เรื่อง การศึกษาชนิดของศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากต่างประเทศ

Interception of Quarantine Pest in Imported Corn Seed Consignments

ผู้ดำเนินการ ชลธิชา รักใคร่ นงพร มาอยู่ดี ศรีวิเศษ เกษสังข์ วันเพ็ญ ศรีชาติ วานิช คำพานิช ปรียพรรณ พงศาพิชณ์ และโสภา พิศวงปราการ

กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งในภูมิภาคแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ที่มีศักยภาพสูงในการผลิตเมล็ดพันธุ์พืชไร่ที่สำคัญ โดยเฉพาะเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด (*Zea mays* L.) จากการสืบค้นข้อมูลพบว่าในปี 2553 มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเพื่อการเพาะปลูกจำนวน 1,489,010 กิโลกรัม (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร,2553) ข้าวโพดมีข้อมูลศัตรูพืชที่รวบรวมจากศัตรูพืชทั่วโลกมีศัตรูพืชทั้งสิ้น 400 ชนิด เป็นแมลง 218 ชนิด ไร 9 ชนิด หอย 5 ชนิด วัชพืช 24 ชนิด ไส้เดือนฝอย 41 ชนิด เชื้อรา 63 ชนิด แบคทีเรีย 21 ชนิด ไวรัส 12 ชนิด และสัตว์ศัตรูพืชอื่นๆ 5 ชนิด ข้าวโพดจัดเป็น สิ่งต้องห้าม ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชและพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้ามข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507(ฉบับที่ 5) พ.ศ.2550 ปัจจุบันไม่ได้กำหนดให้ต้องมีการรับรองเชื้อโรคศัตรูพืชลงในใบรับรองสุขอนามัยพืชแต่อย่างใด ซึ่งอาจมีศัตรูพืชกักกันติดเข้ามาได้ ดังนั้น การทดลองครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อตรวจสอบศัตรูพืชกักกันบนเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากต่างประเทศและนำข้อมูลศัตรูพืชที่ตรวจพบมาปรับปรุงมาตรการในการควบคุมการนำเข้าพืชให้มีประสิทธิภาพ การทดลองได้สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ ระหว่างปี 2552-2553 จำนวน 42 ตัวอย่าง นำเข้าจากประเทศ สหรัฐอเมริกา อินเดีย ไต้หวัน ฝรั่งเศส เม็กซิโก ออสเตรเลีย ฟิลิปปินส์ และอินโดนีเซีย นำมาตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี Blotter method , Dilution technique ,ELISAและ Seedling symptom ผลการตรวจพบเชื้อโรคศัตรูพืช ได้แก่ *Fusarium solani, Trichoderma sp., Drechstlera rostrata, Didymella sp., Curvularia lunata, Cladosporium sp., Cladosporium maydis, Cephalosporium acremonium, Alternaria tenuissima, Curvularia lunata, Colletotrichum graminicola Bipolaris sp., . Sphaceopsis sp.* Curvularia eraglostidis ศัตรูพืชที่ตรวจพบไม่จัดเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช อย่างไรก็ตาม

รหัสการทดลอง 07-01-49-07-02-03-01-53

ได้ จัดทำข้อมูลศัตรูพืชที่ตรวจพบ สำหรับนำไปใช้ประกอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงเพื่อควบคุมการนำเข้าพืชให้รัดกุมและมีประสิทธิภาพ

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งในภูมิภาคแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ที่มีศักยภาพสูงในการผลิตเมล็ดพันธุ์พืชไร่ที่สำคัญ โดยเฉพาะเมล็ดพันธุ์ลูกผสมต่างๆ เช่น เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลูกผสม (Hybrid corn) ที่มีการนำเข้าจากต่างประเทศปีละจำนวนมาก ขณะเดียวกันมีการส่งออกจำนวนมากเช่นเดียวกัน ทั้งนี้เพราะประเทศไทยมีดินที่อุดมสมบูรณ์ สภาพภูมิอากาศ และสภาพภูมิประเทศเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต เกษตรกรมีฝีมือในการเพาะปลูก ตลอดจนการผสมพันธุ์ได้ตรงตามพันธุ์ที่ต้องการ มีความงอกสูง และความบริสุทธิ์ต่อสายพันธ์สูง ค่าแรงต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับประเทศอื่นๆ ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพร ะราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กำหนดให้ข้าวโพดเป็นสิ่งต้องห้ามการนำเข้ามายังประเทศไทยต้องแจ้งการนำเข้า และมีใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทางกำกับมาแต่ขณะนี้ยังไม่ได้กำหนดให้มีการระบุข้อความการปลอดเชื้อโรคศัตรูพืชหรือการกำจัดศัตรูพืชแต่อย่างใดดังนั้นจึง มีโอกาสที่ศัตรูพืชหลายชนิดที่อาจเป็นศัตรูพืชกักกันที่ร้ายแรงหรือศัตรูพืชที่สำคัญที่ก่อความเสียหายกับผลิตผลทางการเกษตรติดเข้ามากับเมล็ดพืชด้วยโดยอาจเป็นศัตรูพืชร้ายแรงที่ไม่มีปรากฏในประเทศไทย อาจจะก่อให้เกิดผลกระทบต่อการเกษตรในประเทศและกระทบต่อการส่งออกพืชผักผลไม้ไทยไปยังต่างประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการตรวจสอบศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับพืชนำเข้า โดยต้องเพื่อทราบชนิดแหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืช มีประโยชน์ใช้อ้างอิงทางวิชาการ นำมาพิจารณาหามาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และกำหนดเป็นมาตรการทางด้านกฎหมายและทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้า หรือเปลี่ยนแปลงสถานภาพของพืชนำเข้าให้เป็นสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกำกัดตามพระราชบัญญัติกักพืชต่อไป

วิธีดำเนินการและอุปกรณ์

อุปกรณ์

1. กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope และ compound microscope
2. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
3. สารเคมีตรวจสอบเชื้อโรคพืช
4. ภาชนะเก็บตัวอย่างพืชและตัวอย่างเมล็ดพันธุ์
5. ตู้ปลอดเชื้อ หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ
6. ชุดตรวจสอบศัตรูพืช (ELISA Kit)

7. โรงปลูกพืช
8. หนังสือ และวารสารทั้งในประเทศและต่างประเทศ
9. คอมพิวเตอร์สำหรับสืบค้นข้อมูล

วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลพืชและศัตรูพืชของข้าวโพด

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเตอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของข้าวโพดลักษณะทั่วไปของพืช สายพันธุ์ พื้นที่การเพาะปลูก รายชื่อของประเทศที่ประเทศไทยมีการการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืชทั้งนอกประเทศและในประเทศ

2. ตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการ

การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดบนเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่นำเข้าจากต่างประเทศนั้นทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดมาทำการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการที่ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชดังนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลงหรือเมล็ดวัชพืช

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 2003)

2.2.1 การตรวจสอบเชื้อรา

1) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะยังไม่งอก (Dry seed examination)

โดยตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์เชื้อราหรือศัตรูพืชอื่นๆ ซึ่งปะปนมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เช่นเมล็ดพันธุ์มีรูปร่างผิดปกติ หรืออาจติดมา ภายในเมล็ดพันธุ์โดยไม่แสดงอาการ รวมทั้งอาจติดมากับเศษพืชในลักษณะเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์เช่น Pycnidia เป็นต้น

2) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะเมล็ดงอก

สุ่มตัวอย่างเมล็ดตามวิธีการมาตรฐาน ในปริมาณที่เหมาะสมวิเคราะห์โดยสุ่มแยกตาม สายพันธุ์ มาทดสอบด้วยวิธี Blotter method โดยวางเมล็ดลงบนกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จำนวน 3 แผ่นที่ชุ่มน้ำซึ่งวางอยู่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วางเมล็ดพันธุ์เมลอน 25 เมล็ดต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำจานเพาะเมล็ดไปบ่มเชื้อ (incubate) ใต้แสง near ultraviolet (NUV) สลับกับความมืด 12/12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สเตอริโอไมโครสโคป (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope)

