ประมาณ 0.5 จากนั้นเติม Isopropyl-β-D thiogalactopyranoside (IPTG) ในอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1 มิลลิโมลาร์ เลี้ยงเชื้อต่อ และเก็บตัวอย่างเซลล์หลังการเติม IPTG ที่ 2, 4 และ 6 ชั่วโมง ปั่นตกตะกอนที่ 8,000 รอบ/นาที นาน 20 นาที เก็บตะกอนเซลล์ไว้ที่ -20°C จากนั้นนำเซลล์ที่ในช่วงเวลา 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง มาเติมน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 50 ไมโครลิตร vortex ให้ตะกอนละลาย แล้วเติม 2xSDS-PAGE sample buffer (0.125 Tris-HCl pH 6.8, 20% glycerol, 4% SDS, 0.02% bromophenol blue R250, 5% β-Mercaptoethanol) 50 ไมโครลตร ผสมให้เข้ากัน และนำไปต้มในน้ำเดือด นาน 10 นาที แล้วนำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์โปรตีนด้วยเทคนิค SDS-PAGE

5. การแยกสกัดโปรตีนให้บริสุทธิ์

การสกัดโปรตีนให้บริสุทธิ์ โดยเลี้ยงแบคทีเรีย *E. coli* (DH 5α) ทีมีพลาสมิดสายผสมอยู่ ในอาหารเหลว 2XYT ที่ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดการสังเคาระห์โปรตีน ประมาณ 2000 มิลลิลิตร นำมาปั่นตกตะกอนที่ 8,000 รอบ/นาที นาน 20 นาที เก็บตะกอนเซลล์ที่ได้และเติม lysozyme กวนให้เข้าจนเหนียว เก็บที่ -20°C ข้ามคืน หลังจากนั้นเติม lysis buffer แล้วทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่อง sonicator (Utra schall Bandelin Sonopuls HD) จนตะกอนเซลล์ใสไม่เหนียวหนืด หลังจากนั้นปั่นตกตะกอนที่ 10,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที เก็บส่วนใสเพื่อแยกโปรตีนให้บริสุทธิ์ด้วย Ni-NTA และตรวจสอบด้วยเทคนิค SDS-PAGE

6. การผลิตแอนติซีรัม

นำโปรตีนที่บริสุทธิ์ที่แยกได้ นำมาทำการผสมกับ complete Freund's adjuvant ในอัตรา 1:1 เตรียมเป็น emulsion สำหรับฉีดกระตุ้นกระต่ายใต้ผิวหนัง (subcutaneous injection) ปริมาณ 0.5 มิลลิกรม/ครั้ง จำนวนสองครั้ง ห่างกันครั้งละ 2 สัปดาห์ เก็บแอนติซีรัม 6 ครั้ง นำเลือดที่ได้ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง แล้วนำไปเก็บที่ 4°C นาน 24 ชั่วโมง นำส่วนใสมาปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 8,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที เก็บส่วนใสซึ่งเป็นแอนติบอดีที่ -20°C ทำการตรวจสอบหาค่าไตเตอร์ของแอนติซีรัมด้วยเทคนิค indirect ELISA

7. ทดสอบประสิทธิภาพแอนติซีรัม

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของแอนติซีรัมในเบื้องต้นด้วยเทคนิค indirect ELISA หรือวิธี NCM-ELISA

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกข้อมูลการทดสอบหาค่าไตเตอร์และประสิทธิภาพผลของแอนติซีรัมเมื่อนำมาใช้ในการตรวจด้วยวิธี ELISA และจัดทำรายงาน

สถานที่ดำเนินการทดลอง

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
- ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร
- แปลงปลูกมันฝรั่งของเกษตรกร

การทดลองที่ 4.2 การพัฒนาเทคนิคการตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* ด้วยวิธี PCR-ELISA (2556-2557)

- **สิ่งที่ใช้ในการทดลอง**

1. ชุดสารเคมี พีซีอาร์ อิไลซ่า ดิกเลเบลลิ่ง
2. ชุดสารเคมีไบโอติน
3. สารเคมีที่ใช้ในการทำพีซีอาร์ ไพรเมอร์ โพรบ
4. ตัวอย่างเชื้อ *A. avenae subsp. citrulli* ที่แยกได้จากโรคผลเน่าของแตงโม
5. อาหารเลี้ยงเชื้อ *A. avenae subsp. citrulli*
6. วัสดุวิทยาศาสตร์ เช่น เครื่องแก้ว ไปเปตดูดสาร เป็นต้น
7. ชุดตรวจสอบ ELISA

- **วิธีปฏิบัติการทดลอง**

1. สืบค้นและรวบรวมงานวิจัย หนังสือ วารสารวิชาการและเว็บไซด์ของวิธีการตรวจสอบวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียด้วยเทคนิคต่างๆ และด้วยวิธีการ PCR – ELISA

2. ทำการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อ *A. avenae subsp. citrulli* ที่แยกได้จากโรคผลเน่าของแตงโม

ทำการขยายเชื้อ *A. avenae subsp. citrulli* จากตัวอย่างเชื้อ ในอาหาร Nutrient broth ในอุณหภูมิห้อง นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำสารละลายเชื้อที่ได้ไปปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 4600xg นาน 4 นาที หลังจากนั้น เทของเหลวด้านบนทิ้ง และนำตะกอนของสารละลายแบคทีเรีย ล้างด้วยน้ำเกลือ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์แล้ว นำไปปั่นตกตะกอนอีกรอบ แล้วจึงละลายตะกอนแบคทีเรียด้วย น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร หลังจากนั้นนำสารละลายแบคทีเรียที่ทำความสะอาดแล้วไปต้มในน้ำเดือด เป็นเวลานาน 10 นาที แล้วนำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 18,000 xg แล้วจึงเก็บส่วนน้ำใสด้านบนไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็นดีเอ็นเอ template

3. การออกแบบและสังเคราะห์ไพรเมอร์ (primer) และการหาลำดับดีเอ็นเอตัวตรวจ (probe) ที่ใช้ในการตรวจสอบเชื้อ *A. avenae subsp. citrulli*

ทำการออกแบบและสังเคราะห์ไพรเมอร์ (primer) หรือลำดับดีเอ็นเอของไพรเมอร์ และหาลำดับดีเอ็นเอตัวตรวจ (probe) ที่จะใช้ในการตรวจสอบด้วย ELISA จากการสืบค้นงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง โดยนำไป

4. การตรวจวินิจฉัยเชื้อ *A. avenae subsp. citrulli* ด้วยวิธีการ PCR-ELISA

4.1 การติดฉลากด้วยสาร digoxigenin (DIG) กับไพรเมอร์ด้วยวิธีการพีซีอาร์

ทำการเตรียมสารเคมีที่ได้จากชุดตรวจสอบ ซึ่งในชุดตรวจสอบมีการเติมสาร DIG ร่วมกับสารละลายที่ใช้ในกระบวนการพีซีอาร์ และนำหลอดสารละลายเข้าเครื่องพีซีอาร์ เพื่อเพิ่มปริมาณลำดับเบสเป้าหมาย

4.2 การตรวจสอบ PCR product ของเชื้อ *A. avenae subsp. citrulli* ในขั้นตอน ELISA

ทำการตรวจสอบการติดฉลากของ DIG ใน PCR product โดยนำ PCR product ที่ได้จากข้อ 4 ตรวจสอบกับจานหลุม ELISA ที่มีการเคลือบสาร streptavidin แล้วทำ hybridization เชื่อมต่อ probe ที่ติดด้วยสารไบโอติน และทดสอบตามขั้นตอนการตรวจด้วย ELISA ตามขั้นตอนการแนะนำของ

5. การตรวจสอบประสิทธิภาพของวิธีการ PCR-ELISA ในการตรวจเชื้อ *A. avenae subsp. citrulli* ที่ระดับความเจือจางต่างๆ (57)

นำสารละลายเชื้อ *Acidovorax avenae subsp. citrulli* มาทำการเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 10^2, 10^3, 10^4, 10^5, 10^6 และ 10^7 ทำการตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR-ELISA เปรียบเทียบประสิทธิภาพกับวิธีการตรวจสอบด้วยเทคนิค ELISA และ direct-PCR หรือ Immunomagnetic Separation

- **การบันทึกข้อมูล**

บันทึกผลการทดสอบประสิทธิภาพวิธีการ PCR-ELISA

- **สถานที่ดำเนินการทดลอง**

1. ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร
2. แหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์นำเข้าของเกษตรกร

ผลการทดลองและอภิปราย

1. การผลิตแอนติซีรัมของเชื้อไวรัส potato virus A (PVA) ทำการสังเคราะห์ดีเอ็นเอในส่วน coat protein gene (CP) ของ Potato virus A ขนาด 789 คู่เบส (bp) และต่อเชื่อม (ligation) PCR product เข้าสู่ พลาสมิดพาหะ (plasmid vector) โดยนำดีเอ็นเอสังเคราะห์ผสมกับเวคเตอร์ pET 101/D-TOPO® (Invitrogen) และทำการคัดเลือกเฉพาะโคลนที่มีชิ้นดีเอ็นเอส่วนของ CP gene ที่ใส่เข้าไปใน vector นำมาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี miniprep และส่งไปตรวจสอบหาลำดับเบส พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ 789 bp หลังจากนั้น subclone ยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของไวรัส PVA-CP เข้าสู่ protein expression vector (pET 200/D-TOPO) และ transform เข้า *E. coli* Top 10 และคัดเลือกโคลนที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้ในเซลล์ของ E. coli BL21 ในอาหาร 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร และชักนำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีนด้วย Isopropyl-β-D thiogalactopyranoside (IPTG) ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ได้แอนติ-ซีรัมของเชื้อ PVA สำหรับตรวจสอบเชื้อ PVA ในมันฝรั่ง

2. การพัฒนาเทคนิคการการตรวจสอบเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Aac.) ที่แยกได้จากผลแตงโม โดยเปรียบเทียบวิธี PCR-ELISA และ วิธี direct-PCR ใช้ไพรเมอร์ WFBA (F)/WFBA (R) : WFBA (F) 5’-CGA CCA GCC ACA CTG GGA -3’/ WFBA (R) 5’- CCT CTG CCG TAC TCC AGC G-3’ ส่วน Probe จำนวน 1 เส้น คือ 5'-BIO-CCG TAA GAA TAA GCA CCG GC-3' พบว่าสามารถตรวจสอบเชื้อที่ความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 1 cfu/ml ซึ่งการตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR-ELISA แสดงผลเป็นสีน้ำเงินชัดเจน แต่ส่วนการตรวจสอบด้วยวิธี direct PCR พบว่าแถบ ดีเอ็นเอเกิดบางๆ และการตรวจสอบเชื้อ Aac. ด้วยเทคนิค DAS-ELISA พบว่าสามารถตรวจสอบเชื้อที่ความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 10^2 cfu/ml และการตรวจสอบเชื้อทั้ง 3

วิธีข้างต้น สามารถตรวจเชื้อได้ที่ความเข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 10^7 cfu/ml และไม่สามารถตรวจสอบเชื้อ Aac. ด้วยชุดตรวจวินิจฉัยโรคผลเน่าแบคทีเรีย ของสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติได้ เมื่อเปรียบเทียบการตรวจสอบทั้ง 4 วิธีเบื้องต้น พบว่าเทคนิค PCR-ELISA สามารถตรวจเชื้อ Aac. ในปริมาณที่ต่ำได้ดีและให้ผลชัดเจนที่สุด ซึ่งเทคนิคนี้สามารถนำไปพัฒนาในการตรวจสอบเชื้อ Aac. ที่อาจปนเปื้อนในเมล็ดพันธุ์ในปริมาณที่ต่ำต่อไปได้

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ได้พัฒนาเทคนิคที่เหมาะสมในการตรวจสอบเชื้อสาเหตุโรคพืชศัตรูพืชทำให้สามารถควบคุมและป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อสาเหตุโรคพืช/ศัตรูพืชที่อาจติดเข้ามากับพืชนำเข้า/ส่งออก ได้แก่ เชื้อไวรัส potato virus A (PVA) และ เชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Aac.)

กิจกรรมที่ 5 วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกันเพื่อการส่งออก

รัชฎา อินทรกำแหง สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์
ชุติมา อ้อมกิ่ง อุดร อุณหวุฒิ จารุวรรณ จันทรา วลัยกร รัตนเดชากุล พุฒิพงษ์ เพ็งฤกษ์
ปวีณา บูชาเทียน พงษ์ศักดิ์ จิณฤทธิ์ นวลนิสา ตั้งสัจจะกุล

คำสำคัญ (keywords) ผลแก้วมังกร ผลมะนาว ผลมะละกอ ผลลำไย การกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช ศัตรูพืชสำคัญด้านกักกันพืช แมลงวันทอง วิธีการอบไอน้ำ วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ Dragon Fruit, Lime**,** Papaya, Longan, Plant quarantine treatment, Pest of quarantine significant, *Bactrocera dorsalis*, Vapor Heat Treatment, VHT, Modified Vapor Heat Treatment, MVHT

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ในการวิจัยนี้ เพื่อพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ Oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ด้วยวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ เพื่อใช้เป็นวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลผลแก้วมังกร ผลมะนาว ผลมะละกอ ผลลำไย ก่อนส่งออก โดยไม่มีผลกระทบของความร้อนต่อคุณภาพของผล การศึกษาอิทธิพลของความชื้นสัมพัทธ์ต่ออัตราการตายของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมไม้ โดยอบผลไม้กำจัดหนอนวัย 1 ด้วยวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ เปรียบเทียบความชื้นสัมพัทธ์ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะละกอด้วยวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ที่ อุณหภูมิ 47 $^{\circ}$ซ. นาน 10 นาที มีประสิทธิภาพกำจัดหนอนวัย 1 จำนวนมากกว่า 3,000 ตัว ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ จากผลงานวิจัยนี้มีความเป็นไปได้สูงที่จะเสนอให้มีการประเมินประสิทธิภาพของวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนมากกว่า 30,000 ตัว ต่อไป ส่วนการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลแก้วมังกร พบว่า วิธีการลดอุณหภูมิด้วยน้ำทำให้ผลแก้วมังกรมีคุณภาพดีกว่าวิธีการลดอุณหภูมิด้วยอากาศ จากผลงานวิจัยนี้มีความเป็นไปได้สูงที่จะเสนอให้มีการประเมินประสิทธิภาพของวิธีอบ ไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ จำนวนมากกว่า 30,000 ตัว ต่อไปส่วนการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะนาว ด้วยวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ที่ อุณหภูมิ 46 $^{\circ}$ซ. นาน 30 นาที สามารถกำจัดไข่แมลงวันผลไม้ได้ดีและต้องทำการทดสอบประเมินระยะการเจริญเติบโตของแมลงวันผลไม้ที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุดในระยะไข่เพื่อใช้เป็นตัวแทนในขบวนการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชต่อไป

