

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย

1. ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ ผ่านด่านตรวจพืชทำอากาศยาน เชียงใหม่

1.1 ตรวจสอบชนิดและปริมาณเชื้อราที่ติดมาบนเมล็ดพันธุ์นำเข้า

เมล็ดพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองมี 37 ชนิด ดังนี้ คือ มะเขือเทศ มะเขือม่วง ถั่วฝักยาว ข้าวโพดหวาน ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ผักกาดหอม ผักกาดขาว ผักกาดขาวปลี ผักกาดหัว พริก พริกหวาน พริกทอง แตงกวา แตงโม แคนตาลูป กะหล่ำดอก กะหล่ำปลี มะละกอ ผักกาดเขียว บล๊อคโคลี่ บวบเหลี่ยม กระบี่ ผักชี พริกเขียว กระเจี๊ยบเขียว มะระ แครอท ขึ้นฉ่าย หัวบีท ผักโขม หอมแบ่ง น้ำเต้า ถั่วลันเตา ถั่วแขก ปวยเล้ง หัวไชเท้า กุ่ยฉ่าย และ เมล็ดพันธุ์ไม้ดอกต่าง ๆ เมล็ดพันธุ์เหล่านี้นำเข้าจากประเทศไต้หวัน เกาหลี ฟิลิปปินส์ ญี่ปุ่น อินเดีย เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา และ ออสเตรเลีย ในช่วงเดือน สิงหาคม 2546 ถึงเดือนเมษายน 2547 จำนวน 175 ล็อต หลักการสุ่มตัวอย่างเมล็ดแต่ละชนิดที่มีการนำเข้าในแต่ละล็อต ปฏิบัติตามคำแนะนำคู่มือและขั้นตอนการปฏิบัติงานตามพระราชบัญญัติพันธุ์พืช พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2535 โดยได้สุ่มเก็บตัวอย่างประมาณ 50 กรัม/ตัวอย่าง/ส่วน หรือในกรณีที่มีเมล็ดพันธุ์มีจำนวนน้อย ให้สุ่มในปริมาณที่เหมาะสมสำหรับการทดลอง แสดงความน่าจะเป็นขององค์ประกอบต่างๆ ที่มีอยู่ในระดับความถี่ของการเกิดขึ้นในล็อตของเมล็ดพันธุ์ แล้วนำมาตรวจหาเชื้อราบนเมล็ด โดยวิธีการเพาะบนกระดาษขึ้น (Blotter method) โดยนำเมล็ดมาวางบนจานแก้ว (Petri dish) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ซึ่งภายในประกอบด้วยกระดาษฟาง 3 แผ่น และกระดาษกรอง Whatman No. 1 จำนวน 1 แผ่นที่ชุบน้ำจุ่ม จากนั้นนำไปบ่มเพาะ (incubate) ภายใต้แสง Near Ultra Violet (NUV) โดยให้แสง NUV สลับกับมืดอย่างละ 12 ชั่วโมง / วัน แสง NUV จะกระตุ้นให้เชื้อราที่ติดมากับเมล็ดสร้างสปอร์หรือส่วนขยายพันธุ์อื่น ๆ บันทึกผลทุก 7 วัน เมื่อครบกำหนดนำเมล็ดมาตรวจหาชนิดของเชื้อราที่เกิดขึ้นบนเมล็ด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope และนำมา

จำแนกชนิด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope เป็นการจำแนกถึงระดับสปีชีส์ โดยกำหนดการจำแนกเชื้อราในสกุลต่างๆไว้ ดังนี้ เชื้อราสกุล *Alternaria* จำแนกถึงระดับสปีชีส์ ตามหนังสือ Dematiaceous Hyphomycetes โดย M. B. Ellis ค.ศ. 1971 และการจำแนกเชื้อราในสกุล *Curvularia* จำแนกตามหนังสือ Dematiaceous Hyphomycetes โดย M.B. Ellis ค.ศ. 1971 และ Identification of Species of *Curvularia* on Rice Seed โดย M.A Benoit and S. B. Mathur ค.ศ. 1970 ส่วนการจำแนกเชื้อราในสกุล *Fusarium* ใช้วิธีการจำแนกตามหนังสือ *Fusarium : laboratory guide to the identification of the major species.* โดย Booth ค.ศ. 1977 และ Introduction to food and airborne fungi โดย Robert et al. ปี ค.ศ. 2002

