

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

-
1. ชุดโครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช
 2. โครงการวิจัย : วิจัยการกักกันพืช
กิจกรรม : การศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชนำเข้า
 3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักชีนำเข้าจากต่างประเทศ
 4. ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Interception of Quarantine Pest in Imported Coriander Seed Consignments
 5. คณะผู้ดำเนินงาน
หัวหน้าการทดลอง : นางพร มาอยู่ดี^{1/}
ผู้ร่วมงาน : ชลธิชา รักใคร่^{1/} จรรยา มณีโชติ^{2/}
ชาญชัย แสงหิรัญ^{3/}

5. บทคัดย่อ

การศึกษานิตของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักชี (*Coriandrum sativum* L.) วงศ์ Apiaceae นำเข้าจากต่างประเทศ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2555 ที่กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักชีที่นำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน สหรัฐอเมริกา บัลแกเรีย และอิตาลี จำนวน 32 ตัวอย่าง ทำการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชของผักชีจากแหล่งต่างๆทั่วโลก ผลการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายผักชี พบศัตรูพืชจำนวน 45 ชนิด จัดเป็นแมลง 18 ชนิด ไร 3 ชนิด เชื้อรา 9 ชนิด แบคทีเรีย 7 ชนิด ไวรัส 5 ชนิด และวัชพืช 3 ชนิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรค ศัตรูพืชชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Visual inspection, Blotter method, Dilution plate method และปลูกทดสอบแสดงอาการผิดปกติในโรงเรือนผลการตรวจพบเชื้อรา 17 ชนิด ซึ่งไม่เป็นเชื้อโรคสำคัญด้านกักกันพืช ได้แก่ *Acremonium* sp., *Alternaria brassicicola*, *Alternaria tenuis*, *Alternaria tenuissima*, *Alternaria raphani*, *Curvularia pallescens*, *Cladosporium* sp., *Drechslera tetramera*, *Fusarium solani*, *Nigrospora* sp., *Phoma* sp., *Starchybotrys* sp., *Stemphylium* sp., *Fusarium moniliforme*, *Fusarium semitectum*, *Streptomyces* sp. และ *Ulocladium* sp. และพบเมล็ดวัชพืช 6 ชนิด เป็นวัชพืชกักกันที่มีความสำคัญด้านกักกันพืช 1 ชนิด คือ *Polygonum convolvulus* ส่วนวัชพืชที่ไม่มีความสำคัญด้านกักกันชนิด 5 ชนิด ได้แก่ *Avena* sp., *Convolvulus arvensis*, *Malva* sp., *Ranunculus arvensis* และ *Torilis* sp. สำหรับวัชพืชกักกันได้ควบคุมโดยอาศัยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 (ฉบับที่ 3) พ.ศ.2551 เพื่อป้องกันมิให้วัชพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดภายในประเทศไทย

^{1/} สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/} สำนักผู้เชี่ยวชาญ กรมวิชาการเกษตร

^{3/} สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

6. คำนำ

ผักชี (Coriander: *Coriandrum sativum* L.) วงศ์ Apiaceae จัดเป็นพืชล้มลุกอายุสั้น ประมาณ 40-60 วัน ลำต้นตั้งตรง ภายในกลวงสูงประมาณ 8-15 นิ้ว มีรากแก้วสั้น แต่มีรากฝอยมาก ลำต้นสีเขียว เขียวอมน้ำตาล เมื่อแก่ใบเรียงตัวคล้ายขนนก รูปทรงพัด ใบที่โคนมีขนาดใหญ่กว่าที่ปลาย ออกดอกเป็นช่อตรงส่วนยอดของต้น ดอกมีขนาดเล็กสีขาวและชมพูอ่อน ผลกลมโต ประมาณ 3-5 มิลลิเมตร ตรงปลายผลจะแยกออกเป็น 2 แฉก สามารถขึ้นได้ดีในดินร่วน มีการระบายน้ำดี ปลูกได้ทั่วประเทศของประเทศไทย ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดผักชีจากสาธารณรัฐประชาชนจีน สหรัฐอเมริกา บัลแกเรีย และอิตาลี ประมาณ 64,561,182 บาท (ฝ่ายพันธุ์พืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร)

พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กำหนดให้เมล็ดพันธุ์ผักชีจัดเป็นสิ่งกักตุน (Restricted material) ในการนำเข้ามายังประเทศไทยต้องแจ้งการนำเข้า และมีใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทางกำกับมาเท่านั้น โดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยกำหนดไว้แต่อย่างใด การนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศ มีโอกาสที่ศัตรูพืชหลายชนิดที่อาจเป็นศัตรูพืชกักกันที่ร้ายแรงหรือศัตรูพืชที่สำคัญที่ก่อความเสียหายกับผลิตผลทางการเกษตรติดเข้ามา กับเมล็ดพืชด้วย โดยอาจเป็นศัตรูพืชร้ายแรงที่ไม่มีปรากฏในประเทศไทย โดยเฉพาะในกลุ่มของเมล็ดวัชพืช ร้ายแรง ซึ่งมีการนำเข้ามาเพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์หรือเป็นต้นพันธุ์ในการส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกกระจายทั่วประเทศไทย โดยใน แต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เหล่านี้ในปริมาณมาก หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวสามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศไทย จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อเกษตรในประเทศไทยและกระทบต่อการการเกษตรของประเทศไทย รวมทั้งกระทบต่อการส่งออกเมล็ดพันธุ์เพื่อการค้าไปยังประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำการตรวจสอบศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับพืชนำเข้า โดยต้องเพื่อทราบชนิดแหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืช มีประโยชน์ใช้อ้างอิงทางวิชาการ นำมาพิจารณาหามาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และกำหนดเป็นมาตรการทางด้านกฎหมายและทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้า หรือเปลี่ยนแปลงสถานภาพของพืชนำเข้าให้เป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืชต่อไป

7. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักชี
2. กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope และ compound microscope
3. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
4. สารเคมีตรวจสอบเชื้อโรคพืช
5. ภาชนะเก็บตัวอย่างพืช
6. หนังสือ และวารสารทั้งในประเทศและต่างประเทศ

7. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช สำหรับศัตรูพืชกักกันรวมทั้งการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม” (ISPM No. 11 : Pest risk analysis for quarantine pest including analysis of environmental risk)

วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของผักชีและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเทอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของผักชี ลักษณะทั่วไปของพืช สายพันธุ์ พื้นที่การเพาะปลูก รายชื่อของประเทศที่ประเทศไทยมีการการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืชทั้งนอกประเทศและในประเทศ

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ผักชีนำเข้าในห้องปฏิบัติการ

การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชั้นละเอียดบนเมล็ดพันธุ์ผักชีที่นำเข้าจากต่างประเทศ เจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืช จะทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพืชมาทำการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ที่กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลงหรือเมล็ดวัชพืช

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

2.2.1 การตรวจสอบเชื้อรา โดยตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์เชื้อราหรือศัตรูพืชอื่นๆ ซึ่งปะปนมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เช่น เมล็ดพันธุ์มีรูปร่างผิดปกติ หรืออาจติดมา ภายในเมล็ดพันธุ์โดยไม่แสดงอาการ รวมทั้งอาจติดมากับเศษพืชในลักษณะเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์เช่น Pycnidia เป็นต้น สุ่มตัวอย่างเมล็ดตามวิธีการมาตรฐาน ในปริมาณที่เหมาะสมวิเคราะห์โดยสุ่มแยกตามสายพันธุ์ มาทดสอบด้วยวิธี Blotter method โดยวางเมล็ดลงบนกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จำนวน 3 แผ่นที่ชุ่มน้ำซึ่งวางอยู่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วางเมล็ดพันธุ์ 25 เมล็ดต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำจานเพาะเมล็ดไปบ่มเชื้อ (incubate) ได้แสง near ultraviolet (NUV) สลับกับความมืด 12/12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สเตอริโอ-ไมโครสโคป (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope)

2.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

ในกรณีที่เชื้อติดมาในปริมาณมากจะสามารถแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรงหลังจากทำการแยกเชื้อด้วยวิธี Blotter method ได้ หรือทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate โดยสุ่มเมล็ดตามมาตรฐาน นำมาแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที ล้างตามด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เชื้อ เมื่อได้เมล็ดพันธุ์จึงนำไปบดละเอียดด้วยเครื่อง