2.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

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

2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ดผิดปกติบนใบพืชหรือต้นพืช

โดยการเพาะเมล็ดในดินนึ่งฆ่าเชื้อที่มีอยู่จริง โดยเพาะ 25-50 เมล็ดต่อถุง และเก็บถุงเพาะที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เมื่อต้นกล้าออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชุ่มชื้นเป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนใบพืช เก็บใบพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

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

2.2) วิธี Tissue transplanting ตัดใบพืชเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 2 x2 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) โดยใช้สารละลายโปรแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (3%KOH) ที่เตรียมใหม่ใช้ภายใน 2 สัปดาห์ หากตรวจพบเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) มีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) และแกรมบวก (Gram positive) รูปร่างแบบ Coryneform rod ก็จะนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

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

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

5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัย (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่นปลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยง หรือเนื้อใบของต้นเมลอนอายุ 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 ตัวอย่าง 50-200 เมล็ด เก็บรักษาไว้ในโรงปลูกพืชกันแมลงเมื่อต้นพืชออกใบจริง 1-2 ใบ จึงตรวจสอบลักษณะอาการโรค ต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ สงสัยว่ามีสาเหตุจากเชื้อไวรัสจะนำใบอ่อนไปตรวจสอบด้วยวิธีการอื่นเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

2) ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) เตรียมน้ำคั้นพืชสำหรับทดสอบโดยบดใบพืชที่แสดงอาการผิดปกติในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ตรวจสอบเชื้อไวรัสใช้ 0.1 M phosphate buffer pH 7.0) โดยใช้ใบพืชหนัก 1 กรัมต่อบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร ในสภาพเย็น จากนั้นใช้สำลี

หรือนิ้วที่สะอาดจุ่มน้ำคั้นพืชทาลงบนใบพืชทดสอบ 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

ระยะเวลา (เริ่มต้น-สิ้นสุด)

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2552 – กันยายน 2553 (1 ปี)

สถานที่ดำเนินการ

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช และด่านตรวจพืช

ผลการทดลองและวิจารณ์

ได้ตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นที่จุดนำเข้าที่ด่านตรวจพืชไม่พบแมลงหรือร่องรอยการเข้าทำลายเชื้อโรคพืช และสุ่มตัวอย่าง เพื่อการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดข้าวโพดในห้องปฏิบัติการ ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 2003) ได้ เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่นำเข้าจากประเทศสหรัฐอเมริกา อินเดีย ไต้หวัน ฝรั่งเศส เม็กซิโก ออสเตรเลีย ฟิลิปปินส์ และอินโดนีเซีย จำนวน 42 ตัวอย่าง โดยแยกตามสายพันธุ์ ซึ่งเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวมีการนำเข้าเพื่อทำการเพาะปลูก หรือเป็นพ่อ-แม่พันธุ์ในการผสมพันธุ์ให้ได้เป็นลูกผสม ซึ่งจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์เมลอนในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method และ Dilution technique ,ELISAและ Seedling symptom ผลการตรวจพบเชื้อโรคศัตรูพืช ได้แก่ *Fusarium solani, Trichoderma sp., Drechstlera rostrata, Didymella sp., Curvularia lunata, Cladosporium sp., Cladosporium maydis, Cephalosporium acremonium, Alternaria tenuissima, Curvularia lunata, Colletotrichum graminicola Bipolaris sp., . Sphaceopsis sp. Curvularia eraglostidis* และจากการนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ระยะเวลานาน 2 สัปดาห์ ไม่พบต้นพืชแสดงอาการผิดปกติจากสาเหตุโรคพืช