บทนำ

สินค้าเกษตรสำคัญของประเทศไทยหลายชนิดไม่สามารถส่งออกไปจำหน่ายยังประเทศที่เข้มงวดด้านกักกันพืช เนื่องจากประเทศไทยเป็นแหล่งแพร่ระบาดของโรคและศัตรูพืชสำคัญด้านกักกันพืช ยกตัวอย่างเช่น ประเทศไทยมีแมลงวันทองหลายชนิดแพร่ระบาด แต่ที่มีความสำคัญทางด้านกักกันพืชมี 2 ชนิด ได้แก่ แมลงวันทอง (*Bactrocera dorsalis complex*) และแมลงวันแตง (*Bactrocera cucurbitae*) ซึ่งมีความสำคัญทางด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ (White and Elson-Harris, 1992; Iwaizumi, 2004) แมลงวันทองมีพืชอาศัยมากมายหลายชนิด ได้แก่ แก้วมังกร มะนาว และมะละกอ มลนิภา และคณะ (2555) ได้ศึกษาความเป็นไปได้ที่แมลงวันทองเข้าทำลายมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ และฮาวาย ในสภาพธรรมชาติ ในพื้นที่ปลูกมะละกอ อำเภอศรีสวัสดิ์ จังหวัดกาญจนบุรี พบการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ 2 ชนิด ได้แก่ *B. dorsalis* และ *B. papaya*e และได้ศึกษาอัตราและระยะเวลาที่ไข่ของแมลงวันทอง *B. dorsalis* ฟักในชิ้นเนื้อมะละกอ พบว่าไข่ของแมลงวันทองเริ่มฟักในชั่วโมงที่ 31 จนครบชั่วโมงที่ 50 มีเปอร์เซ็นต์การฟักไข่เท่ากับ 2 และ 95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับแมลงวันทอง *B. dorsalis complex* ไม่พบ หรือพบเป็นบางครั้งแต่ได้ถูกกำจัดให้หมดสิ้นไปแล้วในประเทศสหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย ญี่ปุ่น เกาหลี และนิวซีแลนด์ กระทรวงเกษตรป่าไม้และประมงญี่ปุ่น (Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, MAFF) ได้กำหนดให้การขออนุญาตนำเข้าสิ่งต้องห้ามที่เป็นพืชอาศัยของแมลงวันทอง ต้องยื่นเสนอแผนการวิจัยการกำจัดแมลงวันทองก่อนการส่งออกไปให้กับ (MAFF) พิจารณาตรวจสอบและให้ความเห็นชอบก่อน โดยที่ขั้นตอนในการวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันทองด้วยต้องเป็นไปตามข้อกำหนด และมีประสิทธิภาพซึ่งได้มาตรฐานตามวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Miyazaki, 2010) วิธีการที่จะส่งสินค้าเกษตรซึ่งเป็นพืชอาศัยของศัตรูพืชสำคัญด้านกักกันพืชเหล่านี้ ออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศได้ ประเทศไทยจำเป็นต้องศึกษาวิจัย และพัฒนาหาวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่เหมาะสมกับพืชแต่ละชนิดที่มีประสิทธิภาพสูงตามมาตรฐานของวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Quarantine treatment) ที่สามารถกำจัดศัตรูพืชในพืชก่อนการส่งออกได้อย่างหมดสิ้นโดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของพืช นอกจากนี้ในการค้าขายกับหลาย ๆ ประเทศที่มีมาตรการกำหนดให้ประเทศไทยต้องดำเนินการกำจัดศัตรูพืชกักกันก่อนการส่งออก เช่น การใช้ความร้อน ความเย็น การฉายรังสี เป็นต้น ในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2529 กลุ่มวิจัยการกักกันพืช ได้รับความช่วยเหลือทางด้านวิชาการจากรัฐบาลญี่ปุ่นให้ศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการใช้ความร้อนเพื่อกำจัดแมลงวันทอง *B. dorsalis* และแมลงวันแตง *B. cucurbitae* ในผลมะม่วงพันธุ์หนังกลางวัน พบว่าวิธีการอบไอน้ำ (Vapor Heat Treatment, VHT) มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันทองทั้ง 2 ชนิด ได้อย่างมีประสิทธิภาพตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Unhawutti *et al*., 1986) และปี พ.ศ. 2534 ได้วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT) ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันทองครอบคลุมมะม่วงถึง 4 พันธุ์ ได้แก่ หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง (Unhawutti *et al*., 1991) โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของมะม่วง หลังจากนั้นกลุ่มวิจัยการกักกันพืชได้ประสบความสำเร็จจากการวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันทองด้วยความร้อนในผลมังคุด (ปี พ.ศ. 2546) มะม่วงพันธุ์มหาชนก (ปี พ.ศ. 2549) (ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว, 2551) และ

ส้มโอพันธุ์ทองดี (ปี พ.ศ. 2555) (Unhawutti *et al.,* 2006; อุดร และคณะ, 2549) วิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) นอกจากมีประสิทธิภาพกำจัดแมลงวันทองได้แล้ว ยังมีข้อดีในแง่ของความปลอดภัยจากสารพิษตกค้างภายในผลไม้ จึงผ่านการยอมรับได้โดยง่ายจากประเทศผู้นำเข้าหากมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลง ปัจจุบันประเทศไทยมีการสร้างโรงงานกำจัดแมลงวันทองด้วยความร้อนในเชิงพาณิชย์กันอย่างแพร่หลายโดยใช้วิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) ในการอบผลมะม่วง, มังคุด และส้มโอพันธุ์ทองดี เพื่อการส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น เกาหลี และนิวซีแลนด์ โดยยึดหลักการตามเงื่อนไขและข้อกำหนดของแต่ละประเทศ (มลนิภา, 2550; มลนิภา, 2552; Srimartpirom, 2010) วัตถุประสงค์ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ เพื่อวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำสำหรับกำจัดแมลงวันทอง *B. dorsalis* complex ในผลแก้วมังกร มะละกอ และมะนาว ได้อย่างมีประสิทธิภาพตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ และเพื่อนำข้อมูลเสนอต่อกระทรวงเกษตรป่าไม้ และประมงประเทศญี่ปุ่น ให้พิจารณาเป็นวิธีการกำจัดแมลงวันไม้ในผลแก้วมังกร มะละกอ และมะนาว เพื่อขอเปิดตลาดผลไม้ส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น นอกจากนี้ยังทำให้ประเทศไทยสามารถส่งออกผลไม้ที่มีศักยภาพในการส่งออกไปจำหน่ายยังประเทศอื่น ๆ ที่เข้มงวดด้านกักกันพืชได้ อาทิเช่น เกาหลี และนิวซีแลนด์ ส่งผลให้สินค้าเกษตรของประเทศไทยมีคุณภาพดี ถูกสุขอนามัย สามารถแข่งขันกับตลาดต่างประเทศได้ และเกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้น ผลการดำเนินการวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลแก้วมังกร,มะนาว และมะละกอเพื่อการส่งออก ในปี 2554-2557 ได้แบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ส่วน คือ 1) ศึกษาข้อมูลเบื้องต้น โดยสำรวจ และศึกษาการเข้าทำลายของแมลงวันทอง *B. dorsalis* ในผลแก้วมังกร, มะนาว และมะละกอ ในสภาพธรรมชาติ นำมาเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณแมลงวันทอง *B. dorsalis* ในห้องปฏิบัติการ พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณแมลงวันทอง *B. dorsalis* ได้จำนวน > 50,000 ตัว เพื่อใช้สำหรับงานทดลองอบไอน้ำ ศึกษาสถานภาพการเป็นพืชอาศัยของแมลงวันทอง *B. dorsalis* ในผลแก้วมังกร, มะนาว และมะละกอ ในสภาพธรรมชาติ และสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่าผลไม้ทั้ง 3 ชนิด มีแนวโน้มเป็นพืชอาศัยของแมลงวันทอง *B. dorsalis* ได้ โดยพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของแมลงวันทอง *B. dorsalis* ที่เข้าทำลายผลไม้ทั้ง 3 ชนิด ในสภาพห้องปฏิบัติการ พบเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของแมลงวันทอง *B. dorsalis* > 50 เปอร์เซ็นต์ ศึกษาการทำงานของตู้อบไอน้ำ โดยทำการอบผลแก้วมังกร, มะนาว และมะละกอ ด้วยวิธีการอบไอน้ำ (Vapor Heat Treatment, VHT) และวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT) พบว่าได้รูปแบบ และวิธีการอบไอน้ำที่เหมาะสมในแต่ละงานทดลอง 2) ศึกษาด้านความเสียหายของผลแก้วมังกร, มะนาว และมะละกอ จากความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำ โดยทำการอบผลแก้วมังกร, มะนาว และมะละกอ ด้วยวิธีการอบไอน้ำ (VHT) และวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) พบว่าการอบผลแก้วมังกร, มะนาว และมะละกอ ด้วยวิธีการอบไอน้ำทั้ง 2 ชนิด มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ทั้ง 3 ชนิด ที่แตกต่างกัน หลังการอบไอน้ำ โดยพิจารณาดังนี้ 1. การสูญเสียน้ำหนัก 2. ปริมาณน้ำตาล 3.ลักษณะอาการที่เกิดจากความร้อน เช่น อาการเปลี่ยนสีของผิวเปลือก อาการสูญเสียน้ำ และการเปลี่ยนแปลงของกลิ่น และรสชาติของผลไม้ เป็นต้น ฯลฯ รวมถึงโรคที่เกิดขึ้น 3) ศึกษาด้านการกำจัดแมลงวันทองด้วยความร้อนในผลแก้วมังกร, มะนาว และมะละกอ โดยทำการอบผลแก้วมังกร,

มะนาว และมะละกอในสภาพที่มีไข่ และหนอนวัยต่าง ๆ ของแมลงวันทอง *B. dorsalis* อยู่ภายใน ด้วยวิธีการอบไอน้ำ (VHT) และวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) พบว่าวิธีการอบไอน้ำทั้ง 2 วิธีการ มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันทอง *B. dorsalis* ในผลไม้ทั้ง 3 ชนิด แตกต่างกัน โดยพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงวันทอง

ระเบียบวิธีการวิจัย

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. ตู้อบไอน้ำกำจัดแมลงขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง 2 เครื่อง
2. ตู้ลดอุณหภูมิผลไม้
3. ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ 2 ห้อง
4. เครื่องอ่างน้ำร้อน
5. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดของผลไม้
6. เครื่องวัดค่าความหวานของผลไม้
7. ห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็กโดยใช้อุณหภูมิ27องศาเซลเซียส และความชื้น 75 เปอร์เซ็นต์
8. ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก 4 ตู้
9. ห้องเย็นสำหรับเก็บผลไม้ที่ใช้ในการทดลอง
10. เครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์แบบต่อเนื่อง
11. แท่งวัดอุณหภูมิขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง
12. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่งสำหรับงานทดลอง
13. อุปกรณ์สำหรับเช็คผลการทดลอง ๆ ได้แก่ พู่กัน ปากคีบ เคาท์เตอร์ จานทดลองขนาดเล็ก ถาดใส่ผลไม้ ถุงผ้าตาข่าย ถุงมือ มีดปอกผลไม้ ถุงขยะดำ และอื่น ๆ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

การทดลองที่ 5.1 วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลแก้วมังกรเพื่อการส่งออก

1. ศึกษาข้อมูลเบื้องต้น

1.1 สำรวจชนิดและรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชในแก้วมังกร

1.2 เลี้ยงแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เป็นจำนวนประมาณ 100,000 ตัว ไว้ในห้องปฏิบัติการ

1.3 ทดสอบการทำงานของเครื่องอบไอน้ำกับผลแก้วมังกร

1.4 ศึกษาสภาพการแพร่กระจายความร้อนภายในเครื่องกำจัดแมลงด้วยความร้อนเมื่อภายในห้องอบไอน้ำมีปริมาณแก้วมังกรแตกต่างกันเพื่อกำหนดวิธีการและวิธีการวัดอุณหภูมิผลภายในแก้วมังกรที่ถูกต้องเหมาะสมกับแต่ละงาน

2. ศึกษาเบื้องต้นด้านความเสียหายจากความร้อน

2.1 ศึกษาเปรียบเทียบผลกระทบของความร้อนกรรมวิธีต่างๆต่อคุณภาพผลแก้วมังกร

2.2 ศึกษาลักษณะความเสียหายของแก้วมังกรจากความร้อน

2.3 ศึกษาอิทธิพลของวิธีการลดอุณหภูมิหลังการให้ความร้อนต่อคุณภาพแก้วมังกร

2.4 ศึกษาความทนทานต่อความร้อนของแก้วมังกรแต่ละพันธ์

2.5 ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิระหว่างเก็บรักษาต่อคุณภาพแก้วมังกร

3. ศึกษาเบื้องต้นการกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการอบไอน้ำ

ศึกษาอัตราการรอดชีวิตและระยะการเจริญเติบโตของแมลงวันผลไม้ในผลแก้วมังกร

3.1 ศึกษาวิธีการเตรียมผลแก้วมังกรที่มีแมลงวันผลไม้แต่ละระยะการเจริญเติบโตอยู่ในผลผลเพื่อใช้ในการทดลอง โดยแมลงสามารถเจริญเติบโตได้ดีและมีอัตรารอดชีวิตสูง

3.2 ศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ระยะการเจริญเติบโตต่างๆ ที่ทำลายในผลแก้วมังกร (ไข่ หนอนวัยที่ 1, 2 และ 3) ต่อความร้อน (Susceptibility test) เพื่อกำหนดระยะการเจริญเติบโตที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุด สำหรับใช้เป็นตัวแทนของแมลงวันผลไม้ในการศึกษาวิจัยในขั้นตอนต่อๆ

3.3 ศึกษาการกำจัดแมลง (Disinfestation test) และปัจจัยของวิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อนที่อาจจะมีผลกระทบต่ออัตราการตายของแมลงวันผลไม้ ได้แก่ ระดับความชื้นสัมพัทธ์ ระยะเวลาให้ความร้อน วิธีการลดอุณหภูมิหลังจากให้ความร้อน

3.4 ศึกษาประสิทธิภาพของความร้อนในการกำจัดแมลงวันผลไม้ในแก้วมังกร(Efficacy test) ประมวลข้อมูลจากการศึกษาเบื้องต้น และคาดการณ์กระบวนการกำจัดแมลงด้วยความร้อน (กรรมวิธีอุณหภูมิ และระยะเวลา) ที่สามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะการเจริญเติบโตที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุดในผลแก้วมังกรให้ตายทั้งหมด โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพแก้วมังกร

3.5 ทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดแมลงของกระบวนการดังกล่าวนั้นกับแมลงวันผลไม้ระยะที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุดจำนวนไม่ต่ำกว่า 2,000 ตัว

4. ประเมินประสิทธิภาพกระบวนการกำจัดแมลงด้วยความร้อนกับแมลงจำนวนมาก

4.1 ศึกษายืนยันประสิทธิภาพของกระบวนการกำจัดแมลงด้วยความร้อน (อุณหภูมิและระยะเวลา) (Large-scale confirmatory test) ที่มีประสิทธิภาพสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะการเจริญเติบโตที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุด จำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัวให้ตายทั้งหมด เพื่อให้เป็นไปตามมาตรฐานของวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช

4.2 ศึกษาคุณภาพของผลแก้วมังกรในสภาพจำลองการส่งออกทางอากาศ (air freight) และทางเรือ (sea freight)

4.3 รวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูลผลการทดลอง

4.4 จัดทำรายงานผลการวิจัยเสนอต่อประเทศผู้นำเข้า

4.5 จัดทำรายงานและเผยแพร่งานวิจัย

การบันทึกข้อมูล บันทึกอุณหภูมิ และระยะเวลา คุณภาพผลไม้ และอัตราการรอดชีวิต และเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงทดสอบ

สถานที่ดำเนินการทดลอง

1. ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
2. จังหวัดระยอง จันทบุรี ตราด ชุมพร สุราษฎร์ธานี ตรัง กระบี่ ภูเก็ต นครศรีธรรมราช

การทดลองที่ 5.2 วิจัยและพัฒนาสถานภาพการเป็นพืชอาศัยและวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะนาวเพื่อการส่งออก

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ดำเนินการทดลองโดยใช้ เครื่องอบไอน้ำกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง (Sanshu Vapor Heat Treatment System : Differential Pressure Type รุ่น EHK 1000 D จำนวน 2 เครื่อง) ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สำหรับแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ที่ใช้ทดลองทำการขยายพันธุ์ประชากรแมลงให้เพิ่มขึ้น และมีความแข็งแรง โดยอาศัยการเลี้ยงแมลงด้วยอาหารเทียม การเตรียมแมลงวันผลไม้ให้เพียงพอสำหรับงานทดลอง โดยการเลี้ยงในกรงใหญ่ จำนวน 20,000 ตัว/กรง และในกรงเล็ก จำนวน 2,000 ตัว/กรง การเลี้ยงแมลงแต่ละรุ่นจะตรวจสอบอัตราการฟักไข่ (hatching rate) อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate) น้ำหนักของดักแด้(pupae weight) และอัตราส่วนของเพศผู้-เพศเมีย (sex ratio) เพื่อควบคุมคุณภาพของแมลงก่อนการทดลอง มีขั้นตอนดังนี้

1. การเตรียมแมลงทดลอง

1.1 สำรวจและเก็บรวบรวมแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในสภาพธรรมชาติมาเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้จำนวนมากด้วยอาหารเทียมในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในงานทดลองจำนวนไม่ต่ำกว่า 50,000 ตัว

2. ศึกษาข้อมูลเบื้องต้น

2.1 สำรวจและคัดเลือกผลมะนาวจากสวนที่ได้คุณภาพเพื่อนำมาใช้ในงานทดลอง

2.2 ศึกษาสถานภาพของมะนาวในการเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ในสภาพธรรมชาติ

2.2.1 ศึกษาความเป็นไปได้ที่แมลงวันผลไม้เข้าทำลายมะนาวในสภาพธรรมชาติ โดยสำรวจสวนมะนาวที่มีการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้

2.3 ศึกษาความเป็นไปได้ที่แมลงวันผลไม้เข้าทำลายมะนาวในสภาพห้องปฏิบัติการ

2.3.1 ศึกษาอัตราการรอดชีวิตของแมลงวันผลไม้โดยใช้วิธีการบังคับให้แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่บนผลมะนาวในกรงเลี้ยงแมลง (Forced infestation method)

2.4 ศึกษาระบบการทำงานของเครื่องอบไอน้ำโดยศึกษาสภาพการแพร่กระจายความร้อนภายในตู้อบไอน้ำเมื่อภายในตู้อบไอน้ำมีปริมาณผลไม้แตกต่างกันเพื่อกำหนดวิธีการ

และวิธีการวัดอุณหภูมิผลภายในผลไม้ที่ถูกต้องเหมาะสม

3. ศึกษาด้านความเสียหายของผลมะนาวจากวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน

3.1 ศึกษาเปรียบเทียบผลกระทบของความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำ (Vapor Heat Treatment, VHT) เปรียบเทียบกับวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT) ที่มีต่อคุณภาพของผลมะนาว

3.2 ศึกษาลักษณะความเสียหายของมะนาวจากความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำทั้ง 2 วิธีการ

3.3 ศึกษาอิทธิพลของวิธีการลดอุณหภูมิหลังการให้ความร้อนต่อคุณภาพของผลมะนาว

3.4 ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ และระยะเวลาระหว่างเก็บรักษาต่อคุณภาพของผลมะนาว ศึกษาอิทธิพลของปริมาณมะนาวในห้องบรรจุผลไม้ของเครื่องอบไอน้ำต่อคุณภาพของมะนาว ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของมะนาวในสภาพจำลองการส่งออกทางเครื่องบิน และทางเรือ

4. ศึกษาด้านการกำจัดแมลงด้วยความร้อน

4.1 ศึกษาวิธีเตรียมมะนาวทดลองในสภาพที่มีไข่และหนอนของแมลงวันผลไม้อยู่ภายในผล โดยใช้เทคนิคการใส่ไข่ของแมลงวันผลไม้เข้าไปในชิ้นเนื้อของมะนาวโดยตรง (Artificial infestation method)

4.2 ศึกษาความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ในระยะไข่ และหนอนในผลมะนาวด้วยวิธีอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) โดยเปรียบเทียบความทนทานของไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) และหนอนวัยต่าง ๆ ของแมลงวันผลไม้ในผลมะนาวด้วยวิธีอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) เพื่อกำหนดระยะการเจริญเติบโตที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุด

4.3 ศึกษาการกำจัดแมลง (Disinfestation test) และปัจจัยของวิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อน ที่อาจจะมีผลกระทบต่ออัตราการตายของแมลงวันผลไม้ ได้แก่ ระดับความชื้นสัมพัทธ์ ระยะเวลาให้ความร้อน วิธีการลดอุณหภูมิหลังจากให้ความร้อน

4.4 ศึกษาประสิทธิภาพเบื้องต้นด้านการกำจัดแมลงวันผลไม้ในมะนาว และคาดการณ์กระบวนการกำจัดแมลงด้วยความร้อน (กรรมวิธี อุณหภูมิ และระยะเวลา) ที่สามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะการเจริญเติบโตที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุดในผลมะนาวให้ตายทั้งหมด โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพมะนาว

5 ศึกษายืนยันประสิทธิภาพของกระบวนการกำจัดแมลงด้วยความร้อน (อุณหภูมิและระยะเวลา) (Large-scale confirmatory test) ที่มีประสิทธิภาพสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะการเจริญเติบโตที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุด จำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว ให้ตายทั้งหมด เพื่อให้เป็นไปตามมาตรฐานของวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช

6 สรุปผลการดำเนินงานและวิเคราะห์ข้อมูล และเขียนรายงานเสนอต่อประเทศผู้นำเข้า (ประเทศญี่ปุ่น เกาหลี และนิวซีแลนด์)

การบันทึกข้อมูล บันทึกอุณหภูมิ และระยะเวลา คุณภาพผลไม้ และอัตราการรอดชีวิต และเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงทดสอบ

สถานที่ดำเนินการทดลอง

1. **ห้อง**ปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
2. **จังหวัดระยอง จันทบุรี ตราด ชุมพร สุราษฎร์ธานี ตรัง กระบี่ ภูเก็ต นครศรีธรรมราช**

การทดลองที่ 5.3 วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะละกอเพื่อการส่งออก (2554-2556)

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ดำเนินการทดลองโดยใช้ เครื่องอบไอน้ำกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง (Sanshu Vapor Heat Treatment System : Differential Pressure Type รุ่น EHK 1000 D จำนวน 2 เครื่อง) ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สำหรับแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ที่ใช้ทดลองได้มาจากผลมะละกอ ที่เก็บรวบรวมจากอำเภอศรีสวัสดิ์ จังหวัดกาญจนบุรี ทำการขยายพันธุ์ประชากรแมลงให้เพิ่มขึ้น และมีความแข็งแรง โดยอาศัยการเลี้ยงแมลงด้วยอาหารเทียม การเตรียมแมลงวันผลไม้ให้เพียงพอสำหรับงานทดลอง โดยการเลี้ยงในกรงใหญ่ จำนวน 20,000 ตัว/กรง และในกรงเล็ก จำนวน 2,000 ตัว/กรง การเลี้ยงแมลงแต่ละรุ่นจะตรวจสอบอัตราการฟักไข่ (hatching rate) อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate) น้ำหนักของดักแด้(pupae weight) และอัตราส่วนของเพศผู้-เพศเมีย (sex ratio) เพื่อควบคุมคุณภาพของแมลงก่อนการทดลอง มีขั้นตอนดังนี้

1. การเตรียมแมลงทดลอง

1.2 สำรวจและเก็บรวบรวมแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในสภาพธรรมชาติมาเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้จำนวนมากด้วยอาหารเทียมในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในงานทดลองจำนวนไม่ต่ำกว่า 50,000 ตัว

2. ศึกษาข้อมูลเบื้องต้น

5.1 รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับชีววิทยา,พื้นที่ปลูกมะละกอเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในงานทดลองโดยการสืบค้นข้อมูลงานวิจัยการใช้วิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อนในผลมะละกอจากเว็บไซต์ และแหล่งข้อมูลงานวิจัยอื่น ๆ ทั้งใน และต่างประเทศ

5.2 สำรวจและคัดเลือกผลมะละกอจากสวนที่ได้คุณภาพเพื่อนำมาใช้ในงานทดลอง

5.3 ศึกษาสถานภาพของมะละกอในการเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ในสภาพธรรมชาติ

5.3.1 ศึกษาความเป็นไปได้ที่แมลงวันผลไม้เข้าทำลายมะละกอในสภาพธรรมชาติ

2.3.2 โดยสำรวจสวนมะละกอที่มีการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้

5.4 ศึกษาความเป็นไปได้ที่แมลงวันผลไม้เข้าทำลายมะละกอในสภาพห้องปฏิบัติการ

5.4.1 ศึกษาอัตราการรอดชีวิตของแมลงวันผลไม้โดยใช้วิธีการบังคับให้แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่บนผลมะละกอในกรงเลี้ยงแมลง (Forced infestation method)

5.4.2 ศึกษาอัตราและระยะเวลาที่ไข่ของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ฟักในชิ้นเนื้อมะละกอโดยใช้เทคนิคการใส่ไข่ของแมลงวันผลไม้เข้าไปในชิ้นเนื้อมะละกอโดยตรง (Eggs inoculation method)

5.5 ศึกษาระบบการทำงานของเครื่องอบไอน้ำโดยศึกษาสภาพการแพร่กระจายความร้อนภายในตู้อบไอน้ำเมื่อภายในตู้อบไอน้ำมีปริมาณผลไม้แตกต่างกันเพื่อกำหนดวิธีการและวิธีการวัดอุณหภูมิผลภายในผลไม้ที่ถูกต้องเหมาะสม

3. ศึกษาด้านความเสียหายของผลมะละกอจากวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน

3.1 ศึกษาเปรียบเทียบผลกระทบของความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำ (Vapor Heat Treatment, VHT) เปรียบเทียบกับวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT) ที่มีต่อคุณภาพของผลมะละกอ

3.2 ศึกษาลักษณะความเสียหายของมะละกอจากความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำทั้ง 2 วิธีการ

3.3 ศึกษาอิทธิพลของวิธีการลดอุณหภูมิหลังการให้ความร้อนต่อคุณภาพของผลมะละกอ

3.4 ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ และระยะเวลาระหว่างเก็บรักษาต่อคุณภาพของผลมะละกอ

ศึกษาอิทธิพลของปริมาณมะละกอในห้องบรรจุผลไม้ของเครื่องอบไอน้ำต่อคุณภาพของมะละกอ

3.5 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของมะละกอในสภาพจำลองการส่งออกทางเครื่องบินและทางเรือ

4. ศึกษาด้านการกำจัดแมลงด้วยความร้อน

4.1 ศึกษาวิธีเตรียมมะละกอทดลองในสภาพที่มีไข่และหนอนของแมลงวันผลไม้อยู่ภายในผล โดยใช้เทคนิคการใส่ไข่ของแมลงวันผลไม้เข้าไปในชิ้นเนื้อของมะละกอโดยตรง (Artificial infestation method)

4.2 ศึกษาความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ในระยะไข่ และหนอนในผลมะละกอด้วยวิธีอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) โดยเปรียบเทียบความทนทานของไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) และหนอนวัยต่าง ๆ ของแมลงวันผลไม้ในผลมะละกอด้วยวิธีอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) เพื่อกำหนดระยะการเจริญเติบโตที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุด

4.3 ศึกษาการกำจัดแมลง (Disinfestation test) และปัจจัยของวิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อนที่อาจจะมีผลกระทบต่ออัตราการตายของแมลงวันผลไม้ ได้แก่ ระดับความชื้นสัมพัทธ์ ระยะเวลาให้ความร้อน วิธีการลดอุณหภูมิหลังจากให้ความร้อน

4.4 ศึกษาประสิทธิภาพเบื้องต้นด้านการกำจัดแมลงวันผลไม้ในมะละกอและคาดการณ์กระบวนการกำจัดแมลงด้วยความร้อน (กรรมวิธี อุณหภูมิ และระยะเวลา) ที่สามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะการ

เจริญเติบโตที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุดในผลมะละกอให้ตายทั้งหมด โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพมะละกอ

5. ศึกษายืนยันประสิทธิภาพของกระบวนการกำจัดแมลงด้วยความร้อน (อุณหภูมิและระยะเวลา) (Large-scale confirmatory test) ที่มีประสิทธิภาพสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะการเจริญเติบโตที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุด จำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว ให้ตายทั้งหมด เพื่อให้เป็นไปตามมาตรฐานของวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช

6. สรุปผลการดำเนินงานและวิเคราะห์ข้อมูล และเขียนรายงานเสนอต่อประเทศผู้นำเข้า (ประเทศญี่ปุ่น เกาหลี และนิวซีแลนด์)

การบันทึกข้อมูล บันทึกอุณหภูมิ และระยะเวลา คุณภาพผลไม้ และอัตราการรอดชีวิต และเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงทดสอบ

สถานที่ดำเนินการทดลอง

1. ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
2. จังหวัดระยอง จันทบุรี ตราด ชุมพร สุราษฎร์ธานี ตรัง กระบี่ ภูเก็ต นครศรีธรรมราช

การทดลองที่ 5.4 วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลลำไยเพื่อการส่งออก

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ที่ใช้ในการทดลอง

1.1 แหล่งที่มาของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis*

เลี้ยงแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เป็นจำนวนมากไว้ในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในการทดลอง โดยเลี้ยงไว้ในห้องเลี้ยงแมลงของกลุ่มงานวิชาการกักกันศัตรูพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ต้นกำเนิดสายพันธุ์ของแมลงวันผลไม้ได้มาจากผลมะม่วง ในพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา แมลงตัวเต็มวัยจะถูกจำแนกชนิดอย่างละเอียดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คัดแยกเอาเฉพาะแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เพียงชนิดเดียว จากนั้นจึงนำแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยไปเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการและเพิ่มจำนวนให้มากขึ้น โดยอาศัยวิธีการเลี้ยงแมลงด้วยอาหารเทียม (artificial diet)

1.2 เทคนิคและวิธีการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis*

แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ที่ใช้ในการทดลองทั้งหมดใช้เทคนิค และวิธีการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ตามวิธีการของ Watanabe et al., (1973) สภาพห้องเลี้ยงแมลง: ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เป็นห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ ความชื้น และแสงสว่าง ห้องเลี้ยงแมลงมีขนาด 3.5 x 4.6 x 2.3 เมตร อุณหภูมิ 26 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 $\pm$ 5 เปอร์เซ็นต์ แสงสว่างภายในห้องได้จากหลอดไฟ ฟลูโอเรสเซนส์ (Fluorescent lights) จำนวน 20 หลอด ติดตั้งบนเพดานห้องเลี้ยงแมลง มีระยะรอบของความมืดและสว่าง (light - dark cycle) เป็น 12:12 ชั่วโมง ไฟจะสว่างในช่วงเวลา 6:00 - 18:00 นาฬิกา ภายในห้องเลี้ยงแมลงติดหลอดไฟขนาด 15 วัตต์ จำนวน 1 หลอด ให้แสงสลัว (dim light) เป็นเวลานาน 15 นาที ก่อนและหลังที่ไฟในห้องเลี้ยงแมลงจะสว่างเพื่อช่วยกระตุ้นให้แมลงวันผลไม้ผสมพันธุ์

ตัวเต็มวัย: เลี้ยงแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ตัวเต็มวัยกรงใหญ่จำนวนประมาณ 20,000 ตัว/กรง และกรงเล็กจำนวนประมาณ 2,000 ตัว/กรง กรงเลี้ยงแมลงมีขนาด 65.5 x 69.0 x 77.0 เซนติเมตร และ 35 x 50 x 35 เซนติเมตร ทำด้วยมุ้งลวดตาข่ายอลูมิเนียมขนาด 16 เมช ภายในกรงมีจานพลาสติกบรรจุอาหารสำหรับตัวเต็มวัย ซึ่งประกอบด้วยส่วนผสมโดยน้ำหนัก ดังนี้ น้ำตาล 10 ส่วน เอ็นไซม์โปรตีนไฮโดรไลเซส (Enzymatic protein hydrolysate; Amber series 100) 1 ส่วน และ ยีสต์เอ็กเทรค (Yeast extract) 1 ส่วน การให้น้ำจะใช้ขวดพลาสติกทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6.0 เซนติเมตร สูง 7.5 เซนติเมตร ฝาขวดเจาะรูขนาด 1 มิลลิเมตร จำนวน 3 รู วิธีให้น้ำจะคว่ำขวดน้ำลงบนกระดาษกรองซึ่งวางอยู่บนหลังกรงเลี้ยงแมลง หลังจากเลี้ยงแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยครบ 6 สัปดาห์ แมลงที่เหลือในกรงทั้งหมดจะถูกนำไปทำลายและทำความสะอาดกรงเลี้ยงแมลง เพื่อเตรียมไว้สำหรับใส่แมลงในรุ่นต่อไป ในระหว่างการทดลองจะต้องมีแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยอายุต่างๆ กันเพื่อเตรียมไว้ใช้ในการทดลอง กรงใหญ่ไม่น้อยกว่า 5 กรง และกรงเล็กไม่น้อยกว่า 10 กรง

วิธีการเก็บไข่: เก็บไข่แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เมื่อตัวเต็มวัยมีอายุประมาณ 15 วัน โดยใช้กระบอกพลาสติก ขนาด 7 x 17 เซนติเมตร ด้านข้างเจาะรูขนาด 0.4 มิลลิเมตร ประมาณ 80-100 รู เพื่อให้แมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยเพศเมียแทงอวัยวะวางไข่ผ่านรูจากด้านข้างเข้าไปวางไข่ภายในกระบอกพลาสติก ในการเก็บไข่แต่ละครั้ง จะใส่น้ำส้มประมาณ 30 มิลลิเมตร ไว้ในกระบอกเก็บไข่ เพื่อกระตุ้นให้แมลงมาวางไข่ในขณะเดียวกันยังจะให้ความชื้นภายในกระบอกพลาสติกป้องกันไม่ให้ไข่ของแมลงแห้งและแตก รวบรวมไข่แมลงด้วยวิธีเติมน้ำสะอาดในกระบอกพลาสติกเก็บไข่ แล้วเขย่าเบาๆ เพื่อให้ไข่ที่ติดอยู่ด้านข้างภายในกระบอกหลุด ใช้ผ้ามัสลินขนาด 150 เมช แยกไข่ออกจากน้ำส้ม รวบรวมไข่ทั้งหมดที่ได้ใส่ในน้ำกลั่นเก็บไว้ในถ้วยแก้ว (beaker) ขนาด 200 มิลลิเมตร หลังจากนั้นนำไข่ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารเทียมพร้อมทั้งตรวจหาอัตราการฟักไข่ด้วยวิธีสุ่มไข่จำนวน 100 ฟอง วางไข่ให้กระจายเป็นแถวยาวบนกระดาษกรองสีดำที่ชุ่มน้ำเก็บไว้ในจานแก้ว (petri-dish) ตรวจนับจำนวนไข่ที่ฟักเป็นตัวหนอน 2 วัน

การควบคุมคุณภาพแมลง : แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ซึ่งเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการจะต้องมีความแข็งแรง เพื่อที่ข้อมูลจากผลการศึกษาวิจัยจะได้ถูกต้องและเป็นที่ยอมรับ ดังนั้นจึงต้องมีการตรวจสอบคุณภาพของแมลงเป็นประจำ โดยในการเลี้ยงแมลงแต่ละรุ่นจะตรวจสอบอัตราการฟักไข่ (hatching rate) อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate) น้ำหนักของดักแด้ และอัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio)

2. วิธีเตรียมแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ระยะไข่สำหรับใช้ในการทดลอง

2.1 การเตรียมแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ระยะไข่

เก็บไข่จากแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ตัวเต็มวัยซึ่งเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการ โดยใช้กระบอกพลาสติกมีฝาปิด และด้านข้างเจาะรูเป็นอุปกรณ์รวบรวมไข่ กระบอกพลาสติกมีขนาด 7 x 17 เซนติเมตร ด้านข้างเจาะรูขนาด 0.4 มิลลิเมตร ประมาณ 80 - 100 รู เพื่อให้แมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยเพศเมียแทงอวัยวะวางไข่ผ่านรูจากด้านข้างเข้าไปภายในกระบอกพลาสติก ในการเก็บไข่แต่ละครั้งจะใส่น้ำส้มประมาณ 30 มิลลิเมตร ไว้ในกระบอกเก็บไข่ เพื่อกระตุ้นให้แมลงมาวางไข่ในขณะเดียวกันยังจะให้ความชื้นภายในกระบอกพลาสติกป้องกันไม่ให้ไข่ของแมลงแห้งและแตก รวบรวมไข่แมลงด้วยวิธีเติมน้ำสะอาดในกระบอกพลาสติกเก็บไข่ แล้ว

เขย่าเบา ๆ เพื่อให้ไข่ที่ติดอยู่ด้านข้างภายในกระบอกหลุด ใช้ผ้ามัสลินขนาด 150 เมซ แยกไข่ออกจากน้ำส้ม รวบรวมไข่ที่ได้ใส่ในน้ำกลั่นเก็บไว้ในถ้วยแก้ว (beaker) ขนาด 200 มิลลิเมตร แยกไข่ที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์ ซึ่งลอยอยู่เหนือน้ำทิ้งทั้งหมด ใช้หลอดดูดสารละลาย (dropper) ขนาด 1 มิลลิเมตร ดูดไข่ย้ายไปวางไว้บนกระดาษกรองสีดำที่ชุ่มน้ำ พยายามวางไข่ให้กระจายเป็นแถวยาวเพื่อสะดวกในการนับจำนวน ตรวจนับคุณภาพไข่แต่ละฟองภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อแยกไข่ที่ไม่สมบูรณ์หรือไข่ที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์ทิ้ง

2.2 การเตรียมลำไยให้มีแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ระยะไข่อยู่ภายในผล

เก็บไข่แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ตามวิธีที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น โดยวางกระบอกเก็บไข่ไว้ในกรงเลี้ยงแมลงนาน 30 นาที รวบรวมไข่ที่ได้ใส่ในน้ำกลั่นเก็บไว้ในถ้วยแก้ว (beaker) แยกไข่ที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์ซึ่งลอยอยู่เหนือน้ำทิ้งทั้งหมด ใช้หลอดดูดสารละลาย (dropper) ดูดไข่ไปวางไว้บนกระดาษกรองสีดำชุ่มน้ำ โดยการกระจายไข่ให้เป็นแถวยาวเพื่อสะดวกในการนับจำนวนไข่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ใช้พู่กันเขี่ยไข่ให้รวมกันเป็นกลุ่ม ๆ ละ 10 ฟอง การเตรียมลำไยให้มีแมลงวันผลไม้ระยะไข่ อยู่ภายในผล (artificial infestation method) ดำเนินการตามขั้นตอน และวิธีการปฏิบัติของสลักจิต และคณะ (2551) โดยใช้ที่เจาะรู (cock borer) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร สำหรับเจาะเอาเมล็ดออกจากผลลำไยโดยเจาะผลลำไยบริเวณด้านขั้วผล จากนั้นดึงเมล็ดซึ่งติดกับปลายที่เจาะรูออกมาจากผล นำลำไยวางคว่ำไว้บนถาดซึ่งรองด้วยกระดาษชำระ ซึ่งพร้อมที่จะใส่ไข่ในผลลำไย ใช้พู่กันย้ายไข่จำนวน 10 ฟอง/ผล วางลงบนเนื้อลำไยตรงบริเวณที่เจาะรูไว้ อุดรูด้วยสำลีเพื่อป้องกันไม่ให้ไข่เมื่อฟักออกมาเป็นตัวหนอนเล็ดลอดออกจากผลตรงบริเวณรอยต่อระหว่างสำลีกับเนื้อลำไยอุดช่องโดยใช้ปืนกาวยิงอุดรอบบริเวณดังกล่าวเก็บลำไยไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อเตรียมใช้ในการทดลอง

2.3 การเตรียมลำไยเพื่อใช้ในการทดลอง

ลำไยที่ใช้ในการทดลองได้แก่ ลำไยพันธุ์อีดอ ผลลำไยมีขนาดกลางน้ำหนัก 15 – 20 กรัม/ผล ล้างทำความสะอาดผลลำไยและนำไปเป่าให้แห้งโดยใช้เครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ “Sanshu” Shower Cooling System (Differential Pressure Type) รุ่น SHS-12, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan ตรวจสภาพความผิดปกติของผลลำไยซึ่งลำไยทุกผลจะต้องไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงหรือรอยแตก การเตรียมลำไยให้มีแมลงวันผลไม้ระยะไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) อยู่ภายในผลจะใช้วิธีใส่ไข่แมลงในผลลำไย โดยใช้ที่เจาะรู (cock borer) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร สำหรับเจาะเอาเมล็ดออกจากผลลำไยโดยเจาะผลลำไยบริเวณด้านขั้วผล จากนั้นดึงเมล็ดซึ่งติดกับปลายที่เจาะรูออกมาจากผล นำลำไยวางคว่ำไว้บนถาดซึ่งรองด้วยกระดาษชำระ ซึ่งพร้อมที่จะใส่ไข่ในผลลำไย ใช้พู่กันย้ายไข่จำนวน 10 ฟอง/ผล วางลงบนเนื้อลำไยตรงบริเวณที่เจาะรูไว้ อุดรูด้วยสำลีเพื่อป้องกันไม่ให้ไข่เมื่อฟักออกมาเป็นตัวหนอนเล็ดลอดออกจากผลตรงบริเวณรอยต่อระหว่างสำลีกับเนื้อลำไยอุดช่องโดยใช้ปืนกาวยิงอุดรอบบริเวณดังกล่าวเก็บลำไยที่อุณหภูมิห้องเตรียมใช้ในการทดลอง

3. การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลลำไย

การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลลำไย ศึกษา 2 การทดลอง แต่ละการทดลองมีขั้นตอน และวิธีการดำเนินการดังต่อไปนี้

ดำเนินการทดลองด้วยเครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็ก “Sanshu” Vapor Heat Treatment System (Differential Pressure Type) รุ่น EHK – 1000B และEHK – 1000D, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan (เครื่องตู้อบความร้อนรุ่น EHK – 1000D เป็นเครื่องที่ปรับปรุงใหม่จากรุ่นEHK – 1000B) จำนวน 2 เครื่อง ลำไยที่ใช้ในการทดลองมีผลขนาดกลางน้ำหนัก 15-20 กรัม/ผล การเตรียมลำไยให้มีแมลงวันผลไม้ระยะไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) อยู่ภายในผล โดยรวบรวมไข่จากกระบอกเก็บไข่ซึ่งได้จากการให้แมลงวันผลไม้วางไข่นาน 30 นาที รวบรวมไข่ที่ได้ใส่ในน้ำกลั่นเก็บไว้ในถ้วยแก้ว (beaker) แยกไข่ที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์ซึ่งลอยอยู่เหนือน้ำทิ้งทั้งหมด ใช้หลอดดูดสารละลาย (dropper) ดูดไข่ไปวางไว้บนกระดาษกรองสีดำชุ่มน้ำ โดยการกระจายไข่ให้เป็นแถวยาวเพื่อสะดวกในการนับจำนวนไข่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ใช้พู่กันเขี่ยไข่ให้รวมกันเป็นกลุ่มๆ ละ 10 ฟอง เจาะลำไยโดยใช้ที่เจาะรู (cock borer) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1เซนติเมตร สำหรับเจาะเอาเมล็ดออกจากผลลำไยโดยเจาะผลลำไยบริเวณด้านขั้วผล จากนั้นดึงเมล็ดซึ่งติดกับปลายที่เจาะรูออกมาจากผล นำลำไยวางคว่ำไว้บนถาดซึ่งรองด้วยกระดาษชำระ ซึ่งพร้อมที่จะใส่ไข่ในผลลำไย ใช้พู่กันย้ายไข่จำนวน 10 ฟอง/ผล วางลงบนเนื้อลำไยตรงบริเวณที่เจาะรูไว้ อุดรูด้วยสำลีเพื่อป้องกันไม่ให้ไข่เมื่อฟักออกมาเป็นตัวหนอนเล็ดลอดออกจากผลตรงบริเวณรอยต่อระหว่างสำลีกับเนื้อลำไยอุดช่องโดยใช้ปืนกาวยิงอุดรอบบริเวณดังกล่าว

นำลำไยทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อน วางเรียงลำไยในถาดผลไม้จำนวน 100 ผล/ถาด อบลำไยกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) เพื่อกำหนดกระบวนการอบไอน้ำที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในผลลำไยให้ตายทั้งหมด อบลำไยโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลลำไยภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้เป็นอากาศร้อนที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำให้อุณหภูมิภายในสุดผลของลำไยเพิ่มขึ้นจนถึง 46 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลที่ 46 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลานานแตกต่างกันดังนี้ การทดลองที่ 1 ใช้ระยะเวลานาน 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที แต่ละระยะเวลาที่กำหนดมีลำไยที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 500 ผล และมีลำไยที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อนจำนวน 200 ผล ทำการทดลอง 4 ครั้ง การทดลองที่ 2 ใช้ระยะเวลานาน 45, 50 และ 55 นาที แต่ละระยะเวลาที่กำหนดมีลำไยที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 300 ผล และมีลำไยที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อนจำนวน 200 ผล ทำการทดลอง 4 ครั้ง

ในการทดลองแต่ละครั้งใช้ลำไยที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) น้ำหนัก 17 ± 2 กรัม/ผล จำนวน 3 ผล วางไว้ในกระบะชั้นล่างสุด ซึ่งใช้เป็นตัวแทนแสดงอุณหภูมิของลำไยทั้งหมดภายในเครื่องตู้อบความร้อน เมื่อลำไยที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิจำนวน 2 ผล มีอุณหภูมิคงอยู่ที่ 46 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาตามที่กำหนด แสดงว่าขณะนั้นลำไยทดลองทั้งหมดในเครื่องตู้อบความร้อนมีอุณหภูมิอยู่ในระดับเดียวกันกับลำไยที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ นำลำไยทดลองในถาดผลไม้จำนวน 100 ผล ออกจากห้องบรรจุผลไม้ภายในเครื่องตู้อบความร้อน และลดอุณหภูมิลำไยโดยวิธีเป่าด้วยลมนาน 1 ชั่วโมง ในเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ แยกเก็บลำไยทดลองที่ไม่ผ่านความร้อนและผ่านความร้อนแต่ละระยะเวลาใส่ในกระป๋องพลาสติกทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6.5 x 4.5 เซนติเมตร กระป๋องละหนึ่งลูก และปิดฝาให้สนิท ฝาปิดทำช่องระบายอากาศเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร ปิดช่องระบายอากาศด้วยผ้ามัสลินขนาด 16

เมซ นำกระป๋องที่ใส่ลำไยจัดเรียงลงในกระบะพลาสติกขนาด 36 x 54 x 15 เซนติเมตร ใส่ลำไยจำนวน 50 ผล/กระบะ คลุมกระบะด้วยผ้ามัสลิน นำลำไยไปเก็บไว้ในห้องควบคมอุณหภูมิ โดยมีอุณหภูมิประมาณ 25-28 องศาเซลเซียส ตรวจนับจำนวนแมลงวันผลไม้ที่รอดชีวิตในลำไยแต่ละผลหลังจากผ่านความร้อนเป็นเวลานาน 7 วัน

4. การยืนยันประสิทธิภาพของวิธีอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลลำไย

การยืนยันประสิทธิภาพของวิธีอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลลำไย ศึกษา 2 การทดลอง แต่ละการทดลองมีขั้นตอน และวิธีการดำเนินการดังต่อไปนี้

ดำเนินการทดลองด้วยเครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ขนาดเล็ก “Sanshu” Vapor Heat Treatment System (Differential Pressure Type) รุ่น EHK – 1000B และEHK – 1000D, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan (เครื่องตู้อบความร้อนรุ่น EHK – 1000D เป็นเครื่องที่ปรับปรุงใหม่จากรุ่นEHK – 1000B) จำนวน 2 เครื่อง ทำการทดลองดังนี้

<u>การทดลองที่ 1 การประเมินประสิทธิภาพการกำจัดแมลง</u>

ลำไยที่ใช้ในการทดลองมีผลขนาดกลางน้ำหนัก 15-20 กรัม/ผล เตรียมลำไยให้มีแมลงวันผลไม้ระยะไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) อยู่ภายในผล 2 วิธี คือ วิธีใส่ไข่แมลงในผลลำไย (artificial infestation method) และวิธีให้แมลงวางไข่ในผลลำไย (forced infestation method) แต่ละวิธีมีรายละเอียดดังนี้

1. วิธีใส่ไข่แมลงในผลลำไย รวบรวมไข่จากกระบอกเก็บไข่ซึ่งได้จากการให้แมลงวันผลไม้วางไข่นาน 30 นาที รวบรวมไข่ที่ได้ใส่ในน้ำกลั่นเก็บไว้ในถ้วยแก้ว (beaker) แยกไข่ที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์ซึ่งลอยอยู่เหนือน้ำทิ้งทั้งหมด ใช้หลอดดูดสารละลาย (dropper) ดูดไข่ไปวางไว้บนกระดาษกรองสีดำชุ่มน้ำ โดยการกระจายไข่ให้เป็นแถวยาวเพื่อสะดวกในการนับจำนวนไข่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ใช้พู่กันเขี่ยไข่ให้รวมกันเป็นกลุ่ม ๆ ละ 10 ฟอง เจาะลำไยโดยใช้ที่เจาะรู (cock borer) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร เจาะเอาเมล็ดออกจากผลลำไยโดยเจาะผลลำไยบริเวณด้านขั้วผล จากนั้นดึงเมล็ดซึ่งติดกับปลายที่เจาะรูออกมาจากผล นำลำไยวางคว่ำไว้บนถาดซึ่งรองด้วยกระดาษชำระรอการใส่ไข่ในผลลำไย ใช้พู่กันย้ายไข่จำนวน 10 ฟอง/ผล วางลงบนเนื้อลำไยอุดรูด้วยสำลี และใช้ปืนกาวยิงอุดรอบอีกครั้งหนึ่ง ใช้ลำไยทดลองจำนวน 2,000 ผล แยกเป็นลำไยที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 1,200 ผล และลำไยที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อนจำนวน 800 ผล นำลำไยทั้งหมดเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิโดยมีอุณหภูมิประมาณ 25-28 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำลำไยไปใช้ในการทดลอง

2. วิธีให้แมลงวางไข่ในผลลำไย ใช้เข็มปักแมลงเจาะรูบนผลลำไย จำนวน 5 รู ให้ทะลุเปลือกไปถึงเนื้อ เพื่อบังคับให้แมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยเพศเมียแทงอวัยวะวางไข่เข้าไปวางไข่ในผลลำไยผ่านรูที่เจาะไว้ ใช้ลำไยทดลองจำนวน 1,000 ผล แยกเป็นลำไยที่ผ่านความร้อน (treatment) จำนวน 600 ผล และลำไยที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 400 ผล วางเรียงในตะแกรงลวดขนาด 22 x 30 เซนติเมตร ตะแกรงละ 100 ผล/กรง เพื่อความสะดวกในการไล่แมลงบนผลลำไยขณะนำลำไยออกจากกรงแมลงหลัง เสร็จจากการวางไข่ นำไปวางไว้ในกรงเลี้ยงแมลงขนาดเล็กที่มีแมลงวันผลไม้ตัวเต็ม ประมาณ

2,000 ตัว ใช้ระยะเวลาในการให้แมลงวางไข่นาน 30 นาที นำลำไยทั้งหมดเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ โดยมีอุณหภูมิประมาณ 25-28 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำลำไยไปใช้ในการทดลอง

อบลำไยในสภาพที่ห้องบรรจุผลไม้ของเครื่องตู้อบความร้อน มีปริมาณลำไยน้ำหนัก 100 กก/ลบ.ม. แบ่งลำไยที่มีแมลงวันผลไม้ระยะไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) อยู่ภายในผล ทั้ง 2 วิธี ออกเป็น 4 ส่วน เลือกลำไยทดลองที่ได้จากวิธีใส่ไข่แมลงในผลลำไย และวิธีให้แมลงวางไข่ในผลลำไย 1 ส่วน จำนวน 800 และ 400 ผล เก็บไว้สำหรับใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน ลำไยส่วนนี้จะใช้สำหรับการประมาณจำนวนแมลงทั้งหมดในลำไยที่ผ่านความร้อน (treatment) เนื่องจากว่าจำนวนแมลงที่มีชีวิตในลำไยที่ผ่านความร้อนนั้นไม่สามารถที่จะทำการตรวจสอบได้โดยตรง สำหรับลำไยอีก 3 ส่วน แบ่งจำนวนเท่าๆ กันใส่ในภาชนะบรรจุผลไม้แบบกระบะพลาสติกแข็งทนความร้อนขนาด 6 x 70 x 15 เซนติเมตร กระบะเดียวกัน จำนวน 3 กระบะ วางลำไยซ้อนกันสองชั้น/กระบะ ชั้นที่สองรองด้วยตะแกรงพลาสติกขนาด 30 x 50 เซนติเมตร ในแต่ละกระบะมีลำไยทดลองโดยวิธีใส่ไข่แมลงในผลลำไย จำนวน 400 ผล และวิธีให้แมลงวางไข่ในผลลำไย จำนวน 200ผล และใส่ลำไยที่ไม่ใช้ในการทดลอง (filler fruit) เฉลี่ยจำนวนเท่าๆ กันในกระบะบรรจุผลไม้อีก 9 กระบะ และนำไปวางซ้อนลงบนกระบะซึ่งบรรจุลำไยทดลอง ในสภาพที่ห้องบรรจุผลไม้ของเครื่องตู้อบความร้อนมีปริมาณลำไย 100 เปอร์เซ็นต์ ของความจุตู้ นำลำไยเข้าเครื่องตู้อบความร้อนเพื่อประเมินประสิทธิภาพของกระบวนการอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) จำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว เพื่อการยอมรับเป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช อบลำไยโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลลำไยภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้เป็นอากาศร้อนที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำให้อุณหภูมิภายในสุดผลของลำไยเพิ่มขึ้นจนถึง 46 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์

ในการทดลองแต่ละครั้งใช้ลำไยที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) น้ำหนัก 17 ± 2 กรัม/ผล จำนวน 3 ผล วางไว้ในกระบะชั้นล่างสุด ซึ่งใช้เป็นตัวแทนแสดงอุณหภูมิของลำไยทั้งหมดภายในเครื่องตู้อบความร้อน เมื่อลำไยที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิจำนวน 2 ผล มีอุณหภูมิคงอยู่ที่ 46 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที แสดงว่าขณะนั้นลำไยทดลองทั้งหมดในเครื่องตู้อบความร้อนมีอุณหภูมิอยู่ในระดับเดียวกันกับลำไยที่เป็นตัวกำหนดอุณหภูมิ เป็นการสิ้นสุดการให้ความร้อน เปิดประตูห้องบรรจุผลไม้ของเครื่องตู้อบความร้อนทันที และลดอุณหภูมิลำไยโดยวิธีเป่าด้วยลมนาน 1 ชั่วโมง เก็บลำไยทดลองที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อนใส่ในกระป๋องพลาสติกทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6.5 x 4.5 เซนติเมตร กระป๋องละหนึ่งลูก และปิดฝาให้สนิท ฝาปิดทำช่องระบายอากาศเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร ปิดช่องระบายอากาศด้วยผ้ามัสลินขนาด 16 เมช นำกระป๋องที่ใส่ลำไยจัดวางเรียงลงในกระบะพลาสติกขนาด 36 x 54 x 15 เซนติเมตร ใส่ลำไยจำนวน 50 ผล/กระบะ คลุมกระบะด้วยผ้ามัสลิน นำลำไยไปเก็บไว้ในห้องควบคมอุณหภูมิโดยมีอุณหภูมิประมาณ 25-28 องศาเซลเซียส ตรวจนับจำนวนแมลงที่รอดชีวิตในลำไยแต่ละผลหลังจากผ่านความร้อนเป็นเวลานาน 7 วัน ทำการทดลองอบลำไยตามรายละเอียดที่กล่าวมาแล้วจนกระทั่งมีแมลงในผลลำไย ผ่านความร้อนจำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว

<u>การทดลองที่ 2 การประเมินความเสียหายต่อคุณภาพผลลำไย</u>

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำต่อลำไยในสภาพจำลองการส่งออกลำไยทางเครื่องบิน และทางเรือ ตรวจสภาพความผิดปกติของผลลำไยซึ่งลำไยทุกผลจะต้องไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงหรือรอยแตก แยกเป็นลำไยที่ผ่านความร้อน (treatment) และลำไยที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ไม่ผ่านความร้อน นำลำไยทดลองเข้าเครื่องตู้อบความร้อนวางลำไยที่ผ่านความร้อนไว้ในกระบะที่ไม่ใช้ในการทดลอง (filler fruit) ชั้นบนสุดกระบะเดียวกัน อบลำไยโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลลำไยภายในเครื่องตู้อบความร้อนให้เป็นอากาศร้อนที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำให้อุณหภูมิภายในสุดผลของลำไยเพิ่มขึ้นจนถึง 46 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุดการให้ความร้อนลดอุณหภูมิลำไยโดยวิธีเป่าด้วยลมนาน 1 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับลำไยที่ไม่ผ่านความร้อน นำลำไยทดลองทั้งหมดที่ผ่านความร้อน และไม่ผ่านความร้อน บรรจุใส่ในกล่องกระดาษขนาด 36 x 50 x 11 เซนติเมตร ด้านยาวทั้งสองข้างเจาะรูกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร พร้อมทั้งปิดด้วยผ้าตาข่ายจำนวน 4 รู เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ และความชื้นที่ 10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 7 และ 14 วัน เพื่อจำลองสภาพการส่งออกลำไยทางเครื่องบิน และทางเรือ เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดนำลำไยทั้งหมดที่ผ่านความร้อน และไม่ผ่านความร้อนมาประเมินความเสียหายจากความร้อน โดยใช้หลักเกณฑ์พิจารณาและดำเนินการในหัวข้อต่างๆ ดังต่อไปนี้

1. การสูญเสียน้ำหนัก (weight loss) ศึกษาการสูญเสียน้ำหนักของลำไยโดยคำนวณเป็นร้อยละของน้ำหนักที่ศูนย์เสียไปด้วยวิธีการบันทึกน้ำหนักลำไยก่อนการทดลอง และในวันที่ตรวจผลการทดลองชั่งน้ำหนักผลลำไยอีกครั้งหนึ่ง

2. ปริมาณน้ำตาล (brix value) ในการทดลองแต่ละครั้งคั้นน้ำจากเนื้อลำไยที่ผ่านความร้อน และไม่ผ่านความร้อนจำนวน 10 ผล เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล ปริมาณน้ำตาลในรูปปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) มีหน่วยเป็นค่า องศาบริกซ์ การวัดปริมาณน้ำตาลจากเนื้อลำไยใช้เครื่อง digital refractometer (รุ่น DBX-30, Atago Co., Ltd., Tokyo, Japan)

การบันทึกข้อมูล นำข้อมูล การสูญเสียน้ำหนัก และปริมาณน้ำตาล วิเคราะห์ผลทางสถิติ การตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยใช้วิธีการตรวจสอบแบบ T-test

สถานที่ดำเนินการทดลอง

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและอภิปราย

1. **ผลแก้วมังกร**

การพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ Oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ด้วยวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ เพื่อใช้เป็นวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในก่อนส่งออกโดยไม่มีผลกระทบของความร้อนต่อคุณภาพของผลแก้วมังกร ซึ่งได้ทำการศึกษาอัตราการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลแก้วมังกรในสภาพห้องปฏิบัติการ หนอนแมลงวันผลไม้มีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด คือ 69 เปอร์เซ็นต์ และมีระยะการเจริญเติบโต คือ หนอนวัย 1 อายุ 1 - 2 วัน หนอนวัย 2 อายุ 2 - 3 วัน หนอนวัย 3 อายุ 3 - 7 วัน ตามลำดับ การเตรียมผลแก้วมังกรโดยวิธี forced infestation โดยบังคับให้แมลงวันผลไม้วางไข่เฉพาะบริเวณที่เจาะรูจำนวน 5 รู แมลงวันผลไม้สามารถรอดชีวิตและเจริญเติบโตในเนื้อแก้วมังกร จากการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลแก้วมังกร คือ 40 นาที จะได้หนอนแมลงวันผลไม้วัย 3 รอดชีวิตเฉลี่ยในผลแก้วมังกรสูงสุดประมาณ 116.9 ตัว จากการศึกษาวิธีการเตรียมแก้วมังกรโดยให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลโดยตรง (Forced infestation) ทำการเจาะรูจำนวน 5 รู วางไข่เป็นเวลา 20, 30 และ 40 นาที พบว่ามีหนอนแมลงวันผลไม้วัย 3 รอดชีวิตเฉลี่ยในผลแก้วมังกร เท่ากับ 98.7, 91.2, และ 116.9 ตัว ตามลำดับ การวางไข่ด้วยวิธี Forced infestation ระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลแก้วมังกร ควรจะอยู่ที่ 40 นาที และทำการศึกษาผลกระทบของกรรมวิธีลดความร้อน 2 วิธีการ คือวิธีการลดอุณหภูมิด้วยน้ำและวิธีการลดอุณหภูมิด้วยอากาศ ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่ากรรมวิธีลดอุณหภูมิด้วยน้ำมีแนวโน้มที่ทำให้แก้วมังกรสูญเสียน้ำหนักและเปลือกผล เกิดอาการเหี่ยวน้อยกว่ากรรมวิธีลดอุณหภูมิด้วยอากาศ ถึงแม้ว่าจำนวนผลที่เกิดแผลเน่ามีจำนวนมากกว่ากรรมวิธีลดอุณหภูมิด้วยอากาศ แต่ไม่ได้แตกต่างจากวิธีเปรียบเทียบ ดังนั้นวิธีการลดอุณหภูมิด้วยน้ำทำให้ผลแก้วมังกรมีคุณภาพดีกว่าวิธีการลดอุณหภูมิด้วยอากาศ จากผลงานวิจัยนี้มีความเป็นไปได้สูงที่จะเสนอให้มีการประเมินประสิทธิภาพของวิธีอบ ไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ จำนวนมากกว่า 30,000 ตัว ต่อไป

2. ผลมะนาว

การวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ oriental fruit fly, *Bactrocera dosalis* (Hendel) ใน**ผลมะนาว** *Citrus aurantifolia* Swing.จำเป็นต้องศึกษาความทนทานต่อความร้อนของระยะไข่และหนอนวัยต่าง ๆ ขณะที่มีแมลงอยู่ในผลมะนาว ดังนั้นจึงได้ศึกษาความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันผลไม้ oriental fruit fly ในระยะต่างๆ ภายในผลมะนาว ด้วยวิธีการอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT) เพื่อกำหนดระยะการเจริญเติบโตที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุด ในการทดลองที่ 1 อบมะนาวกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะไข่ หนอนวัยที่ 1, 2 และ 3 ด้วยการแยกอบแมลงแต่ละระยะการเจริญโตในเครื่องตู้อบความร้อนโดยการเพิ่มอุณหภูมิผลขึ้นถึง 46 องศาเซลเซียส อบมะนาวด้วยอากาศร้อนอากาศร้อนที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ความชื้นสัมพัทธ์ 95 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบอัตราการตายของแมลงเมื่ออุณหภูมิภายในสุดผลคงอยู่ที่ 46 องศาเซลเซียส นาน 0, 10, 20, 30 40 50 และ 60 นาที สำหรับในการทดลองที่ 2 อบมะนาวกำจัดแมลงระยะไข่และหนอนวัยที่ 1 ในเครื่องตู้อบความร้อนตู้เดียวกัน โดยให้ความร้อนเหมือนกับในการทดลองที่ 1 ผลการทดลองเปรียบเทียบอัตราการตายของแมลง ในการทดลองที่ 1 พบว่าที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที พบอัตราการตายหนอนวัยที่ 2, 3,1 และระยะ ไข่ เท่ากับ 100, 99.97, 99.95

และ 89.45 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อให้ความร้อนใช้เวลาในการนาน 30 นาที พบว่าหนอนวัยที่ 1และ3 มีอัตราการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ แต่สำหรับไข่พบอัตราการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้เวลานาน 40 นาที ในการทดลองที่ 2 อบมะนาวกำจัดแมลงระยะไข่กับหนอนวัยที่ 1 ผลการทดลอง ที่อุณหภูมิดังกล่าว และระยะเวลานาน 30 นาที พบว่าอัตราการตายของไข่และหนอนวัยที่ 1 เท่ากับ 98.63 และ 99.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าระยะไข่ มีความทนทานต่อความร้อนมากที่สุด ดังนั้นในการวิจัยพัฒนาวิธีการอบไอน้ำ เพื่อทดสอบประเมินระยะการเจริญเติบโตของแมลงวันผลไม้ที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุดในระยะไข่เพื่อใช้เป็นตัวแทนในขบวนการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (plant quarantine treatment) สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะนาวต่อไป

3. **ผลมะละกอ**

วิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ Oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ด้วยวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ เพื่อใช้เป็นวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ใน**ผลมะละกอ**ก่อนส่งออก โดยไม่มีผลกระทบของความร้อนต่อคุณภาพของผลมะละกอ การศึกษาอิทธิพลของความชื้นสัมพัทธ์ต่ออัตราการตายของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลมะละกอ โดยอบมะละกอกำจัดหนอนวัย 1 ด้วยวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ เปรียบเทียบความชื้นสัมพัทธ์ ที่ 50 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงก่อนอุณหภูมิผลถึง 43 $^{\circ}$ซ. ภายหลังอุณหภูมิผลถึง 43 $^{\circ}$ซ. ความชื้นสัมพัทธ์จะถูกปรับให้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบอัตราการตายของแมลงทั้ง 2 กรรมวิธี เมื่ออบมะละกอให้อุณหภูมิผลอยู่ที่ 45, 46.5 และ 47 $^{\circ}$ซ. พบว่าความชื้นสัมพัทธ์ที่ 80 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 47 $^{\circ}$ซ. มีประสิทธิภาพกำจัดหนอนวัย 1 ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (การทดลองจำนวน 3 ซ้ำ) การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีอบไอน้ำปรับความชื้นสัมพัทธ์ เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* หนอนวัย 1 ในผลมะละกอ หลักการให้ความร้อน ในช่วงก่อนอุณหภูมิผลถึง 43 $^{\circ}$ซ. อากาศร้อนจะมีความชื้นสัมพัทธ์ 50-80 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังอุณหภูมิผลถึง 43 $^{\circ}$ซ. ความชื้นสัมพัทธ์จะมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ แบ่งเป็น 2 การทดลองดังนี้ (1) ศึกษาอัตราการตายของแมลงที่อุณหภูมิ 46.5 และ 47 $^{\circ}$ซ. นาน 0, 10 และ 20 นาที โดยตรวจนับจำนวนแมลงรอดชีวิต พบว่าอุณหภูมิ 47 $^{\circ}$ซ. นาน 10 นาที มีประสิทธิภาพกำจัดหนอนวัย 1 ได้ดีที่สุด ไม่พบแมลงรอดชีวิต (การทดลองจำนวน 3 ซ้ำ) (2) ศึกษาอัตราการตายของแมลงที่อุณหภูมิ 47 $^{\circ}$ซ. นาน 0, 10 และ 20 นาที พบว่าอุณหภูมิ 47 $^{\circ}$ซ. นาน 10 นาที มีประสิทธิภาพสูงสุด ไม่พบแมลงรอดชีวิต (การทดลองจำนวน 4 ซ้ำ) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า อุณหภูมิ 47 $^{\circ}$ซ. นาน 10 นาที มีประสิทธิภาพกำจัดหนอนวัย 1 จำนวนมากกว่า 3,000 ตัว ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ จากผลงานวิจัยนี้มีความเป็นไปได้สูงที่จะเสนอให้มีการประเมินประสิทธิภาพของวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ในการกำจัดแมลงวันผลไม้จำนวนมากกว่า 30,000 ตัว ต่อไป

4. ผลลำไย

การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลลำไย ศึกษา 2 การทดลอง อบลำไยกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) เพื่อกำหนดกระบวนการอบไอน้ำที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ไม่น้อยกว่า 3,000 ตัว ในผลลำไยให้ตายทั้งหมด พบว่า การทดลองที่ 1 ลำไยที่ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 800 ผล มีแมลงวันผลไม้รอดชีวิต จำนวน 3,029 ตัว แสดงว่าในลำไย

จำนวน 2,000 ผล ซึ่งผ่านความร้อนแต่ละระยะเวลาที่กำหนดมีแมลงวันผลไม้ระยะไข่รอดชีวิต จำนวน 610 ตัว ที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที มีอัตราการตายของระยะไข่เฉลี่ย 92.93, 99.51, 99.94, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การทดลองที่ 2 ลำไยที่ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 800 ผล มีแมลงวันผลไม้รอดชีวิต จำนวน 2,378 ตัว ซึ่งในลำไยที่ผ่านความร้อนแต่ละระยะเวลาที่กำหนด จำนวน 1,200 ผล พบว่า ระยะไข่ตายทั้งหมด โดยอัตราการตายของระยะไข่ในลำไยที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 45, 50 และ 55 นาที มีอัตราการตายของระยะไข่เฉลี่ย 100, 100 และ100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากการทดลองแสดงว่าที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที สามารถกำจัดระยะไข่ในผลลำไยจำนวนไม่น้อยกว่าประมาณ 3,500 ตัว ตายทั้งหมด กระบวนการกำจัดแมลงดังกล่าวนี้มีความเป็นไปได้สูงที่จะได้รับการยอมรับ เพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชสำหรับกำจัดระยะไข่ และหนอนวัยต่างๆ ของแมลงวันผลไม้ในลำไยก่อนการส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ

การยืนยันประสิทธิภาพของวิธีอบไอน้ำในการกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในผลลำไย ศึกษา 2 การทดลอง

<u>การทดลองที่ 1 การประเมินประสิทธิภาพการกำจัดแมลง</u>

การประเมินประสิทธิภาพของกระบวนการอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ระยะไข่ (อายุ 24 ชั่วโมง) จำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว เพื่อการยอมรับเป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช โดยวิธีใส่ไข่แมลงในผลลำไย และวิธีให้แมลงวางไข่ในผลลำไย จากการทดลอง พบว่า ลำไยที่ไม่ผ่านความร้อน จำนวน 8,000 และ 4,000 ผล มีแมลงรอดชีวิต จำนวน 14,806 และ 235 ตัว ลำไยที่ผ่านความร้อน จำนวน 12,000 และ 6,000 ผล ไม่พบแมลงรอดชีวิต โดยสามารถกำจัดระยะไข่ของแมลงวันผลไม้ได้ประมาณ 22,566 ตัว ในลำไยตายทั้งหมด

กระบวนการอบลำไยดังกล่าวนี้มีประสิทธิภาพสูงถึงระดับมาตรฐานที่ยอมรับเป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช เพื่อใช้กำจัดแมลงวันผลไม้ระยะไข่ และหนอนวัยต่างๆ ในลำไยก่อนการส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ

<u>การทดลองที่ 2 การประเมินความเสียหายต่อคุณภาพผลลำไย</u>

การประเมินความเสียหายของกระบวนการอบไอน้ำต่อลำไยในสภาพจำลองการส่งออกลำไยทางเครื่องบิน และทางเรือ อบลำไยที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการสูญเสียน้ำหนัก และปริมาณน้ำตาลของลำไยที่ผ่านความร้อน และไม่ผ่านความร้อน เมื่อเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นที่ 10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 7 และ 14 วัน พบว่า การสูญเสียน้ำหนัก และปริมาณน้ำตาลของลำไย ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยคุณภาพของลำไยไม่เปลี่ยนแปลง แต่สีผิวเปลือกของผลลำไยจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ผลแห้ง และแข็ง

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

1. ได้ข้อมูลพื้นฐานและลักษณะประจำพันธุ์ของ แก้วมังกร, มะนาว, มะละกอ และ ลำไยเพื่อใช้ในงานทดลอง

2. ได้ไข่และหนอนของแมลงวันทอง *B. dorsalis* ที่ได้จากการสำรวจในสภาพธรรมชาติ เก็บรวบรวมและจำแนกชนิดของแมลงวันทองมาเลี้ยงให้องปฏิบัติการให้มีความแข็งแรงเพื่อใช้ในงานทดลอง

3. ได้ข้อมูลสถานภาพการเป็นพืชอาศัยของแมลงวันทองในแก้วมังกร, มะนาว, มะละกอ และ ลำไยในสภาพธรรมชาติ และห้องปฏิบัติการ

4. ได้รูปแบบของวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) และวิธีการอบไอน้ำ (VHT) ที่เหมาะสมกับแก้วมังกร, มะนาว, มะละกอ และ ลำไย

5. ได้ทราบลักษณะความเสียหายของผลแก้วมังกร, มะนาว, มะละกอ และ ลำไย ที่เกิดจากความร้อนหลังการอบไอน้ำด้วยวิธีการอบไอน้ำ (VHT) และวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT)

6. ได้ทราบประสิทธิภาพเบื้องต้นของวิธีการอบไอน้ำในการป้องกันกำจัดแมลงวันทอง *B. dorsalis* ในแก้วมังกร, มะนาว, มะละกอ และ ลำไย

7. ได้ทราบลักษณะความเสียหายของลำไยจากความร้อนหลังอบไอน้ำในสภาพจำลองการส่งออกทางเครื่องบิน และทางเรือ โดยการอบลำไยที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ และความชื้น ที่ 10 องศาเซลเซียส นาน 7 และ 14 วัน พบว่า การสูญเสียน้ำหนัก และปริมาณน้ำตาลไม่เปลี่ยนแปลง แต่สีผิวเปลือกของผลลำไยจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ผลแห้ง และแข็ง

8. ได้พัฒนาวิธีการอบไอน้ำที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันทอง *B. dorsalis* ในผลแก้วมังกร, มะนาว, มะละกอ และ ลำไย โดยไม่มีผลต่อคุณภาพของผลไม้ทั้ง 3 ชนิด ซึ่งได้มาตรฐานตามวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช

9. ได้ทราบประสิทธิภาพเบื้องต้นของวิธีการอบไอน้ำในการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลแก้วมังกร, มะนาว, มะละกอ และ ลำไย ในระดับ Small Scale

10. ได้ข้อมูลเพื่อเขียนรายงานเสนอต่อประเทศผู้นำเข้า

จากงานวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีใหม่ที่สามารถกำจัดศัตรูพืชสำคัญทางด้านกักกันพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพสามารถส่งสินค้าเกษตรโดยเฉพาะไม้ผล เช่น แก้วมังกร มะละกอ มะนาว และลำไย ไปจำหน่ายยังประเทศที่เข้มงวดด้านกักกันพืชและกำหนดให้ประเทศผู้ส่งออกต้องกำจัดศัตรูพืชตามวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Quarantine treatment) และได้ข้อมูลสถานภาพการเป็นพืชอาศัยของแมลง ทำให้สินค้าเกษตรของประเทศไทยมีคุณภาพดี ถูกสุขอนามัยพืช ก่อให้เกิดมูลค่าเพิ่ม และสามารถส่งไปแข่งขันกับนานาประเทศในตลาดโลกได้

เอกสารอ้างอิง

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2550. โรงงานอบไอน้ำเพื่อการส่งออก. คู่มืออารักขาพืช 13(1) :2 หน้า.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2552. การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชด้วยวิธีการอบไอน้ำมะม่วงและมังคุดส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น (ตอนที่1). เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชบนผักผลไม้ที่นำเข้าและส่งออก. 24-26 มิถุนายน 2552. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 43 หน้า.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2552. การอบไอน้ำมะม่วงและมังคุดสดจากประเทศไทยเพื่อการส่งออกไปญี่ปุ่น (ตอนที่ 2). เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชบนผัก ผลไม้ที่นำเข้าและส่งออก. 24-26 มิถุนายน 2552. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 66 หน้า.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2555. วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อนในผลมะละกอเพื่อการส่งออก. เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาศัตรูพืชหมดปัญหาเมื่ออารักขาถูกวิธี. 7-9 สิงหาคม 2555. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 100 หน้า.

อุดร อุณหวุฒิ สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชุติมา อ้อมกิ่ง จารุวรรณ จันทรา และรัชฎา อินทรกำแหง. 2549. การวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในส้มโอเพื่อส่งออก. ผลงานวิจัยเพื่อพัฒนาเป็นผลงานวิจัยดีเด่น ประจำปี 2549 กรมวิชาการเกษตร: กรุงเทพฯ. หน้า 125-143.

Srimartpirom, M. 2010. The final report of thermal treatment for the disinfestations of fruit flies from Thailand. p 95. *In*: Report of the thermal treatment for the disinfestations of fruit flies. Naha Plant Protection Station, Ministry of Agriculture Forestry and Fisheries, Okinawa International Centre. Japan International Cooperation Agency, Japan. 100 p.

Unahawutti, U., C. Chettanachitara, M. Poonthong, P. Konson, E. Smitasiri, C. Lapasathukool, W. Worawisitthumrong and R. Intarakumheng. 1986. Vapor heat treatment for 'Nang Klarngwun' mango, *Mangifera indica* Linn., infested with eggs and larvae of the oriental fruit fly, *Dacus dorsalis* Hendel and the melon fly, *D. cucurbitae* Coquillett (Diptera : Tephritidae). Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture, Bangkok. 108 p.

Unahawutti, U., M. Poonthong, R. Intarakumheng, W. Worawisitthumrong, C. Lapasathukool, E. Smitasiri, P. Srisoon and C. Ratanawaraha. 1991. Vapor heat as plant quarantine treatment of 'Nang Klarngwan', 'Nam Dorkmai', 'Rad' and 'Pimsen Daeng' mangoes infested with fruit flies (Diptera : Tephritidae). Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture, Bangkok. 342 p.

กิจกรรมที่ 6 การเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน

พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล มานิตา คงชื่นสิน ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา
บุษบง มนัสมั่นคง ชมัยพร บัวมาศ วนาพร วงษ์นิคง พลอยชมพู กรวิภาสเรือง พวงผกา อ่างมณี
สุนัดดา เชาวลิต พฤทธิชาติ ปุญวัฒโท เกรียงไกร จำเริญมา วิมลวรรณ โชติวงศ์ สัญญาณี ศรีคชา
ศรุต สุทธิอารมณ์ สุธามาส ณ น่าน เจริญ ท่าระเบียบ จารุฉัตร เขนยทิพย์ วนาพร วงษ์นิคง
ชลิดา อุณหวุฒิ พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ชนินทร ดวงสอาด อภิรัชต์ สมฤทธิ์
ทิพวรรณ กันหาญาติ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ ดารุณี ปุญญพิทิทักษ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
รุ่งนภา ทองเครั่ง สิทธิศักดิ์ แสไพศาล วงศ์ บุญสืบสกุล ปรียพรรณ พงศาพิชณ์
จุฑาเทพ วัชรไชยคุปต์ วิชัย โฆสิตรัตน ศรีวิเศษ เกษสังข์ ณัฏฐพร อุทัยมงคล
ชลธิชา รักใคร่ วิวัฒน์ ภานุอาไพ วันเพ็ญ ศรีชาติ วานิช คำพานิช วาสนา ฤทธิ์ไธสง
โสภา มีอำนาจ ทิพวรรณ กันหาญาติ วิมลวรรณ โชติวงศ์ อัจฉราภรณ์ ประเสริฐผล

คำสำคัญ (keywords) สถานภาพการเป็นพืชอาศัย การเฝ้าระวัง การแพร่กระจาย ศัตรูพืชกักกัน ไรแดง หนอนเจาะผล เพลี้ยแป้ง ลิ้นจี่ เพลี้ยไก่แจ้ ส้ม ราเขม่าดำ โรคราน้ำค้าง โรคราสนิม ข้าวโพด มันฝรั่ง หัวหอม กระเทียม ตระกูลแตง PVA, PVM, PVT, PVX, PVS, PLRV, *Urocystis cepulae, Physopella zeae*, *Peronosclerospora philippinensis*, *P. Spontanea*, *P. sacchari*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Pantoea agglomerans*, Potato virus A, Potato virus M, Potato virus T, Potato virus X, Potato virus S, Potato leaf roll virus, *Amphitetranychus viemmensis*, *Planococcus lichi*, *Cryptophlebia ombrodelta*, *Trioza erytreae*, *Tyrophagus similis* Volgnin, *Sancassania mycophagus, P. zeae*, *P. sorghi*, *S. graminicola*, *Clavicep*, *P. syringae* pv. *lachrymans*

บทคัดย่อ

จากการสำรวจเชื้อโรคและศัตรูพืชที่ประเทศไทยประกาศเป็นศัตรูพืชกักกัน ไม่พบว่ามีเชื้อโรคและศัตรูพืชปรากฏการแพร่กระจายในพื้นที่เพาะปลูกของพืชอาศัยต่างๆ ในประเทศไทย ได้แก่ ไรแดง *Amphitetranychus viemmensis* (Zacher) ศัตรูพืชกักกันของแอปเปิ้ล, เพลี้ยแป้ง *Cataenococcus hispidus* Green และ *Planococcus lichi* Cox ในลิ้นจี่, หนอนเจาะผล *Cryptophlebia ombrodelta* ในลิ้นจี่, เพลี้ยไก่แจ้ (Trioza erytreae (Del Guercio) ในแหล่งปลูกส้มจังหวัดเชียงใหม่, ราเขม่าดำ *Urocystis cepulae* ในพื้นที่ปลูกหอมแดงและกระเทียม, ราสนิมข้าวโพด *Puccinia polysora* และ P. *sorghi*, ราน้ำค้างข้าวโพด: *Peronosclerospora philippinensis*, แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ในพื้นที่ปลูกหอมแดงและกระเทียม, *Pantoea agglomerans* ในพื้นที่ผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด, โรค

ไวรัสของมันฝรั่งที่เกิดจากไวรัส PVA, PVM, PVT, PVX, PVS และ PLRV, แบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis. ในพื้นที่ผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ, ไร *Tyrophagus similis* Volgnin และ *Sancassania mycophagus* (Megnin) ของหอมแดง หอมหัวใหญ่ และ กระเทียม, ราสนิม (Tropical Corn Rust) : *Physopella zeae* (Mains) Cummins & Ramachar และ (Common Corn Rust) : *Puccinia sorghi* Schwein. ในข้าวโพด, ราน้ำค้าง (Graminicola Downy Mildew) : *Sclerospora graminicola* (Sacc.) J. Schröt. และ (Philippine Downy Mildew) : *Peronosclerospora philippinensis* (W. Weston) C.G. Shaw ในข้าวโพด, รา *Clavicep* ในประเทศไทย , แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* ในพืชตระกูลแตง, แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ในพื้นที่ปลูกข้าวโพด

บทนำ

เนื่องจากในปัจจุบันการส่งออกและนำเข้าสินค้าเกษตรจะต้องมีความตกลงทั่วไปว่าด้วยภาษีศุลกากรและการค้า (General Agreement on Tariff and Trade: GATT) ซึ่งต่อมาได้เปลี่ยนเป็นองค์การการค้าโลก (World Trade Organization: WTO) ได้กำหนดกฎเกณฑ์และระเบียบเพื่อให้เกิดการค้าเสรีและเป็นธรรม โดยทุกประเทศสมาชิกของ WTO จะต้องปรับลดอัตราอากรขาเข้าลงมาเป็นอันดับแรกสุดของการเปิดการค้าเสรี ในปัจจุบันมาตรการกีดกันด้านภาษีศุลกากรมีแนวโน้มที่จะลดลงเนื่องจากการเปิดเสรีทางการค้าภายใต้เขตการค้าเสรีต่างๆ มีเพิ่มขึ้น แต่ในขณะเดียวกันมาตรการกีดกันทางการค้าที่มิใช่ภาษีศุลกากร (non tariff barrier, NTB) จะเริ่มมีบทบาทและมีรูปแบบใหม่ๆ เพิ่มขึ้น ซึ่ง มาตรการที่สำคัญในด้านการเกษตรได้แก่ มาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Sanitary and Phytosanitary Measures : SPS) มาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช มีวัตถุประสงค์เพื่อปกป้องชีวิต และสุขภาพมนุษย์ สัตว์ และพืช เพื่อสร้างความมั่นใจต่อความปลอดภัยด้านอาหาร แต่ต้องไม่ใช้สิทธินั้นในทางที่เป็นการสร้างข้อจำกัดทางการค้า หรือเลือกปฏิบัติระหว่างประเทศสมาชิกตามอำเภอใจ ซึ่งการนำมาตรการ SPS มาใช้ควรสอดคล้องกับมาตรฐานตามที่องค์กรมาตรฐานระหว่างประเทศกำหนดขึ้น และต้องมีเหตุผล และหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่เพียงพอมีการประเมินความเสี่ยง (Risk Assessment) ที่เชื่อถือได้ ซึ่งประเทศคู่ค้ามักนำมาตรการ SPS มาใช้เป็นเครื่องมือในการกีดกันทางการค้ากับสินค้าอาหารประเภทปศุสัตว์ ประมง และพืชผักผลไม้ โดยอ้างการตรวจพบเชื้อโรค โรคแมลง และอื่นๆ ซึ่งส่งผลกระทบต่อภาพลักษณ์ทางการค้าของประเทศ และเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต

ประเทศเกือบทุกประเทศที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ได้นำมาตรการสุขอนามัยพืชมาใช้เป็นข้อต่อรองในการส่งออกและนำเข้า โดยที่ประเทศผู้ส่งออกต้องส่งบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของพืชส่งออกใและข้อมูลของศัตรูพืชแต่ละชนิดตามความต้องการของประเทศผู้นำเข้า เพื่อทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ก่อนที่จะอนุญาตให้สินค้าเกษตรนั้นๆเข้าประเทศ ขณะเดียวกันประเทศผู้นำเข้าจำเป็นต้องมีข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูของพืชที่นำเข้าด้วย การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูโดยการศึกษาและการสำรวจแบบติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง (Surveillance) เป็นกระบวนการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งในพื้นที่ ซึ่งการรวบรวมข้อมูลนั้นสามารถทำได้ 2 แบบ ได้แก่การเฝ้าระวังโดยทั่วไป (general surveillance) โดยการค้นคว้าข้อมูลจากแหล่งข้อมูล ได้แก่ ข้อมูลข่าวสารศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศ เช่น

จาก หน่วยงานภาครัฐ มหาวิทยาลัย ภาคเอกชน ตลอดจนข่าวสารจากแหล่งข้อมูลขององค์กรระหว่างประเทศ เช่น องค์การอาหารและเกษตรแห่งชาติ (Food and Agriculture Organization, FAO) องค์การอารักขาพืชระดับภูมิภาค (Regional Plant Protection Organzation, RPPOs) และอื่น ๆ การเฝ้าระวังโดยการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific surveys) สามารถดำเนินการโดยการสำรวจแบบตรวจหา (detection surveys) และการสำรวจแบบมีขอบเขต (delimiting surveys) (McMaugh, 2005) ประโยชน์ของการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงทั้ง 2 วิธีนี้ นอกจากจะสามารถบอกถึงสถานการณ์ของศัตรูพืชในพื้นที่แล้วยังสามารถใช้ข้อมูลที่ได้เป็นการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชในกรณีที่ไม่พบศัตรูพืชในพื้นที่นั้น ๆ เมื่อมีการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชแล้ว การที่จะคงสภาพพื้นที่ปลอดศัตรูพืชจะต้องมีการสำรวจแบบตรวจหาอย่างเป็นระบบ ข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการสำรวจติดตามศัตรูพืชเพื่อการเฝ้าระวังนี้จะส่งให้องค์การอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization, NPPO) นำไปใช้ประโยชน์ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการเฝ้าระวังนี้สามารถนำไปใช้ในด้านต่าง ๆ เช่น ใช้ในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช ตลอดจนที่ดำเนินการโดย NPPO เป็นกระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น การสำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชเป็นงานพื้นฐานที่มีความจำเป็นสำหรับใช้ในการดำเนินการด้านอื่นๆ อีก เช่น Pest Risk Analysis, Establishment for pest free area, Pest list, Pest report เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance)

ระเบียบวิธีการวิจัย

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

- คู่มือการตรวจสอบเชื้อของ *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ของ EPPO (European and Mediterrranean Plant Protection Organization,PM7/42) และ ISTA (International Seed Association)
- เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากต่างประเทศ
- ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*
- อุปกรณ์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ เช่น เครื่องแก้ว ตู้ถ่ายเชื้อ หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นต้น
- พู่กัน, เข็มเขี่ย, ถุงกระดาษเก็บตัวอย่าง
- กล้อง stereomicroscope, hand lens
- เครื่องหาพิกัด (GPS)
- อุปกรณ์บันทึกข้อมูล

การสำรวจเชื้อโรคศัตรูพืชกักกัน

1 สืบค้นข้อมูล

สืบค้นข้อมูลที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ข้อมูลพืช เช่น แหล่งปลูกพืชอาศัย ขนาดพื้นที่ปลูก ประวัติการเกิดโรคในแต่ละพื้นที่ ข้อมูลเชื้อสาเหตุโรค เช่น รูปร่างลักษณะของเชื้อ และลักษณะอาการโรค และข้อมูลเชื้อโรคชนิดอื่นของพืชอาศัยนั้นๆ

2 จัดทำคู่มือการสำรวจ

จัดทำคู่มือการสำรวจ เพื่อใช้ในการตรวจสอบอ้างอิงขณะทำการสำรวจ โดยการรวบรวมตัวอย่างอ้างอิงและรูปภาพของอาการที่เกิดจากเชื้อโรค และจัดทำข้อมูลของเชื้อโรค ได้แก่ ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพืชอาศัย อาการของโรค รูปภาพสีของโรค และแหล่งอาศัยของเชื้อโรค รวมทั้งข้อมูลเชื้อโรคชนิดอื่นของพืชอาศัย

3 จัดทำแบบฟอร์มบันทึกข้อมูลในการสำรวจ

จัดทำแบบฟอร์มบันทึกรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ ได้แก่ วันที่ สถานที่ ตำแหน่งที่ตั้ง (พิกัด GPS) พันธุ์พืช ระยะการเจริญของพืช ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย ลักษณะอาการโรค เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ระดับความรุนแรงของโรค การแพร่กระจายในไร่ สภาพภูมิประเทศ ภูมิอากาศ เป็นต้น

4 สำรวจการเกิดโรคในพืชอาศัยชนิดต่างๆ

สำรวจการเกิดโรค โดยกำหนดพื้นที่แหล่งปลูกพืชอาศัยในเขตภาคต่างๆ ในประเทศไทย วางแผนการสำรวจอย่างน้อย 10 แปลง ต่อพื้นที่ แต่ละแปลงทำการสุ่มตัวอย่างแบบเป็นระบบโดยเดินตามเส้นทแยงมุม ทุกๆ 10 ก้าว ตรวจโรคจุดละ 10 ต้น จำนวน 10 จุดต่อแปลง หรือ 10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่แปลง

- ตรวจโรคในแปลง โดยดูลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูล ตามแบบฟอร์ม ได้แก่ วันที่ สถานที่ ตำแหน่งที่ตั้ง (พิกัด GPS) พันธุ์พืช ระยะการเจริญของพืช ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย ลักษณะอาการโรค เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ระดับความรุนแรงของโรค การแพร่กระจายในไร่ สภาพภูมิประเทศ ภูมิอากาศ เป็นต้น และถ่ายรูปลักษณะอาการโรค

- เก็บตัวอย่างโรค โดยเลือกเก็บส่วนของพืชที่แสดงอาการโรค ห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ใส่ในถุงพลาสติก พร้อมแนบกระดาษบันทึกรายละเอียด ชื่อพืช สถานที่เก็บ วันที่เก็บ และลักษณะอาการของโรค บรรจุห่อตัวอย่างโรคพืชลงในกล่องเก็บความเย็น เพื่อนำมาจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ

5 จำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ

โดยตรวจลักษณะของเชื้อราสาเหตุโรคพืชกับพืชอาศัยภายใต้กล้องจุลทรรศน์

- ตัดขวาง (cross section) เนื้อเยื่อพืช โดยนำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาตรวจดูลักษณะอาการและโครงสร้างของเชื้อโรคภายใต้กล้อง stereo microscope จากนั้นนำส่วนที่แสดงลักษณะอาการที่มีเชื้อเจริญอยู่ มาตัดขวางเนื้อเยื่อ เมื่อได้ชิ้นส่วนที่แสดงลักษณะโครงสร้างของเชื้อโรคชัดเจน จึงหยด shear's solution ปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ (cover slip) นำไปตรวจดูภายใต้กล้อง compound microscope เพื่อศึกษาลักษณะโครงสร้างของเชื้อโรค

- ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของสปอร์ โดยเขี่ยสปอร์จากตัวอย่างพืชที่เป็นโรค ลงบนแผ่นกระจกสไลด์ แล้วหยด shear's solution ปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ ตรวจดูลักษณะทางสัณฐานของสปอร์ ใต้กล้อง compound microscope สุ่มวัดขนาดสปอร์ จำนวน 50 สปอร์ และโครงสร้างอื่นๆที่สำคัญ โดยใช้

calibrated micrometer บันทึกขนาด รูปร่าง ลักษณะผนังของสปอร์ และสี แล้วบันทึกภาพ จากนั้นหาค่าเฉลี่ยของขนาดสปอร์ และโครงสร้างของเชื้อโรคที่วัดขนาดไว้

- ศึกษารายละเอียดของเชื้อสาเหตุโรค เช่น เชื้อราสนิม ควรศึกษาผนังสปอร์ โดยเคาะผงสปอร์จากตัวอย่างพืชที่เป็นโรคราสนิมลงบนแท่งทองเหลือง (stub หรือ specimen holder) ที่มีเทปกาวสองหน้าติดอยู่ นำไปตรวจดูพื้นผิว และบันทึกภาพสปอร์ด้วยกล้อง Scanning Electron Microscope

- จำแนกชนิดเชื้อสาเหตุโรค โดยเปรียบเทียบลักษณะของเชื้อสาเหตุโรคที่ศึกษากับคู่มือการจัดจำแนก

การจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียจากพืชอาศัย เช่น การแยกเชื้อบนอาหารที่เฉพาะเจาะจงกับเชื้อ เช่น อาหาร King medium B คัดเฉพาะโคโลนีที่สร้าง fluorescent pigment นำมาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ได้แก่ Arginine dihydrolase test จะสร้าง fluorescent pigment และไม่สามารถใช้สาร Arginine ได้ ยืนยันโดยใช้ specific primer โดยใช้วิธี Polymerase chain reaction (PCR) เป็นต้น

6 จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช

จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช เพื่อเป็นหลักฐานสำหรับการตรวจสอบยืนยันการปรากฏของโรค โดยตัดส่วนของพืชบริเวณที่แสดงอาการโรค วางบนกระดาษฟาง พร้อมแนบกระดาษบันทึกข้อมูลพืช แล้วปิดทับด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ อัดทับด้วยแผงไม้อัดตัวอย่างโรคพืช นำไปวางผึ่งลม ไม่ให้ถูกแดด เปลี่ยนกระดาษทุกวัน จนกระทั่งตัวอย่างพืชแห้ง จึงนำมาเก็บในถุงกระดาษสำหรับเก็บตัวอย่างแห้ง พร้อมลงรายละเอียดข้อมูลตัวอย่างตามระบบสากล (Anonymous, 2005) ได้แก่ ชื่อพืช ลักษณะอาการโรค สถานที่เก็บ ชนิดของราสาเหตุโรคพืช วันที่เก็บ ชื่อผู้เก็บ และชื่อผู้จัดจำแนกชนิดรา เป็นต้น แล้วส่งเก็บในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

7. วิเคราะห์สถานภาพของศัตรูพืช

โดยรวบรวมข้อมูลสถานภาพการปรากฏ/ไม่ปรากฏ และแพร่กระจายของเชื้อสาเหตุโรคที่ได้จากการสำรวจ นำมาวิเคราะห์ สรุปผล และจัดทำรายงาน

การสำรวจไรศัตรูพืชกักกัน

1. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจได้แก่ ชื่อที่อยู่ที่ตั้งของแปลง วันและเวลา สภาพ ดินฟ้าอากาศ ตำแหน่งที่ตั้งพิกัดภูมิศาสตร์

2. เก็บตัวอย่างหอมแดง หอมหัวใหญ่ จากพื้นที่ที่มีกาเพาะปลูกสูงสุดตั้งแต่ก่อนปลูก ในระยะที่เก็บเกี่ยวผลผลิตและรอเก็บในโรงเก็บ เพื่อรอจำหน่ายและทำพันธุ์ การสุ่มตรวจ ครั้งละ 10 จุด จุดละ 5 ตัวอย่าง

3. เก็บกระเทียมที่เป็นหัวพันธุ์สำหรับใช้เพาะปลูก จากพื้นที่ที่มีกาเพาะปลูกสูงสุดตั้งแต่ก่อนปลูก ในระยะที่เก็บเกี่ยวผลผลิตและรอเก็บในโรงเก็บเช่นเดียวกัน ทำการสุ่มตรวจ ครั้งละ 10 จุด จุดละ 5 ตัวอย่าง เช่นเดียวกัน

4. นำตัวอย่างไรศัตรูในหัวหอมและกระเทียม ที่รวบรวมได้ใส่ถุงกระดาษและห่อด้วยถุงพลาสติกอีกชั้นหนึ่งแล้วรัดปากถุงให้สนิท

5. บันทึกข้อมูลจากตัวอย่างไรที่เก็บได้ เช่นชื่อพืช ชื่อผู้เก็บ สถานที่ บันทึกข้อมูลพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) วันที่เก็บ นำตัวอย่างที่ได้ทั้งหมดกลับมาทำสไลด์ถาวรที่ห้องปฏิบัติการ

6. ทำสไลด์ถาวรด้วยน้ำยา Hoyer's solution ด้วยการหยดน้ำยา Hoyer's solution ลงบนสไลด์ ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงวางลงบนน้ำยา จากนั้นกดตัวไรให้จมลงในน้ำยา

7. จัดตัวไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้อย่างชัดเจน ด้วยเข็มเขี่ยขนาดเล็ก ปิดตัวอย่างด้วยแผ่นแก้วปิดสไลด์ (coverglass) นำสไลด์ไปอังบนตะเกียงแอลกอฮอล์พอร้อน เพื่อให้อวัยวะส่วนต่าง ๆ ของไรยืดออกเต็มที่ และเพื่อไล่ฟองอากาศ

8. เขียนหมายเลขรหัสของตัวอย่างที่ทำเสร็จเรียบร้อยลงบนสไลด์ บันทึกรายละเอียดที่สำคัญของตัวไรลงบนสมุดบันทึก จากนั้นนำตัวอย่างที่ทำเสร็จแล้วเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 5-7 วัน จากนั้นนำสไลด์ที่ได้มาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 สัปดาห์ จึงผนึกขอบสไลด์ด้วยน้ำยาทาเล็บ

9. นำสไลด์ถาวรที่เสร็จเรียบร้อยแล้วมาจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ปิดป้ายบันทึกรายละเอียดเกี่ยวกับสถานที่ วันที่ที่เก็บตัวอย่าง ชื่อผู้เก็บและชื่อพืชไว้ด้านซ้ายของแผ่นสไลด์ ส่วนชื่อวิทยาศาสตร์ไรที่จำแนกได้ไว้ด้านขวาของสไลด์

10. นำสไลด์เก็บในกล่องเก็บสไลด์และเรียงในพิพิธภัณฑ์ตามระบบสากลต่อไป

การเฝ้าระวัง Cmm

1 การวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงเชื้อแบคทีเรียที่มีโอกาสจะติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์นำเข้า

2 การติดตามและตรวจสอบทั้งที่จุดนำเข้าและภายหลังการนำเข้าในแปลงปลูกของเกษตรกร

3 การสำรวจและเฝ้าระวังตามมาตรฐาน ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance)ในแปลงผลิตมะเขือเทศและแปลงผลิตพืชที่เป็นพืชอาศัยของเชื้อ

4 วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบเชื้อ CMM ทั้งในตัวอย่างพืชและเมล็ดพันธุ์

ผลการทดลองและอภิปราย

จากการสำรวจเชื้อโรคและศัตรูพืชที่ประเทศไทยประกาศเป็นศัตรูพืชกักกัน ไม่พบว่ามีเชื้อโรคและศัตรูพืชปรากฏการแพร่กระจายในพื้นที่เพาะปลูกของพืชอาศัยต่างๆ ในประเทศไทย ได้แก่ ไรแดง *Amphitetranychus viemmensis* (Zacher) ศัตรูพืชกักกันของแอปเปิ้ล, เพลี้ยแป้ง *Cataenococcus hispidus* Green และ *Planococcus lichi* Cox ในลิ้นจี่, หนอนเจาะผล *Cryptophlebia ombrodelta* ในลิ้นจี่, เพลี้ยไก่แจ้ (Trioza erytreae (Del Guercio) ในแหล่งปลูกส้มจังหวัดเชียงใหม่, ราเขม่าดำ *Urocystis cepulae* ในพื้นที่ปลูกหอมแดงและกระเทียม, ราสนิมข้าวโพด *Puccinia polysora* และ P. *sorghi*, ราน้ำค้างข้าวโพด: *Peronosclerospora philippinensis*, แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv.

syringae ในพื้นที่ปลูกหอมแดงและกระเทียม, *Pantoea agglomerans* ในพื้นที่ผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด, โรคไวรัสของมันฝรั่งที่เกิดจากไวรัส PVA, PVM, PVT, PVX, PVS และ PLRV, แบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis. ในพื้นที่ผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ, ไร *Tyrophagus similis* Volgnin และ *Sancassania mycophagus* (Megnin) ของหอมแดง หอมหัวใหญ่ และ กระเทียม, ราสนิม (Tropical Corn Rust) : *Physopella zeae* (Mains) Cummins & Ramachar และ (Common Corn Rust) : *Puccinia sorghi* Schwein. ในข้าวโพด, ราน้ำค้าง (Graminicola Downy Mildew) : *Sclerospora graminicola* (Sacc.) J. Schröt. และ (Philippine Downy Mildew): *Peronosclerospora philippinensis* (W. Weston) C.G. Shaw ในข้าวโพด, รา *Clavicep* ในประเทศไทย, แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* ในพืชตระกูลแตง, แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ในพื้นที่ปลูกข้าวโพด เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการจัดทำข้อมูลศัตรูพืช (pest list) ที่สามารถนำไปประกอบการเจรจาทางการค้าในการส่งออก และสนับสนุนการออกประกาศการปลอดศัตรูพืชโดย NPPO

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

1. ได้ข้อมูลไม่ปรากฏและการแพร่กระจายของศัตรูพืชกักกันเพื่อสนับสนุนการส่งออก และได้พัฒนาเทคนิคการตรวจสอบเชื้อ CMM เพื่อรับรองการส่งออกและการนำเข้า

2. ได้ข้อมูลศัตรูพืชตามแนวทางการสำรวจที่สอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance) เพื่อใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนการขอเปิดตลาดกับต่างประเทศ

3. ได้ข้อมูลศัตรูพืชที่สามารถนำไปประกอบการเจรจาทางการค้าในพืชส่งออกและนำเข้า

4. ได้ข้อมูลนี้ใช้สนับสนุนการออกประกาศการปลอดศัตรูพืช โดย NPPO และเป็นข้อมูลพื้นฐานในการจัดทำข้อมูลศัตรูพืช (pest list) เพื่อใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนการขอเปิดตลาดสินค้าเกษตรระหว่างประเทศ ซึ่งส่งผลทำให้สามารถขยายปริมาณและมูลค่าการส่งออกได้มากยิ่งขึ้น