บด แล้วนำผงของเมล็ดใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ (0.85% NaCl₂) หรือ บัฟเฟอร์ จำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยวางบนเครื่องเขย่า จากนั้นนำมาทำให้เจือจางในอาหารเหลว Nutrient broth ให้มีความเจือจางเป็น 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴ และ 10⁻⁵ ตามลำดับ ใช้ไปเปตต์ ดูด suspension แต่ละความเข้มข้น จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) แล้วใช้แท่ง แก้ว spread ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมา ตรวจสอบโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ดผิปกติบนใบพืชหรือต้นพืช โดยการเพาะเมล็ดใน ดินนิ่งฆ่าเชื้อที่มีอยู่จริง โดยเพาะ 25-50 เมล็ดต่อถุง และเก็บถุงเพาะที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เมื่อต้นกล้า ออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิปกติบนพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชุ่มชื้น เป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิปกติบนใบพืช เก็บใบพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

2.1) วิธี Dilution plate ตัดใบพืชที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย สารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้ เยียเชื้อ แล้วบดชิ้นส่วนในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาทำให้ เจือจาง เป็นลำดับจาก 10⁻¹ ถึง 10⁻⁵ และดำเนินการเช่นเดียวกับ ขั้นตอนในข้อ (1)

2.2) วิธี Tissue transplanting ตัดใบพืชเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 2x2 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อที่ ผิวด้วยสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายใต้ กระแสลมตู้เยียเชื้อแล้ววางพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA หรืออาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง (semiselective media) นำจานเลี้ยงเชื้อไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จึงนำมาตรวจสอบหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรียเก็บจาน อาหารเลี้ยงเชื้อต่อจนครบ 3-5 วัน เพื่อตรวจสอบหาโคโลนีของแบคทีเรียชนิดอื่นจากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และนำไป ศึกษาคุณลักษณะเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

1. ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่าง ของเซลล์แบคทีเรียใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

2. ทดสอบแกรม (Gram reaction) โดยใช้สารละลายโปรแตสเซียม-ไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (3% KOH) ที่เตรียมใหม่ใช้ภายใน 2 สัปดาห์ หากตรวจพบเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) มีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) และแกรมบวก (Gram positive) รูปร่างแบบ Coryneform rod ก็ จะนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3. ทดสอบ hypersensitivity reaction บนยาสูบ โดยการฉีดสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรีย อายุ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 10⁸ โคโลนีต่อมิลลิลิตร เข้าไปในใบยาสูบ (*Nicotiana tabacum* L.) บริเวณใต้ใบ โดยฉีดเข้าเนื้อใบระหว่างเส้นใบ สังเกตลักษณะอาการเซลล์ตายตรงเนื้อใบหลังการฉีดเชื้อ 24-48 ชั่วโมง หากพบ อาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลตดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช

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

5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัย (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่น ปลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยงหรือเนื้อใบของต้นผักชีอายุ 2-3 สัปดาห์ ฉีดพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ในที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจสอบลักษณะอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็นโรคมายกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

2.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

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

2) ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) เตรียมน้ำคั้นพืชสำหรับทดสอบโดยบดใบพืชที่แสดงอาการผิดปกติในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ตรวจสอบเชื้อไวรัสใช้ 0.1 M phosphate buffer pH 7.0) โดยใช้ใบพืชหนัก 1 กรัมต่อบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร ในสภาพเย็น จากนั้นใช้สาลีหรือนิวที่สะอาดจุ่มน้ำคั้นพืชทาลงบนใบพืชทดสอบ ซึ่งโรยด้วยผงคาร์โบรันดัม (carborundum ขนาด 600 mesh) หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 5 นาที ล้างใบพืชและนำพืชทดสอบไปเก็บไว้ในที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส สังเกตลักษณะอาการบนพืชทดสอบหลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 1-4 สัปดาห์ โดยพืชทดสอบจะแสดงอาการแผลเฉพาะแห่ง (local lesion) หรืออาการแบบกระจายทั่วลำต้น (systemic infection)

3) การตรวจสอบด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา (Serological techniques) การตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme – linked Immunosorbent Assay : ELISA เป็นวิธีตรวจสอบเชื้อไวรัสที่มีความไวสูง แม้จะมีเชื้อไวรัสปริมาณต่ำหรืออนุภาคแตกหักก็สามารถตรวจได้ ให้ผลรวดเร็ว แม่นอน และยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมาก วิธีการที่นำมาใช้เป็นแบบ Indirect ELISA ทำการบันทึกผล

2.2.4 การตรวจเมล็ดพืชชั้นละเอียดโดยทำการคัดแยกองค์ประกอบทางกายภาพได้แก่ เมล็ดพืชบริสุทธิ์ สิ่งเจือปน เมล็ดพืชอื่น นำเมล็ดพืชที่ตรวจพบมาทำการจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ใช้คู่มือจำแนกเมล็ดพืช

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์นำเข้าในพื้นที่ของเกษตรกร โดยติดตามตรวจสอบในแปลงปลูกที่มีการนำเมล็ดพันธุ์นำเข้า ให้สังเกตอาการความผิดปกติของต้นพืชทั้ง โคนต้น ราก ลำต้น ใบและผล

ของพืช และทำการเก็บตัวอย่างนำมาแยกเชื้อและทดสอบการเกิดโรคกับพืชในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวินิจฉัยเชื้อโรคศัตรูพืชอย่างละเอียด

เวลาและสถานที่

- ระยะเวลา (เริ่มต้น-สิ้นสุด) ตุลาคม 2553 – กันยายน 2555 (2 ปี)

- สถานที่ทำการทดลอง

1. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. ด้านตรวจพืชฯ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การรวบรวมข้อมูลทั่วไปของเมล็ดพันธุ์ผักชี ศัตรูพืชที่พบเข้าทำลายผักชีจากการสืบค้นข้อมูล มีศัตรูพืชจำนวน 45 ชนิด จัดเป็นแมลง 18 ชนิด ไว 3 ชนิด เชื้อรา 9 ชนิด แบคทีเรีย 7 ชนิด ไวรัส 5 ชนิด และวัชพืช 3 ชนิด การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ผักชี นำเข้าในห้องปฏิบัติการ

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ผักชีนำเข้าในห้องปฏิบัติการ

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากทุกประเทศในเบื้องต้น พบว่าลักษณะของเมล็ดมีสี เมล็ดสมบูรณ์ พบสิ่งเจือปนเล็กน้อยสงสัยอาจจะเป็นเมล็ดวัชพืช ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช

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

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักชี ที่นำเข้าจากต่างประเทศ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน สหรัฐอเมริกา บัลแกเรีย และอิตาลี จำนวน 32 ตัวอย่าง เมื่อทำการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรค ศัตรูพืชชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Visual inspection, Blotter method, Dilution plate method และปลูกทดสอบแสดงอาการผิดปกติในโรงเรือนผลการตรวจพบเชื้อรา 17 ชนิด ซึ่งไม่เป็นเชื้อโรคสำคัญด้านกักกันพืช ได้แก่ *Acremonium* sp., *Alternaria brassicicola*, *Alternaria tenuis*, *Alternaria tenuissima*, *Alternaria raphani*, *Curvularia pallescens*, *Cladosporium* sp., *Drechslera tetramera*, *Fusarium solani*, *Nigrospora* sp., *Phoma* sp., *Starchybotrys* sp., *Stemphylium* sp., *Fusarium moniliforme*, *Fusarium semitectum*, *Streptomyces* sp. และ *Ulocladium* sp. และพบเมล็ดวัชพืช 6 ชนิด เป็นวัชพืชกักกัน 1 ชนิด คือ *Polygonum convolvulus* ส่วนอีก 5 ชนิด ไม่เป็นวัชพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช ได้แก่ *Avena* sp., *Convolvulus arvensis*, *Malva* sp., *Ranunculus arvensis* และ *Torilis* sp. ผลการตรวจวัชพืชสอดคล้องกับการตรวจเมล็ดข้าวสาลีที่นำเข้าจากต่างประเทศของประเทศอินเดีย (Singh, 2001) ซึ่งตรวจพบเมล็ดวัชพืช *Avena sterilis*, *Malva neglecta* สำหรับเมล็ดวัชพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช เจ้าหน้าที่กักกันพืชได้ควบคุมการนำเข้าภายใต้พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 (ฉบับที่ 3) พ.ศ.2551 เพื่อป้องกันมิให้วัชพืชดังกล่าวเข้ามาแพร่ระบาดภายในประเทศไทย