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ข้าวโพดมีข้อมูลศัตรูพืชที่รวบรวมจากศัตรูพืชทั่วโลกมีศัตรูพืชทั้งสิ้น 400 ชนิด เป็นแมลง 218 ชนิด ไร 9 ชนิด หอย 5 ชนิด วัชพืช 24 ชนิด ไส้เดือนฝอย 41 ชนิด เชื้อรา 63 ชนิด แบคทีเรีย 21 ชนิด ไวรัส 12 ชนิด และสัตว์ศัตรูพืชอื่นๆ 5 ชนิด ข้าวโพดจัดเป็น สิ่งต้องห้าม ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชและพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้ามข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507(ฉบับที่ 5) พ.ศ.2550 ปัจจุบันไม่ได้กำหนดให้ต้องมีการรับรองเชื้อโรคศัตรูพืชลงในใบรับรองสุขอนามัยพืชแต่อย่างใด ซึ่งอาจมีศัตรูพืชกักกันติดเข้ามาได้ ในการศึกษาศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากต่างประเทศนั้น ได้ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม2552ถึงกันยายน 2553 โดยการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ ข้าวโพดที่นำเข้า จำนวน 62 ตัวอย่าง นำเข้าจากประเทศสหรัฐอเมริกาอินเดีย ไต้หวัน ฝรั่งเศส เม็กซิโก ออสเตรเลีย ฟิลิปปินส์ และอินโดนีเซีย นำมาตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี Blotter method , Dilution technique ,ELISAและ Seedling symptom ผลการตรวจพบเชื้อโรคศัตรูพืช ได้แก่ *Fusarium solani, Trichoderma sp., Drechstlera rostrata, Didymella sp., Curvularia lunata, Cladosporium sp., Cladosporium maydis, Cephalosporium acremonium, Alternaria tenuissima, Curvularia lunata, Colletotrichum graminicola Bipolaris sp., . Sphaceopsis sp. Curvularia eraglostidis* เป็นต้น ศัตรูพืชที่ตรวจพบไม่จัดเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช อย่างไรก็ตามได้จัดทำข้อมูลศัตรูพืชที่ตรวจพบ สำหรับนำไปใช้ประกอบการวิเคราะห์ความเสี่ยง เพื่อการปรับปรุงเงื่อนไขการนำเข้าพืชต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ได้ข้อมูลศัตรูพืช เพื่อจัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืชที่ตรวจพบจากต่างประเทศ
2. ตัวอย่างศัตรูพืชที่เก็บไว้เป็นหลักฐานการสืบค้นทางวิชาการ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณผู้เชี่ยวชาญด้านกักกันพืช นายอุดร อุณหวุฒิ ที่ให้คำแนะนำในการเตรียมการจัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืชที่ตรวจพบ ขอบคุณ คุณณัฏฐพร อุทัยมงคล สำหรับข้อมูลการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของข้าวโพดและด่านตรวจพืช พี่ น้องๆที่ห้องปฏิบัติการทุกท่าน ที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร 2553. สถิติการนำเข้าและส่งออกเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

Anonymous, 1993. International rules for seed testing Seed Science and Technology. Rules, Vol. 21 supplement, 287 pp.

Ball, S. and J.C.Reeves , 1992. Application of rapid techniques to seed health testing prospects and potential. In : Duncan J. M. and L. Z.Torrance,) Techniques for the Rapid Detection of Plant Pathogens. Oxford 193-207 pp.

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

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

Phatak H.C. 1974, Seed borne plant virus-identification and diagnosis in seed health testing, Seed Science and Technology 2, 3-155

Rao, B.M., H.S. Prakash, S. Shethly and K.M. Safeeula, 1984. Techiques to detect seed borne inoculum of Peronosclerospora sorghi in maize. Seed Sciena and Technology 12, 593-599

Schaad, N.W. 1988. Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria, 2nd ed,

Schaad, N.W. 1989. Detection and Identification of bacteria. In : Saettler, A.W., N.W. Schaad, and D.A. Roth (eds) Detection of Bacteria in Seed and Other Planting Material. APS. Press, St. Paul, Minnesota, pp 9-16.