1.2 การตรวจหาเชื้อราและแมลงที่ติดมากับดอกคาร์เนชั่นที่นำเข้าจากประเทศจีน

การสุ่มตัวอย่างเพื่อนำใช้ในการทดลองใช้หลักการสุ่ม 10% จากจำนวนกล่องสินค้าทั้งหมดที่นำเข้า

1.2.1 วิธีการตรวจหาเชื้อรา ใช้ดอกคาร์เนชั่นที่นำเข้าจากประเทศจีน ในช่วงเดือนสิงหาคม 2546 – เมษายน 2547 รวมทั้งสิ้น 28 ล็อต การสุ่มตัวอย่างเพื่อนำใช้ในการทดลองใช้หลักการสุ่ม 10% จากจำนวนกล่องสินค้าทั้งหมดที่นำเข้า ทำการตรวจหาเชื้อราสาเหตุโดยวิธี Free hand section ตัดส่วนของพืชที่มีอาการของโรคหรือมีการติดเชื้อรา มาตรวจสอบหาส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ หลังจากนั้นนำมาตรวจสอบ และแยกเชื้อราให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรคที่แท้จริง โดยวิธี Tissue transplanting method โดยตัดชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคให้มีขนาด 2 x 2 มิลลิเมตร โดยให้มีทั้งส่วนที่ปกคลุมและส่วนที่เป็นโรค จากนั้นนำมาฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 % นาน 1 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 2-3 นาที ซับชิ้นพืชบนกระดาษทิชชูที่ปลอดเชื้อ จากนั้นนำชิ้นพืชวางบนอาหาร PDA (Potato dextrose Agar) หลังจากนั้นบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเชื้อราสร้างเส้นใย หรือสปอร์เจริญออกมาจากชิ้นพืช จึงนำเอาสปอร์หรือเส้นใยเชื้อราไปจำแนกชนิดตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบ compound microscope เป็นจำแนกถึงระดับสปีชีส์ โดยศึกษารายละเอียดของสปีชีส์ต่างๆ แล้วนำมาจำแนกถึงระดับสปีชีส์ โดยใช้หลักการเช่นเดียวกันกับการจำแนกระดับสปีชีส์ในเมล็ดพันธุ์

1.2.2 วิธีการตรวจสอบหาแมลง (เพลี้ยไฟ) การตรวจสอบแมลงในดอกคาร์เนชั่น ทำโดยนำดอกไม้มาคลี่กลีบดอกออก แล้วส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope

โดยพิจารณาจากระยะต่าง ๆ ของตัวแมลง เช่น ไข่ ตัวอ่อน ดักแด้ และ ตัวแก่เป็นหลัก เมื่อพิจารณาว่าเป็นเพลี้ยไฟประเภทใดแล้ว หลังจากนั้นให้นำมาเปรียบเทียบกับคู่มือในการจำแนกชนิดของเพลี้ยไฟ อันจะทำให้ทราบถึงชนิด หรือประเภทของเพลี้ยไฟได้ ซึ่งในการตรวจหาแมลงนั้น จำเป็นต้องทราบแหล่งที่มา ประเภทหรือชนิดของผลิตผลพืชที่นำเข้าไป เพื่อจะสามารถพิจารณาตรวจสอบง่ายขึ้น เพราะในแหล่งที่มาต่าง ๆ ทั้งที่เป็นแหล่งกำเนิด หรือสถานที่ผ่านต่าง ๆ นั้นมีแมลงศัตรูพืชที่สำคัญต่างกัน ชนิดหรือประเภทของพืชที่ต่างกัน ก็สามารถพิจารณาถึงแมลงที่เป็นศัตรูสำคัญได้ นอกจากนี้ จีพจักรหรือวงจรชีวิตแมลง ก็เป็นข้อมูลสำคัญมากสำหรับการตรวจแมลง เพราะในการตรวจแมลงนั้น สิ่งที่พบเห็นคือ ตัวแมลงในระยะต่าง ๆ กันเช่น ไข่ ตัวอ่อน ดักแด้ ตัวแก่