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักชี (*Coriandrum sativum* L.) วงศ์ Apiaceae นำเข้าจากต่างประเทศ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2555 ที่กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักชีที่นำเข้ามาจากสาธารณรัฐประชาชนจีน สหรัฐอเมริกา บัลแกเรีย และอิตาลี จำนวน 32 ตัวอย่าง ผลการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชของผักชีจากแหล่งต่างๆทั่วโลก ผลการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายผักชี พบศัตรูพืชจำนวน 45 ชนิด จัดเป็นแมลง 18 ชนิด ไร 3 ชนิด เชื้อรา 9 ชนิด แบคทีเรีย 7 ชนิด ไวรัส 5 ชนิด และวัชพืช 3 ชนิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรค ศัตรูพืชชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Visual inspection, Blotter method, Dilution plate method และปลูกทดสอบแสดงอาการผิดปกติในโรงเรือนผลการตรวจพบเชื้อรา 17 ชนิด ซึ่งไม่เป็นเชื้อโรคสำคัญด้านกักกันพืช ได้แก่ *Acremonium* sp., *Alternaria brassicicola*, *Alternaria tenuis*, *Alternaria tenuissima*, *Alternaria raphani*, *Curvularia pallescens*, *Cladosporium* sp., *Dechslera tetramera*, *Fusarium solani*, *Nigrospora* sp., *Phoma* sp., *Starchybotrys* sp., *Stemphylium* sp., *Fusarium moniliforme*, *Fusarium semitectum*, *Streptomyces* sp. และ *Ulocladium* sp. และพบเมล็ดวัชพืช 6 ชนิด เป็นวัชพืชกักกันที่มีความสำคัญด้านกักกันพืช 1 ชนิด คือ *Polygonum convolvulus* ส่วนวัชพืชที่ไม่มีความสำคัญด้านกักกันชนิด 5 ชนิด ได้แก่ *Avena* sp., *Convolvulus arvensis*, *Malva* sp., *Ranunculus arvensis* และ *Torilis* sp. สำหรับวัชพืชกักกันได้ควบคุมโดยอาศัยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 (ฉบับที่ 3) พ.ศ.2551

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

10.1 ได้ข้อมูลศัตรูพืชที่เก็บไว้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

10.2 สามารถเผยแพร่ข้อมูลศัตรูพืชและศัตรูพืชกักกันที่สำคัญของพืชนำเข้าให้กับเจ้าหน้าที่ของรัฐและภาคเอกชนที่เกี่ยวข้อง

10.3 ทำให้การปฏิบัติงานกักกันพืชรัดกุมมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นสามารถป้องกันศัตรูพืชร้ายแรงและรุกรานชนิดใหม่จากต่างประเทศมิให้ระบาดเข้ามาทำลายการเกษตรของประเทศไทย

10.4 สามารถกำหนดมาตรการกักกันพืชได้อย่างรัดกุมมีประสิทธิภาพและโปร่งใสสอดคล้องกับข้อตกลงระหว่างประเทศ

10.5 นำผลการวิจัยมาดำเนินการปรับปรุงแก้ไขกฎหมายกักกันพืช โดยจัดทำปรับปรุงข้อแก้ไขประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ฯ และประกาศกรมวิชาการเกษตร เวียนแจ้งให้ทราบทั้งในและนอกประเทศ

11. คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณ ชาญชัย แสงหิรัญ ที่ช่วยดำเนินการเก็บตัวอย่างเมล็ดผักชีในครั้งนี้ และน้องๆ ในห้องปฏิบัติการที่ช่วยสนับสนุนในการทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

12. เอกสารอ้างอิง

CAB INTERNATIONAL (2007). Crop Protection Compendium. CAB INTERNATIONAL, Wallingford, UK.

CABI. 2005. Crop Protection Compendium [CD-ROM]. CAB International. Wallingford, UK..

CISRO. 2004. Taxon Attribute Profiles *Marsilea drummondii* A.Braun.

<http://www.anbg.gov.au/cpbr/WfHC/Marsilea-drummondii/index.html>.

Holm, G.L.,J.V. Pancho, J.P. herberger and D.L. Plucknett. 1979. A Geographical Atlas of World Weeds. John Wiley & sons., Inc., New York. 391 pp.

Holm, G.L.,D.L. Plucknett,J.V. Pancho and J.P. Herberger. 1977. The World ' s Worst Weeds, Distribution and Biology. The University Press of Hawaii, Honolulu 609 pp.

Singh, S. 2001. Interception of weeds in imported wheat grain consignments. Journal Annals of Agricultural Research, Vol. 22, No. 1, pp. 83-87.