การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวที่นำเข้าจากต่างประเทศ
Study on Quarantine Pests Associated with Imported Yard Long Bean Seeds (*Vigna unguiculata* subsp. *sesquipedalis* (L.) Verdc.)

ศรีวิเศษ เกษสังข์ วันเพ็ญ ศรีชาติ วานิช คำพานิช
ปรียพรรณ พงศาพิชณ์ โสภา มีอำนาจ
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ถั่วฝักยาว (*Vigna unguiculata* subsp. *sesquipedalis* (L) Verdc.) จากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายถั่วฝักยาว มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 266 ชนิด จัดเป็นแมลง 140 ชนิด ไรและแมงมุม 5 ชนิด ไส้เดือนฝอย 24 ชนิด เชื้อรา 39 ชนิด แบคทีเรีย 12 ชนิด ไวรัส 27 ชนิด และ วัชพืช 19 ชนิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวในห้องปฏิบัติการ โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวนำเข้าระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2555 จาก 8 ประเทศ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน ฮ่องกง สหภาพพม่า ฟิลิปปินส์ ญี่ปุ่น บังคลาเทศ อินโดนีเซีย และอินเดีย จำนวน 19 ตัวอย่าง น้ำหนัก 14.472 ตัน ทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่า (Visual inspection) และภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวที่นำเข้า ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือการปนเปื้อนของวัชพืช และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method และ Dilution plate method ตรวจพบเชื้อรา *Fusarium semitectum, Cladosporium* sp., *Curvularia pallescens* และ *Phoma* sp. ในเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ และจากการนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการของโรค (Seedling symptom test) ในสถานกักพืช ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นถั่วฝักยาวดังกล่าว และได้ดำเนินการติดตามตรวจสอบโรคและศัตรูพืชในแปลงปลูกพืชถั่วฝักยาว ในท้องที่จังหวัดนครปฐม และราชบุรี ตรวจพบอาการใบด่าง (Mosaic) ที่เกิดจาก Cowpea Aphid borne mosaic virus และอาการโรคราสนิม (Rust) ที่เกิดจากเชื้อรา *Uromyces* sp. และราแป้ง (Powdery mildew) ที่เกิดจากเชื้อ *Oidium* sp. ซึ่งเป็นเชื้อโรคศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศไทย และไม่พบโรคและศัตรูพืชที่ร้ายแรงทางกักกันพืช

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-03-00-06-54

คำนำ

พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กำหนดให้เมล็ดพันธุ์พืชผักต่าง ๆ ไม้ดอกและไม้ประดับหลายชนิดจัดเป็นสิ่งต้องห้าม (Prohibited material) สิ่งกำกัด (Restricted material) และสิ่งไม่ต้องห้าม (unprohibited material) การนำเข้าเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวจะต้องแจ้งการนำเข้า มีใบรับรองสุขอนามัยพืชและหนังสือรับรองว่าไม่เป็นพืชที่ได้จากการตัดต่อสารพันธุกรรมจากประเทศต้นทางกำกับมาด้วย ในการนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศโอกาสที่ศัตรูพืชที่ร้ายแรงหรือเป็นศัตรูพืชที่สำคัญที่ก่อความเสียหายกับผลิตผลทางการเกษตรติดเข้ามากับเมล็ดพืชด้วย โดยอาจเป็นศัตรูพืชร้ายแรงที่ไม่มีปรากฏในประเทศ โดยเฉพาะในกลุ่มของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาว ซึ่งมีการนำเข้ามาเพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์ให้เกษตรกรเพาะปลูกกระจายทั่วประเทศไทย โดยในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เหล่านี้ในปริมาณมาก ปี 2554 มีการนำเข้า ปริมาณ 6.35 ตัน คิดเป็นมูลค่า 1.22 ล้านบาทและในปี 2555 มีการนำเข้าปริมาณ 4.50 ตัน มูลค่า 1.05 ล้านบาท (ข้อมูล: สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร) หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์พืชดังกล่าว และสามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศไทย จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อการเกษตรในประเทศและกระทบต่อการส่งออกพืชผักผลไม้ไทยไปยังต่างประเทศเป็นอย่างมาก ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทำการตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้า เพื่อให้ทราบชนิดและแหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืช จะเป็นประโยชน์ในการใช้อ้างอิงทางวิชาการนำมาพิจารณากำหนดมาตรการเพื่อลดความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และกำหนดเป็นมาตรการทางด้านกฎหมายและทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้า หรือเพื่อกำหนดสถานภาพของพืชนำเข้าให้เป็นสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกำกัดตามพระราชบัญญัติกักพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวที่นำเข้าจากต่างประเทศ
2. กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope และ Compound microscope
3. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
4. สารเคมีตรวจสอบเชื้อโรคพืช
5. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างพืช
6. ชุดตรวจสอบศัตรูพืช (ELISA Kit)
7. หนังสือ และเอกสารทางวิชาการที่เกี่ยวข้องกับเชื้อโรค และศัตรูพืช
8. Diagnostic protocols เช่น EPPO diagnostic protocols
9. โรงเรือนปลูกพืชเพื่อการสังเกตอาการผิดปกติ

วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของถั่วฝักยาวและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเตอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของถั่วฝักยาว ลักษณะทั่วไปของพืช รายชื่อของประเทศที่ประเทศไทยมีการการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืชทั้งนอกประเทศและในประเทศ

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวนำเข้าในห้องปฏิบัติการ

การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดบนเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวที่นำเข้าจากต่างประเทศทางด่านตรวจพืช เจ้าหน้าที่จะทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพืชมาทำการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลงหรือเมล็ดวัชพืช

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1999) และตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียด เมล็ดพันธุ์นำเข้า

2.2.1 การตรวจสอบเชื้อรา

1) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะยังไม่งอก (Dry seed examination)

โดยตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์เชื้อราหรือศัตรูพืชอื่นๆ ซึ่งปะปนมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ Stereo microscope เช่นเมล็ดพันธุ์มีรูปร่างผิดปกติ หรืออาจติดมา ภายในเมล็ดพันธุ์โดยไม่แสดงอาการ รวมทั้งอาจติดมากับเศษพืชในลักษณะเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์เช่น Pycnidia เป็นต้น

2) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะเมล็ดงอก

สุ่มตัวอย่างเมล็ดตามวิธีการมาตรฐาน ในปริมาณที่เหมาะสมวิเคราะห์โดยสุ่มแยกตามสายพันธุ์ มาทดสอบด้วยวิธี Blotter method โดยวางเมล็ดลงบนกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จำนวน 3 แผ่นที่ชุ่มน้ำซึ่งวางอยู่ในจานเลี้ยงเชื้อ วางเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาว 10 เมล็ดต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวน 40 จานเลี้ยงเชื้อ (400 เมล็ด) จากนั้นนำจานเพาะเมล็ดไปบ่มเชื้อ (incubate) ใต้แสง near ultraviolet (NUV) สลับกับความมืด 12/12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สเตอริโอไมโครสโคป (Stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope)

2.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

ในกรณีที่เชื้อติดมาในปริมาณมากจะสามารถแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรง หลังจากทำการแยกเชื้อด้วยวิธี Blotter method ได้ หรือทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate โดยสุ่มเมล็ดตามมาตรฐาน นำมาแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที ล้างตามด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ แล้วจึงนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบด แล้วนำผงของเมล็ดใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ (0.85% NaCl) หรือบัฟเฟอร์ จำนวน 100 มิลลิลิตร บรรจุลงใน flask แล้วบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยวางบนเครื่องเขย่า จากนั้นนำมาทำให้เจือจางในอาหารเหลว Nutrient broth ให้มีความเจือจางเป็น 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} และ 10^{-5} ตามลำดับ ใช้ไปเปตต์ดูด suspension แต่ละความเข้มข้น จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) แล้วใช้แท่งแก้ว spread ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ดผิดปกติบนใบพืชหรือต้นพืช

โดยการเพาะเมล็ดในดินนึ่งฆ่าเชื้อ โดยเพาะ 100 เมล็ดต่อถาดเพาะเมล็ด และเก็บถาดเพาะเมล็ดที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เมื่อต้นกล้าออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชุ่มชื้นเป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนใบพืช เก็บใบพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

2.1) วิธี Dilution plate ตัดใบพืชบริเวณรอยต่อที่เป็นโรคและปกติเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อแล้วบดชิ้นส่วนในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาทำให้ เจือจางเป็นลำดับจาก 10^{-1} ถึง 10^{-5} และดำเนินการเช่นเดียวกับ ขั้นตอนในข้อ (1)

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

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

1. ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

2. ทดสอบแกรม (Gram reaction) โดยใช้สารละลายโปรแตสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (3%KOH) ที่เตรียมใหม่ใช้ภายใน 2 สัปดาห์ หากตรวจพบเป็นเชื้อ

แบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) มีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) และแกรมบวก (Gram positive) รูปร่างแบบ Coryneform rod ก็จะนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3. ทดสอบ Hypersensitivity reaction บนยาสูบ โดยการฉีดสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียอายุ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เข้าไปในใบยาสูบ *(Nicotiana tabacum* L.) บริเวณใต้ใบโดยฉีดเข้าเนื้อใบระหว่างเส้นใบ สังเกตลักษณะอาการเซลล์ตายตรงเนื้อใบหลังการฉีดเชื้อ 24-48 ชั่วโมง หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช

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

5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัย (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่นปลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยง หรือเนื้อใบของต้นถั่วฝักยาวอายุ 2-3 สัปดาห์ ฉีดพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจลักษณะอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

2.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

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

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

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

3. การติดตามตรวจสอบโรคและศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ

ดำเนินการติดตามตรวจสอบโรคและศัตรูพืชในแปลงปลูกถั่วฝักยาวและทำการเก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการผิดปกติมาตรวจและจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช

เวลาและสถานที่ (เริ่มต้น-สิ้นสุด)

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2553 – กันยายน 2555 (2 ปี)

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร และแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมข้อมูลทั่วไปของถั่วฝักยาวและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

Domain: Eukaryota

Kingdom: Viridiplantae

Phylum: Spermatophyta

Class: angiospermae

Subclass: Dicotyledeonae

Order: Fabales

Family: Fabaceae

ถั่วฝักยาว (Yard Long Bean) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Vigna unguiculata* subsp. *sesquipedalis* (L.) Verdc.

ปริมาณการนำเข้า

ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวจากต่างประเทศ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – กันยายน 2555 จาก 8 ประเทศ เป็นปริมาณทั้งสิ้น 14.472 ตัน โดยนำเข้าจากต่างประเทศ 8 ประเทศ ได้แก่ประเทศพม่า 5.44 ตัน ฟิลิปปินส์ 4.54 ตัน บังคลาเทศ 3.58 ตัน อินโดนีเซีย 0.65 ตัน อินเดีย 0.11 ตัน สาธารณรัฐประชาชนจีน 0.12 ตัน ญี่ปุ่น 21 กิโลกรัม และฮ่องกง 18.50 กิโลกรัม จำนวน 18 ตัวอย่าง

ศัตรูพืชที่พบเข้าทำลายถั่วฝักยาว

จากการสืบค้นข้อมูล พบว่า ศัตรูพืชที่ทำลายทุกส่วนของถั่วฝักยาว เช่น ใบ ผล ลำต้น ราก และเมล็ด เป็นต้น มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 266 ชนิด จัดเป็นแมลง 140 ชนิด ไรและแมงมุม 5 ชนิด ไส้เดือนฝอย 24 ชนิด เชื้อรา 39 ชนิด แบคทีเรีย 12 ชนิด ไวรัส 27 ชนิด และวัชพืช 19 ชนิด

เชื้อโรคพืชที่สำคัญที่เข้าทำลายถั่วฝักยาวในประเทศไทย ได้แก่ *Uromyces appendiculatus* var. *appendiculatus* (Pers.) Unger, Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV)

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวที่นำเข้าจากต่างประเทศ

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากทุกประเทศในเบื้องต้น พบว่า เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือการปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืช

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1999) และการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวที่นำเข้าจากประเทศสหภาพพม่า ฟิลิปปินส์ ญี่ปุ่น บังคลาเทศ อินโดนีเซีย และอินเดีย จำนวน 19 ตัวอย่าง ปริมาณ 14.472 ตัน ซึ่งจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method และ Dilution plate method ตรวจพบเชื้อรา *Fusarium semitectum, Cladosporium* sp., *Curvularia pallescens* และ *Phoma* sp. และจากการนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการของโรค (Seedling symptom test) ในสถานกักพืช ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นถั่วฝักยาวดังกล่าว

3. การติดตามตรวจสอบโรคและศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ

การติดตามตรวจสอบโรคและศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ จากการติดตามตรวจสอบโรคและศัตรูพืชในแปลงปลูกในท้องที่จังหวัดนครปฐมและราชบุรี ตรวจพบอาการใบด่าง Cowpea Aphid-borne mosaic virus และอาการโรคราสนิม (Rust) ที่เกิดจากเชื้อรา *Uromyces* sp. และราแป้ง (Powdery mildew) ที่เกิดจากเชื้อ *Oidium* sp.

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ถั่วฝักยาว (*Vigna unguiculata* subsp. *sesquipedalis* (L) Verdc.) จากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายถั่วฝักยาว มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 266 ชนิด จัดเป็นแมลง 140 ชนิด ไรและแมงมุม 5 ชนิด ไส้เดือนฝอย 24 ชนิด เชื้อรา 39 ชนิด แบคทีเรีย 12 ชนิด ไวรัส 27 ชนิด และวัชพืช 19 ชนิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวที่นำเข้าจากต่างประเทศ โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวนำเข้าจาก 8 ประเทศ จำนวน 19 ตัวอย่าง ทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่า (Visual inspection) และภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือการปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืช และจากการตรวจวินิจฉัย

เชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method และ Dilution technique พบเชื้อรา *Fusarium semitectum, Cladosporium* sp. และ *Curvularia pallescens* และ Phoma sp. และไม่พบลักษณะอาการผิดปกติกับถั่วฝักยาวในโรงเรือนปลูกพืช และเมื่อติดตามตรวจสอบโรคและศัตรูพืชในแลงปลูกถั่วฝักยาว ผลปรากฏว่าไม่พบโรคและศัตรูพืชที่ร้ายแรงทางกักกันพืช

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณชัยรัตน์ หมั่นการ คุณยุทธนา ประมาณ คุณวิชาญ สมาธิ คุณวิภา เกิดพิพัฒน์ คุณอรนุช นาคะโร คุณสุธรรม คงเอียด คุณจิรวัฒน์ ไกรนรา และคุณอัญชลี ราศี ที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยดี ตลอดจนเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร ที่ให้ความร่วมมือในการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ เพื่อตรวจสอบในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช

เอกสารอ้างอิง

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ และ วันเพ็ญ ศรีทองชัย. 2545. โรคไวรัสที่สำคัญองพืชผักและพืชน้ำมัน. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ. 88 หน้า.

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

Denis, P. 1994. Diseases of vegetable crops. Department of Primary Industries. Australia 164 pp.

Hutchins, J.D. and Reeves, J.C. 1997. Seed Health Testing Progress Towards the 21th Century. CAB International. UK 263 pp.

Stave, J.R. 1984. Pathogenic specialization in *Uromyces phaseoli* in the united States and rust resisitance in bean. Plant Disease, 63:95-99.