1.3 การตรวจสอบไส้เดือนฝอยในดิน พืช และส่วนขยายพันธุ์พืชชนิดต่างๆ ที่นำเข้าไป จากต่างประเทศผ่านด่านตรวจพืชท่าอากาศยานเชียงใหม่

วิธีการตรวจสอบไส้เดือนฝอยที่ติดมากับพืชหรือส่วนของพืชนั้น มีหลายวิธีการที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับว่าต้องการตรวจสอบไส้เดือนฝอยจากส่วนใด จากการที่มีพืชนำเข้ามาในลักษณะที่เป็นทั้งต้นแล้ว ยังนำเข้ามาในลักษณะต่าง ๆ อีก ได้แก่ bulbs tuber stems crowns leaves การสุ่มตัวอย่างเพื่อนำใช้ในการทดสอบใช้หลักการสุ่ม 10% จากจำนวนกล่องสินค้าทั้งหมดที่นำเข้าไป ซึ่งมีการแยกไส้เดือนฝอยหลัก ๆ อยู่ 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ

1.3.1 การตรวจสอบอาการ และลักษณะผิดปกติของพืชโดยตรง (Observation symptoms) โดยสังเกตอาการของพืช เช่น เกิดปมหรือการบวมพองของราก หัว tuber หรือ rhizome รากมีสีที่ผิดปกติ เป็นสีน้ำตาลขำ ใบที่ผิดปกติ ลำต้น หรือส่วนอื่น ๆ ของพืช บวม หรือรูปร่างผิดปกติไป และรากเป็นแผล

1.3.2 เทคนิคการย้อมสี (staining technique) หลังจากที่สังเกตพบว่ามีอาการผิดปกติของพืชจากไส้เดือนฝอย เนื่องจากไส้เดือนฝอยมีลักษณะโปร่งใส จึงเป็นการยากที่จะตรวจสอบในส่วนของพืช จึงจำเป็นต้องย้อมสีให้ติดตัวไส้เดือนฝอยแต่วิธีนี้ใช้ได้กับรากพืชที่ไม่แข็งแรง ส่วนไส้เดือนฝอยในใบพืช หรือในลำต้นก็ยากต่อการย้อมสี โดยปกติการย้อมสีรากใช้สี acid - fuchsine ละลายใน lacto phenol แต่เนื่อง phenol มีอันตรายมากอาจทำให้เกิดมะเร็งได้ จึงต้องหันมาใช้วิธีใหม่ คือ acid - fuchsine lactic acid แทนซึ่งเป็นวิธีใหม่ที่ปลอดภัยกว่า

1.3.3. การใช้ตะแกรงร่อนไส้เดือนฝอยและกรวยแยก (sieving and Baerman funnel method) วิธีนี้ใช้กับดินเป็นส่วนใหญ่ เพื่อแยกไส้เดือนฝอยออกจากดิน ทั้งดินให้ตกตะกอน

แล้วกรองน้ำส่วนด้านบนผ่านตะแกรงร่อนไส้เดือนฝอย (sieve) ขนาดต่าง ๆ คือ 60, 200 และ 325 mesh นำส่วนที่ติดด้านบนตะแกรงขนาด 200 และ 325 mesh มารวมกัน แล้วนำผ่านกรวยแยกให้ไส้เดือนฝอยร่วงผ่านกระดาษทิชชู 3 ชั้นที่กันไม่ให้เศษดิน พืชที่เหลืออยู่ตกลงสู่ท่อกรวย ให้เฉพาะไส้เดือนฝอยเท่านั้นตกลงสู่ท่อสายยางที่ปลายกรวย แล้วนำไปตรวจสอบเพื่อจำแนกหาชนิดไส้เดือนฝอย

2. รวบรวมและวิเคราะห์ปัญหาการนำเข้าและส่งออกผ่านด่านตรวจพืช

จากผู้ประกอบการที่มีการติดต่อกับด่านตรวจพืชท่าอากาศยานเชียงใหม่อย่างสม่ำเสมอ และยินดีให้ข้อมูล จำนวน 40 คน

2.1 การสร้างแบบสอบถาม

2.1.1 ศึกษาค้นคว้าข้อมูลเกี่ยวกับการนำเข้าและส่งออกผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร เพื่อเป็นแนวทางในการสร้างเครื่องมือ

2.1.2 สร้างแบบสอบถาม โดยมีเนื้อหาเกี่ยวกับการนำเข้าและส่งออกผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร

2.1.3 นำแบบสอบถามที่ได้สร้างขึ้น ไปให้ผู้เชี่ยวชาญทางด้านกักกันพืช จำนวน 3 ท่าน เป็นผู้ตรวจสอบเนื้อหาตลอดจนภาษาที่ใช้ เมื่อผ่านการตรวจแก้ไขจากผู้เชี่ยวชาญแล้ว ผู้วิจัยได้ประมวลความคิดเห็นและข้อเสนอแนะต่าง ๆ มาปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องของแบบสอบถาม

2.1.4 นำแบบสอบถามไปใช้กับกลุ่มตัวอย่าง เป็นผู้ประกอบในการนำเข้าและส่งออกผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรผ่านด่านตรวจพืชท่าอากาศยานเชียงใหม่ จำนวน 40 ราย

2.1.5 ตรวจสอบแบบสอบถาม โดยให้คะแนนแบบสอบถาม ดังนี้

| | | | |
|-----------|---------|---|-------|
| น้อยมาก | เท่ากับ | 1 | คะแนน |
| น้อย | เท่ากับ | 2 | คะแนน |
| ปานกลาง | เท่ากับ | 3 | คะแนน |
| มาก | เท่ากับ | 4 | คะแนน |
| มากที่สุด | เท่ากับ | 5 | คะแนน |

การแปลความหมายคะแนนใช้เกณฑ์ดังต่อไปนี้

| | | |
|------------------|--------|------------------------------------|
| คะแนน 4.5 – 5.00 | แปลว่า | มีสภาพปัญหามากที่สุดต่อสิ่งนั้น |
| คะแนน 3.5 – 4.49 | แปลว่า | มีสภาพปัญหามากต่อสิ่งนั้น |
| คะแนน 2.5 – 3.49 | แปลว่า | มีสภาพปัญหาระดับปานกลางต่อสิ่งนั้น |
| คะแนน 1.5 – 2.49 | แปลว่า | มีสภาพปัญหาน้อยต่อสิ่งนั้น |
| คะแนน 1.0 – 1.49 | แปลว่า | มีสภาพปัญหาน้อยมากต่อสิ่งนั้น |

2.2 การดำเนินการทดลองเก็บข้อมูลแบบสอบถาม

ผู้วิจัยได้ดำเนินการทดลอง ใช้แบบสอบถามด้วยตนเองกับผู้ประกอบการ ในการนำเข้าและส่งออกผลิตผลทางการเกษตร เมื่อมาติดต่อผ่านด่านตรวจพืชทำอากาศยาน เชียงใหม่จำนวน 40 ราย

2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลแบบสอบถาม

2.3.1 วิเคราะห์ความเชื่อมั่นของแบบสอบถาม โดยใช้สูตรสัมประสิทธิ์

แอลฟา (Coefficient Alpha)

$$\text{สูตร } \alpha = \frac{K}{K-1} \left[1 - \frac{\sum S_i^2}{S_x^2} \right]$$

โดย α แทน ค่าความเชื่อมั่น

K แทน จำนวนข้อ

S_i^2 แทน ผลรวมความแปรปรวนแต่ละข้อ

S_x^2 แทน ความแปรปรวนของคะแนนรวม

(อ้างในเกียรติสุดา, 2541)

หาค่าเฉลี่ยของแบบทดสอบโดยใช้สูตร

$$\bar{X} = \frac{\sum X}{n}$$

โดย \bar{X} แทน ค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง

$\sum X$ แทน ผลรวมข้อมูล

n แทน จำนวนข้อมูลของกลุ่มตัวอย่าง

(อ้างในอรรถนพ, 2541)

3. สร้าง web site ของด่านตรวจพืช ให้มีรายละเอียดต่อไปนี้

1. การปฏิบัติในขั้นตอนการนำเข้า และ การส่งออก
2. เงื่อนไขการนำเข้าผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรของประเทศปลายทาง
3. ชนิดของโรคและแมลงศัตรูพืชทางกักกันพืช ที่เป็นข้อห้าม ข้อยกเว้นของประเทศต่างๆ และชนิดที่ตรวจพบ ณ ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานเชียงใหม่
4. การออกใบรับรองปลอดศัตรูพืช



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved