รายงานโครงการวิจัย

การศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้า

Study on Quarantine Pest Associated with Imported Plants

กรมวิชาการเกษตร

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย

นางสาวปรียพรรณ พงศาพิชณ์

Ms. Preyapan Pongsapich

ปี พ.ศ. 2564

รายงานโครงการวิจัย

การศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้า

Study on Quarantine Pest Associated with Imported Plants

กรมวิชาการเกษตร

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย

นางสาวปรียพรรณ พงศาพิศณ์

Ms. Preyapan Pongsapich

ปี พ.ศ. 2564

คำปรารภ (Foreword หรือ Preface)

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ทราบชนิดของศัตรูพืชและแหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้าและเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวสามารถใช้สำหรับอ้างอิงทางวิชาการ เพื่อกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสมรัดกุม เพื่อป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชกักกันหรือศัตรูพืชร้ายแรงที่ยังไม่มีในประเทศเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศไทย ลดการสร้างความเสียหายให้กับการเพาะปลูกพืชทั้งเพื่อบริโภคและการผลิตเมล็ดพันธุ์สำหรับจำหน่ายยังต่างประเทศ และลดค่าใช้จ่ายในการป้องกันกำจัดเมื่อมีการแพร่ระบาดของศัตรูพืชกักกันหรือศัตรูพืชชนิดใหม่ที่ร้ายแรงที่ยังไม่มีปรากฏในประเทศไทย

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	6
ผู้วิจัย	7
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	7
บทนำ.....	8
บทคัดย่อ.....	11

1. ชื่อกิจกรรมงานวิจัย 1 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชและส่วนของพืชที่นำเข้าเพื่อขยายพันธุ์ 13
2. ชื่อกิจกรรมงานวิจัย 2 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชและผลิตผลพืชที่นำเข้าเพื่ออุปโภคหรือบริโภค 199

บทสรุปและข้อเสนอแนะ.....	266
บรรณานุกรม.....	268
ภาคผนวก.....	278

กรมวิชาการเกษตร

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ แหล่งเงินสนับสนุนโครงการวิจัยจากเงินอุดหนุนส่งเสริมด้านวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) และหน่วยงานต้นสังกัด กรมวิชาการเกษตร และขอขอบคุณหน่วยงานทุกหน่วย บุคลากรที่เกี่ยวข้อง ผู้วิจัย ผู้ร่วมวิจัยทุกท่าน ที่ทำให้การดำเนินโครงการวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

กรมวิชาการเกษตร

ผู้วิจัย

ปรียพรรณ พงศาพิชณ์ ชลธิชา รักใคร่ วันเพ็ญ ศรีชาติ วานิช คำพานิช โสภา มีอำนาจ
พรรณิภา เปชัยศรี จั นทร์พิศ เดชหามาตย์ วาสนา รุ่งสว่าง ถาวร ธรรมกรณ์
ศิริชัย ถาวร แขจรรยา สีระแก้ว วิไลรัตน์ สิงห์แก้วฟู

Preyapan Pongsapich Chonticha Rukkrai Wanpen Srichart Wanich Khampanich
Sopa Meeamnat Phannipa Paechaisri Chanpis Dethamart Wasana Rungsawang
Thaworn Thamagorn Sirichai Thaworn Khaejanya Seerakaew Wilairat Chaimongkol

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

กักกันพืช ศัตรูพืช พืชนำเข้า เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ เมล็ดพันธุ์แตงโม เมล็ดพันธุ์เมลอน เมล็ดพันธุ์พริก เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม เมล็ดพันธุ์ผักกาดหัว เมล็ดพันธุ์ข้าวโพด เมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลี เมล็ดพันธุ์ผักชี เมล็ดพันธุ์คะน้า ไฟโตพลาสมา หัวพันธุ์มันฝรั่ง กุหลาบ องุ่น แอปเปิล มังคุด อินเดีย สหรัฐอเมริกา ฟิลิปปินส์ ญี่ปุ่น สาธารณรัฐประชาชนจีน เนเธอร์แลนด์ นิวซีแลนด์ อิตาลี ออสเตรเลีย สก๊อตแลนด์ แคนาดา อินโดนีเซีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*

plant quarantine, pest, imported plant, tomato seed, watermelon seed, melon seed, pepper seed, lettuce seed, radish seed, corn seed, cabbage seed, coriander seed, Chinese kale seed, seed potato, rose, table grape, apple, mangosteen, India, USA, Philippines, Japan, China, the Netherlands, New Zealand, Italy, Australia, Scotland, Canada, Indonesia, *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*

กรมวิชาการเกษตร

บทนำ

ประกอบด้วย

1 **ความสำคัญและที่มาของโครงการวิจัย** (เน้นปัญหาที่ต้องแก้ไข ซึ่งต้องทำให้ได้ ผลผลิต (output) ตรงเป้าประสงค์ของโครงการ ตามวัตถุประสงค์)

ปัจจุบันมีการแพร่ระบาดของศัตรูพืชที่สำคัญหลายชนิดในต่างประเทศ บางชนิดเป็นศัตรูพืชที่ยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทย เช่น โรคใบไหม้ลาตินอเมริกันของยางพารา (South American Leaf Blight; *Microcyclus ulei*) ซึ่งระบาดทำความเสียหายกับยางพาราในทวีปแถบอเมริกาใต้ ไส้เดือนฝอยซีสต์ (cyst nematode; *Globodera pallida, G. rostochiensis*) ซึ่งระบาดในแหล่งปลูกมันฝรั่งในทวีปยุโรป แมลงวันผลไม้เมดิเตอร์เรเนียน (Mediterranean fruit fly; *Ceratitis capitata*) ซึ่งระบาดในประเทศในแถบทะเลเมดิเตอร์เรเนียน เป็นต้น หากศัตรูพืชร้ายแรงดังกล่าวแพร่ระบาดเข้ามาในประเทศไทย นอกจากจะทำความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศแล้ว ยังก่อให้เกิดผลกระทบกับการส่งออกสินค้าเกษตรไปยังต่างประเทศด้วย ซึ่งจะส่งผลกับเศรฐกิจของประเทศ และต้องใช้งบประมาณสูงในการป้องกันกำจัด

ในอดีตที่ผ่านมามีศัตรูพืชต่างถิ่นหลายชนิดที่เข้ามาแพร่ระบาดและสามารถเจริญแพร่พันธุ์เป็นการถาวร ในสภาพนิเวศน์ของประเทศไทย ตัวอย่าง เช่น ผักตบชวา เป็นพืชพื้นเมืองของอินโดนีเซีย ได้ถูกนำเข้ามาปลูกในประเทศไทยเป็นครั้งแรกในสมัยรัชกาลที่ 5 เมื่อ พ.ศ. 2444 และสามารถขยายพันธุ์อย่างรวดเร็วจนกลายเป็นวัชพืชในแม่น้ำลำคลองทั่วประเทศ ทำให้เป็นอุปสรรคในการคมนาคม การชลประทาน และการเลี้ยงสัตว์น้ำ จนกระทั่งในสมัยรัชกาลที่ 6 ได้ตราเป็นพระราชบัญญัติขึ้นเรียกว่า พระราชบัญญัติสำหรับกำจัดผักตบชวา พ.ศ. 2456 แต่จนถึงปัจจุบันผักตบชวาก็ยังเป็นวัชพืชที่ไม่สามารถกำจัดให้หมดไปจากประเทศไทย ไมยราบยักษ์ มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปอเมริกาใต้ นำเข้ามาปลูกในประเทศไทยเมื่อประมาณ พ.ศ. 2495 เพื่อใช้เป็นพืชบำรุงดินในไร่ยาสูบ หญ้าขจรจบ นำเข้ามาจากประเทศอินเดียเมื่อปี พ.ศ. 2498 โดยผู้เชี่ยวชาญอาหารสัตว์ของ FAO เพื่อทดลองปลูกเป็นพืชอาหารสัตว์ สามารถแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็วจนกลายเป็นวัชพืชที่ทำความเสียหายกับการเกษตรของประเทศไทยอย่างมาก (ประเทืองและคณะ, 2533)

ในช่วงตั้งแต่ปี 2547 เป็นต้นมา มีรายงานการระบาดของแมลงที่เป็นศัตรูพืชต่างถิ่นที่สำคัญ 2 ชนิด คือ แมลงดำหนามมะพร้าว (coconut hispine beetle; *Brontispa longissima*) มีถิ่นกำเนิดในอินโดนีเซีย และปาปัวนิวกินี ระบาดอย่างรุนแรงในประเทศไทยเมื่อปี 2547-2549 ในพื้นที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และสุราษฎร์ธานี ซึ่งเป็นแหล่งผลิตมะพร้าวที่สำคัญ ต่อมาในปลายปี 2550 มีแมลงศัตรูมะพร้าวชนิดใหม่เข้ามาระบาดคือ หนอนหัวดำมะพร้าว (coconut black-headed caterpillar: *Opisina arenosella*) ซึ่งมีถิ่นกำเนิดอยู่ในเอเชียใต้ แถบประเทศอินเดียและศรีลังกา พบครั้งแรกพบที่อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ระบาดในพื้นที่ 15 ไร่ ในปี 2554 พบระบาดในพื้นที่ 12 จังหวัด รวมพื้นที่การระบาด 48,591 ไร่ ทั้งแมลงดำหนามมะพร้าว และหนอนหัวดำมะพร้าวทำให้ต้นมะพร้าวตายนับหมื่นต้น ทำให้ประเทศไทยขาดแคลนมะพร้าวจนต้องนำเข้าจากต่างประเทศ (นวลศรี, 2554, นวลศรี, 2555) ในปี 2551 พบเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู (pink mealybug; *Phenacoccus manihoti*) ซึ่งมีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกา ระบาดในพื้นที่ จ.กาญจนบุรี และนครราชสีมา ในปี

ศูนย์วิทยทรัพยากร

2552 มีรายงานความเสียหายที่เกิดจากเพลี้ยแป้งสีชมพูทำลายพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังไปถึง 1.4 ล้านไร่ ประมาณ 21% ของพื้นที่ปลูกทั้งประเทศ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมที่กำลังพัฒนาเป็นประเทศอุตสาหกรรม พืชเศรษฐกิจที่สำคัญที่ทำรายได้ให้กับประเทศ เช่น ข้าว ยางพารา ปาล์มน้ำมัน ข้าวโพด อ้อย มันสำปะหลัง และผักผลไม้ จึงจำเป็นอย่างยิ่งต้องป้องกันพืชเศรษฐกิจเหล่านี้จากศัตรูพืชร้ายแรงจากต่างประเทศ พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และ พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ซึ่งบังคับใช้ในปัจจุบัน มีบทบัญญัติเกี่ยวกับการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชที่ติดมากับสินค้าเกษตรนำเข้า โดยแบ่งพืชออกเป็น 3 ประเภท คือ สิ่งต้องห้าม สิ่งกำกัด และสิ่งไม่ต้องห้าม การนำเข้าหรือนำผ่านสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกำกัดต้องนำเข้าหรือนำผ่านทางด่านตรวจพืชเพื่อให้พนักงานเจ้าหน้าที่ตรวจ และต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกำหนด

งานวิจัยนี้เป็นการตรวจหาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ พริก แตงโม เมลอน ข้าวโพด ผักกาดหัว ผักกาดหอม กะหล่ำปลี ผักกาดกวางตุ้ง คะน้า หัวพันธุ์มันฝรั่ง ผลอุ่นสด ผลมังคุดสด แอปเปิล และดอกกุหลาบที่นำเข้าจากต่างประเทศ และทำการจัดจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ ตลอดจนหาข้อมูลเกี่ยวกับวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ตรวจพบโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ทราบชนิดของศัตรูพืชแหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้าและเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวสามารถใช้สำหรับอ้างอิงทางวิชาการ เพื่อกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสมรัดกุม และป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศ

2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับสินค้าเกษตรนำเข้าจากต่างประเทศ

3 วิธีการวิจัย (แสดงความเชื่อมโยงระหว่างกิจกรรมงานวิจัย และอาจมีแผนภาพประกอบ)

วิธีการวิจัย (แสดงความเชื่อมโยงระหว่างกิจกรรมงานวิจัย และอาจมีแผนภาพประกอบ)

โครงการวิจัย การศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้า จำนวน 2 กิจกรรม

กิจกรรมที่ 1 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชและส่วนของพืชที่นำเข้าเพื่อขยายพันธุ์ จำนวน 14 การทดลอง

การทดลองที่ 1.1 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากอินเดีย จีน สหรัฐอเมริกา และเนเธอร์แลนด์ (2559-2562)

การทดลองที่ 1.2 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา อินเดีย ญี่ปุ่น อิสราเอล ชิลี และฟิลิปปินส์ (2559-2564)

การทดลองที่ 1.3 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา อินเดีย ญี่ปุ่น อิสราเอล ชิลี และเนเธอร์แลนด์ (2559-2564)

การทดลองที่ 1.4 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์ แล สหรัฐอเมริกา (2559-2562)

การทดลองที่ 1.5 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากจีน และสหรัฐอเมริกา (2559-2560)

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 1.6 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสกอตแลนด์ ออสเตรเลีย เนเธอร์แลนด์ และแคนาดา (2559-2562)

การทดลองที่ 1.7 การตรวจติดตามเชื้อ *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากต่างประเทศ (2559 - 2560)

การทดลองที่ 1.8 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์และญี่ปุ่น (2561 – 2562)

การทดลองที่ 1.9 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากอินเดียและสหรัฐอเมริกา (2561 - 2562)

การทดลองที่ 1.10 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากนิวซีแลนด์ และญี่ปุ่น (2563-2564)

การทดลองที่ 1.11 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักชีนำเข้าจากอิตาลี และสหรัฐอเมริกา (2563-2564)

การทดลองที่ 1.12 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์คะน้านำเข้าจากจีน และนิวซีแลนด์ (2563-2564) (เลื่อนการทดลองจากปี 2561-2562)

การทดลองที่ 1.13 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งนำเข้าจากประเทศนิวซีแลนด์ และสาธารณรัฐประชาชนจีน (2562 – 2563)

การทดลองที่ 1.14 การตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาในเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้า (2562 – 2563)

กิจกรรมที่ 2 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชและผลิตผลพืชที่นำเข้าเพื่ออุปโภคหรือบริโภค จำนวน 6 การทดลอง

การทดลองที่ 2.1 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับผลแอปเปิลสดนำเข้าจากญี่ปุ่น (2559-2560)

การทดลองที่ 2.2 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับกุหลาบตัดดอกนำเข้าจากจีน (2559-2560)

การทดลองที่ 2.3 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับผลองุ่นสดนำเข้าจากจีน (2561-2562)

การทดลองที่ 2.4 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับกุหลาบตัดดอกนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ (2563-2564)

การทดลองที่ 2.5 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับผลมังคุดสดจากสาธารณรัฐอินโดนีเซีย (2561-2562) (ยกเลิกงานวิจัย เนื่องจากไทยยกเลิกการนำเข้าผลมังคุดสด)

การทดลองที่ 2.6 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับผลแอปเปิลสดนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน (2564)

กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

ประเทศไทยมีการนำเข้าพืชและผลิตผลพืชจากทั่วโลก เช่น เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ พริก พืชตระกูลกะหล่ำ พืชตระกูลแตง และข้าวโพด นอกจากนี้ยังนำเข้าผัก ผลไม้ ไม้ดอก ซึ่งพืชเหล่านี้สามารถเป็นพาหะของศัตรูพืชร้ายแรงที่ยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทย จึงได้ทำการศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้า เพื่อป้องกันศัตรูพืชร้ายแรงจากต่างประเทศไม่ให้เข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายกับการเกษตรของประเทศ รายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบใช้สนับสนุนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับกำหนดมาตรการสุขอนามัยกับศัตรูพืชก่อนการนำเข้าพืช การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ หัวพันธุ์มันฝรั่ง ดอกไม้และผลไม้นำเข้าพืชตามมาตรฐาน International Seed Testing Association และตามมาตรฐาน ISPM No.31 (เดือนตุลาคม 2558 - กันยายน 2564) นำตัวอย่างมาตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น (วัชพืช ไรและศัตรูพืช) ด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี blotter method, dilution plate method, ELISA technique และชีวโมเลกุล ผลการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากอินเดีย จีน สหรัฐอเมริกา และเนเธอร์แลนด์ เมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา อินเดีย ญี่ปุ่น อิสราเอล ชิลี และฟิลิปปินส์ เมลอนนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา อินเดีย ญี่ปุ่น อิสราเอล ชิลี และเนเธอร์แลนด์ เมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกา เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากจีนและสหรัฐอเมริกา เมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ เมล็ดพันธุ์คะน้านำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนและประเทศนิวซีแลนด์ ผลแอปเปิลสดนำเข้าจากญี่ปุ่น กุหลาบตัดดอก ผลองุ่นสดและผลแอปเปิลสดนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน และกุหลาบตัดดอกนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ ผลไม่พบศัตรูพืชกักกัน

ในการตรวจติดตามเชื้อ *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากต่างประเทศ และตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาในเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากต่างประเทศ ด้วยวิธีการขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ตรวจแล้วไม่พบศัตรูพืชกักกันดังกล่าว อย่างไรก็ตามสามารถตรวจพบศัตรูพืชกักกันในหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากสกอตแลนด์ ออสเตรเลีย เนเธอร์แลนด์ คือ *Spongospora subterranea* เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากอินเดียและสหรัฐอเมริกาตรวจพบ *Trogoderma granarium* และ *T. variabile* ส่วนเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากญี่ปุ่น ผักกาดกวางตุ้งนำเข้าจากนิวซีแลนด์ และผักชีนำเข้าจากอิตาลีและสหรัฐอเมริกา ตรวจพบวัชพืชกักกัน ซึ่งได้ดำเนินการตามมาตรการสุขอนามัยกับศัตรูพืชที่ตรวจพบโดยวิธีการกำจัด ทำลาย หรือส่งกลับประเทศต้นทาง

กรมวิชาการเกษตร

Abstract

Thailand imports plants and plant products from worldwide, such as tomato seeds, peppers seeds, cruciferous seeds, cucurbits seeds and corn seeds. It also imports seeds, fruits, and flowers, all of plants and plant product can be carried of serious pests that have not present in Thailand. The study on quarantine pest associated with imported plants has been prevented serious pests from foreign countries to spread and damage in agriculture area. The pest lists support the pest risk analysis for established phytosanitary measures against pests prior to plant importation. The imported seeds, seed potatoes, cut flower and fruits were randomly sampled according to the standards of the International Seed Testing Association (ISTA) and ISPM No.31 (October 2015 to September 2021) were inspected pests (weeds, mites and pests) by visual inspection and under a microscope and detailed pest diagnostics in laboratories by blotter method, dilution plate method, ELISA technique and molecular biology. The result of the import of tomato seeds (from India, China, the United States and the Netherlands), watermelon seeds (from USA, India, Japan, Israel, Chile and Philippines), melon seeds (from the United States, India, Japan, Israel, Chile and the Netherlands), pepper seeds (from India, China, the Netherlands and the United States), Lettuce seeds (from China and the United States), cabbage seeds from New Zealand, Kale seeds (from the People's Republic of China and New Zealand), fresh apples fruits from Japan, cut roses flowers, fresh grapes fruits and fresh apples fruits from the People's Republic of China and rose cut flowers from the Netherlands were not found quarantine pests.

The interception of quarantine pests, *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* on the imported seed potato and phytoplasma on the imported tomato seeds were examined in the laboratory that they were not found quarantine pest. However, the imported seed potatoes from Scotland, Australia, the Netherlands were found *Spongospora subterranea*. The maize seeds from India and the United States were found *Trogoderma granarium* and *T. variabile*.The cabbage seeds from Japan, China cabbage from New Zealand and coriander seeds from Italy and the United States detected quarantine weed seeds. It has taken phytosanitary measures against detected pests with appropriated treatments, destroyed or re-exported.

สงวนลิขสิทธิ์

กิจกรรมที่ 1

ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชและส่วนของพืชที่นำเข้าเพื่อขยายพันธุ์

Quarantine Pest Associated with Imported Plants and Part of Plants for Propagation

ชื่อผู้วิจัย

ปรียพรรณ พงศาพิชญ์ ชลธิชา รักใคร่ วันเพ็ญ ศรีชาติ วานิช คำพานิช โสภา มีอำนาจ

พรรณิภา เปชัยศรี จันทร์พิศ เดชหามาตย์ วาสนา รุ่งสว่าง

Preyapan Pongsapich Chonticha Rukkrai Wanpen Srichart Wanich Khampanich

Sopa Meeamnat Phannipa Paechaisri Chanpis Dethamart Wasana Rungsawang

คำสำคัญ (Key words)

กักกันพืช ศัตรูพืช พืชนำเข้า เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ เมล็ดพันธุ์แตงโม เมล็ดพันธุ์เมลอน เมล็ดพันธุ์พริก เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม เมล็ดพันธุ์ผักกาดหัว เมล็ดพันธุ์ข้าวโพด เมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลี เมล็ดพันธุ์ผักชี เมล็ดพันธุ์คะน้า ไฟโตพลาสมา หัวพันธุ์มันฝรั่ง อินเดีย สหรัฐอเมริกา ฟิลิปปินส์ ญี่ปุ่น สาธารณรัฐประชาชนจีน เนเธอร์แลนด์ นิวซีแลนด์ อิตาลี ออสเตรเลีย สก๊อตแลนด์ แคนาดา อินโดนีเซีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*

plant quarantine, pest, imported plant, tomato seed, watermelon seed, melon seed, pepper seed, lettuce seed, radish seed, corn seed, cabbage seed, coriander seed, Chinese kale seed, seed potato, India, USA, Philippines, Japan, China, the Netherlands, New Zealand, Italy, Australia, Scotland, Canada, *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*, Indonesia

กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

ประเทศไทยมีการนำเข้าพืชและผลิตผลพืชจากทั่วโลก เช่น เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ พริก พืชตระกูลกะหล่ำ พืชตระกูลแตง และข้าวโพด นอกจากนี้ยังนำเข้าผัก ผลไม้ ไม้ดอก ซึ่งพืชเหล่านี้สามารถเป็นพาหะของศัตรูพืชร้ายแรงที่ยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทย จึงได้ทำการศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้า เพื่อป้องกันศัตรูพืชร้ายแรงจากต่างประเทศไม่ให้เข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายกับการเกษตรของประเทศ และใช้ข้อมูลศัตรูพืชที่ตรวจพบเพื่อกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสมรัดกุม และป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศ

สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พืช ตามมาตรฐาน International Seed Testing Association และสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากต่างประเทศ ตามมาตรฐานสากล ISPM No.31 ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 - กันยายน 2564 นำมาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น (วัชพืช ไรและศัตรูพืช) ด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี blotter method, dilution plate, ELISA, PCR และ RT-PCR ผลการตรวจสอบ พบว่า ไม่พบศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากอินเดีย จีน สหรัฐอเมริกา และเนเธอร์แลนด์ เมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา อินเดีย ญี่ปุ่น อิสราเอล ชิลี และฟิลิปปินส์ เมลอนนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา อินเดีย ญี่ปุ่น อิสราเอล ชิลี และเนเธอร์แลนด์ เมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกา เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากจีนและสหรัฐอเมริกา เมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ เมล็ดพันธุ์คะน้านำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน และประเทศนิวซีแลนด์

ในการตรวจติดตามเชื้อ *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากต่างประเทศ และตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาในเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากต่างประเทศ ด้วยวิธีการขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ตรวจแล้วไม่พบศัตรูพืชกักกันดังกล่าว แต่พบศัตรูพืชกักกันในมันฝรั่งที่นำเข้าจากสกอตแลนด์ ออสเตรเลีย เนเธอร์แลนด์ คือ *Spongospora subterranea* เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากอินเดียและสหรัฐอเมริกาตรวจพบ *Trogoderma granarium* และ *T. variabile* ดำเนินการการกำจัดศัตรูพืชโดยการรมด้วยเมทิลโบรไมด์อัตรา 80 กรัม/ลูกบาศก์เมตรนาน 48 ชั่วโมงก่อนส่งกลับประเทศต้นทาง ส่วนเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากญี่ปุ่น ผักกาดกวางตุ้งนำเข้าจากนิวซีแลนด์ และผักชีนำเข้าจากอิตาลีและสหรัฐอเมริกา ตรวจพบวัชพืชกักกัน ได้ควบคุมโดยอาศัยพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม เพื่อป้องกันมิให้วัชพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดภายในประเทศไทย เช่น ฝังกลบ เผาทำลาย หรือส่งกลับประเทศต้นทาง

กรมวิชาการเกษตร

Abstracts

Thailand imports plants and plant products from many country, such as tomato seeds, peppers seeds, cruciferous seeds, cucurbits seeds and corn seeds. It also imports vegetables, fruits, and flowers, all of plants and plant product can be carried of serious pests that have not present in Thailand. Therefore, pest analysis are detected in imported plants has been studied. To prevent serious pests from spreading and damaging agriculture area it can use this information of the pests to determine the most appropriate measures and prevent quarantine pests.

Seeds and potato tubers imported from many country were randomly sampled according to the standards of the International Seed Testing Association (ISTA) along to the standards of ISPM No.31 between October 2015 to September 2021, The seeds and potato tubers were examined for pests (weeds, mites and pests) by visual inspection and under a microscope and identified the pests in laboratory using the blotter method, dilution plate, ELISA technique and biomolecular. In tomato seeds imported from India, China, the United States and the Netherlands, Watermelon seeds from USA, India, Japan, Israel, Chile and Philippines, melons seeds from the United States, India, Japan, Israel, Chile and the Netherlands, Chili seeds from India, China, the Netherlands and the United States, Lettuce seeds from China and the United States, cabbage seeds from New Zealand Kale seeds from the People's Republic of China and New Zealand were not found quarantine pests contaminated with them.

The monitoring of quarantine pests, *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* and phytoplasma were examined with potato tubers and tomato seeds from abroad in the laboratory and found that there was not found quarantine pest in tomato seeds. But quarantine pests were found on potatoes tubers from Scotland, Australia, the Netherlands namely *Spongospora subterranea*. And *Trogoderma granarium* and *T. variabile* was detected in corn seeds from India and the United States. The corn in that shipment were fumigated with methyl bromide rate 80 g/m3 for 48 hours prior to return to the country of origin. The cabbage seeds from Japan, Chinese cabbage from New Zealand and coriander seeds from Italy and the United States detected quarantine weed seeds contaminated with the seeds and through the Plant Quarantine Act, B.E. 2507 and its amendments, To prevent quarantine weeds from spreading in Thailand, such as destroy or return to the country of origin.

บทนำ (Introduction)

ประเทศไทยเป็นศูนย์กลางผลิตและส่งออกสินค้าเกษตร ในขณะเดียวกันมีความจำเป็นต้องนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศ จากหลายภูมิภาค เพื่ออุปโภค บริโภค เพาะปลูกและปรับปรุงพันธุ์ หรือนำเข้าเมล็ดพันธุ์พ่อแม่เพื่อผลิตเป็นเมล็ดพันธุ์ลูกผสมเพื่อการส่งออก ซึ่งอาจจะเป็นพาหะของ ศัตรูพืชหลายชนิดที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทย หากศัตรูพืชร้ายแรงดังกล่าวแพร่ระบาดเข้ามาในประเทศไทย นอกจากจะทำความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศแล้ว ยังก่อให้เกิดผลกระทบกับการส่งออกสินค้าเกษตรไปยังต่างประเทศด้วย ซึ่งจะส่งผลกับเศรฐกิจของประเทศ และต้องใช้งบประมาณสูงในการป้องกันกำจัด ดังนั้น การศึกษาและจัดจำแนกชนิดของศัตรูพืช เช่น เชื้อโรค วัชพืช แมลง และไร ที่อาจจะติดเข้ามากับพืชที่นำเข้าจากแหล่งต่างๆ ก่อนที่จะอนุญาตให้นำออกจากสถานกักพืชได้ เป็นการป้องกันมิให้ศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย เข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายต่อการเกษตรในประเทศ และข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์ต่องานด้านกักกันพืชทำให้ทราบข้อมูลศัตรูพืชของประเทศคู่ค้า และเก็บตัวอย่างศัตรูพืชที่ไว้เป็นหลักฐานทางวิชาการ และช่วยในการกำหนดมาตรการทางสุขอนามัยพืชให้ประเทศผู้ส่งออกปฏิบัติ เพื่อลดความเสี่ยงที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามา

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมที่กำลังพัฒนาเป็นประเทศอุตสาหกรรม พืชเศรษฐกิจที่สำคัญที่ทำรายได้ให้กับประเทศ เช่น ข้าว ยางพารา ปาล์มน้ำมัน ข้าวโพด อ้อย มันสำปะหลัง และผักผลไม้ จึงจำเป็นอย่างยิ่งต้องป้องกันพืชเศรษฐกิจเหล่านี้จากศัตรูพืชร้ายแรงจากต่างประเทศ พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และ พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ซึ่งบังคับใช้ในปัจจุบัน มีบทบัญญัติเกี่ยวกับการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชที่ติดมากับสินค้าเกษตรนำเข้า โดยแบ่งพืชออกเป็น 3 ประเภท คือ สิ่งต้องห้าม สิ่งกำกัด และสิ่งไม่ต้องห้าม การนำเข้าหรือนำผ่านสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกำกัดต้องนำเข้าหรือนำผ่านทางด่านตรวจพืชเพื่อให้พนักงานเจ้าหน้าที่ตรวจ และต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกำหนด

งานวิจัยนี้เป็นการตรวจหาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ พริก แตงโม เมลอน ข้าวโพด ผักกาดหัว ผักกาดหอม กะหล่ำปลี ผักกาดกวางตุ้ง หัวพันธุ์มันฝรั่ง ผลองุ่นสด ผลมังคุดสด แอปเปิล และดอกกุหลาบที่นำเข้าจากต่างประเทศ และทำการจัดจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ ตลอดจนหาข้อมูลเกี่ยวกับวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ตรวจพบโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ทราบชนิดของศัตรูพืชแหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้าและเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวสามารถใช้สำหรับอ้างอิงทางวิชาการ เพื่อกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสมรัดกุม และป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศ

การทบทวนวรรณกรรม (งานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ให้นำไปรวมในบทนำ)

ประเทศไทยมีการนำเข้าพืชและผลิตผลพืชจากแหล่งต่างๆทั่วโลก โดยเฉพาะเมล็ดพันธุ์ผักและพืชไร่ เช่น มะเขือเทศ พริก พืชตระกูลกะหล่ำ พืชตระกูลแตง และข้าวโพด นอกจากนี้ยังนำเข้าผัก ผลไม้ ไม้ดอก ซึ่งพืชที่นำเข้าอาจเป็นพาหะของศัตรูพืชร้ายแรงที่ยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทย การตรวจศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้าเป็นการป้องกันศัตรูพืชจากต่างประเทศไม่ให้เข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายกับการเกษตรของประเทศ และยังใช้เป็นข้อมูลสำหรับกำหนดเงื่อนไขในการนำเข้าพืชและผลิตผลพืชจากต่างประเทศเพื่อกำจัดศัตรูพืชที่ติดมา

กรมวิชาการเกษตร

พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ซึ่งบังคับใช้ในปัจจุบัน มีบทบัญญัติเกี่ยวกับการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชที่ติดมากับสินค้าเกษตรนำเข้า โดยแบ่งพืชออกเป็น 3 ประเภท คือ สิ่งต้องห้าม สิ่งกำกัด และสิ่งไม่ต้องห้าม การนำเข้าหรือนำผ่านสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกำกัด ต้องนำเข้าหรือนำผ่านทางด่านตรวจพืชเพื่อให้พนักงานเจ้าหน้าที่ตรวจ และต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกำหนด

มะเขือเทศ (Tomato) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lycopersicon esculentum* Mill. (ชื่อพ้อง *Solanum lycopersicum* L.) เป็นพืชในวงศ์ Solanaceae จัดเป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 เมล็ดมะเขือเทศมีการนำเข้าโดยมีวัตถุประสงค์ใช้เป็นเมล็ดพันธุ์เพื่อการค้าและใช้ผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมเพื่อการส่งออก ประเทศที่นำเข้าได้แก่ อินเดีย จีน สหรัฐอเมริกา เนเธอร์แลนด์ อิตาลี และอินโดนีเซีย เป็นต้น ในปี 2555 และ 2556 ปริมาณนำเข้าเฉลี่ย 6788 กิโลกรัม มูลค่า 71 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2557) เมล็ดมะเขือเทศเป็นพาหะของศัตรูพืชร้ายแรงหลายชนิดที่ยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทยโดยเฉพาะเชื้อสาเหตุโรคพืช เช่น แบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis, Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Pseudomonas corrugata* เชื้อรา *Verticillium albo-atrum* ไวรัส *Pepino mosaic virus*, *Tobacco mild green mosaic virus, Tobacco ringspot virus, Tobacco streak virus, Tomato black ring virus*, *Tomato bushy stunt virus*, *Tomato ringspot virus* และไว*รอยด์ Potato spindle tuber viroid* (CABI, 2014; Jones *et al*., 1991; Richardson, 1990)

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* (Cmm) เป็นสาเหตุโรค bacterial canker ซึ่งเป็นโรคที่ร้ายแรงในมะเขือเทศ Cmm เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในดิน โดยอยู่ในเศษซากพืช และสามารถอยู่ข้ามฤดูในวัชพืช เชื้อสามารถติดมากับเมล็ดมะเขือเทศ การเกิดโรคเริ่มตั้งแต่ในแปลงเพาะกล้าโดยเมล็ดที่ติดเชื้อเป็นแหล่งแพร่กระจายโรคในระยะเริ่มแรก การแพร่กระจายในแปลงเกิดจากแบคทีเรียแพร่ไปกับน้ำ หรือติดไปกับเครื่องมือทางการเกษตรและคน มีรายงานการติดเชื้อในเมล็ดมะเขือเทศตั้งแต่ 1-97% แต่แบคทีเรียในเมล็ดจะลดลงตามระยะเวลาและสภาพแวดล้อมในการเก็บรักษาเมล็ด เมล็ดที่เก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 18 เดือน เชื้อจะลดลงจาก 82% เหลือน้อยกว่า 1% และ 0% หลังจากเก็บเมล็ดไว้นาน 2 ปี เมล็ดที่เก็บที่ 4 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60 % เป็นเวลา 3 ปี อัตราการติดเชื้อในเมล็ดลดลงจาก 100% เหลือน้อยกว่า 5% (Chang *et al*., 1991; Dhanvantari and Brown, 1993)

การกำจัดเชื้อที่ติดมากับเมล็ด การกำจัดเชื้อที่ติดมากับเมล็ดทำได้หลายวิธี เช่น การหมักเมล็ด หรือการแช่เมล็ดใน hydrochloric acid ซึ่งเป็นขั้นตอนปกติที่เกษตรกรใช้แยกเมล็ดออกจากเนื้อของผล และยังสามารถช่วยลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียได้ หรือการใช้สารเคมี o-hydroxydiphenyl 0.05% , calcium hypochlorite 0.5% และ sodium hypochlorite หรือการแช่เมล็ดในน้ำอุ่นที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 25 นาที สามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่ติดมากับเมล็ดได้โดยไม่มีผลกระทบต่อความงอก (Thyr *et al*., 1973; Dhanvantari, 1989; Fatmi *et al*., 1991; Dhanvantari and Brown, 1993 Dhanvantari, 1994).

ศูนย์วิทยทรัพยากร

การตรวจเชื้อ Cmm ในเมล็ด มีรายงานการใช้เทคนิคทางเซรุ่มวิทยาในการตรวจเชื้อในเมล็ด เช่น Agglutination test, indirect immunofluorescence (IF), ELISA, การใช้เทคนิค PCR โดยใช้ ไพร์เมอร์ที่จำเพาะต่อ Cmm เช่น Cmm5/ Cmm6, Cmm3/ Cmm4 หรือ PSA-4/ PSA-R (Dreier *et al*., 1995; Pastrik and Rainey, 1999; Sousa-Santos *et al*., 1997) นอกจากนี้ European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO) ได้กำหนดวิธีการมาตรฐานสำหรับตรวจ Cmm ในเมล็ดมะเขือเทศ (OEPP/ EPPO, 2013a)

Pepino mosaic virus (PepMV) เป็นไวรัสสาเหตุโรคในมะเขือเทศ มะเขือม่วง และมันฝรั่ง เชื้อไวรัสแพร่ระบาดโดยวิธีกล โดยติดไปกับเครื่องมือทางการเกษตร รองเท้า เสื้อผ้า และการสัมผัสกับต้นเป็นโรค ไวรัสถ่ายทอดโรคผ่านทางเมล็ด โดยพบเมล็ดที่ seed coat แต่ไม่พบใน embryo (Ling, 2008) ในมะเขือเทศสามารถตรวจพบไวรัสในเมล็ดมะเขือเทศจากต้นที่เป็นโรคสูงถึง 25%

การกำจัดเชื้อที่ติดมากับเมล็ด Córdoba-Sellés และคณะ (2007) พบว่าการแช่เมล็ดใน 10% trisodium phosphate เป็นเวลา 3 ชั่วโมง สามารถกำจัดเชื้อที่ติดมากับเมล็ดได้โดยไม่มีผลต่อความงอก Ling (2010) ทดสอบการกำจัดเชื้อที่ติดมากับเมล็ดโดยใช้สารเคมี พบว่า การแช่เมล็ดใน 0.5 และ 1.0% sodium hypochlorite สามารถกำจัดเชื้อได้ผลดีที่สุด รองลงมาคือ trisodium phosphate
การตรวจเชื้อในเมล็ดสามารถตรวจจากเมล็ดโดยตรงได้ด้วยวิธี ELISA และ PCR (OEPP/ EPPO, 2013b; Salomone and Roggero, 2002)

Tobacco ringspot virus (TRSV) เป็นไวรัสที่มีพืชอาศัยกว้าง ส่วนใหญ่อยู่ในวงศ์ *Fabaceae* และ *Solanaceae* เช่น พริก มะเขือเทศและยาสูบ ไวรัสสามารถถ่ายทอดด้วยวิธีกล ถ่ายทอดผ่านเมล็ดพันธุ์และละอองเกสร ไวรัสแพร่กระจายโดยแมลงและไส้เดือนฝอยเป็นพาหะ โดยทั่วไปในสภาพธรรมชาติการแพร่ระบาดเกิดจากไส้เดือนฝอยพาหะ *Xiphinema americanum* โดยพบไวรัสในส่วน oesophagus และ stylet ของไส้เดือนฝอย ประสิทธิภาพในการถ่ายทอดไวรัสของไส้เดือนฝอยขึ้นกับชนิดพืชอาศัยและสภาพแวดล้อม ไส้เดือนฝอยสามารถถ่ายทอดไวรัสในแตงกวา มะเขือม่วง บานไม่รู้โรยและบานชื่น ได้ถึง 100% TRSV สามารถถ่ายทอดผ่านเมล็ดในพืชหลายชนิด เช่น เจอเรเนียม ผักกาดหอม บานชื่นและ Amaranthus ในเมล็ดถั่วเหลืองสามารถถ่ายทอดโรคได้ถึง 100% และมีผลทำให้ความงอกลดลง 5-42% สายพันธุ์ Andean potato calico สามารถถ่ายทอดในเมล็ดมันฝรั่ง 2-9% โดยไวรัสจะอยู่ที่ embryo และ perisperm แต่ไม่อยู่ที่ seed coat ไวรัสยังคงสามารถทำให้เกิดโรคได้หลังจากเก็บเมล็ดไว้นานถึง 5 ปีที่อุณหภูมิห้องหรือที่ 1-2 องศาเซลเซียส (CABI, 2014)

ความเสียหายที่เกิดจาก TRSV มีรายงานก่อให้เกิดความเสียหายอย่างรุนแรงในถั่วเหลือง โดยทำให้เกิดโรคตาไหม้ (soybean bud blight) ในช่วงระหว่างปี 1943–1947 โรคนี้ทำความเสียหายกับผลผลิตถั่วเหลือง ในแถบตอนกลางของฝั่งตะวันตกของสหรัฐอเมริกา ถึง 25-100% และในอินเดียมีรายงานความว่าทำให้ผลผลิตลดลงถึง 66% นอกจากนี้ยังมีรายงานทำความเสียหายกับพืชในวงศ์ Fabaceae, Solanaceae และ Cucurbitaceae ในประเทศอินเดียโรคใบจุดวงแหวนทำให้ผลผลิตมะเขือม่วงลดลง 55-70% (CABI, 2014)

การตรวจเชื้อ TRSV ในเมล็ดสามารถตรวจด้วยวิธีปลูกสังเกตอาการ ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ หรือด้วยเทคนิค ELISA และ serologically specifis electron microscopy (SSEM) (CABI, 2014)

ศูนย์วิทยทรัพยากร

Tobacco streak virus (TSV) เป็นไวรัสที่มีพืชอาศัยกว้างมาก เชื้อสามารถถ่ายทอดโรคด้วยวิธีกล (mechanical inoculation) แต่ไม่มีความคงทนในน้ำคั้นพืช อนุภาคของ TSV ในน้ำคั้นพืชจะสูญเสียความสามารถในการเข้าทำลาย (infectivity) ภายใน 2-3 นาที หลังจากสกัดเซลล์ ในสภาพธรรมชาติไวรัสสามารถแพร่กระจายโดยเพลี้ยไฟทั้งตัวเต็มวัยและตัวอ่อนของ *Thrips tabaci* และ *Frankliniella occidentalis* เป็นพาหะ นอกจากนี้ ยังสามารถถ่ายทอดโรคโดยทางเมล็ดและผ่านทางละอองเกสร มีรายงานการถ่ายทอดโรคในเมล็ด ถั่วแดง สตรอเบอรี และมะเขือเทศ 40-76% ในเมล็ดมะเขือเทศส่วนใหญ่พบไวรัสอยู่ใน endosperm (40-90%) และ embryo (10-50%) แต่ส่วนน้อยพบที่ seed coat (CABI, 2014)

TSV เป็นสาเหตุโรค soybean bud blight พบระบาดทำความเสียหายกับถั่วเหลืองแถบ South-Eastern Brazil พบว่าเป็นโรคสูงถึง 60% ในปี ค.ศ. 1987 และ 90% ในปี ค.ศ. 1988 TSV เข้าทำลายพืชได้หลายชนิด แต่ความเสียหายทางเศรษฐกิจเนื่องจาก TSV มีรายงานเฉพาะในถั่วเหลือง (CABI,2014)

Tomato Black ring virus (TBRV) เป็นสาเหตุโรคที่มีพืชอาศัยกว้าง เช่น หอม กะหล่ำ พริก มะเขือเทศ แตงกวา สตรอเบอร์รี เป็นต้น เชื้อไวรัสแพร่กระจายโรคโดยมีไส้เดือนฝอยในสกุล *Longidorus* เป็นพาหะ มีรายงานการถ่ายทอดทางเมล็ดในพืช 24 ชนิด ใน 15 วงศ์ เชื้อสามารถถ่ายทอดทางเมล็ด ผักกาดหอม ผักกาดหัว มะเขือเทศ และถั่วเหลือง ในอัตรา 3, 3-7, 20 และ 83% เชื้อไวรัสมีความคงทนอยู่ในไส้เดือนฝอยได้ช่วงระยะเวลาสั้น แต่สามารถมีชีวิตอยู่รอดในเมล็ดได้เป็นเวลานาน เมล็ดจึงเป็นพาหะที่สำคัญในการแพร่กระจายโรค (CABI, 2014; Murant, 1970)

Tomato bushy stunt virus (TBSV) เป็นสาเหตุโรคในมะเขือเทศ พริกหวาน และมะเขือม่วง อนุภาคไวรัสมีความคงทนสูงสามารถแพร่ไปกับดินและน้ำโดยไม่ต้องอาศัยพาหะ สามารถอยู่ในดินได้นานถึง 3 เดือน ไวรัสสามารถถ่ายทอดด้วยวิธีกลได้ดี (CABI, 2014) Tomlinson and Faithfull (1984) ศึกษาการถ่ายทอดโรคในเมล็ดมะเขือเทศจากกต้นเป็นโรคซึ่งไม่แสดงอาการ พบอัตราการเป็นโรคของต้นกล้าสูงถึง 50-65%

PSTVd สามารถถ่ายทอดโรคโดยวิธีกล (mechanical transmission) มีรายงานการถ่ายทอดโรคว่าสามารถเกิดขึ้นได้เมื่อใช้มีดที่ปนเปื้อนน้ำคั้นพืชเป็นโรคมีผลให้เปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเชื้อสูงที่สุด หรือล้อรถแทรคเตอร์ที่ปนเปื้อนน้ำคั้นต้นพืชเป็นโรคที่เกิดบาดแผล พบว่าสามารถถ่ายทอดโรคไปสู่ต้นปกติในแปลงได้ถึง 80 – 100% PSTVd สามารถถ่ายทอดโรคทางเมล็ดพันธุ์และละอองเกสร มีรายงานว่าสามารถถ่ายทอดโรคในเมล็ดพันธุ์มันฝรั่งและมะเขือเทศสูงถึง 70 และ 28.6 เปอร์เซ็นต์ และสามารถถ่ายทอดโรคผ่านละอองเกสรสูงถึง 35-66 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีรายงานการถ่ายทอดโรคโดยแมลงพาหะ *Myzus persieae* ในพืชที่ถูกเชื้อ PSTVd และ potato leafroll เข้าทำลาย ซึ่งนับเป็นการแพร่ระบาดของเชื้อ PSTVd ที่สำคัญในแปลงผลิตมันฝรั่ง (CABI, 2014; Stevenson *et al.*, 2004)

พืชสกุลแตง จัดเป็นสิ่งกำกัด ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 มีรายงานโรคพืชของพืชสกุลแตงที่เกิดจากสาเหตุต่าง ๆ หลายชนิด คือ โรคที่เกิดจากรา เช่น โรคใบจุด เกิดจากรา *Alternaria alternata*, *A. cucumerina*, *Cercospora melonis*, *Curvularia lunata, Ulocladium cucurbitae* โรคราแป้ง เกิดจากรา *Oidium* sp., *Spherotheca fuliginea* และ *Erysiphe cichoracearum* โรคแอนแทรคโนสเกิด

กรมวิชาการเกษตร

จากรา *Colletotrichum lagenarium* โรคราน้ำค้างเกิดจากรา *Pseudoperonospora cubensis* โรคเถาเน่าเกิดจากรา *Rhizoctonia* sp. โรคเหี่ยวเกิดจากรา *Fusarium* sp. โรคลำต้นเน่าเกิดจากรา *Sclerotium rolfsii* โรคยอดเน่าเกิดจากรา *Choanephora cucurbitarum* โรคโคนเน่าเกิดจากรา *Pythium aphanidermatum* โรคลำต้นไหม้ เกิดจากรา *Didymella bryoniae* โรคโค่นดำ สาเหตุจาก เชื้อ *Phomopsis cucurbitae* โรคเหี่ยว เกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (สาเหตุโรคของเมลอน) *F. oxysporum* f. sp. *benincasae* (สาเหตุโรคของแว๊กกราวด์) *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* (สาเหตุโรคของแตงกวา) *F. oxysporum* f. sp. *laginarium* (สาเหตุโรคของ Calabash gourd) *F. oxysporum* f. sp. *luffae* (สาเหตุโรคของ vegetable sponge) *F. oxysporum* f. sp. *momordicae* (สาเหตุโรคของ bitter melon) *F. oxysporum* f. sp. *niveum* (สาเหตุโรคของแตงโม) (Martyn et al. 1993) โรคโค่นรากเน่า และผลเน่า เกิดจากเชื้อ *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae*, *F. solani, F. semitectum, F. graminearum, F. roseum* รายงานโรคของพืชสกุลแตงที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ โรคเหี่ยวเกิดจาก *Erwinia thacheiphila* โรคใบจุดเหลี่ยม เกิดจากเชื้อ *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* โรคผลเน่า เกิดจากเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* โรคที่เกิดจากไวรัส เช่น โรคใบด่างและโรคยอดไหม้ เกิดจาก *Groundnut bud necrosis virus* โรคใบจุด เกิดจาก *Cucumber leaf spot virus* โรคใบคลื่น เกิดจากเชื้อ *Squash leaf curl virus* (จุมพล และคณะ, 2540; พัฒนา และคณะ, 2537; Jarvis,1992)

จากการรายงานและศึกษาศัตรูพืชที่เป็นเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุการเกิดโรคที่สำคัญหลายชนิดกับพืชสกุลแตงในสหรัฐอเมริกา ได้แก่ *Clover yellow vein virus* (CYVV), *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Cucurbit leaf crumph virus* (CuLCrV), *Cucurbit yellow disorder virus* (CYSDV), *Melon necrotic spot virus* (MNSV), *Papaya ringspot virus* type W (PRSV-W), *Tobacco ringspot virus* (TRSV), *Tomato ringspot virus* (ToRSV), *Squash vein yellowing virus* (SqVYV), *Squash mosaic virus* (SqMV), *Watermelon mosaic virus* -2 (WMV-2), *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) (Ali *et al*., 2012; Ali and Mohammad, 2012) ซึ่งจากการศึกษาความหลากหลายของเชื้อ CYSDV ของ Rubio และ คณะ (2001) ที่มีการรวบรวมจาก สเปน จอร์แดน ตุรกี เลบานอน ซาอุดิอาระเบีย และอเมริกาเหนือ แบ่งได้เป็น 2 subpopulation ได้แก่ Eastern subpopulation และ Western subpopulation เชื้อ CYSDV มีพืชสกุลแตงเป็นพืชอาศัย ได้แก่ แตงโม เมลอน แตงกวา และ courgette และมีแมลงหวี่ขาว (*Bemisia tabaci*) เป็นพาหะทำให้เกิดการแพร่กระจายอาการของโรคของเมลอนในอเมริกา (Kao, *et al*., 2000) โดยโรคนี้มีการแพร่ระบาดทั้งในแถบเอเชีย ได้แก่ อิสราเอล จอร์แดน เลบานอน ซาอุดิอาระเบีย ตุรกี และ อาหรับอิมิเรท แถบยุโรป ได้แก่ ฝรั่งเศส สเปน และโปรตุเกส แถบอเมริกาเหนือ ได้แก่ เม็กซิโก อเมริกา ซึ่งเชื้อนี้ก่อความเสียหายต่อพื้นที่ปลูกแตงกวาและเมลอนอย่างกว้างขวาง

จากการศึกษาของ Adkins และคณะ (2007) และ Adkins และคณะ (2008) พบเชื้อ SqVYV ในพืชสกุลแตงในฟลอริด้า สหรัฐอเมริกา พบอาการพืชตาย ผิวผลมีจุดตายและสีผิดปกติในแตงโม และเชื้อนี้ยังเข้าทำลายในวัชพืช คือ Balsum apple (*Momordica charantia*) โดยมีแมลงหวี่ขาวเป็นพาหะจากต้นวัชพืชมา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

แพร่ระบาดในแปลงแตงโมและฟักทอง มีการตรวจเชื้อนี้ด้วยเทคนิค nested Polymerase chain reaction (nested PCR) ซึ่งให้ผลดีกว่า RT-PCR

จากการประกาศเตือนของ Florida Department of Agriculture and Consumer Service, Division of Plant Industry เกี่ยวกับการพบเชื้อ CGMMV กับเมลอน ในฟลอริด้า สหรัฐอเมริกา โดยพบว่าเชื้อนี้เป็น seedborne virus และพบกับเมล็ดพันธุ์เมลอนจากแปลงปลูก ซึ่งโรคนี้พบเกิดการระบาดในแถบประเทศยุโรป อินเดีย ญี่ปุ่น จีน กรีก เกาหลี พม่า และในยูเครน ไวรัสสามารถถ่ายทอดโรคโดยวิธีกล ทั้งโดยเครื่องมือทางการเกษตร หรือรอยแมลงกัด หรือถ่ายทอดทางเมล็ดและละอองเรณู (Liu *et al*., 2013) พืชอาศัยอยู่ในกลุ่มพืชสกุลแตง

เมล็ดพันธุ์แตงโมจากประเทศฟิลิปปินส์มีศัตรูพืชร้ายแรงและยังไม่มีรายงานในประเทศไทย หลายชนิด เช่น แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, *Xanthomonas campestris* pv. *cucurbitae*, ไวรัส CGMMV, MNSV, SqMV (CABI, 2014; Zitter *et al*.,1996)

Pseudomonas syringae pv. *lachrymans* เป็นแบคทีเรียสาเหตุใบจุดเหลี่ยมซึ่งเป็นโรคที่พบมากที่สุดในพืชตระกูลแตง พบระบาดรุนแรงในเขตที่มีสภาพอากาศอบอุ่นชื้น เชื้อแบคทีเรียเข้าทำลายทั้งที่ใบและผลของแตง และสามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์โดยอยู่ที่ใต้เปลือกหุ้มเมล็ด (seed coat) เมื่อเมล็ดงอก เชื้อจะเข้าทำลายที่ใบเลี้ยง เชื้อแพร่กระจายในแปลงปลูกโดยอาศัยน้ำฝน แมลง และมนุษย์หรือเครื่องจักรทางการเกษตร แบคทีเรียสาเหตุโรคสามารถอยู่ข้ามฤดูในเศษซากพืชได้นานถึง 2.5 ปี ในใบพืชแห้ง (Zitter *et al*., 1996) แบคทีเรียสามารถอยู่ในดินได้ในระยะเวลาสั้นๆ มีรายงานว่าในสภาพดินแห้งปริมาณเชื้อจะลดลงจนไม่สามารถตรวจพบได้ภายใน 8 สัปดาห์ แต่ในสภาพดินเปียกและมีเศษซากแตงกวาที่เป็นโรคเชื้อสามารถอยู่รอดได้ถึง 90 สัปดาห์ (CABI, 2014)

การถ่ายทอดเชื้อในเมล็ดพันธุ์ ในอิตาลีมีรายงานการพบโรคครั้งแรกในปี 1991 และเกิดการระบาดอย่างรุนแรงในปี 1992 โดยสาเหตุมาจากการนำเข้าเมล็ดที่ติดเชื้อ มีรายงานการถ่ายทอดโรคในเมล็ดแตงกวา 1 - 2.5 % การแยกเชื้อบนเมล็ดแตงกวาจากผลแตงกวาที่เป็นโรค พบเชื้อแบคทีเรีย 60% ในเมล็ด และ 16% พบเชื้ออยู่ภายในเมล็ด เชื้อสามารถมีชีวิตอยู่ในเมล็ดแตงโมได้นานถึง 20 เดือน และอยู่ในเศษซากพืชได้นาน 12 เดือนโดยไม่สูญเสียความสามารถในการทำให้เกิดโรค การศึกษาการถ่ายทอดโรคในเมล็ดแตงกวาโดยแช่เมล็ดในสารละลายแบคทีเรียเข้มข้น 100 ล้าน c.f.u./ml และปลูกเพื่อสังเกตอาการ พบว่า อาการที่ใบเลี้ยงจะรุนแรงเมื่ออุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นต่ำสุดของเชื้อที่สามารถทำให้เกิดโรคได้คือ 100 c.f.u./ml (CABI, 2014)

การตรวจเชื้อ *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* ในเมล็ดโดยวิธี culture plate method โดยใช้อาหาร M72 medium และ SDS-PAGE (Pohronezny *et al*., 1978 ; CABI, 2014)
การกำจัดเชื้อในเมล็ดสามารถทำได้หลายวิธี เช่นการใช้ความร้อน จากการศึกษาพบว่าการใช้ความร้อนแห้งที่ 70 องศาเซลเซียส หรือแช่เมล็ดใน น้ำอุ่นที่ 52 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที 54 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที สามารถควบคุมโรคในเมล็ดได้ผลดีและมีผลกระทบต่อความงอกน้อยมาก การใช้สารเคมี zinc sulfate และ manganese sulfate หรือสารปฏิชีวนะ เช่น streptomycin 80-100 ppm. สามารถควบคุมโรคในเมล็ดได้ผลดี

ศูนย์วิทยทรัพยากร

Xanthomonas campestris pv. *cucurbitae* สาเหตุโรคใบจุดในพืชตระกูลแตงในเขตอบอุ่นและอบอุ่นชื้น พบระบาดในออสเตรเลีย ฝรั่งเศส อินเดีย ญี่ปุ่น ตรินิแดด และสหรัฐอเมริกา (Zitter *et al*.,1996) ในปี 20010 – 2011 มีรายงานการสำรวจโรคใบจุดของฟักทอง และสควอซในรัฐอิลินอยส์ จากการศึกษาและจำแนกแบคทีเรียสาเหตุพบว่าเกิดจาก *Xanthomonas cucurbitae* ซึ่งระบาดอย่างรุนแรงและทำให้ผลผลิตเสียหายมากถึง 3 - 90 % ทำให้เกษตรกรหันไปปลูกพืชอื่นทดแทน (Babadoost and Ravanlou, 2012) เชื้อแบคทีเรียมีชีวิตสามารถอยู่ในดินได้ในระยะเวลาสั้น และสามารถติดมากับเมล็ดซึ่งเป็นแหล่งแพร่เชื้อในระยะเริ่มแรก

การศึกษาการกำจัดเชื้อที่ติดมากับเมล็ดโดย Ozdemir และ Zitter (2006) พบว่าสารเคมี copper hydroxide + mancozeb, peroxyacetic acid 1% และ sodium hypochlorite 1% มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อบนเมล็ดได้ผลดี และ hydrogen peroxide 3% สามารถกำจัดเชื้อในเมล็ดได้ 90-92 %

CGMMV จัดอยู่ในสกุล *Tobamovirus* เป็นสาเหตุโรคใบด่างเขียวในพืชวงศ์แตง (Cucurbitaceae) มีรายงานพบมากในยุโรปและเอเชีย เช่น อิสราเอล ซาอุดิอาระเบีย อินเดีย ปากีสถาน เกาหลี และญี่ปุ่น (Vervari *et al*., 2002) เชื้อไวรัสชนิดนี้ถ่ายทอดโดยการสัมผัส อนุภาคไวรัสสามารถคงอยู่ได้นานบนเครื่องมือทางเกษตร เศษซากพืช การปนเปื้อนในดิน และถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดพันธุ์ได้ (Komuro *et al*.,1971) Liu *et al*. (2014) ได้ทำการศึกษาการถ่ายทอดโรคในแตงกวา พบว่า การปลูกเชื้อโดยวิธีกลสามารถถ่ายทอดโรคได้ 33.3 – 100% การถ่ายทอดผ่านละอองเกสรจากต้นเป็นโรคสู่ต้นปกติ สามารถถ่ายทอดโรคได้ 17.1 – 76.7% และเมื่อเก็บเมล็ดจากทั้งสองการทดลองมาศึกษาอัตราการถ่ายทอดทางเมล็ดพบว่าเมล็ดที่ได้จากต้นเป็นโรคโดยการปลูกเชื้อด้วยวิธีกลมีอัตราการถ่ายทอดโรค 16.7- 100% ส่วนเมล็ดที่ได้จากต้นเป็นโรคจากการการถ่ายทอดทางละอองเกสรมีอัตราการถ่ายทอดโรค 12.8- 76.7%

SqMV เป็นไวรัสสาเหตุโรคสำคัญในเมลอนและสควอซ เชื้อสามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์ และแพร่กระจายโดยแมลงในวงศ์ *Chrysomelidae* และ *Coccinellidae* แมลงพาหะที่สำคัญคือ western striped cucumber beetle (*Acalymma trivittatum*) และ spotted cucumber beetle (*Diabrotica undecimpunctata howardi*) ไวรัสสามารถถ่ายทอดผ่านเมล็ดได้ในอัตรา 0.14 - 10% SqMV แบ่งเป็น 2 กลุ่มตามคุณสมบัติทางเซรุ่มวิทยา คือ serotype 1 ทำให้เกิดอาการรุนแรงในเมลอน แต่เกิดอาการไม่รุนแรงในสควอซ ไวรัสสามารถถ่ายทอดโรคได้ในเมล็ดเมลอน สควอซ และแตงโม และ serotype 2 ทำให้เกิดอาการรุนแรงในสควอซ แต่เกิดอาการไม่รุนแรงในเมลอน ไวรัสสามารถถ่ายทอดโรคได้เฉพาะในเมล็ดสควอซ (Zitter *et al*.,1996)

การรายงานการศึกษาการตรวจสอบเชื้อไวรัสกลุ่ม *Tospovirus* ในพืชสกุลแตง ได้แก่ เชื้อ Melon *yellow spot virus* (MYSV), *Watermelon silver mottle virus* (WSMV), *Watermelon bud necrosis virus* (WBNV) และ *Zucchini lethal chlorosis virus* (ZLCV) ซึ่งเป็นเชื้อในกลุ่มที่เข้าทำลายแบบ systemic (Systemically infect) แต่ จากการศึกษาของ Ohki และ คณะ ในปี 2008 พบว่า เชื้อ *Melon necrotic spot virus* (MNSV) เป็นเชื้อในกลุ่มที่ไม่เข้าทำลายแบบ systemic (Kato *et al*., 2000) และจากการศึกษาการตรวจและการจัดจำแนกเชื้อ *Tospovirus* ที่ผสมหลายเชื้อ ได้แก่ *Melon* MYSV จากผลเมลอน สามารถให้ผล PCR

product ขนาด 511 bp เชื้อ WSMoV จากผลแตงโม สามารถให้ผล PCR product ขนาด 848 bp โดยตรวจด้วยวิธี RT-PCR ซึ่งเก็บตัวอย่างจากในญี่ปุ่น (Uga and Tsuda, 2005) และจากการพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบเชื้อไวรัสในพืชสกุลแตงโดยใช้เทคนิค RT-PCR แบบไพร์เมอร์ผสมสำหรับตรวจไวรัส 8 ชนิดที่เข้าทำลายเมลอนและแตงกวา ได้แก่ WMV, ZYMV, CMV, KGMMV, PRSV, MYSV, CGMMV และ BPYV พบว่า ความยาวของส่วนที่มีการเพิ่มปริมาณมีขนาดแตกต่างกันตั้งแต่ 283-1,144 bp. แต่ถ้ามีอาร์เอ็นเอของไวรัสตัวหนึ่งสูงเกินไป จะทำให้ไม่สามารถตรวจไวรัสอื่นๆ ได้ (Onuki *et al*., 2014)

พริก เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ที่อยู่ในวงศ์ Solanaceae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Capsicum annuum* L. ในปีพ.ศ. 2555 - 56 ประเทศไทยนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริกจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกา ปริมาณรวมทั้งสิ้น 19,523.48 กิโลกรัม (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2556) ชลธิชา และคณะ (2556) ได้ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าระหว่างเดือน มกราคม 2553 - ธันวาคม 2555 จาก 16 ประเทศ ได้แก่ จีน สหรัฐอเมริกา เนเธอร์แลนด์ เกาหลี อินเดีย ชิลี ฝรั่งเศส อิสรเอล ญี่ปุ่น เม็กซิโก แอฟริกาใต้ อิตาลี สเปน ฟิลิปปินส์ ไต้หวัน และ อินโดนีเซีย จำนวน 48 ตัวอย่าง ทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่า (Visual inspection) และภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือการปนเปื้อนของวัชพืช และผลจากการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method และ Dilution plate method พบเชื้อรา *Alternaria tenuis, Alternaria raphani, Cladosporium* sp., *Curvularia pallescens, Fusarium semitectum* และ *Streptomyces* sp. ตรวจพบเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas camprestris* pv. *vesicatoria* แต่ไม่พบอาการผิดปกติที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ภายหลังการปลูกทดสอบ (Seedling symptom test) ในสถานกักพืช และศัตรูพืชที่ตรวจพบไม่จัดเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช ในปีพ.ศ. 2555 - 56 ประเทศไทยนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริกจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกา ปริมาณรวมทั้งสิ้น 19,523.48 กิโลกรัม เพื่อใช้เป็นการค้าหรือเป็นเมล็ดพันธุ์พ่อแม่ในการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม และจากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดพันธุ์ ตลอดจนเป็นเชื้อโรคและศัตรูพืชที่สามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกาพบว่าพริกจากอินเดีย มีศัตรูพืชที่สำคัญ เช่น ด้วงอิฐ *Trogoderma granarium* วัชพืช *Circium arvense*, *Orobanche cernua*, *Orobanche aegyptiaca*, *Orobanche romosa* แบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ไวรัส *Tobacco ringspot virus*, *Tobacco streak virus* และไวรอยด์ *Potato spindle tuber viroid* ส่วนเมล็ดพันธุ์พริกจากจีนมีศัตรูพืชสำคัญ เช่น วัชพืช *Circium arvense*, *Orobanche cernua*, *Orobanche romosa* แบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas viridiflava* ไวรัส *Alfalfa mosaic virus*, *Tobacco streak virus* และไวรอยด์ *Potato spindle tuber viroid* เมล็ดพันธุ์พริกจากเนเธอร์แลนด์ มีศัตรูพืชสำคัญ เช่น วัชพืช *Circium arvense*, *Orobanche romosa* แบคทีเรีย *Pseudomonas viridiflava* ไวรัส *Tobacco streak virus* และไวรอยด์ *Potato spindle tuber viroid* และเมล็ดพันธุ์พริกจากสหรัฐอเมริกามีศัตรูพืชสำคัญ เช่นวัชพืช *Circium arvense*, แบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas viridiflava* ไวรัส *Alfalfa mosaic virus*, *Tobacco ringspot virus*, *Tomato bushy stunt virus*, *Tobacco streak virus*

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

Tobacco streak virus (TSV) เป็นไวรัสที่มีพืชอาศัยกว้างมาก เช่นพริก มะเขือเทศ หน่อไม้ฝรั่ง ถั่วเหลือง ฝ้าย ถั่วแดง สตรอเบอรี ทานตะวัน ผักกาดหอม และมันฝรั่ง เป็นต้น เชื้อสามารถถ่ายทอดโรคด้วยวิธีกล แต่ไม่มีความคงทนในน้ำคั้นพืช อนุภาคของ TSV ในน้ำคั้นพืชจะสูญเสียความสามารถในการเข้าทำลาย (infectivity) ภายใน 2-3 นาที หลังจากสกัดเซลล์ ในสภาพธรรมชาติไวรัสสามารถแพร่กระจายโดยเพลี้ยไฟทั้งตัวเต็มวัยและตัวอ่อนของ *Thrips tabaci* และ *Frankliniella occidentalis* เป็นพาหะ นอกจากนี้ ยังสามารถถ่ายทอดโรคโดยทางเมล็ดและผ่านทางละอองเกสร มีรายงานการถ่ายทอดโรคในเมล็ด ถั่วแดง สตรอเบอรี และมะเขือเทศ 40-76% ในเมล็ดมะเขือเทศส่วนใหญ่พบไวรัสอยู่ใน endosperm (40-90%) และ embryo (10-50%) แต่ส่วนน้อยพบที่ seed coat (CABI, 2014)

ด้วงอิฐ (*Trogoderma granarium*) จัดเป็นแมลงศัตรูพืชในโรงเก็บกับเมล็ดพืชหลายชนิดเช่น ข้าวโพด และมีรายงานแพร่ระบาดในอินเดียประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรปจัดเป็นศัตรูพืชกักกัน ระดับ A2 (Smith *et al.*, 1992) สามารถตรวจสอบเบื้องต้นด้วยตาเปล่า แว่นขยาย และกล้องจุลทรรศน์แบบสเตริโอ การตรวจสอบว่าปลอดจากแมลง *Trogoderma* spp. เมล็ดพันธุ์ต้องผ่านการตรวจรับรองตามวิธีการวิเคราะห์ของ ISTA การรมเมล็ดพันธุ์ด้วย Methyl bromide อัตรา 80 g/m^3 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส หรือรมด้วย Phosphine อัตรา 1.0-1.5 g/m^3 เป็นเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิระหว่าง 15-25 องศาเซลเซียส หรือที่อัตรา 1.0-1.5 g/m^3 เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิมากกว่า 25 องศาเซลเซียส (CABI, 2014)

Circium arvense, *Orobanche cernua*, *Orobanche aegyptiaca* และ *Orobanche romosa* เป็นวัชพืชที่สำคัญทางกักกันพืชที่สามารถปนเปื้อนหรือติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกได้ วิธีการตรวจสอบเมล็ดวัชพืชเหล่านี้ สามารถตรวจสอบเบื้องต้นด้วยตาเปล่า แว่นขยาย และกล้องจุลทรรศน์แบบสเตริโอ ตลอดจนปลูกสังเกตลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (CABI, 2014)

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* มีพืชอาศัยที่สำคัญ ได้แก่ มะเขือเทศ พริก มันฝรั่ง วิธีการตรวจสอบ ทำได้โดย Dilution plate method บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไป เช่น Nutrient Glucose Agar (NGA) และ Yeast Peptone Glucose Agar (YPGA) อาหารกึ่งเฉพาะเจาะจง (semi selective) เช่น KBNP และ ELISA ใช้ขั้นตอนตาม AGDIA reagent (CABI, 2014) การกำจัดเชื้อที่ติดมากับเมล็ดทำได้หลายวิธี เช่น การหมักเมล็ด หรือการแช่เมล็ดใน hydrochloric acid ซึ่งเป็นขั้นตอนปกติที่เกษตรกรใช้แยกเมล็ดออกจากเนื้อของผล และยังสามารถช่วยลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียได้ หรือการใช้สารเคมี o-hydroxydiphenyl 0.05%, calcium hypochlorite 0.5% และ sodium hypochlorite หรือการแช่เมล็ดในน้ำอุ่นที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 25 นาที สามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่ติดมากับเมล็ดได้โดยไม่มีผลกระทบต่อความงอก (Thyr *et al*., 1973; Dhanvantari, 1989; Fatmi *et al*., 1991; Dhanvantari and Brown, 1993 Dhanvantari, 1994).

Pseudomonas viridiflava มีพืชอาศัยหลายชนิด ได้แก่ พริก มะเขือเทศ พีทูเนีย พืชตระกูลกะหล่ำบางชนิด เช่น ผักกาดหัว กะหล่ำปลี และกะหล่ำดอก เป็นต้น เชื้อนี้สามารถติดมากับผิวของเมล็ดพืชได้ (Mariano and McCarter, 1992) วิธีการตรวจสอบเชื้อนี้ สามารถตรวจสอบบนโดยการเลี้ยงบนอาหารกึ่งเฉพาะเจาะจง เช่น T-5 medium ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส นาน 16-20 วัน (Gitaitis *et al*., 1997)

ศรีบำรุงการเกษตร

Alfalfa mosaic virus (AMV) มีพืชอาศัยหลายชนิด ได้แก่ คื่นฉ่าย ผักชี พริก มะเขือเทศ มะเขือม่วง มันฝรั่ง ยาสูบ พีทูเนีย หัวบีท แตงกวา ถั่วเหลือง ลูเซิร์น ถั่วแขก ถั่วลันเตา ถั่วพู ถั่วเขียว องุ่น เป็นต้น และจากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเบื้องต้น พบว่า AMV มีความสำคัญทางเศรษฐกิจสูง มีแหล่งแพร่กระจายกว้างขวาง สามารถติดกับเมล็ดพันธุ์ได้ปานกลาง และถ่ายทอดโรคกับเมล็ดพันธุ์ได้ (CABI, 2014) นอกจากนี้ AMV ยังสามารถถ่ายทอดโรคโดยเพลี้ยอ่อน *Acyrthosiphon pisum* และ*Myzus persicae* (Edwardson and Christie, 1997) วิธีการตรวจสอบไวรัส *Alfalfa mosaic virus* สามารถทำได้โดยการปลูกสังเกตอาการบนต้นกล้า (Seedling symptom test) ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) และตรวจสอบด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา เช่นการตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme – linked Immunosorbent Assay; ELISA (Bailiss and Offei, 1990) ซึ่งวิธีการนี้สามารถตรวจสอบเชื้อไวรัสที่มีความไวสูง แม้จะมีเชื้อไวรัสปริมาณต่ำหรืออนุภาคแตกหักก็สามารถตรวจได้ ให้ผลรวดเร็ว แน่นอน และยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมาก

Tobacco ringspot virus (TRSV) เป็นไวรัสที่มีพืชอาศัยกว้าง ส่วนใหญ่อยู่ในวงศ์ *Fabaceae* และ *Solanaceae* เช่น พริก มะเขือเทศและยาสูบ ไวรัสสามารถถ่ายทอดด้วยวิธีกล ถ่ายทอดผ่านเมล็ดพันธุ์และละอองเกสร ไวรัสแพร่กระจายโดยแมลงและไส้เดือนฝอยเป็นพาหะ โดยทั่วไปในสภาพธรรมชาติการแพร่ระบาดเกิดจากไส้เดือนฝอยพาหะ *Xiphinema americanum* โดยพบไวรัสในส่วน oesophagus และ stylte ของไส้เดือนฝอย ประสิทธิภาพในการถ่ายทอดไวรัสของไส้เดือนฝอยขึ้นกับชนิดพืชอาศัยและสภาพแวดล้อม ไส้เดือนฝอยสามารถถ่ายทอดไวรัสในแตงกวา มะเขือม่วง บานไม่รู้โรยและบานชื่น ได้ถึง 100% TRSV สามารถถ่ายทอดผ่านเมล็ดในพืชหลายชนิด เช่น เจอเรเนียม ผักกาดหอม บานชื่นและ Amaranthus ในเมล็ดถั่วเหลืองสามารถถ่ายทอดโรคได้ถึง 100% และมีผลทำให้ความงอกลดลง 5-42% สายพันธุ์ Andean potato calico สามารถถ่ายทอดในเมล็ดมันฝรั่ง 2-9% โดยไวรัสจะอยู่ที่ embryo และ perisperm แต่ไม่อยู่ที่ seed coat ไวรัสยังคงสามารถทำให้เกิดโรคได้หลังจากเก็บเมล็ดไว้นานถึง 5 ปีที่อุณหภูมิห้องหรือที่ 1-2 องศาเซลเซียส (CABI, 2014)

ความเสียหายที่เกิดจาก TRSV มีรายงานก่อให้เกิดความเสียหายอย่างรุนแรงในถั่วเหลือง โดยทำให้เกิดโรคตาไหม้ (soybean bud blight) ในช่วงระหว่างปี 1943–1947 โรคนี้ทำความเสียหายกับผลผลิตถั่วเหลืองในแถบตอนกลางของฝั่งตะวันตกของสหรัฐอเมริกา ถึง 25-100% และในอินเดียมีรายงานความว่าทำให้ผลผลิตลดลงถึง 66% นอกจากนี้ยังมีรายงานทำความเสียหายกับพืชในวงศ์ Fabaceae Solanaceae และ Cucurbitaceae ในประเทศอินเดียโรคใบจุดวงแหวนทำให้ผลผลิตมะเขือม่วงลดลง 55-70% (CABI, 2014)

การตรวจเชื้อ TRSV ในเมล็ดสามารถตรวจด้วยวิธีปลูกสังเกตอาการ ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ หรือด้วยเทคนิค ELISA และ serologically specifis electron microscopy (SSEM) (CABI, 2014)

Tomato bushy stunt virus (TBSV) เป็นสาเหตุโรคในมะเขือเทศ พริกหวาน และมะเขือม่วง อนุภาคไวรัสมีความคงทนสูงสามารถแพร่ไปกับดิน และน้ำโดยไม่ต้องอาศัยพาหะ สามารถอยู่ในดินได้นานถึง 3 เดือน ไวรัสสามารถถ่ายทอดด้วยวิธีกลได้ดี (CABI, 2014) Tomlinson and Faithfull (1984) ศึกษาการถ่ายทอดโรคในเมล็ดมะเขือเทศจากกต้นเป็นโรคซึ่งไม่แสดงอาการ พบว่าอัตราการเป็นโรคของต้นกล้าสูงถึง 50-65%

Potato spindle tuber viroid มีพืชอาศัยส่วนใหญ่อยู่ในวงศ์โซลานาซีอี้ ได้แก่ มันฝรั่ง มะเขือเทศ พริก ยาสูบ เป็นต้น ไวรอยด์ชนิดนี้ไม่แสดงอาการแน่ชัดในพริก สุคนธ์ทิพย์และคณะ (2554) ได้รายงานว่า

Potato spindle tuber viroid เป็นศัตรูพืชกักกันที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทย จากผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช พบว่าสามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์พืชวงศ์โซลานาซีอี้ และมีความเสี่ยงอยู่ในระดับสูง เนื่องจากมีการนำเข้ามาจากแหล่งที่มีการรายงานของไวรอยด์ (EFSA Panel on Plant Health, 2011) ทำให้ปัจจุบันในหลายประเทศ ได้แก่ เครือรัฐออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ ญี่ปุ่นและสาธารณรัฐเกาหลี ได้มีข้อกำหนดสำหรับการนำเข้าอย่างเข้มงวด เพื่อป้องกันการเข้ามาของไวรอยด์ชนิดนี้ ซึ่งมาตรการจัดการความเสี่ยง ได้แก่ เมล็ดต้องมาจากพื้นที่หรือแหล่งผลิตที่ปลอดจากเชื้อไวรอยด์ด้วยวิธีการจัดการอย่างเป็นระบบ (system approach) หรือต้องตรวจสอบเมล็ดด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล เช่น RT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction) และ nucleic hybridization (ปริเชษฐ์ และคณะ, 2549; สุคนธ์ทิพย์ และ Kai-Shu Ling, 2556) เนื่องจากไวรอยด์เป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชที่มีขนาดเล็กที่สุด เป็นวงอาร์เอ็นเอเส้นเดี่ยวที่ไม่มีโปรตีนห่อหุ้ม จึงไม่สามารถใช้วิธีการตรวจสอบ เช่น ELISA ได้

ผักกาดหอม มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lactuca sativa* เป็นพืชที่จัดในวงศ์ *Asteraceae* จัดเป็นสิ่งกำกัดตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 เมล็ดผักกาดหอมมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากหลายประเทศ ได้แก่ จีน เนเธอแลนด์ ฝรั่งเศส สหรัฐอเมริกา อิตาลี เม็กซิโก และเวียดนาม เป็นต้น เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากจีนและสหรัฐอเมริกา มีศัตรูพืชที่ร้ายแรงและยังไม่มีรายงานในประเทศไทยหลายชนิด เช่น เชื้อรา *Bremia lactucae, Botryotinia fukeliana, Cercosspora beticola, Golovinamyces cichoracearum, Pitium ultimum, Sclerotinia minor* แบคทีเรีย *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis, Rhizobium radiobacter, Rhizobium rhizogenes* ไวรัส *Alfalfa mosaic virus*, *Broad bean wilt virus*, *Lettuce mosaic virus*, *Tobacco streak virus*, *Tobacco black ring virus*, *Tomato spotted wilt virus* (CABI, 2014) บางชนิดเป็นศัตรูพืชที่สามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์หรือถ่ายทอดทางเมล็ดพันธุ์ได้หลายชนิด เช่น เชื้อรา *Alternaria cichorii, Botryotinia fukeliana, Cercosspora beticola, Septoria lactucae* แบคทีเรีย *Pseudomonas cichorii, Xanthomonas campestris* pv. *vitians* ไวรัส *Alfalfa mosaic virus*, *Broad bean wilt virus , Lettuce mosaic virus*, *Tomato black ring virus, Tobacco ringspot virus*, *Tobacco streak virus*, *Tomato spotted wilt virus* (CABI, 2014) เชื้อราสามารถตรวจสอบโดยวิธี Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003) เชื้อแบคทีเรียและไวรัสตรวจสอบโดยวิธี ELISA (Xu *et al.*, 1988; CABI, 2014) เมล็ดวัชพืชตรวจสอบโดยใช้แว่นขยาย กล้องสเตอริโอ กล้องจุลทรรศน์ วิเคราะห์ชนิดวัชพืชจากเมล็ดโดยใช้คู่มือในการจำแนก (Linda, 1993) แมลงตรวจสอบด้วยตาเปล่า กล้องสเตอริโอ กล้องจุลทรรศน์ จำแนกชนิดและโดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยา (Borrer, 1981)

Pseudomonas cichorii เป็นแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดในพืชผักหลายชนิด เชื้อแบคทีเรียอาศัยในดินและเศษซากพืช และอยู่ข้ามฤดูในวัชพืชและสามารถอยู่ในเมล็ดได้เป็นเวลานาน สภาพแวดล้อมที่เหมาะต่อการเกิดโรคคืออุณหภูมิและความชื้นสูง เชื้อเข้าทำลายพืชโดยแพร่กระจายไปกับน้ำ (Davis *et al*. 1997; Blancard *et al*., 2006; CABI, 2014)

กรมวิชาการเกษตร

Lettuce mosaic virus สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดผักกาดหอมได้ 0.1%-37% อัตราการถ่ายทอดทางเมล็ดขึ้นกับระยะที่เชื้อเข้าสู่ต้นพืช อุณหภูมิ สายพันธุ์ของเชื้อไวรัสและพืชอาศัย เมล็ดที่ติดเชื้อเป็นแหล่งแพร่กระจายของเชื้อที่สำคัญในระยะเริ่มแรก เชื้อสามารถแพร่กระจายในแปลงอย่างรวดเร็วโดยมีเพลี้ยอ่อนเป็นพาหะ ความสัมพันธ์ของไวรัสและแมลงพาหะเป็นแบบไม่คงทน (non-persistent) มีรายงานการระบาดอย่างรุนแรงของเชื้อไวรัสในฟลอริดาและแคลิฟอร์เนียโดยเชื้อแพร่ไปกับเมล็ดพันธุ์ในออสเตรเลียและสหรัฐอเมริกามีมาตรฐานการผลิตเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมต้องไม่พบเชื้อ *Lettuce mosaic virus* โดยสุ่มตัวอย่าง 30,000 เมล็ด แต่ในยุโรป ยอมให้มีเชื้อติดมากับเมล็ดได้ไม่เกิน 0.1 % (Davis *et al*., 1997; Blancard *et al*., 2006; CABI, 2014)

วิธีการตรวจเชื้อ *Lettuce mosaic virus* ในเมล็ดสามารถตรวจด้วยวิธีปลูกสังเกตอาการ โดยเพาะเมล็ด 30,000 เมล็ด และสังเกตอาการด่างบนใบเมื่อต้นกล้าอายุ 18-21 วัน (Kimble *et al*., 1975) เทคนิค ELISA สามารถตรวจไวรัสจากน้ำคั้นเมล็ดหรือจากต้นกล้าตรงและได้ผลดี โดยใช้ตัวอย่างเมล็ดอย่างน้อย 10,000 เมล็ด หรือต้นกล้าอย่างน้อย 2,000 ต้น (International Seed Federation, 2014)

Tomato black ring virus เป็นสาเหตุโรคที่มีพืชอาศัยกว้าง เช่น หอม กะหล่ำ พริก มะเขือเทศ แตงกวา สตรอเบอร์รี เป็นต้น เชื้อไวรัสแพร่กระจายโรคโดยมีไส้เดือนฝอยในสกุล *Longidorus* เป็นพาหะ เชื้อสามารถถ่ายทอดทางเมล็ด ผักกาดหอม ผักกาดหัว มะเขือเทศ และถั่วเหลือง ในอัตรา 3, 3-7, 20 และ 83% เชื้อไวรัสคงอยู่ในไส้เดือนฝอยได้ช่วงระยะเวลาสั้น แต่สามารถมีชีวิตอยู่รอดในเมล็ดได้เป็นเวลานาน เมล็ดจึงเป็นพาหะในการแพร่กระจายโรคที่สำคัญ (CABI, 2014)

Tobacco ringspot virus (TRSV) เป็นสาเหตุโรคในพืชหลายชนิด ทำให้เกิดอาการยอดไหม้ในถั่วเหลือง มีรายงานทำความเสียหายถึง 25-100% ในสหรัฐอเมริกา และ 66% ในอินเดีย โดยทั่วไปเชื้อไวรัสแพร่กระจายโรคโดยมีไส้เดือนฝอย *Xiphinema americanum* เป็นพาหะ นอกจากนี้ยังสามารถถ่ายทอดทางแมลงและไร แต่ในอัตราที่ต่ำมาก เชื้อไวรสสามารถถ่ายทอดผ่านเมล็ดพันธุ์ในพืชหลายชนิดเช่น มันฝรั่ง เจอราเนียม ผักกาดหอม และบานชื่น โดยเฉพาะในถั่วเหลืองอัตราการถ่ายทอดสูงถึง 100% และมีผลทำให้ความงอกลดลง 20% (CABI, 2014) มีรายงานการถ่ายทอดในเมล็ดผักกาดหอมได้ถึง 21% (Davis *et al*., 1997)การตรวจเชื้อ TRSV ในเมล็ดสามารถตรวจด้วยวิธีปลูกสังเกตอาการ ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ หรือ ด้วยเทคนิค ELISA และ serologically specifis electron microscopy (SSEM) (CABI, 2014)

มันฝรั่ง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Solanum tuberosum* เป็นพืชในวงศ์ *Solanaceae* จัดเป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้ามข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 ประเทศไทยมีการนำหัวพันธุ์มันฝรั่งมาเพื่อใช้ทำพันธุ์และเพื่อการอุตสาหกรรมผลิตมันฝรั่งทอด ปัจจุบันการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งเพื่อทำพันธุ์มีปริมาณมากและมีความเสี่ยงสูงที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามากับหัวพันธุ์ ซึ่งผู้นำเข้ามักจะส่งหัวพันธุ์กระจายไปในพื้นที่ต่างๆ ของประเทศ ปรียพรรณ และคณะ (2555) ได้ทำการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าในปี 2554 - 2555 จำนวน 82 ตัวอย่าง ตรวจพบศัตรูพืชกักกัน 1 ชนิด คือ *Spongospora subterranea* ในหัวพันธุ์จากสกอตแลนด์ จำนวน 13 ครั้ง ปริมาณ 838 ตัน ซึ่งพบว่า เกินเงื่อนไขที่กำหนดและได้ดำเนินมาตรการปฏิเสธการ

สำเนาเอกสารกรมวิชาการเกษตร

นำเข้า 5 ครั้ง ปริมาณ 264 ตัน ตรวจพบเชื้อที่ไม่ใช่ศัตรูพืชกักกันแต่ต้องมีมาตรการควบคุมคือ *Potato virus Y* ในหัวพันธุ์จากออสเตรเลีย 5 ครั้ง ปริมาณ 611 ตัน ซึ่งในจำนวนนี้พบว่าเกินเงื่อนไขที่กำหนดและได้ดำเนินมาตรการเผาทำลาย 1 ครั้ง 235 ตัน ประเทศสกอตแลนด์ แคนาดา และ ออสเตรเลีย มีศัตรูพืชของมันฝรั่ง ที่ยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทย เช่น *Globodera pallida, G. rostochiensis Synchytrium endobioticum* ศัตรูพืชเหล่านี้ถูกประกาศเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย (CAB, 2007; Richardson, 1990) และตามประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสกอตแลนด์ พ.ศ.2552 พบว่ามีศัตรูกักกันของหัวพันธุ์มันฝรั่งได้แก่ ไส้เดือนฝอย *Ditylenchus destructor Ditylenchus dipsaci* (potato race) เชื้อรา *Phoma foveata Polyscytalum pustulans Spongospora subterranean Spongospora subterranean Verticillium albo-atrum* ไวรัส *Alfalfa mosaic virus* (AMV) *Pepino mosaic virus* (PepMV) *Potato aucuba mosaic virus* (PAuMV) *Potato mop top virus* (PMTV) *Potato virus A* (PVA) *Potato virus M* (PVM) *Tobacco rattle virus* (TRV) *Tobacco ringspot virus* (TRSV) *Tobacco streak virus* (TSV) *Tomato black ring virus* (ToBRV) *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) ไฟโตพลาสมา *Potato witches' broom* ดังนั้นการนำหัวพันธุ์มันฝรั่ง จากแหล่งที่มีศัตรูพืชกักกันระบาดยิ่งมีความเสี่ยงมากหากศัตรูพืชนั้นสามารถติดเข้ามาตั้งรกรากและแพร่กระจายในประเทศได้ซึ่งจะมีผลต่อการเกษตรของไทยโดยเฉพาะการผลิตมันฝรั่ง

ประเทศไทยนำเข้าหัวมันฝรั่งมาจากประเทศที่มีรายงานการแพร่ระบาดของเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* สาเหตุโรค Potato ring rot ในมันฝรั่ง ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย พืชที่เป็นโรคจะแสดงอาการเหี่ยว ท่อน้ำท่ออาหารถูกทำลายเป็นสีน้ำตาล มีรายงานการแพร่ระบาดในเขตประเทศที่มีอากาศหนาวเย็น เช่น แคนาดา สหรัฐอเมริกา เนเธอร์แลนด์ และ สาธารณรัฐประชาชนจีน เป็นต้น (CABI, 2014) ลักษณะเชื้อมีรูปร่างเป็นท่อน มีคุณสมบัติเป็นแกรมบวก ไม่มี Flagella ที่ช่วยในการเคลื่อนที่ (Hayward and Waterston, 1964) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้ออยู่ที่ 21-23 องศาเซลเซียส (Nelson, 1984) พืชอาศัยหลัก ได้แก่ มันฝรั่ง Sugarbeet และมีรายงานกับพืชบางชนิดในวงศ์ *Solanceae* การแพร่ระบาดของเชื้อจะติดไปกับหัวพันธุ์ที่เป็นโรค และ อุปกรณ์เครื่องมือใช้และเครื่องจักรกลทางการเกษตร (Mansfield-Giese,1997) การป้องกันกำจัดที่ดีที่สุด คือการใช้หัวที่สะอาดปราศจากโรคหลีกเลี่ยงการก่อให้เกิดแผลขึ้นที่หัวมันที่ใช้ทำพันธุ์ (ศักดิ์, 2537) ความเสียหายที่เกิดจากเชื้อเข้าแพร่ระบาดในแปลงผลิตมันฝรั่งนั้นพบว่าจะเสียหายทั้งหมดไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ ทุกประเทศที่ผลิตหัวพันธุ์เพื่อการค้าจะต้องใช้ระบบรับรองการผลิต (Seed certification programes) เพื่อรับรองการปลอดศัตรูพืช (CABI, 2014)

ผักกาดหัว (radish) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Raphanus sativus* L.จัดเป็นสิ่งกำกัด ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 ในปี พ.ศ. 2554 ถึง ปี พ.ศ. 2556 มีการนำเข้ามาเฉลี่ย 10 ครั้งต่อปี มีปริมาณการนำเข้าเฉลี่ยปีละ 80,148.8 กิโลกรัม เพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์ขยายบริโภคในประเทศ และเพื่อการค้า จากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชสำคัญของผักกาดหัวเบื้องต้นจากนิวซีแลนด์ และญี่ปุ่น พบว่าผักกาดหัวยังมีศัตรูพืชที่สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดพันธุ์ ตลอดจนเป็นเชื้อโรคที่สามารถติดกับเมล็ดพันธุ์ได้ ดังนี้ เชื้อรา

กรมวิชาการเกษตร

Alternaria japonica และ *Verticillium dahliae* แบคทีเรีย *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* และวัชพืช *Chenopodium murale*, *Spergula arvensis*, *Senecio vulgaris*, *Circium arvense* (Vanacci and Pecchia, 1988; Shahri and Rahimian, 2002; CABI, 2014)

เชื้อรา *Alternaria japonica* เป็นเชื้อสาเหตุของพืชหลายชนิด สามารถเข้าทำลายได้ทุกส่วนของพืช ในส่วนของเมล็ดทำให้เกิดอาการสีเปลี่ยน เมล็ดเป็นแผล อาจทำให้เน่าได้ การแพร่กระจายสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ ทำให้เมล็ดเสียหายได้สูงถึง 80% (Vanacci and Pecchia, 1988; CABI, 2014) สามารถตรวจสอบเชื้อในเมล็ดโดยวิธี Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003)

เชื้อรา *Verticillium dahliae* เป็นสาเหตุโรคในพืชหลายชนิด ทำให้พืชมีอาการเหี่ยว การแพร่กระจายสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ 2-30% (CABI, 2014) สามารถตรวจสอบเชื้อในเมล็ดโดยวิธี Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003)

เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* สามารถแพร่กระจายติดไปกับเมล็ดได้ ทำให้เกิดโรคและสร้างความเสียหายในพืชหลายชนิด โดยทำเกิดอาการใบจุด รากเน่า ถ้าเป็นในระดับรุนแรงทำให้พืชตายได้ (CABI, 2014) ตรวจสอบโดยวิธี ELISA (Xu *et al.*, 1988) และ Selective medium (Sand *et al*, 1972; Cuppples and Kelman, 1980)

เมล็ดวัชพืช *Chenopodium murale*, *Spergula arvensis*, *Senecio vulgaris*, *Circium arvense* มีโอกาสปนเปื้อนติดมากับเมล็ดพันธุ์นำเข้า เมล็ดวัชพืชตรวจสอบโดยใช้แว่นขยาย กล้องสเตอริโอ กล้องจุลทรรศน์ วิเคราะห์ชนิดวัชพืชจากเมล็ดโดยใช้คู่มือในการจำแนก (Linda, 1993)

ข้าวโพด (*Zea may* L.) จัดเป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 ประเทศไทยนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากอินเดีย และสหรัฐอเมริกาในปี 2555-2556 จำนวน 190,584.5 กิโลกรัม (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2556) เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากอินเดียมีศัตรูพืชที่ร้ายแรงและยังไม่มีรายงานในประเทศไทย หลายชนิด (CABI, 2007) เช่น เชื้อรา *Peronosclerospora maydis* ในข้าวโพดสามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์และถ่ายทอดโรคผ่านทางเมล็ดพันธุ์ได้ (Bonde *et al*.,1982) มีรายงานความเสียหายของข้าวโพดที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Sclerospora graminicolla* ประมาณ 34 % (Gupta and Singh, 1996) ด้วงอิฐจัดเป็นแมลงศัตรูพืชในโรงเก็บกับเมล็ดพืชหลายชนิดเช่นข้าวโพดและมีรายงานแพร่ระบาดในอินเดียประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรปจัดเป็นศัตรูพืชกักกัน ระดับ A2 (Smith *et al.*, 1992) มีรายงานพบหญ้าแม่มด (*Striga asiatica*) แพร่ระบาดในแปลงผลิตข้าวโพดที่ปลูกทางบริเวณตอนใต้ของอินเดีย ทำให้ผลผลิตเสียหายประมาณ 21 % (CABI, 2014) สำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากสหรัฐอเมริการะหว่างปี 2555-2556 มีการนำเข้า จำนวน 3.026 กิโลกรัม เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากสหรัฐอเมริกามีศัตรูพืชที่ร้ายแรงและยังไม่มีรายงานในประเทศไทย หลายชนิด เช่น เชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis* พบครั้งแรกที่ เมือง nebraskensis สามารถถ่ายทอดโรคได้ทางเมล็ดพันธุ์อยู่ที่ระดับ 1.6 % (Schuster, 1975) ญี่ปุ่นได้ศึกษาพัฒนาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะอย่างที่เหมาสมสำหรับแยกเชื้อดังกล่าว (Aizawa *et al.*, 1997)เชื้อนี้

ศรีวิชัยการเกษตร

สามารถติดไปกับเมล็ดและถ่ายทอดโลกทางเมล็ดพันธุ์ได้ (CABI, 2014) หญ้าแม่มด (*Striga* spp.) พบแพร่ระบาดในแปลงผลิตข้าวโพดในประเทศสหรัฐอเมริกา (CABI, 2007) เชื้อแบคทีเรีย *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* (Smith *et al.*, 1992) พบการแพร่ระบาดในทุกแหล่งผลิตข้าวโพดในสหรัฐอเมริกาเป็นเชื้อที่ติดกับเมล็ดได้แต่การถ่ายทอดโรคผ่านทางเมล็ดพันธุ์นั้นอยู่ในระดับต่ำ (Block, 1996; McGee, 1999) เป็นต้น

กะหล่ำปลี (Cabbage) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Brassica oleracea* L. จัดเป็นสิ่งกำกัด ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 ในปี พ.ศ. 2554 ถึง ปี พ.ศ. 2556 มีการนำเข้ามาเฉลี่ย 26 ครั้ง ต่อปี มีปริมาณการนำเข้าเฉลี่ยปีละ 23,758 กิโลกรัม เพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์เพื่อการค้า จากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชสำคัญของกะหล่ำปลีเบื้องต้นจากนิวซีแลนด์ และญี่ปุ่น มีศัตรูพืชร้ายแรงหลายชนิดที่ยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทย โดยเฉพาะเชื้อสาเหตุโรคพืช เช่น เชื้อรา *Chalara elegans*, *Phytophthora megasperma*, *Plasmodiophora brassicae* และ *Verticillium dahliae* แบคทีเรีย *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* และเมล็ดวัชพืช เช่น *Circium arvense*, *Chenopodium album*, *Gallium aparine*, *Lolium temulentum*, *Polygonum aveculare*, *Polygonum convolvulus*, *Raphanus raphanistrum*, *Solanum carolinense* และ *Solanum elaeagnifolium* บางชนิดสามารถถ่ายทอดทางเมล็ดพันธุ์ ตลอดจนเป็นเชื้อโรคที่สามารถติดกับเมล็ดพันธุ์ได้ ดังนี้ เชื้อรา *Chalara elegans*, *Phytophthora megasperma* และ *Verticillium dahliae* แบคทีเรีย *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* (Labuschagne and Kotze, 1991; Shahri and Rahimian, 2002; Ozgonen and Gulcu, 2011; CABI, 2014)

เชื้อรา *Chalara elegans* ทำให้เกิดอาการรากเน่า สร้างความเสียหายให้กับพืชหลายชนิด สามารถแพร่กระจายโดยติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ สามารถตรวจสอบโดยวิธี Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003)

เชื้อรา *Phytophthora megasperma* เป็นสาเหตุโรคในพืชหลายชนิด สร้างความเสียหายให้กับพืชทำให้มีอาการโคนเน่า พืชสีเปลี่ยน ตายจากยอด หรือทำให้ต้นกล้าไหม้ สามารถแพร่กระจายได้โดยติดไปกับเมล็ดพันธุ์ สามารถตรวจสอบโดยวิธี Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003)

เชื้อรา *Verticillium dahlia* เป็นสาเหตุโรคในพืชหลายชนิด ทำให้พืชมีอาการเหี่ยว การแพร่กระจายสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ 2-30% (CABI, 2014) สามารถตรวจสอบโดยวิธี Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003)

เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* สามารถแพร่กระจายติดไปกับเมล็ดได้ ทำให้เกิดโรคและสร้างความเสียหายในพืชหลายชนิด โดยทำเกิดอาการใบจุด รากเน่า ถ้าเป็นในระดับรุนแรงทำให้พืชตายได้ (CABI, 2014) ตรวจสอบโดยวิธี ELISA (Xu *et al.*, 1988) และ Selective medium (Sand *et al*, 1972; Cuppples and Kelman, 1980)

เมล็ดวัชพืช *Circium arvense*, *Chenopodium albrum, Gallium aparine*, *Lolium temulentum, Polygonum aveculare*, *Polygonum convolvulus*, *Raphanus raphanistrum, Solanum carolinense* และ *Solanum elaeagnifolium* มีโอกาสปนเปื้อนติดมากับเมล็ดพันธุ์นำเข้า เมล็ด

กรมวิชาการเกษตร

วัชพืชตรวจสอบโดยใช้แว่นขยาย กล้องสเตอริโอ กล้องจุลทรรศน์ วิเคราะห์ชนิดวัชพืชจากเมล็ดโดยใช้คู่มือในการจำแนก (Linda, 1993)

ผักชี (Coriander: *Coriandrum sativum* L.) เป็นพืชในวงศ์ *Apiaceae* จัดเป็นสิ่งกำกัดตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 ในปี พ.ศ. 2555 - 56 ประเทศไทยนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักชีจากอิตาลีและสหรัฐอเมริกา ปริมาณรวมทั้งสิ้น 1,598,384 กิโลกรัม (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2556) นงพรและคณะ (2556) ได้ทำการศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักชีนำเข้าจากต่างประเทศ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2555 ที่กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักชีที่นำเข้าจากจีน 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 และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี 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 และจากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดพันธุ์ ตลอดจนเป็นศัตรูพืชที่สามารถติดกับเมล็ดพันธุ์ผักชีจากอิตาลี และสหรัฐอเมริกา พบว่าผักชีจากอิตาลี มีศัตรูพืชที่สำคัญ เช่น วัชพืช *Orobanche ramosa*, *Polygonum aviculare*, *Polygonum convolvulus*, *Chenopodium album* แบคทีเรีย *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae* ไวรัส *Alfalfa mosaic virus* และ *Celery mosaic virus* ส่วนผักชีจากสหรัฐอเมริกา มีศัตรูพืชที่สำคัญ เช่น วัชพืช *Emex australis*,*Orobanche ramosa*, *Polygonum aviculare*, *Polygonum convolvulus*, *Chenopodium album* แบคทีเรีย *Xanthomonas hortorum pv. carotae* และไวรัส *Alfalfa mosaic virus Emex australis*, *Orobanche ramosa*,*Polygonum aviculare*, *Polygonum convolvulus*, *Chenopodium album* เป็นวัชพืชที่สำคัญทางกักกันพืชที่สามารถปนเปื้อนหรือติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักชีได้ วิธีการตรวจสอบเมล็ดวัชพืชเหล่านี้ สามารถตรวจสอบเบื้องต้นด้วยตาเปล่า หรือแว่นขยายและกล้องจุลทรรศน์แบบสเตริโอ ตลอดจนปลูกสังเกตลักษณะทางพฤกษศาสตร์

Xanthomonas hortorum pv. *carotae* มีพืชอาศัยที่สำคัญ ได้แก่ ผักชี และแครอท จากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเบื้องต้น พบว่า มีความสำคัญทางเศรษฐกิจต่ำ มีแหล่งแพร่กระจายกว้างขวาง สามารถ

ศรีบัวการเกษตร

ติดกับเมล็ดพันธุ์ได้ปานกลาง สามารถควบคุมเชื้อโรคด้วยความร้อนอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที (Ark and Gardner, 1944) วิธีการตรวจสอบทำได้โดย Dilution plate method และเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง (semi selective media) เช่น Modified D5 medium (MD5) (Kuan *et al*., 1985) หรือ XCS medium (Williford and Schaad, 1984)

Alfalfa mosaic virus (AMV) มีพืชอาศัยหลายชนิด ได้แก่ คื่นฉ่าย ผักชี พริก มะเขือเทศ มะเขือม่วง มันฝรั่ง ยาสูบ พีทูเนีย หัวบีท แตงกวา ถั่วเหลือง ลูเซิร์น ถั่วแขก ถั่วลันเตา ถั่วพู ถั่วเขียว องุ่น เป็นต้น จากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเบื้องต้น พบว่า AMV มีความสำคัญทางเศรษฐกิจสูง มีแหล่งแพร่กระจายกว้างขวาง สามารถติดกับเมล็ดพันธุ์ได้ปานกลาง และถ่ายทอดโรคกับเมล็ดพันธุ์ได้ (CABI, 2014) นอกจากนี้ AMV ยังสามารถถ่ายทอดโรคโดยเพลี้ยอ่อน *Acyrthosiphon pisum* และ*Myzus persicae* (Edwardson and Christie, 1997) วิธีการตรวจสอบไวรัส *Alfalfa mosaic virus* สามารถทำได้โดยการปลูกสังเกตอาการบนต้นกล้า (Seedling symptom test) ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) และตรวจสอบด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา (Serological techniques) เช่น การตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme – linked Immunosorbent Assay; ELISA (Bailiss and Offei, 1990) ซึ่งวิธีการนี้สามารถตรวจสอบเชื้อไวรัส ที่มีความไวสูง แม้จะมีเชื้อไวรัสปริมาณต่ำหรืออนุภาคแตกหักก็สามารถตรวจได้ ให้ผลรวดเร็ว แน่นอน และยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมาก

คะน้า (Chinese kale) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Brassica alboglabra* หรือ *Brassica* oleracea var. *alboglabra* เป็นพืชวงศ์กะหล่ำ (*Brassicaceae*) เป็นพืชผักใบเขียวที่นิยมรับประทานทั่วไปโดยบริโภคส่วนของใบและลำต้น มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปเอเชีย ปลูกกันมากในประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน ฮ่องกง ไต้หวัน มาเลเซีย และประเทศไทย และจัดเป็นสิ่งกำกัด ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหลง ที่กำหนดเปนสิ่งกำกัด ขอยกเวน และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 ซึ่งกำหนดให้สวนหนึ่งสวนใดของพืชในวงศ์ *Brassicaceae* เป็นสิ่งกำกัด

นงพรและคณะ (2553) ได้ทำการศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์คะน้าที่นำเข้าจากต่างประเทศระหว่างเดือนตุลาคม 2552 – กันยายน 2553 โดยสุ่มตัวอย่างจากการนำเข้า 21 ตัวอย่าง จากประเทศนิวซีแลนด์ ญี่ปุ่น และสาธารณรัฐประชาชนจีน ตรวจพบเชื้อรา 7 ชนิด ได้แก่ *Alternaria brassicicola, Alternaria tenuis, Alternaria raphani, Alternaria triticicola*, *Chaetomium* sp., *Phoma* sp. และ *Ulocadium* sp. เชื้อแบคทีเรีย 1 ชนิด ได้แก่ *Streptomyces* sp., และวัชพืช 2 ชนิด ได้แก่ *Polygonum persicaria* และ *Rumex crispus* ซึ่งไม่เป็นเชื้อโรคสำคัญด้านกักกันพืช

จากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเบื้องต้นที่สามารถติดมากับทางเมล็ดพันธุ์ พบว่ามีศัตรูพืชที่สำคัญ เช่น วัชพืช *Amaranthus albus, Chenopodium album, Cuscuta campestris, Emex australis*, *Murdannia nudiflora, Orobanche ramose*, *Orobanche aegyptiaca*, *Polygonum aviculare*, *Polygonum convolvulus* แบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris* และ *Pseudomonas cichorii* ไวรัส *Beet westen yellows virus* เชื้อรา *Alternaria brassicicola*, *Chalara elegans, Cercosposa lactucae-sativa*, *Thanatephorus cucmeria* และ *Peronospor parasitica* แมลง *Crocidolomia paronana*, *Lipaphie erysimi* และ *Phyllotreta cruciferae* (CABI, 2014)

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

Amaranthus albus, Cuscuta campestris, Emex australis, *Orobanche ramosa*, *Polygonum aviculare*, *Polygonum convolvulus* และ *Chenopodium album* เป็นวัชพืชที่สำคัญทางกักกันพืชที่สามารถปนเปื้อนหรือติดมากับเมล็ดพันธุ์คะน้าได้ วิธีการตรวจสอบเมล็ดวัชพืชเหล่านี้ สามารถตรวจสอบเบื้องต้นด้วยตาเปล่า หรือแว่นขยาย และกล้องจุลทรรศน์แบบสเตริโอ ตลอดจนปลูกสังเกตลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (Linda, 1993)

Pseudomonas cichorii เป็นแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดในพืชผักหลายชนิด เชื้อแบคทีเรียอาศัยในดินและเศษซากพืช และอยู่ข้ามฤดูในวัชพืชและสามารถอยู่ในเมล็ดได้เป็นเวลานาน สภาพแวดล้อมที่เหมาะต่อการเกิดโรคคืออุณหภูมิและความชื้นสูง เชื้อเข้าทำลายพืชโดยแพร่กระจายไปกับน้ำ (Blancard *et al*., 2006; CABI, 2014)

Chalara elegans เป็นเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าพบในพืชผักหลายชนิด เชื้อแพร่ระบาดไปได้โดยติดไปกับเมล็ดพันธุ์ ท่อนพันธุ์ และวัสดุ เครื่องมือทางการเกษตร และสามารถอยู่ข้ามฤดูในพืชพืชอาศัยยืนต้นหลายชนิด สภาพแวดล้อมที่เหมาะต่อการเกิดโรคคืออุณหภูมิและความชื้นสูง (CABI, 2014) สามารถตรวจสอบโดยวิธี Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003)

Verticillium dahliae เป็นสาเหตุเชื้อรา สาเหตุของโรคในพืชหลายชนิด ทำให้พืชมีอาการเหี่ยว การแพร่กระจายสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ 2-30% (CABI, 2014) สามารถตรวจสอบโดยวิธี Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003)

ผักกาดกวางตุ้ง จัดเป็นสิ่งกำกัด ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ พ.ศ. ๒๕๕๐ ซึ่งกำหนดให้ส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชในวงศ์ Brassicaceae ได้แก่ ผักกาดกวางตุ้ง *Brassica chinensis* L. เป็นสิ่งกำกัด ในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ต้องแจ้งการนำเข้า และมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วยโดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยพืชกำหนดไว้แต่อย่างใด จึงมีความเสี่ยงที่จะมีศัตรูพืชติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศได้ ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ผักเพื่อการส่งออกที่สำคัญ ซึ่งทำรายได้ให้กับเกษตรกรจำนวนมาก ในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักจากแหล่งต่าง ๆ เพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์ในการเพาะปลูก บริโภค และผลิตเมล็ดพันธุ์ส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ ในปี 2557-2558 ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้ง ปริมาณรวมทั้งสิ้น 468,400 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่าประมาณ 53,280,000 บาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2558) เมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งเป็นพาหะของศัตรูพืชร้ายแรงหลายชนิดที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทย เช่น *Chenopodium album, Cirsium arvense, Polygonum aviculare, Rumex acetosella* และ *Phalaris minor* นงพรและคณะ (2552) เชื้อไวรัส *Broad bean wilt virus*, *Beet western yellows virus*, เชื้อรา *Verticillium dahlia* และ *Botryotinia fuckeliana* เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas cichorii* (CABI, 2014) จึงมีความเสี่ยงที่ศัตรูพืชเหล่านี้จะติดปะปนเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ และสามารถแพร่กระจาย ตั้งรกรากแพร่ระบาดในสภาพแวดล้อมหรือในแปลงปลูกของเกษตรกรของประเทศไทย ซึ่งจะก่อให้เกิดผลกระทบต่อการเกษตรในประเทศและการส่งออกเมล็ดพันธุ์ไปยังต่างประเทศ การศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ จึงมีความจำเป็นเพื่อให้ทราบชนิดของศัตรูพืชกักกัน แหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช โดย

ศรีษะการเกษตร

ข้อมูลดังกล่าวสามารถใช้เป็นฐานข้อมูลสำหรับอ้างอิงทางวิชาการ เพื่อกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสม รัดกุม และป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศได้

นงพร และคณะ (2552) ได้ทำการศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งที่นำเข้าจากต่างประเทศระหว่างเดือนตุลาคม 2550-กันยายน 2552 โดยทำการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชพบศัตรูพืชทั้งสิ้นจำนวน 32 ชนิด จัดเป็นแมลง 18 ชนิด เชื้อรา 5 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด ไวรัส 2 ชนิด ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด วัชพืช 3 ชนิด และเมื่อทำการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงแล้ว พบวัชพืชที่มีศักยภาพเป็นวัชพืชกักกันจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *Chenopodium album, Cirsium arvense, Polygonum aviculare, Rumex acetosella* และ *Phalaris minor*

ศรีวิเศษ และคณะ (2555) ได้ศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์วงศ์กะหล่ำที่นำเข้าจากต่างประเทศ โดยทำการศึกษาชนิดศัตรูพืชในเมล็ดพันธุ์นำเข้าคือ กะหล่ำดอก กะหล่ำปลี และผักกวางตุ้ง ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – เดือนกันยายน 2555 โดยสุ่มตัวอย่างและทำการวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการ พบว่าเมล็ดพันธุ์กวางตุ้งมีการนำเข้าจาก 9 ประเทศ ได้แก่ นิวซีแลนด์ สาธารณรัฐประชาชนจีน เดนมาร์ก อิตาลี อินเดีย ไต้หวัน ญี่ปุ่น มาเลเซียและฮ่องกง จำนวน 136 ตัวอย่าง น้ำหนัก 782.651 ตัน เมื่อทำการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชตรวจพบเชื้อ *Alternaria brassicicola, A. tenuis, Fusarium semitectum F. solani* และ *Ulocladium* sp.

จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่สามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งได้ เช่น *วัชพืช Chenopodium album, Cirsium arvense, Polygonum aviculare, Rumex acetosella Phalaris minor, Emex spinosa* และ *Spergula arvensis* เชื้อไวรัส *Turnip mosaic virus*, *Beet western yellows virus*, *Broad bean wilt virus*, *Turnip ringspot virus* เชื้อรา *Verticillium dahlia* และ*Botryotinia fuckeliana* เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas cichorii* (CABI, 2014)

Gao X., *et al*. (2016) ได้รายงานผลการศึกษาสุ่มสำรวจวัชพืชในไร่ข้าวสาลีของจังหวัดเหอหนาน ของสาธารณรัฐประชาชนจีนด้วยวิธีเดินสุ่มแบบซิกแซก 9 จุด พบวัชพืช 77 ชนิด จัดอยู่ใน 65 เจนเนอร่า 20 วงศ์ ส่วนใหญ่อยู่ในวงศ์ Poaceae, Asteraceae และ Cruciferae โดยวัชพืชที่สำรวจพบได้แก่ *Descurainia Sophia*, *Capcella bursa-pastoris*, *Avena fatua*, *Galium aparine*, *Veronica didyma*, *Lithospermum arvense*, *silene conoidea*, *Aelops tauschii*, *Bromus japonicas* และ *Sclerochloa kengiana* ซึ่งวัชพืชเหล่านี้เป็นวัชพืชที่สำคัญที่สามารถสร้างความเสียหายให้กับพืชปลูก

Wei **Y**., *et al*. (2011) ได้รายงานผลการสำรวจชนิดวัชพืชที่พบในแปลงปลูกข้าวสาลีหมุนเวียนกับผักกาดด้วยระบบอนุรักษ์การไถพรวนในจังหวัดชิงไห่ของสาธารณรัฐประชาชนจีน พบวัชพืช 55 ชนิด จัดอยู่ใน 22 วงศ์ โดยพบวัชพืชที่เด่น 4 ชนิด คือ *Elsholtzia densa* Benth, *Chenopodium album*, *Polygonum convolvulus* และ *thlaspi arvense* Linn. วัชพืชท้องถิ่น 9 ชนิด วัชพืชสามัญ 8 ชนิด และวัชพืชทั่วไป 34 ชนิด ซึ่งวัชพืชที่พบมากในแปลงเกษตรหมุนเวียนนี้จะเป็น *Avena fatua*, *Sonchus arvensis* Linn. และ *Chenopodium album*

ศรีวิชาการเกษตร

Phalaris minor พบแพร่ระบาดในแหล่งปลูกพืชของประเทศบราซิล อาเจนตินา ชิลี อิตาลี ฝรั่งเศส ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ สาธารณรัฐประชาชนจีน ญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ เกาหลี สหรัฐอเมริกา แคนาดา เม็กซิโก โบลิเวีย เปรู โคลัมเบีย เวเนซูเอล่า (Hafliger, *et al*., 1981)

Polygonum aviculare สามารถแพร่กระจายไปกับเมล็ดพันธุ์พืชปลูกโดยติดเปื้อนดินไปกับรองเท้า ล้อรถแทรคเตอร์ หรือนก นอกจากนี้ยังสามารถแพร่กระจายไปกับระบบน้ำชลประทาน สามารถงอกได้ที่อุณหภูมิ 8-25 องศาเซลเซียส (Holm *et al*., 1997)

Polygonum convolvulus L. เป็นวัชพืชที่ร้ายแรงในไร่ข้าวสาลีของประเทศแคนนาดา เคนย่า อาเจนตินา ออสเตรเลีย อัฟริกาใต้ ฟินแลนด์ แทนซาเนีย นิวซีแลนด์ สหรัฐอเมริกา แปลงผักของประเทศอาเจนตินา บัลแกเรีย ชิลี สหราชอาณาจักร *Avena futua* L. เป็นวัชพืชที่ร้ายแรงในไร่ธัญญพืชของประเทศอาเจนตินา แคนาดา อังกฤษ สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย เบลเยี่ยม ชิลี เม็กซิโก ฯลฯ นอกจากนี้ยังเป็นวัชพืชที่สำคัญในไร่ข้าวโพด ฝ้าย มันฝรั่ง ถั่ว ชา ทานตะวัน ทุ่งหญ้าเลี้ยงสัตว์ และพืชผักในอีกหลายประเทศของโลก *Cirsium arvense* (L.) Scop. เป็นวัชพืชร้ายแรงในไร่ข้าวสาลี ข้าวบาเลย์ ข้าวโอ๊ต ข้าวฟ่าง และธัญพืชของประเทศบัลแกเรีย สหราชอาณาจักร ฟินแลนด์ เยอรมัน อินเดีย อิหร่าน และนิวซีแลนด์ (Holm *et al*., 1977)

Chenopodium album, Cirsium arvense, Polygonum aviculare, Rumex acetosella Phalaris minor เป็นวัชพืชที่สำคัญทางกักกันพืชที่สามารถปนเปื้อนหรือติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งได้ วิธีการตรวจสอบเมล็ดวัชพืชเหล่านี้ สามารถตรวจสอบเบื้องต้นด้วยตาเปล่า แว่นขยาย และกล้องจุลทรรศน์แบบสเตริโอ ตลอดจนปลูกสังเกตลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (Linda, 1993)

ไฟโตพลาสมา (Phytoplasma) เป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชชนิดหนึ่งที่ไม่สามารถแยกและเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ และเป็นเชื้อที่อ่อนแอต่อสารปฏิชีวนะเตตราซัยคลินแต่ต้านทานต่อเพนนิซิลลิน การเจริญของเชื้อไฟโตพลาสมาภายในต้นพืชจะอยู่เฉพาะภายในเซลล์ท่ออาหาร (phloem) บริเวณ sieve cell เท่านั้น ซึ่งเชื้อมีลักษณะเป็นเซลล์ที่ไม่มีผนังเซลล์ (cell wall) มีเพียงเยื่อหุ้มเซลล์ (plasma membrane) ห่อหุ้มเซลล์เท่านั้น จึงทำให้มีรูปร่างไม่แน่นอน หลายรูปแบบ (pleomorphic หรือ polymorphic cell) ตั้งแต่ลักษณะกลม รี ยาว ลูกปัด จนถึงแยกเป็นเส้นสาย และมีขนาดโดยประมาณตั้งแต่ 200-1,000 นาโนเมตร สามารถเข้าทำลายและก่อโรคกับพืชได้มากกว่า 300 ชนิด นอกจากนี้เชื้อไฟโตพลาสมายังมีลักษณะเป็น obligate parasite อาศัยอยู่เฉพาะในส่วนของเซลล์ท่ออาหารของพืช ไม่สามารถเข้าสู่พืชได้โดยตรง ดังนั้นการถ่ายทอดเชื้อจากต้นหนึ่งไปยังอีกต้นหนึ่งต้องอาศัยพาหะนำไป อีกทั้งการที่เชื้อไม่มีผนังเซลล์จึงไม่สามารถถ่ายทอดได้โดยวิธีกลหรือวิธีการสัมผัส ซึ่งการถ่ายทอดจึงมีด้วยกัน 2 รูปแบบคือ 1) การถ่ายทอดภายในต้นพืช โดยการติดไปกับท่อนพันธุ์ การติดตาต่อกิ่ง และการถ่ายทอดผ่านทางเมล็ด 2) การถ่ายทอดระหว่างต้นพืช โดยการใช้พืชชั้นสูงที่เรียกว่า ฝอยทอง (*Cuscuta* spp.) ในการถ่ายทอดเชื้อและการถ่ายทอดโดยแมลงพาหะ ได้แก่ เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดด และเพลี้ยไก่ฟ้า กลุ่มอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมาจะแสดงอาการแตกต่างกันไป ส่วนใหญ่มักมีอาการเหลือง และมีอาการเฉพาะอื่น ๆ เช่น อาการแตกพุ่มแจ้ อาการแตกพุ่มฝอย และอาการดอกเขียว ซึ่งเชื้อไฟโตพลาสมาชนิดหนึ่ง ๆ อาจทำให้เกิดอาการหลายอาการร่วมกัน การเรียกชื่อโรคโดยส่วนใหญ่ประกอบไปด้วยชื่อสามัญของพืชและอาการ

กรมวิชาการเกษตร

ของโรคที่เห็นเด่นชัด (สุภาพร, 2552) และยังมีรายงานการถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดพันธุ์ เช่น ผักกาดก้านขาว มะเขือเทศ และข้าวโพด (Calari *et al*., 2011)

Candidatus Phytoplasma solani (Stolbur Phytoplasma) เป็นเชื้อไฟโตพลาสมาที่มีแหล่งแพร่กระจายอยู่ในประเทศจีน อินเดีย ฝรั่งเศส เยอรมนี ยูเครน และเช็ก เป็นต้น (CABI, 2018)

Candidatus Phytoplasma aurantifolia (Tomato big bud) เป็นไฟโตพลาสมาที่ทำให้พืชแสดงอาการใบม้วนขึ้น (upward curling) การชะลูดของกิ่ง (erect nature of branches) อาการยอดหด (short) ลำต้นหนา (thick stem) ใบผิดรูป (deformed leaves) ใบเป็นกระจุก (mass of leaves) ยอดเจริญผิดปกติ (erect shoot) และอาการพุ่มฝอย (bushy) (Pacific Pests and Pathogens, 2016)

Calari *et al*. (2011) ได้รายงานการถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดของเชื้อไฟโตพลาสมาในต้นกล้าของผักกาดก้านขาว (oilseed rape) มะเขือเทศ (tomato) และข้าวโพด (corn) โดยทำการเก็บรวบรวมเมล็ดพันธุ์พืชดังกล่าวจากต้นแม่ที่แสดงอาการและตรวจพบเชื้อไฟโตพลาสมาจากแหล่งต่าง ๆ นำมาเพาะจนได้ต้นกล้า จากนั้นจึงทำการสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัดสำเร็จรูป (The DNeasy Plant Mini Kit, Qiagen) ตรวจสอบเชื้อไฟโพลาสมาด้วยเทคนิค nested PCR และจัดจำแนกเชื้อด้วยเทคนิค RFLP หรือส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ซึ่งพบว่าในoilseed rape ตรวจพบเชื้อไฟโตพลาสมาหลายกลุ่ม ได้แก่ 16Sr I-B, 16Sr II และ 16Sr-V ส่วนในมะเขือเทศตรวจพบเชื้อไฟโตพลาสมากลุ่ม 16Sr I-B และ 16Sr XII และในข้าวโพดตรวจพบเชื้อไฟโตพลาสมากลุ่ม 16Sr I-B, 16Sr-V และ 16Sr XII ซึ่งพบการ mixed infection ด้วย

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

กิจกรรมที่ 1 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชและส่วนของพืชที่นำเข้าเพื่อขยายพันธุ์

การทดลองที่ 1.1 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากอินเดีย จีน สหรัฐอเมริกา และเนเธอร์แลนด์ (2559-2562)

การทดลองที่ 1.2 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา อินเดีย ญี่ปุ่น อิสราเอล ชิลี และฟิลิปปินส์ (2559-2564)

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ และวารสาร
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติค มาร์กเกอร์ คัตเตอร์ หลาว
3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี ชุดตรวจสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ และตู้บ่มเชื้อ
4. โรงเรือนปลูกพืชทดสอบ
5. พืชทดสอบ เช่น ต้นยาสูบ ต้นมะเขือเทศ
6. เมล็ดพันธุ์แตงโม

วิธีการปฏิบัติการทดลอง

แบ่งการดำเนินงานเป็น 3 ระยะ ดังนี้

ระยะที่ 1 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา และอินเดีย

(2559-2560 รวม 2 ปี)

ระยะที่ 2 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากญี่ปุ่นและอิสราเอล

(2561-2562 รวม 2 ปี)

ระยะที่ 3 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากชิลีและฟิลิปปินส์

(2563 -2564 รวม 2 ปี)

ขั้นตอนและวิธีในการวิจัย ดำเนินการตามขั้นตอนต่อไปนี้

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย เช่น ชีววิทยา วิธีการตรวจศัตรูพืชในเมล็ดพันธุ์ และวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากด่านตรวจพืช ตามมาตรฐาน International Seed Testing Association (ISTA, 2018) ปริมาณเมล็ดพันธุ์แตงโมที่ใช้สำหรับตรวจสอบศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการ น้ำหนัก 250 กรัม โดยสุ่มตามวิธีการดังนี้

2.1 การสุ่มตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในกระสอบ หรือภาชนะอื่นๆ ที่มีขนาดบรรจุของภาชนะแต่ละใบเท่าๆกัน โดยมีน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์จำนวน 15 กิโลกรัม ถึง 100 กิโลกรัม

2.1.1 เมล็ดพันธุ์จำนวน 1 – 4 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 3 ตัวอย่างจากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.2 เมล็ดพันธุ์จำนวน 5 – 8 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 2 ตัวอย่างจากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.3 เมล็ดพันธุ์จำนวน 9 – 15 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 1 ตัวอย่าง จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.4 เมล็ดพันธุ์จำนวน 16 – 30 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 15 ตัวอย่างจากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.5 เมล็ดพันธุ์จำนวน 31 – 59 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 20 ตัวอย่างจากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.6 เมล็ดพันธุ์จำนวนมากกว่าหรือเท่ากับ 60 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 30 ตัวอย่างจากภาชนะบรรจุทั้งหมด

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ ด้วยตาเปล่า สังเกตลักษณะสี ผิว และรูปร่างว่ามีอะไรผิดปกติหรือไม่ มีรอยเจาะ หรือแตกกระเทาะของเมล็ดพันธุ์หรือไม่ และจึงนำเมล็ดพันธุ์ที่สุ่มได้นำไปตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4. การตรวจศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4.1 ตรวจสอบและจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชขั้นละเอียด โดยทำการคัดแยกองค์ประกอบทางกายภาพได้แก่ เมล็ดพืชบริสุทธิ์ เมล็ดพืชอื่น และสิ่งเจือปน นำแต่ละส่วนมาชั่งหาน้ำหนัก แล้วนำมาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบโดย

4.1.1 ตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) เพื่อศึกษาและบันทึกลักษณะภายนอกของเมล็ด เช่น สี ผิว รูปร่างและลายบนผิวของเมล็ด วัดขนาดความกว้าง ยาวของเมล็ด

4.1.2 เปรียบเทียบกับตัวอย่างเมล็ดวัชพืชในพิพิธภัณฑ์และใช้คู่มือจำแนกเมล็ดพืช

4.1.3 จำแนกโดยปลูกดูลักษณะต่างๆตั้งแต่เริ่มงอกเป็นต้นกล้า ลักษณะใบ ดอก ผล

4.2 จำแนกกลุ่มของแมลงโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology)

4.3 จัดเตรียมตัวอย่างแมลงและไร โดย

กรมวิชาการเกษตร

4.3.1 นำตัวอย่างแมลงที่เก็บรวบรวมได้มาจัดรูปร่าง (set) บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) ตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณด้านหน้าตรงมุมของปีกขวา (บริเวณมุมที่ปีกจรดกัน) ใช้ปากคีบจัดขาทั้งสามคู่ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดินโดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด ตัวเต็มวัยขนาด เช่น เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดด และด้วงที่มีขนาดเล็กให้ติดลงบนกระดาษรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 30 – 60 วัน ขึ้นกับขนาดของแมลง

4.3.2 ทำสไลด์ถาวร แมลงจำพวกปากดูดที่มีขนาดเล็กเช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้ง และเพลี้ยหอย ต้องนำมาทำสไลด์ถาวร และนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เพื่อจำแนกชนิด

4.3.3 ไร ทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้ชัดเจน โดยจัดท่าทางของไรให้อยู่ในท่าคว่ำและท่าตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะต่างๆที่ใช้ในการจำแนก จากนั้น แล้วปิดสไลด์ด้วย cover glass ใช้ปากกาเขียนแก้ววงกลมล้อมรอบตัวไรทันทีหลังจากทำสไลด์เรียบร้อยแล้ว เพื่อสะดวกในการหาตัวไรได้ง่ายขึ้น นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ cover glass ด้วยน้ำยาทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บและพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

4.4 ตรวจเชื้อรา เช่น *Chalara elegans, Verticillium dahliae* ด้วยวิธี Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003) โดยการนำเมล็ดที่วางไว้ในภาชนะให้ความชื้นไปวางใต้แสง near ultra violet (NUV) โดยให้แสงสลับกับมืด 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน และตรวจจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) และกำลังขยายสูงต่อไป

4.5 ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ เชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli, Pseudomonas cichorii, Pseudomonas viridiflava, Xanthomonas cucurbitae* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์โดยวิธี Dilution plate method ตรวจสอบและจำแนกชนิดแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา เช่น Enzyme – linked Immunosorbent Assay (ELISA)

การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียด้วยเทคนิค ELISA (ชุดตรวจสอบของบริษัท Agdia) โดยมีขั้นตอน ดังนี้

1) ทำการเตรียม capture antibody เจือจางด้วย carbonate coating อัตรา 1:200 โดยหยอด capture antibody ในหลุม ELISA ปริมาตร 100 µl ต่อหลุม

2) บ่มจานหลุมในกล่องชื้นที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง หรือ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืน

3) ทำการล้างจานหลุมด้วย 1x PBST 2 ครั้ง ในครั้งสุดท้ายให้เคาะจานหลุมกับกระดาษให้แห้ง

4) ทำการหยอดเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นต่างๆ รวมถึง negative control (น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ) ลงในแต่ละหลุม แล้วบ่มจานหลุมในกล่องชื้นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ศรีบัวการเกษตร

5) ทำการล้างจานหลุมด้วย 1x PBST มากกว่า 2 ครั้ง ในครั้งสุดท้ายให้เคาะจานหลุมกับกระดาษให้แห้ง

6) ทำการเตรียมสาร alkaline phosphatase enzyme conjugate เจือจางด้วย RUB3 buffer อัตรา 1:200 โดยหยอดหลุมละ 100 µl (ควรเตรียม 10 นาที ก่อนใช้งาน) แล้วบ่มจานหลุมในกล่องชื้นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืน

7) ทำการล้างจานหลุมด้วย 1x PBST 7 ครั้ง ในครั้งสุดท้ายให้เคาะจานหลุมกับกระดาษให้แห้ง

8) ทำการเตรียมสาร PNP tablet จำนวน 1 เม็ด เจือจางด้วย PNP buffer ปริมาตร 5 ml. โดยเก็บสารละลายไว้ในที่มืด แล้วจึงหยอดสาร PNP solution หลุมละ 100 µl แล้วบ่มจานหลุมในอุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปวัดเครื่องอ่านอิไลซ่า ที่ความยาวคลื่น 405 (OD405) และทำการ

4.6 ตรวจและจำแนกชนิดไวรัส ได้แก่ เชื้อไวรัส *Squash mosaic virus, Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV), *Kyuri green mottle mosaic virus* (KGMMV) ที่ติดมากับเมล็ดด้วยวิธี ELISA โดยตรวจจากเมล็ดโดยตรง หรือตรวจจากต้นกล้าตามวิธีการที่เหมาะสมกับไวรัสแต่ละชนิด

5. เพาะเมล็ดพันธุ์ 25-50 เมล็ดต่อถุง และเก็บถุงเพาะที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เมื่อต้นกล้าเริ่มออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนพืช โดยสังเกตดูลักษณะอาการบริเวณโคนต้น ลำต้น ใบเลี้ยง และใบของต้นพืช บันทึกผล กรณีถ้าพบอาการผิดปกติให้นำส่วนของพืชไปทำการแยกเชื้อและจำแนกชนิด

6. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตหรือในโรงเรือนเพาะเมล็ดของบริษัทที่นำเข้า

7. จัดทำรายชื่อศัตรูที่ตรวจพบและสรุปผล

การบันทึกข้อมูล

1. ชนิดและลักษณะของศัตรูพืชที่ตรวจพบ

2. ภาพของศัตรูพืช และลักษณะอาการพืชที่ถูกทำลาย และเก็บตัวอย่างศัตรูพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

ระยะเวลาดำเนินการ

เริ่มงานวิจัย ตุลาคม 2562 ถึง กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

1. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. ด่านตรวจพืช เช่น ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ด่านตรวจพืชไปรษณีย์ ด่านตรวจพืชหนองคาย สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

3. แปลงปลูกของบริษัทและโรงเรือนเพาะเมล็ดของบริษัทที่นำเข้า ในจังหวัด เช่น จังหวัดขอนแก่น จังหวัดอุดรธานี จังหวัดหนองบัวลำภู

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 1.3 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา อินเดีย ญี่ปุ่น อิสราเอล ชิลี และเนเธอร์แลนด์ (2559-2564)

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ และวารสาร
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติค มาร์กเกอร์ คัตเตอร์ หลาว
3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี ชุดตรวจสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ และตู้บ่มเชื้อ
4. โรงเรือนปลูกพืชทดสอบ
5. พืชทดสอบ เช่น ต้นยาสูบ ต้นมะเขือเทศ
6. เมล็ดพันธุ์เมลอน

วิธีการปฏิบัติการทดลอง

แบ่งการดำเนินงานเป็น 3 ระยะ ดังนี้

ระยะที่ 1 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา และอินเดีย (2559-2560 รวม 2 ปี)

ระยะที่ 2 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากญี่ปุ่น และอิสราเอล (2561-2562 รวม 2 ปี)

ระยะที่ 3 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากชิลี และเนเธอร์แลนด์ (2563-2564 รวม 2 ปี)

ขั้นตอนและวิธีในการวิจัย ดำเนินการตามขั้นตอนต่อไปนี้

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย เช่น ชีววิทยา วิธีการตรวจศัตรูพืชในเมล็ดพันธุ์ และวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากด่านตรวจพืช ตามมาตรฐาน International Seed Testing Association (ISTA, 2018) ปริมาณเมล็ดพันธุ์เมลอนที่ใช้สำหรับตรวจสอบศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการ น้ำหนัก 150 กรัม โดยสุ่มตามวิธีการดังนี้

2.1 การสุ่มตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในกระสอบ หรือภาชนะอื่นๆ ที่มีขนาดบรรจุของภาชนะแต่ละใบเท่าๆกัน โดยมีน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์จำนวน 15 กิโลกรัม ถึง 100 กิโลกรัม

2.1.1 เมล็ดพันธุ์จำนวน 1 – 4 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 3 ตัวอย่างจากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.2 เมล็ดพันธุ์จำนวน 5 – 8 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 2 ตัวอย่างจากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.3 เมล็ดพันธุ์จำนวน 9 – 15 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 1 ตัวอย่างจากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.4 เมล็ดพันธุ์จำนวน 16 – 30 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 15 ตัวอย่างจากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.5 เมล็ดพันธุ์จำนวน 31 – 59 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 20 ตัวอย่างจากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.6 เมล็ดพันธุ์จำนวนมากกว่าหรือเท่ากับ 60 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 30 ตัวอย่างจากภาชนะบรรจุทั้งหมด

กรมวิชาการเกษตร

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ ด้วยตาเปล่า สังเกตลักษณะสี ผิว และรูปร่างว่ามีอะไรผิดปกติหรือไม่ มีรอยเจาะ หรือแตกกระเทาะของเมล็ดพันธุ์หรือไม่ และจึงนำเมล็ดพันธุ์ที่สุ่มได้นำไปตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4. การตรวจศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4.1 ตรวจสอบและจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชโดยทำการคัดแยกองค์ประกอบทางกายภาพได้แก่ เมล็ดพืชบริสุทธิ์ เมล็ดพืชอื่น และสิ่งเจือปน นำแต่ละส่วนมาชั่งหาน้ำหนัก แล้วนำมาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบโดย

4.1.1 ตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) เพื่อศึกษาและบันทึกลักษณะภายนอกของเมล็ด เช่น สี ผิว รูปร่างและลายบนผิวของเมล็ด วัดขนาดความกว้าง ยาวของเมล็ด

4.1.2 เปรียบเทียบกับตัวอย่างเมล็ดวัชพืชในพิพิธภัณฑ์และใช้คู่มือจำแนกเมล็ดพืช

4.1.3 จำแนกโดยปลูกดูลักษณะต่างๆตั้งแต่เริ่มงอกเป็นต้นกล้า ลักษณะใบ ดอก ผล

4.2 จำแนกกลุ่มของแมลงโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology)

4.3 จัดเตรียมตัวอย่างแมลงและไรโดย

4.3.1 นำตัวอย่างแมลงที่เก็บรวบรวมได้มาจัดรูปร่าง (set) บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) ตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณด้านหน้าตรงมุมของปีกขวา (บริเวณมุมที่ปีกจรดกัน) ใช้ปากคีบจัดขาทั้งสามคู่ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดินโดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด ตัวเต็มวัยขนาด เช่น เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดด และด้วงที่มีขนาดเล็กให้ติดลงบนกระดาษรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง อุณหภูมิ 50 - 60 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 30 - 60 วัน ขึ้นกับขนาดของแมลง

4.3.2 ทำสไลด์ถาวร แมลงจำพวกปากดูดที่มีขนาดเล็กเช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอย ต้องนำมาทำสไลด์ถาวร และนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เพื่อจำแนกชนิด

4.3.3 ไร ทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) หยด Hoyer’s solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาและจัดตัวอย่างของไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้ชัดเจน โดยจัดท่าทางของไรให้อยู่ในท่าคว่ำและท่าตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะต่างๆที่ใช้ในการจำแนก จากนั้นปิดสไลด์ด้วย cover glass ใช้ปากกาเขียนแก้ววงกลมล้อมรอบตัวไรทันทีหลังจากทำสไลด์เรียบร้อยแล้ว เพื่อสะดวกในการหาตัวไรได้ง่ายขึ้น นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ cover glass ด้วยน้ำยาทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บและพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

4.4 ตรวจเชื้อรา *Verticillium dahliae* ด้วยวิธี Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003) โดยการนำเมล็ดที่วางไว้ในภาชนะให้ความชื้นไปวางใต้แสง near ultra violet (NUV) โดยให้แสงสลับกับมืด 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน และตรวจจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) และกำลังขยายสูงต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

4.5 ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ เชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli, Pseudomonas cichorii, Pseudomonas viridiflava และ Xanthomonas cucurbitae* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์โดยวิธี Dilution plate method ตรวจสอบและจำแนกชนิดแบคทีเรียโดยวิธี Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียด้วยเทคนิค ELISA (ชุดตรวจสอบของบริษัท Agdia) โดยมีขั้นตอน ดังนี้

1) ทำการเตรียม capture antibody เจือจางด้วย carbonate coating อัตรา 1:200 โดยหยอด capture antibody ในหลุม ELISA ปริมาตร 100 µl ต่อหลุม

2) บ่มจานหลุมในกล่องชื้นที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง หรือ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืน

3) ทำการล้างจานหลุมด้วย 1x PBST 2 ครั้ง ในครั้งสุดท้ายให้เคาะจานหลุมกับกระดาษให้แห้ง

4) ทำการหยอดเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นต่างๆ รวมถึง negative control (น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ) ลงในแต่ละหลุม แล้วบ่มจานหลุมในกล่องชื้นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

5) ทำการล้างจานหลุมด้วย 1x PBST มากกว่า 2 ครั้ง ในครั้งสุดท้ายให้เคาะจานหลุมกับกระดาษให้แห้ง

6) ทำการเตรียมสาร alkaline phosphatase enzyme conjugate เจือจางด้วย RUB3 buffer อัตรา 1:200 โดยหยอดหลุมละ 100 µl (ควรเตรียม 10 นาที ก่อนใช้งาน) แล้วบ่มจานหลุมในกล่องชื้นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืน

7) ทำการล้างจานหลุมด้วย 1x PBST 7 ครั้ง ในครั้งสุดท้ายให้เคาะจานหลุมกับกระดาษให้แห้ง

8) ทำการเตรียมสาร PNP tablet จำนวน 1 เม็ด เจือจางด้วย PNP buffer ปริมาตร 5 ml. โดยเก็บสารละลายไว้ในที่มืด แล้วจึงหยอดสาร PNP solution หลุมละ 100 µl แล้วบ่มจานหลุมในอุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปวัดเครื่องอ่านอิไลซ่า ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร (OD405) และทำการบันทึกผล

4.6 ตรวจและจำแนกชนิดไวรัส ได้แก่ เชื้อไวรัส *Squash mosaic virus* (SqMV), *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV), *Kyuri green mottle mosaic virus* (KGMMV) ที่ติดมากับเมล็ดด้วยวิธี ELISA โดยตรวจจากเมล็ดโดยตรงหรือตรวจจากต้นกล้าตามวิธีการที่เหมาะสมกับไวรัสแต่ละชนิด

5. เพาะเมล็ดพันธุ์ 25-50 เมล็ดต่อถุง และเก็บถุงเพาะที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เมื่อต้นกล้าเริ่มออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนพืช โดยสังเกตดูลักษณะอาการบริเวณโคนต้น ลำต้น ใบเลี้ยง และใบของต้นพืช บันทึกผล กรณีถ้าพบอาการผิดปกติให้นำส่วนของพืชไปทำการแยกเชื้อและจำแนกชนิด

6. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตหรือในโรงเรือนเพาะเมล็ดของบริษัทที่นำเข้า ที่ช่วงอายุ 25-30 วัน

7. จัดทำรายชื่อศัตรูที่ตรวจพบและสรุปผล

การบันทึกข้อมูล

1. ชนิดและลักษณะของศัตรูพืชที่ตรวจพบ

2. ภาพของศัตรูพืช และลักษณะอาการพืชที่ถูกทำลาย และเก็บตัวอย่างศัตรูพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

ศรีอารักษ์กสิกร

ระยะเวลาดำเนินการ

เริ่มงานวิจัย ตุลาคม 2562 ถึง กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

1. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. ด่านตรวจพืช เช่น ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ด่านตรวจพืชไปรษณีย์ ด่านตรวจพืชเชียงใหม่ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

3. แปลงปลูกของบริษัทและโรงเรือนเพาะเมล็ดของบริษัทที่นำเข้าในจังหวัด เช่น จังหวัดขอนแก่น จังหวัดอุดรธานี จังหวัดหนองบัวลำภู

การทดลองที่ 1.4 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกา (2559-2562)

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ วารสาร และ ซีดีรอม CABI
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติค มาร์กเกอร์ คัตเตอร์ หลาว
3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี ชุดตรวจสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ ตู้บ่มเชื้อ
4. โรงเรือนปลูกพืชทดสอบ
5. พืชทดสอบ เช่น ต้นยาสูบ ต้นมะเขือเทศ
6. คู่มือการจำแนกศัตรูพืช

วิธีการปฏิบัติการทดลอง

แบ่งการดำเนินงานเป็น 2 ระยะ ดังนี้

ระยะที่ 1 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดีย และจีน (2559-2560 รวม 2 ปี)

ระยะที่ 2 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์และสหรัฐอเมริกา (2561-2562)

ขั้นตอนและวิธีในการวิจัย ดำเนินการตามขั้นตอนต่อไปนี้

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชของพริกที่นำเข้าจากต่างประเทศ โดยทำการสืบค้นข้อมูลจากฐานข้อมูล ตำราวิชาการ วารสารทางวิชาการ กฎระเบียบด้านกักกันพืชสำหรับการนำเข้าและส่งออกของต่างประเทศ และจากข้อมูลทางอิเล็กทรอนิกส์ เว็บไซต์ต่าง ๆ เพื่อค้นหาข้อมูลศัตรูพืชของพริก ข้อมูลรายชื่อศัตรูพืชที่มีรายงานในอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกาเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศไทย

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากด่านตรวจพืช ตามมาตรฐาน International Seed Testing Association (ISTA, 2018) ปริมาณเมล็ดพันธุ์พริกที่ใช้สำหรับตรวจสอบศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการ น้ำหนัก 150 กรัม โดยสุ่มตามวิธีการดังนี้

กรมวิชาการเกษตร

2.1 การสุ่มตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในกระสอบ หรือภาชนะอื่น ๆ ที่มีขนาดบรรจุของภาชนะแต่ละใบเท่า ๆ กัน โดยมีน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์จำนวน 15 กิโลกรัม ถึง 100 กิโลกรัม

2.1.1 เมล็ดพันธุ์จำนวน 1 – 4 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 3 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.2 เมล็ดพันธุ์จำนวน 5 – 8 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 2 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.3 เมล็ดพันธุ์จำนวน 9 – 15 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 1 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.4 เมล็ดพันธุ์จำนวน 16 – 30 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 15 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.5 เมล็ดพันธุ์จำนวน 31 – 59 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 20 ตัวอย่าง ขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.6 เมล็ดพันธุ์จำนวนมากกว่าหรือเท่ากับ 60 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 30 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ ด้วยตาเปล่า สังเกตลักษณะสี ผิว และรูปร่างว่ามีอะไรผิดปกติหรือไม่ มีรอยเจาะ หรือแตกกะเทาะของเมล็ดพันธุ์หรือไม่ และจึงนำเมล็ดพันธุ์ที่สุ่มได้นำไปตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4. การตรวจศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4.1 ตรวจสอบและจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืช เช่น วัชพืช เช่น *Ambrosia artemesiifolia, Circium arvense, Orobanche cernua, O.aegyptiaca* และ *O. ramosa* ขั้นละเอียดโดยทำการคัดแยกองค์ประกอบทางกายภาพได้แก่ เมล็ดพืชบริสุทธิ์ เมล็ดพืชอื่น และสิ่งเจือปน นำแต่ละส่วนมาชั่งหาน้ำหนัก แล้วนำมาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบ(Linda, 1993)

4.1.1 ตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) เพื่อศึกษาและบันทึกลักษณะภายนอกของเมล็ด เช่น สี ผิว รูปร่างและลายบนผิวของเมล็ด วัดขนาด ความกว้างและยาวของเมล็ด

4.1.2 เปรียบเทียบกับตัวอย่างเมล็ดวัชพืชในพิพิธภัณฑ์และใช้คู่มือจำแนกเมล็ดพืช

4.1.3 จำแนกโดยปลูกดูลักษณะต่าง ๆ ตั้งแต่เริ่มงอกเป็นต้นกล้า ลักษณะใบ ดอก และผล

4.2 จำแนกกลุ่มของแมลงโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology)

4.3 จัดเตรียมตัวอย่างแมลงและไร โดย

4.3.1 นำตัวอย่างแมลงที่เก็บรวบรวมได้มาจัดรูปร่าง (set) บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) ตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณด้านหน้าตรงมุมของปีกขวา (บริเวณมุมที่ปีกจรดกัน) ใช้ปากคีบจัดขาทั้งสามคู่ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดินโดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด ตัวเต็มวัยขนาด เช่น เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดด และด้วงที่มีขนาดเล็กให้ติดลงบนกระดาษรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 30 – 60 วัน ขึ้นกับขนาดของแมลง

ศรีวิชัยการเกษตร

4.3.2 ทำสไลด์ถาวร แมลงจำพวกปากดูดที่มีขนาดเล็กเช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอย ต้องนำมาทำสไลด์ถาวร และนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เพื่อจำแนกชนิด

4.3.3 ไร ทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้ชัดเจน โดยจัดท่าทางของไรให้อยู่ในท่าคว่ำและท่าตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ที่ใช้ในการจำแนก จากนั้นปิดสไลด์ด้วย cover glass ใช้ปากกาเขียนแก้ววงกลมล้อมรอบตัวไรทันทีหลังจากทำสไลด์เรียบร้อยแล้ว เพื่อสะดวกในการหาตัวไรได้ง่ายขึ้น นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ cover glass ด้วยน้ำยา ทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บ และพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

4.4 ตรวจเชื้อรา ด้วยวิธี Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003) โดยการนำเมล็ดที่วางไว้ในภาชนะให้ความชื้นไปวางใต้แสง near ultra violet (NUV) โดยให้แสงสลับกับมืด 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน และตรวจจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) และกำลังขยายสูงต่อไป

4.5 ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ เช่น เช่น เชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis, Pseudomonas corrugata, Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* ตาม ขั้นตอนดังต่อไปนี้

4.5.1 แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate ในกรณีที่เชื้อติดมาในปริมาณมากจะสามารถแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรงหลังจากทำการแยกเชื้อด้วยวิธี blotter method (Mathur and Kongdal, 2003) หรือทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี dilution plate โดยสุ่มเมล็ดตามมาตรฐาน นำมาแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที ล้างตามด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ เมื่อได้เมล็ดพันธุ์จึงนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบด แล้วนำผงของเมล็ดใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ (0.85% NaCl2) หรือบัฟเฟอร์ จำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยวางบนเครื่องเขย่า จากนั้นนำมาทำให้เจือจางในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ให้มีความเจือจางเป็น 10-1, 10-2, 10-3, 10-4 และ 10-5 ตามลำดับ ใช้ไปเปตต์ดูด suspension แต่ละความเข้มข้น จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) แล้วใช้แท่งแก้วลนไฟ ผึ่งให้เย็น และ spread ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

4.5.2 แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ดผิดปกติบนใบพืชหรือต้นพืช โดยการเพาะเมล็ดในดินนึ่งฆ่าเชื้อ จำนวน 100 เมล็ด จำนวน 2 ถุง นำถุงไปไว้ในโรงเรือนปลูกพืช และเก็บถุงเพาะที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เมื่อต้นกล้าออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชุ่มชื้นเป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนใบพืช เก็บใบพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธี dilution plate ตัดใบพืชที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิว ด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10

ศรีปทุมการเกษตร

เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ แล้วบดชิ้นส่วนในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาทำให้เจือจางเป็นลำดับจาก 10-1 ถึง 10-5 และดำเนินการเช่นเดียวกับ ขั้นตอนในข้อ 4.5.1

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

1) ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

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 ก็จะนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3) ทดสอบ hypersensitivity reaction บนยาสูบ โดยการฉีดสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียอายุ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 108 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เข้าไปในใบยาสูบ (*Nicotiana tabacum* L.) บริเวณใต้ใบโดยฉีดเข้าเนื้อใบระหว่างเส้นใบ สังเกตลักษณะอาการเซลล์ตายตรงเนื้อใบหลังการฉีดเชื้อ 24-48 ชั่วโมง หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช

4) ทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical properties) เช่น การใช้ยูเรีย การย่อยเจลาติน การย่อยเอสคูลิน และแป้ง reduce ไนเตรต ความสามารถใน การเจริญที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นต้น

5) ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัย (pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 108 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่นปลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยงหรือเนื้อใบของต้นพริกอายุ 2-3 สัปดาห์ ฉีดพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28 - 30 องศาเซลเซียส ตรวจลักษณะอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

4.6 ตรวจและจำแนกชนิดไวรัส เช่น *Alfalfa mosaic virus, Tobacco streak virus* ที่ติดมากับเมล็ดด้วยวิธี ด้วยวิธี Enzyme-linked Immunosorbent Assay; ELISA โดยตรวจจากเมล็ดโดยตรงและตรวจจากต้นกล้าตามวิธีการที่เหมาะสมกับไวรัสแต่ละชนิด

5. เพาะเมล็ดพันธุ์ เพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติของต้นพืชในโรงเรือนของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช โดยสังเกตดูลักษณะอาการบริเวณโคนต้น ลำต้น ใบเลี้ยง และใบ ของต้นพืช บันทึกผล กรณีถ้าพบอาการผิดปกติให้นำส่วนของพืชไปทำการแยกเชื้อและจำแนกชนิด

6. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตหรือในโรงเรือนเพาะเมล็ดของบริษัทที่นำเข้า จังหวัดเชียงใหม่ ตาก น่าน ขอนแก่น อุดรธานี หนองบัวลำภู สกลนคร และจังหวัดมุกดาหาร

7. จัดทำรายชื่อศัตรูพืชและสรุปผล

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกชนิดและลักษณะของศัตรูพืชที่ตรวจพบ

2. บันทึกภาพของศัตรูพืช และลักษณะอาการพืชที่ถูกทำลาย และเก็บตัวอย่างศัตรูพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

1) ห้องปฏิบัติการ และโรงเรือนปลูกพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

2) แปลงผลิตเมล็ดพันธุ์พริก ในจังหวัดตาก น่าน เชียงใหม่ ขอนแก่น อุดรธานี หนองบัวลำภู สกลนคร และจังหวัดมุกดาหาร

การทดลองที่ 1.5 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากจีน และสหรัฐอเมริกา (2559-2560)

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ วารสาร และ ซีดีรอม CABI
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติค มาร์กเกอร์ คัตเตอร์ หลาว
3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี ชุดตรวจสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ ตู้บ่มเชื้อ
4. โรงเรือนปลูกพืชทดสอบ
5. พืชทดสอบ เช่น ต้นยาสูบ ต้นมะเขือเทศ
6. คู่มือการจำแนกศัตรูพืช

วิธีการปฏิบัติการทดลอง

ขั้นตอนและวิธีในการวิจัย ดำเนินการตามขั้นตอนต่อไปนี้

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย เช่น ชีววิทยา วิธีการตรวจศัตรูพืชในเมล็ดพันธุ์ และวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากด่านตรวจพืช ตามมาตรฐาน International Seed Testing Association (ISTA, 2016a)

2.1 การสุ่มตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในกระสอบ หรือภาชนะอื่นๆ ที่มีขนาดบรรจุของภาชนะแต่ละใบเท่าๆกัน โดยมีน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์จำนวน 15 กิโลกรัม ถึง 100 กิโลกรัม

2.1.1 เมล็ดพันธุ์จำนวน 1 – 4 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 3 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.2 เมล็ดพันธุ์จำนวน 5 – 8 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 2 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.3 เมล็ดพันธุ์จำนวน 9 – 15 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 1 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.4 เมล็ดพันธุ์จำนวน 16 – 30 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 15 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

กรมวิชาการเกษตร

2.1.5 เมล็ดพันธุ์จำนวน 31 – 59 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 20 ตัวอย่าง ขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.6 เมล็ดพันธุ์จำนวนมากกว่า 60 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 30 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากกองใหญ่ที่ไม่อยู่ในภาชนะบรรจุ หรือระหว่างกระบวนการไหลของเมล็ดพันธุ์ โดยมีน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์จำนวนมากกว่า 100 กิโลกรัม

2.2.1 เมล็ดพันธุ์น้ำหนักไม่เกิน 500 กิโลกรัม สุ่มอย่างน้อย 5 ตัวอย่างขั้นต้น

2.2.2 เมล็ดพันธุ์น้ำหนัก 501 – 3,000 กิโลกรัม สุ่ม 1 ตัวอย่างขั้นต้น จากเมล็ดพันธุ์ทุก 300 กิโลกรัม แต่ต้องไม่น้อยกว่า 5 ตัวอย่างขั้นต้น

2.2.3 เมล็ดพันธุ์น้ำหนัก 3,001 – 20,000 กิโลกรัม สุ่ม 1 ตัวอย่างขั้นต้น จากเมล็ดพันธุ์ทุก 500 กิโลกรัม แต่ต้องไม่น้อยกว่า 10 ตัวอย่างขั้นต้น

2.2.4 เมล็ดพันธุ์น้ำหนักมากกว่า 20,001 กิโลกรัม สุ่ม 1 ตัวอย่างขั้นต้น จากเมล็ดพันธุ์ทุก 700 กิโลกรัม แต่ต้องไม่น้อยกว่า 40 ตัวอย่างขั้นต้น

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ ด้วยตาเปล่า สังเกตลักษณะสี ผิว และรูปร่างว่ามีอะไรผิดปกติหรือไม่ มีรอยเจาะ หรือแตกกระเทาะของเมล็ดพันธุ์หรือไม่ และจึงนำเมล็ดพันธุ์ที่สุ่มได้นำไปตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4. การตรวจศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4.1 ตรวจสอบและจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชขั้นละเอียดโดยทำการคัดแยกองค์ประกอบทางกายภาพ ได้แก่ เมล็ดพืชบริสุทธิ์ เมล็ดพืชอื่น และสิ่งเจือปน นำแต่ละส่วนมาชั่งหาน้ำหนัก แล้วนำมาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบโดย

4.1.1 ตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) เพื่อศึกษาและบันทึกลักษณะภายนอกของเมล็ด เช่น สี ผิว รูปร่างและลายบนผิวของเมล็ด วัดขนาดความกว้าง ยาวของเมล็ด

4.1.2 เปรียบเทียบกับตัวอย่างเมล็ดวัชพืชในพิพิธภัณฑ์และใช้คู่มือจำแนกเมล็ดพืช

4.1.3 จำแนกโดยปลูกดูลักษณะต่างๆตั้งแต่เริ่มงอกเป็นต้นกล้า ลักษณะใบ ดอก ผล

4.2 จำแนกกลุ่มของแมลงโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology)

4.3 จัดเตรียมตัวอย่างแมลงและไรโดย

4.3.1 นำตัวอย่างแมลงที่เก็บรวบรวมได้มาจัดรูปร่าง (set) บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) ตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณด้านหน้าตรงมุมของปีกขวา (บริเวณมุมที่ปีกจรดกัน) ใช้ปากคีบจัดขาทั้งสามคู่ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดินโดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด ตัวเต็มวัยขนาด เช่น เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดด และด้วงที่มีขนาดเล็กให้ติดลงบนกระดาษรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 30 – 60 วัน ขึ้นกับขนาดของแมลง

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

4.3.2 ทำสไลด์ถาวร แมลงจำพวกปากดูดที่มีขนาดเล็กเช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอย ต้องนำมาทำสไลด์ถาวร และนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เพื่อจำแนกชนิด

4.3.3 ไร ทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้ชัดเจน โดยจัดท่าทางของไรให้อยู่ในท่าคว่ำและท่าตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะต่างๆที่ใช้ในการจำแนก จากนั้นปิดสไลด์ด้วย cover glass ใช้ปากกาเขียนแก้ววงกลมล้อมรอบตัวไรทันทีหลังจากทำสไลด์เรียบร้อยแล้ว เพื่อสะดวกในการหาตัวไรได้ง่ายขึ้น นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ cover glass ด้วยน้ำยา ทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บ และพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

4.4 ตรวจเชื้อรา เช่น เชื้อรา *Alternaria cichorii, Botryotinia fukeliana, Cercosspora beticola, Septoria lactucae* ด้วยวิธี Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003) โดยการนำเมล็ดที่วางไว้ในภาชนะให้ความชื้นไปวางใต้แสง near ultra violet (NUV) โดยให้แสงสลับกับมืด 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน และตรวจจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) และกำลังขยายสูงต่อไป

4.5 ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย เช่น *Pseudomonas cichorii, Xanthomonas campestris* pv. *vitians* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์โดยวิธี Dilution plate method และ เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Agar plate method) ตรวจสอบและจำแนกชนิดแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา เช่น Enzyme – linked Immunosorbent Assay (ELISA)

4.6 ตรวจและจำแนกชนิดไวรัส เช่น *Alfalfa mosaic virus*, *Broad bean wilt viru, Lettuce mosaic virus*, *Tomato black ring virus, Tobacco ringspot virus*, *Tobacco streak virus*, *Tomato spotted wilt virus* ที่ติดมากับเมล็ดด้วยวิธี ELISA โดยตรวจจากเมล็ดโดยตรงหรือตรวจจากต้นกล้าตามวิธีการที่เหมาะสมกับไวรัสแต่ละชนิด

5. เพาะเมล็ดพันธุ์ เพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติของต้นพืชในโรงเรือนของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช โดยสังเกตดูลักษณะอาการบริเวณโคนต้น ลำต้น ใบเลี้ยง และใบ ของต้นพืช บันทึกผล กรณีถ้าพบอาการผิดปกติให้นำส่วนของพืชไปทำการแยกเชื้อและจำแนกชนิด

6. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตหรือในโรงเรือนปลูกพืชของบริษัทนำเข้าเมล็ดพันธุ์

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกชนิดและลักษณะของศัตรูพืชที่ตรวจพบ

2. บันทึกภาพของศัตรูพืช และลักษณะอาการพืชที่ถูกทำลาย และเก็บตัวอย่างศัตรูพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

กรมวิชาการเกษตร

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

1. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
2. ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
3. แปลงเกษตรกร

การทดลองที่ 1.6 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสกอตแลนด์ ออสเตรเลีย เนเธอร์แลนด์ และแคนาดา (2559-2562)

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ วารสาร และ ซีดีรอม CABI
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติค มาร์กเกอร์ คัตเตอร์ หลาว
3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี ชุดตรวจสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ ตู้บ่มเชื้อ
4. โรงเรือนปลูกพืชทดสอบ
5. พืชทดสอบ เช่น ต้นยาสูบ ต้นมะเขือเทศ
6. คู่มือการจำแนกศัตรูพืช

วิธีการปฏิบัติการทดลอง

แบ่งการดำเนินงานเป็น 2 ระยะ ดังนี้

ระยะที่ 1 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสกอตแลนด์ และออสเตรเลีย (2559-2560 รวม 2 ปี)

ระยะที่ 2 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งจาก เนเธอร์แลนด์ และแคนาดา (2561-2562 รวม 2 ปี)

ขั้นตอนและวิธีในการวิจัย ดำเนินการตามขั้นตอนต่อไปนี้

1. การสืบค้นข้อมูล และตรวจเอกสาร โดยทำการสืบค้นข้อมูลพืช ปริมาณการนำเข้า รายชื่อศัตรูพืชกักกันที่สำคัญของประเทศไทย และวิธีการตรวจศัตรูพืชเป้าหมาย

2. สุ่มตัวอย่างหัวมันฝรั่งที่นำเข้าตามมาตรฐาน ทำการสุ่มตัวอย่าง ณ จุดนำเข้า ด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบัง ท่าเรือกรุงเทพ และด่านตรวจพืชสาดกระบัง โดยทำการสุ่มตัวอย่าง 10 กระสอบ (กระสอบละ 25 กิโลกรัม) ต่อทะเบียนแปลงปลูก และทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบหัวพันธุ์มันฝรั่งด้วยตาเปล่า สังเกตลักษณะสี ผิว และรูปร่างว่ามีอะไรผิดปกติหรือไม่ มีรอยเจาะ หรือแตกของหัวมันฝรั่งหรือไม่ และจึงนำหัวพันธุ์มันฝรั่งที่สุ่มได้นำไปตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

3. การตรวจสอบและจำแนกชนิดศัตรูพืช เช่น เชื้อรา, เชื้อแบคทีเรีย และเชื้อไวรัสสาเหตุโรคพืชในห้องปฏิบัติการ ทำการแยกเชื้อหรือตรวจจำแนกชนิดศัตรูพืชที่พบด้วยวิธีการมาตรฐานในการ และจำแนกชนิดเชื้อรา โดย การตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและสูง การแยกเชื้อบริสุทธิ์ จำแนกเชื้อราโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา การจำแนกเชื้อราโดยใช้ข้อมูลทางพันธุกรรม สำหรับการจำแนกแบคทีเรีย หรือ ไวรัสและไวรอยด์ด้วยเทคนิค Enzyme – linked Immunosorbent Assay (ELISA), rPAGE , Indirect

กรมวิชาการเกษตร

immunofluorescent staining (IF), Polymerase Chain Reaction (PCR), Fluorescence in situ hybridization (FISH) , bioassay ตามความเหมาะสมแต่ละชนิดของเชื้อ

3.1 การตรวจตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา

3.1.1 ตรวจดูลักษณะอาการของโรค

เมื่อเชื้อราเข้าทำลายพืช ก็จะมีการสร้างส่วนเจริญ และส่วนขยายพันธุ์บนพืช ซึ่งสามารถตรวจดูได้ด้วยตาเปล่า หรือใช้แว่นขยาย และตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope)

3.1.2 การตรวจหาสาเหตุของโรค

ใช้เข็มเขี่ยส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อ ส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ได้เลย หรือตัดชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคให้บาง ๆ (section) และตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope)

3.1.3 การบ่มส่วนที่เป็นโรค (incubation)

นำส่วนชิ้นหัวพันธุ์มันฝรั่งที่เป็นโรควางบนกระดาษกรองและเติมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ลงบนกระดาษเพื่อให้ความชื้น บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28+2 องศาเซลเซียส นาน 1-3 วัน และตรวจดูลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนแผลภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) และนำไปเตรียมสไลด์เพื่อศึกษาลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงต่อไป

3.1.4 การเตรียมสไลด์ เพื่อตรวจดูเชื้อรา

- การเตรียมสไลด์ชั่วคราว เตรียมโดยวางชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคจากการ section หรือส่วนของเชื้อราที่เขี่ยออกมา ลงบน mounting medium หรือหยดน้ำบนสไลด์ แล้วปิดทับด้วย cover slips นำไปตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์

- การเตรียมสไลด์ถาวร ปฏิบัติเช่นเดียวกันแต่ใช้ lactophenol หรือ Shear's solution หรือย้อมสีด้วย cotton blue, acid fushcin และ seal cover slip ด้วยยาทาเล็บ จะสามารถเก็บไว้ศึกษาได้นานหลายเดือน

3.1.5 การแยกเชื้อราจากชิ้น หัวพันธุ์มันฝรั่ง (Tissue transplanting)

ตัดชิ้นส่วนหัวพันธุ์มันฝรั่งที่คาบเกี่ยวกันระหว่างส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติขนาด 3x3 มิลลิเมตร แช่ลงใน clorox 10% นาน 3-5 นาที เพื่อฆ่าเชื้อที่ผิวรอบนอก และนำมาซับด้วยกระดาษทิชชูที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วให้แห้งสนิท และวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ และจะต้องผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ด้วยอุณหภูมิและความดันไอน้ำที่แน่นอน อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ได้แก่ Potato dextrose agar (PDA), ½ Potato dextrose agar, Corn meal agar (CMA), Malt extract agar (MEA), Carrot agar (CA), V-8 juice agar (V-8), Water agar (WA) และ Selective media ได้แก่ RNV, BNPRV และบางชนิดอาจจะเติมสารปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย หลังจากวางชิ้นส่วนหัวพันธุ์มันฝรั่งลงบนอาหารแล้ว บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28+2 องศาเซลเซียส นาน 1-5 วัน แล้วแต่ชนิดของเชื้อ เมื่อเส้นใยเจริญออกมา ให้ตัดปลายเส้นใยของเชื้อราเจริญออกมาจากชิ้นส่วนหัวพันธุ์มันฝรั่งและเลี้ยงบนอาหาร แยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และนำไปจำแนกชนิดของเชื้อราต่อไป โดยเขี่ยเส้นใยลงบน mounting medium หรือหยดน้ำบนสไลด์ แล้วปิดทับด้วย cover slips นำไปตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์

3.1.6 การชักนำให้เชื้อราสร้างสปอร์

กรมวิชาการเกษตร

เชื้อราบางชนิดสร้างแต่เส้นใย ทำให้ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ ดังนั้นจะต้องชักนำให้เชื้อราสร้างสปอร์ โดยวางไว้ภายใต้แสง ultraviolet หรือเลี้ยงบนอาหาร CMA หรือ WA เป็นต้น

3.1.7 การจำแนกชนิดของเชื้อรา

โดยศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา ได้แก่ ลักษณะโคโลนีบนอาหาร ลักษณะเส้นใยไม่มีผนังกั้น (non septate) หรือมีผนังกั้น (septate) ลักษณะของส่วนขยายพันธุ์ สีเส้นใย สีสปอร์ และจำแนกชนิดโดยใช้คู่มือ (Barnett and Hunter, 1998; Ellis, 1971;1993 ; Hanlin, 1990; 1998)

3.2 การตรวจตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

แยกจากส่วนของที่มีอาการของโรคหัวพันธุ์มันฝรั่ง ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 4 ตารางมิลลิเมตร ระหว่างรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แต่ละชิ้นตัวอย่างนำมาล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70% 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งแล้ว 3 ครั้ง หลังจากฆ่าเชื้อที่ผิวเนื้อเยื่อพืช (surface sterilize) แล้วนำมาบดในน้ำกลั่น ใช้ loop จุ่มในพืชที่บด นำมา streak บนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร Potato semi-synthetic agar (PSA) หลังจากนั้นเก็บจานเลี้ยงเชื้อในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง แล้วเก็บโคโลนี ทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธี streak plate หลาย ๆ ครั้ง เก็บ single colony เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และจำแนกลักษณะสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชตามคุณสมบัติทางชีวเคมีและฟิสิกส์โดยจำแนกลักษณะสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชตามคุณสมบัติทางชีวเคมีและฟิสิกส์โดย

1) ศึกษาข้อมูลพื้นฐานของเชื้อ ศึกษาคุณสมบัติต่างๆทางชีวเคมีและฟิสิกส์ของเชื้อแบคทีเรีย (Schaad *et al*., 2001)

2) ทำการวิเคราะห์ด้วยระบบ Biolog system (Biolog, Itayward, Calif.) เพื่อจัดจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้คุณสมบัติการใช้ organic test substrates 95 ชนิด ของแต่ละชนิดเชื้อ เทียบกับฐานข้อมูลที่ได้มีการจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียไว้เรียบร้อยแล้ว

3.3 การตรวจตัวอย่างโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส

3.3.1 ตรวจดูลักษณะรูปร่างของเชื้อไวรัสสาเหตุด้วยกล้องจุลทัศน์อิเล็กตรอน

3.3.2 ดูลักษณะอาการและทดลองการถ่ายทอดด้วยวิธีการปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบ

3.3.3 จำแนกชนิดไวรัสด้วยวิธี Enzyme – linked Immunosorbent Assay (ELISA) ตามขั้นตอนดังนี้

1) แบ่งตัวอย่างใบพืชที่ต้องการตรวจสอบบดละเอียดในถุงพลาสติกด้วย Extraction buffer หรือสารละลาย packet 2 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร (ถ้าตัวอย่างเข้มข้นและเหนียวควรเพิ่ม buffer เป็น 1 มิลลิลิตร)

2) วางรูปแบบของแผ่น NCM ด้วยการทำเครื่องหมายที่ตัวแผ่น NCM หัวท้ายเพื่อเรียงตัวอย่างจาก 1 ถึงตัวอย่างสุดท้ายได้ชัดเจนตรงตารางที่เขียนขึ้น

3) แช่แผ่น NCM พร้อมกับวางกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่ตัดให้มีขนาดพอดีกับแผ่น NCM ใน TBS หรือสารละลาย packet 1 ประมาณ 5 นาที

4) คีบแผ่นกระดาษกรองเบอร์ 1 ขึ้นมาพร้อมกับแผ่น NCM ที่ได้แช่ไว้ วางลงบน

ศูนย์วิทยทรัพยากร

แผ่นกระดาษกรองเบอร์ 1 แผ่นใหม่ที่แห้งและมีขนาดใหญ่กว่า ใช้ pasture pipet ที่สะอาดรีดแผ่น NCM ให้แนบติดกับกระดาษกรอง

5) หยดตัวอย่างน้ำคั้นของพืช 1 - 2 หยด หรือ ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ลงในช่องตารางบนแผ่น NCM ตามรูปแบบที่วางไว้ไม่ให้สับสน เพราะจะมีผลต่อการวินิจฉัยโรคผิดตัวอย่างด้วย เมื่อหยดตัวอย่างเสร็จแล้วคีบแผ่น NCM ออกมาวางบนกระดาษสะอาดทิ้งไว้ประมาณ 10 - 20 นาที (แผ่นตัวอย่างนี้สามารถเก็บใส่ถุงพลาสติกแช่ตู้เย็นไว้ได้นาน 2 - 3 สัปดาห์)

6) นำแผ่นตัวอย่างที่แห้งแล้ว แช่ลงในกล่องสี่เหลี่ยมที่มี (blocking solution) อยู่ 10 ml (TBS ปริมาตร 20 มิลลิลิตร + packet 3 + 0.8 มิลลิลิตร 25% titon x 100) แช่นาน 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง หรือ ประมาณ 27-30 องศาเซลเซียส

7) เท blocking solution ออก ใส่ส่วนผสมของ As ORSV และ CyMV ใน buffer TBS + 2% milk หรือ blocking solution นั้นเอง ในอัตรา 20 ไมโครลิตร TBS 2% milk แช่นาน 1 ชั่วโมง

8) ล้างแผ่น NCM ด้วย T-TBS 3 ครั้ง ๆ ละ 3 นาที

9) เทส่วนผสม GAR 140 ไมโครลิตร ใน 10 มิลลิลิตร TBS+2% milk บ่มปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง

10) ล้างแผ่น NCM อีกครั้งด้วย T-TBS 3 ครั้ง ๆ ละ 3 นาที

11) เทส่วนผสม substrate รอดูผลประมาณ 5-30 นาที เมื่อเกิดปฏิกิริยาสีชมพูเข้มตามต้องการแล้วเท substrate ออก เทน้ำกลั่นลงแทน เป็นการล้างเพื่อหยุดปฏิกิริยา

หมายเหตุ blocking solution แต่ละครั้งจะเตรียมได้ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร สามารถแบ่งใช้ในการ blocking ในข้อ 6 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แบ่งใช้ในข้อ 7 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และใช้ในข้อ 9 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ในกรณีที่ตัวอย่างมีไม่เกิน 20 ตัวอย่าง

12) วิธีการเตรียม Substrate

ละลาย buffer 5 (0.25% AS- MX) 1 ml ใน 5 มิลลิลิตร ของ buffer 4 (0.2 Tris Hcl pH 8.2) ละลาย Fast red TR-salt ใน 6 มิลลิลิตร ของ buffer 4 เทส่วนผสม 1 และ 2 รวมกัน ผสมกันแล้วเทลงในกล่องแช่แผ่น NCM เขย่าเบาๆ แล้วสังเกตปฏิกิริยาสีที่เกิดขึ้น ใช้เวลาประมาณ 5-30 นาที ก็เห็นสีชัดเจนถ้าเป็นไวรัสจะเกิดสีชมพู ถ้าไม่มีไวรัสก็ไม่เกิดสีชมพู

3.3.4 การตรวจสอบด้วยวิธี RT-PCR (Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction)

1) สกัด DNA บริสุทธิ์ ด้วย CAP buffer

2) ทำปฏิกิริยา reverse transcription เพื่อสังเคราะห์ C-DNA

3) ทำปฏิกิริยา PCR เพื่อสังเคราะห์ DNA ของไวรัส

4) วิเคราะห์ผลด้วย electrophorysis

3.4 การตรวจจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยศัตรูพืช

ศูนย์วิทยทรัพยากร

สามารถแยกไส้เดือนฝอยออกจากส่วนหัวของมันฝรั่งสามารถทำได้หลายวิธีการ เช่น การแช่น้ำ (water soaking) ทำได้โดยการใช้ใบมีดเฉือนบริเวณแผลนั้นเป็นชิ้นบางๆ และแช่ในน้ำกลั่นประมาณ 1 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยจะเคลื่อนที่ออกมาอยู่ในน้ำ แล้วตรวจจำแนกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชบางชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เช่น *Ditylenchus dipsaci* และ *Ditylenchus destructor* เป็นต้น ส่วนไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของมันฝรั่งที่สำคัญชนิดหนึ่ง คือ Potato cyst nematode (*Globodera rostochiensis* และ *G. pallida*) สามารถได้โดยตรง โดยตรวจสอบซีสต์ของไส้เดือนฝอย ด้วยแว่นขยาย หรือกล้องจุลทรรศน์

3.5 การตรวจจำแนกแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืช

1) ตรวจตัวอย่างหัวมันฝรั่งด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) เมื่อพบแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืช ให้เก็บรวบรวมศัตรูพืชดังกล่าว พร้อมกับบันทึกรายละเอียด เช่นส่วนของพืชที่พบ ลักษณะการเข้าทำลาย วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง ส่งให้กลุ่มวิจัยกีฏ และสัตววิทยาตรวจวิเคราะห์ชนิดต่อไป

2) วิธีการเก็บตัวอย่างแมลง ไร และ สัตว์ศัตรูพืช เพื่อตรวจวิเคราะห์ชนิดที่แตกต่างกันตามกลุ่มของ แมลง ไร และ สัตว์ศัตรูพืช ผีเสื้อ ด้วง แมลงสาบ ตั๊กแตน มวน แมลงวัน เพลี้ยจั๊กจั่น: ใส่ขวดฆ่า เมื่อตายแล้วจึงเก็บใส่ของสามเหลี่ยม นำไปจัดรูปร่าง และอบให้แห้งเพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน มด ไร: ใช้พู่กันเขี่ยดวงในน้ำยาพิเศษเฉพาะเพลี้ยไฟ (AGA) นำไปทำสไลด์ถาวรและ อบให้แห้ง สำหรับศัตรูพืช ในระยะหนอนตัวอ่อนต้องนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย แล้วนำไปจัดรูปร่างหรือทำสไลด์ถาวร ขึ้นอยู่กับชนิดของแมลง

3) จำแนก และวิเคราะห์ชนิดของแมลง ไร และ สัตว์ศัตรูพืช

3.6 การตรวจจำแนกชนิดของวัชพืช

3.6.1 ตรวจวัสดุที่ปนมาตามด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope)

3.6.2 ถ้าตรวจพบศัตรูพืชหรือเมล็ดที่ปะปนมา ดำเนินการจำแนกชนิด

3.6.3 นำเมล็ดพืชที่ตรวจพบ ศึกษาความงอก ความมีชีวิต หรือกรณีที่ยังจำแนกชนิดไม่ได้นำมาปลูกเพื่อศึกษาจากที่ต้นเจริญเติบโต ศึกษาหรือสืบค้นข้อมูลทางด้านชีววิทยา ในกรณีที่ยังจำแนกชนิดเมล็ดพืชได้ และจัดเก็บตัวอย่างพืช หรือเมล็ดพืช ที่ปะปนมา เพื่อเป็นตัวอย่างแห้งต่อไป

4. ตรวจวินิจฉัยดินที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่ง และตรวจหาศัตรูพืชที่อาจติดมากับดิน

5. จัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบและสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

6. วิเคราะห์ผลสรุปและเขียนรายงาน

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกชนิดและลักษณะของศัตรูพืชที่ตรวจพบ

2. บันทึกภาพของศัตรูพืช และลักษณะอาการพืชที่ถูกทำลาย และเก็บตัวอย่างศัตรูพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

1. ด่านตรวจพืชลาดกระบัง สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

2. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ศูนย์วิทยทรัพยากร

3. แปลงเกษตรกร

การทดลองที่ 1.7 การตรวจติดตามเชื้อ *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากต่างประเทศ (2559 - 2560)

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ วารสาร
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติค มาร์กเกอร์ คัตเตอร์ หลาว
3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี ชุดตรวจสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ ตู้บ่มเชื้อ
4. โรงเรือนปลูกพืชทดสอบ
5. พืชทดสอบ เช่น ต้นยาสูบ ต้นมะเขือเทศ

วิธีการปฏิบัติการทดลอง

มีขั้นตอนและวิธีในดำเนินการการวิจัยดังต่อไปนี้

1. สืบค้นและรวบรวมข้อมูลการนำเข้ามันฝรั่งจากประเทศที่มีรายงานการแพร่ระบาดของเชื้อแบคทีเรีย *Clavibactermichiganensis* subsp. *sepedonicus* (cms) สาเหตุโรค Potato ring rot ของมันฝรั่ง สำหรับใช้ตรวจสอบกับเอกสารประกอบการนำเข้าแต่ละครั้ง (lot) ที่จุดนำเข้า ณ ด่านตรวจพืช
2. การสุ่มเก็บตัวอย่าง

2.1 สุ่มตัวอย่างมันฝรั่งตามข้อกำหนดและเงื่อนไขการนำเข้าจำนวน 600 หัว ต่อการนำเข้าในแต่ละครั้ง เพื่อตรวจสอบดินที่ติดมากับหัวพันธุ์ และ นำหัวพันธุ์มันฝรั่งเก็บใส่ถุงกระดาษและใส่ในถุงพลาสติกรัดปากถุงอีกชั้นหนึ่งบันทึกข้อมูลตัวอย่างที่เก็บเช่นชื่อพันธุ์ประเทศที่นำเข้า ผู้นำเข้า ปริมาณการนำเข้า วันที่เก็บตัวอย่าง เป็นต้น

2.2 เก็บตัวอย่างไว้ในกล่องรักษาความเย็นอุณหภูมิไม่เกิน 25 องศาเซลเซียส และนำไปแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ

3. การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (cms) สาเหตุโรค Potato ring rot ของมันฝรั่ง

3.1 เจาะเนื้อเยื่อของท่อลำเลียงตรงส่วนหัวที่ติดกับ rhizome (heel end) ประมาณ10 กรัม

3.2 บดตัวอย่างเนื้อเยื่อในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 2 มิลลิลิตร

3.3 เตรียมserial dilution เพื่อเจือจางน้ำคั้นถึงความเข้มข้น10^{-4}

3.4 หยดน้ำคั้นที่ไม่ได้เจือจางและที่เจือจางแล้วความเข้มข้น10^{-1} , 10^{-2}, 10^{-3} และ10^{-4}ปริมาตร100 ไมโครลิตรลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NCP 88 และใช้แท่งแก้วโค้งงอเกลี่ยให้ทั่วหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.5 บ่มเชื้อไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 21-23 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1-2 สัปดาห์ โคโลนี (colony) ของเชื้อ *Cms* จะปรากฏบนอาหารเลี้ยงเชื้อภายใน 5 วันหลังจาก 7-10 วันจะเห็นโคโลนีเป็นสีขาวหรือสีครีมมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5-1.5 มิลลิเมตร ลักษณะกลมหรือรูปร่างไม่แน่นอนขอบเรียบนูนเป็นเมือกมันวาวและหลังจากบ่มเชื้อไว้ 10-12 วันโคโลนีของเชื้อจะมีสีค่อนข้างเหลือง

กรมวิชาการเกษตร

3.6 แยกเชื้อให้บริสุทธิ์อีกครั้งโดยใช้ลูปแตะโคโลนีที่คาดว่าเป็นเชื้อ *Cms* ไป streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NCP 88 หรือ NBY และเลือกโคโลนีเดี่ยวไปเลี้ยงในหลอดอาหารเอียง (slant agar) ต่อไป

3.7 ทดสอบแกรมของเชื้อที่แยกได้ โดยเชื้อ *Cms* เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก

4. การทดสอบเชื้อบนพืชทดสอบโดยใช้ต้นมะเขือ (Eggplant Bioassay)

เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่างพืชเป็นเชื้อ *Cms* หรือพิสูจน์ว่าในน้ำคั้นจากตัวอย่างพืชบดมีเชื้อ *Cms* อยู่ การปลูกเชื้อลงต้นมะเขือนั้น นอกจากจะเป็นการพิสูจน์เชื้อแล้ว ยังเป็นการเพิ่มปริมาณเชื้อได้อีกด้วย

4.1 นำ suspension ของเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากตัวอย่างพืชหรือน้ำคั้นตัวอย่างพืชปริมาตร 50 ไมโครลิตรใช้เข็มฉีดยาขนาดไม่น้อยกว่า 23G ฉีดเข้าต้นมะเขือเทศขนาดอายุที่มีใบจริงแล้วไม่เกิน 3 ใบไอโซเลท หรือตัวอย่างละ 5 ต้นโดยฉีดเข้าลำต้นเหนือใบเลี้ยง ต้นควบคุมฉีดด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อโดยหยุดให้น้ำกับต้นมะเขือก่อนปลูกเชื้อ 1 วัน เพื่อลดแรงดันเต่ง

4.2 เก็บต้นมะเขือที่ปลูกเชื้อแล้วไว้ที่อุณหภูมิไม่เกิน 25 องศาเซลเซียสความชื้นสัมพัทธ์ไม่น้อยกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 40 วัน รดน้ำอย่างสม่ำเสมอ

4.3 สังเกตรอยเขียวเข้มหรือรอยด่างซีดที่อยู่ระหว่างเส้นใบซึ่งหลังจากนั้นประมาณ 10 วันจะแสดงอาการเหี่ยวและใบไหม้โดยเนื้อเยื่อรอบอาการไหม้จะเป็นสีเหลืองหลังจากปลูกเชื้อแล้ว 40 วัน ถ้าต้นมะเขือยังคงเป็นปกติ ไม่แสดงอาการใดๆ แสดงว่าเชื้อที่ฉีดเข้าต้นมะเขือไปไม่ใช่เชื้อ *Cms* หรือ ในน้ำคั้นไม่มีเชื้อ *Cms*

4.4 แยกเชื้อจากต้นมะเขือที่แสดงอาการใบเหี่ยวหรือไหม้โดยตัดลำต้นเหนือบริเวณที่ปลูกเชื้อขึ้นมา 2 เซนติเมตร และใบที่แสดงอาการเหี่ยว นำไปบดในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อทำให้เจือจางและเกลี่ยบนหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อตามวิธีการแยกเชื้อจากต้น และหัวมันฝรั่งข้างต้นหลังจากนั้นประมาณ 3-5 วัน ให้สังเกตดูโคโลนีของเชื้อที่คล้ายกับโคโลนีของเชื้อ *Cms* เพื่อนำไปแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์อีกครั้ง

5. การตรวจจำแนกชนิด ด้วยวิธี Enzyme – linked Immunosorbent Assay (ELISA)

หรือ วิธี Polymerase Chain Reaction (PCR)

วิธี ELISA โดยใช้ชุดตรวจสอบ ของ agdia สำหรับ วิธี PCR นั้น โดยใช้คู่ไพรเมอร์ PSA-1/PSA-R (5’-CTCCTTGTGGGGTGGGAAAA -3’/ 5’- TACTGA GAT GTTTCACTT CCC C -3’) สำหรับตรวจสอบดีเอ็นเอเชื้อ *Cms* และใช้คู่ไพรเมอร์ NS-7-F/NS-8-R (5’- GAG GCAATAACAGGTCTGTGATGC -3’/ 5’- TCCGCAGGT TCACCTACGGA -3’) สำหรับตรวจสอบดีเอ็นเอพืช (Pastrik, 2000)

6. รวบรวมผลและวิเคราะห์ข้อมูล

สถานที่ดำเนินการ

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช
- ด่านตรวจพืช
- แปลงปลูกหัวมันฝรั่งผู้นำเข้า เช่น จังหวัดตาก สกลนคร เชียงใหม่

การทดลองที่ 1.8 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์และญี่ปุ่น (2561 – 2562)

ศรีนครินทร์

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ และวารสาร
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติค มาร์กเกอร์ คัตเตอร์ หลาว
3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี ชุดตรวจสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ ตู้บ่มเชื้อ
4. โรงเรือนปลูกพืชทดสอบ
5. พืชทดสอบ เช่น ต้นยาสูบ ต้นมะเขือเทศ

วิธีการปฏิบัติการทดลอง

มีขั้นตอนและวิธีในดำเนินการการวิจัยดังต่อไปนี้

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย เช่น ชีววิทยา วิธีการตรวจศัตรูพืชในเมล็ดพันธุ์ และวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากด่านตรวจพืช ตามมาตรฐาน International Seed Testing Association (ISTA, 2018) ปริมาณเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวที่ใช้สำหรับตรวจสอบศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการ น้ำหนัก 300 กรัม โดยสุ่มตัวอย่างตามวิธีการดังนี้

2.1 การสุ่มตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในกระสอบ หรือภาชนะอื่นๆ ที่มีขนาดบรรจุของภาชนะแต่ละใบเท่าๆกัน โดยมีน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์จำนวน 15 กิโลกรัม ถึง 100 กิโลกรัม

2.1.1 เมล็ดพันธุ์จำนวน 1 – 4 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 3 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.2 เมล็ดพันธุ์จำนวน 5 – 8 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 2 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.3 เมล็ดพันธุ์จำนวน 9 – 15 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 1 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.4 เมล็ดพันธุ์จำนวน 16 – 30 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 15 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.5 เมล็ดพันธุ์จำนวน 31 – 59 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 20 ตัวอย่าง ขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.6 เมล็ดพันธุ์จำนวนมากกว่าหรือเท่ากับ 60 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 30 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ ด้วยตาเปล่า สังเกตลักษณะสี ผิว และรูปร่างว่ามีอะไรผิดปกติหรือไม่ มีรอยเจาะ หรือแตกกระเทาะของเมล็ดพันธุ์หรือไม่ และจึงนำเมล็ดพันธุ์ที่สุ่มได้นำไปตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4. การตรวจศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4.1 ตรวจสอบและจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืช เช่น วัชพืช *Cirsium arvense*, *Lolium temulentum*, *Senecio vulgaris* และ *Spergula arvensis* โดยทำการคัดแยกองค์ประกอบทางกายภาพได้แก่ เมล็ดพืชบริสุทธิ์ เมล็ดพืชอื่น และสิ่งเจือปน นำแต่ละส่วนมาชั่งหาน้ำหนัก แล้วนำมาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบโดย

กรมวิชาการเกษตร

4.1.1 ตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) เพื่อศึกษาและบันทึกลักษณะภายนอกของเมล็ด เช่น สี ผิว รูปร่างและลายบนผิวของเมล็ด วัดขนาดความกว้าง ยาวของเมล็ด

4.1.2 เปรียบเทียบกับตัวอย่างเมล็ดวัชพืชในพิพิธภัณฑ์และใช้คู่มือจำแนกเมล็ดพืช

4.1.3 จำแนกโดยปลูกดูลักษณะต่างๆตั้งแต่เริ่มงอกเป็นต้นกล้า ลักษณะใบ ดอก ผล

4.2 จำแนกกลุ่มของแมลงโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology)

4.3 จัดเตรียมตัวอย่างแมลงและไรโดย

4.3.1 นำตัวอย่างแมลงที่เก็บรวบรวมได้มาจัดรูปร่าง (set) บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) ตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณด้านหน้าตรงมุมของปีกขวา (บริเวณมุมที่ปีกจรดกัน) ใช้ปากคีบจัดขาทั้งสามคู่ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดินโดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด ตัวเต็มวัยขนาด เช่น เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดด และด้วงที่มีขนาดเล็กให้ติดลงบนกระดาษรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 30 – 60 วัน ขึ้นกับขนาดของแมลง

4.3.2 ทำสไลด์ถาวร แมลงจำพวกปากดูดที่มีขนาดเล็กเช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอย ต้องนำมาทำสไลด์ถาวร และนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เพื่อจำแนกชนิด

4.3.3 ไร ทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้ชัดเจน โดยจัดท่าทางของไรให้อยู่ในท่าคว่ำและท่าตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะต่างๆที่ใช้ในการจำแนก จากนั้นปิดสไลด์ด้วย cover glass ใช้ปากกาเขียนแก้ววงกลมล้อมรอบตัวไรทันทีหลังจากทำสไลด์เรียบร้อยแล้ว เพื่อสะดวกในการหาตัวไรได้ง่ายขึ้น นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ cover glass ด้วยน้ำยาทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บและพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

4.4 ตรวจเชื้อรา เช่น *Verticillium dahliae* ด้วยวิธี Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003) โดยการนำเมล็ดที่วางไว้ในภาชนะให้ความชื้นไปวางใต้แสง near ultra violet (NUV) โดยให้แสงสลับกับมืด 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน และตรวจจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) และกำลังขยายสูงต่อไป

4.5 ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย เช่น *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola, Pseudomonas viridiflava* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์โดยวิธี Dilution plate method และ เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Agar plate method) ตรวจสอบและจำแนกชนิดแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา เช่น Enzyme – linked Immunosorbent Assay (ELISA)

4.6 ตรวจและจำแนกชนิดไวรัสที่ติดมากับเมล็ดด้วยวิธี ELISA โดยตรวจจากเมล็ดโดยตรงหรือตรวจจากต้นกล้าตามวิธีการที่เหมาะสมกับไวรัสแต่ละชนิด

กรมวิชาการเกษตร

4.7 ตรวจสอบไส้เดือนฝอย เช่น *Heterodera shachtii* ด้วยวิธีแช่น้ำและเขย่าด้วยเครื่องเขย่านาน 30 นาที หรือการลอยน้ำ เพื่อสังเกตซีสต์ของไส้เดือนฝอย โดยการนำตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวมาคลุกเคล้าแล้วผสมน้ำ กวนน้ำ และเทผ่านน้ำไหลและเทผ่านตะแกรงขนาด 18 mesh (ความยาว 1 นิ้วมี 18 ช่อง) แล้วรองด้วยตะแกรงขนาด 325 mesh และตรวจจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) และกำลังขยายสูงต่อไป

5. เพาะเมล็ดพันธุ์ เพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติของต้นพืชในโรงเรือนของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช โดยสังเกตดูลักษณะอาการบริเวณโคนต้น ลำต้น ใบเลี้ยง และใบ ของต้นพืช บันทึกผล กรณีถ้าพบอาการผิดปกติให้นำส่วนของพืชไปทำการแยกเชื้อและจำแนกชนิด

6. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตหรือในโรงเรือนเพาะเมล็ดของบริษัทที่นำเข้า

7. จัดทำรายชื่อศัตรูที่ตรวจพบและสรุปผล

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกชนิดและลักษณะของศัตรูพืชที่ตรวจพบ

2. บันทึกภาพของศัตรูพืช และลักษณะอาการพืชที่ถูกทำลาย และเก็บตัวอย่างศัตรูพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

1. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. ด่านตรวจพืช เช่น ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ด่านตรวจพืชไปรษณีย์ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

3. แปลงปลูกของบริษัทในจังหวัด เช่น ราชบุรี นครปฐม เพชรบูรณ์ นครราชสีมา ชัยภูมิ

การทดลองที่ 1.9 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากอินเดียและสหรัฐอเมริกา (2561 - 2562)

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ และวารสาร
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติค มาร์กเกอร์ คัตเตอร์ หลาว
3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี ชุดตรวจสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ ตู้บ่มเชื้อ
4. โรงเรือนปลูกพืชทดสอบ
5. พืชทดสอบ เช่น ต้นยาสูบ

วิธีการปฏิบัติการทดลอง

มีขั้นตอนและวิธีในดำเนินการการวิจัยดังต่อไปนี้

กรมวิชาการเกษตร

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย เช่น ชีววิทยา วิธีการตรวจศัตรูพืชในเมล็ดพันธุ์ และวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากด่านตรวจพืช ตามมาตรฐาน International Seed Testing Association (ISTA, 2018) ปริมาณเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่ใช้สำหรับตรวจสอบศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการ น้ำหนัก 1,000 กรัม โดยสุ่มตัวอย่างตามวิธีการดังนี้

2.1 การสุ่มตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในกระสอบ หรือภาชนะอื่นๆ ที่มีขนาดบรรจุของภาชนะแต่ละใบเท่าๆกัน โดยมีน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์จำนวน 15 กิโลกรัม ถึง 100 กิโลกรัม

2.1.1 เมล็ดพันธุ์จำนวน 1 – 4 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 3 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.2 เมล็ดพันธุ์จำนวน 5 – 8 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 2 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.3 เมล็ดพันธุ์จำนวน 9 – 15 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 1 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.4 เมล็ดพันธุ์จำนวน 16 – 30 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 15 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.5 เมล็ดพันธุ์จำนวน 31 – 59 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 20 ตัวอย่าง ขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.6 เมล็ดพันธุ์จำนวนมากกว่าหรือเท่ากับ 60 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 30 ตัวอย่างขั้นต้นจากภาชนะบรรจุทั้งหมด

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ ด้วยตาเปล่า สังเกตลักษณะสี ผิว และรูปร่างว่ามีอะไรผิดปกติหรือไม่ มีรอยเจาะ หรือแตกกระเทาะของเมล็ดพันธุ์หรือไม่ และจึงนำเมล็ดพันธุ์ที่สุ่มได้นำไปตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4. การตรวจศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4.1 ตรวจสอบและจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชขั้นละเอียดโดยทำการคัดแยกองค์ประกอบทางกายภาพ ได้แก่ เมล็ดพืชบริสุทธิ์ เมล็ดพืชอื่น และสิ่งเจือปน นำแต่ละส่วนมาชั่งหาน้ำหนัก แล้วนำมาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบโดย

4.1.1 ตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) เพื่อศึกษาและบันทึกลักษณะภายนอกของเมล็ด เช่น สี ผิว รูปร่างและลายบนผิวของเมล็ด วัดขนาดความกว้าง ยาวของเมล็ด

4.1.2 เปรียบเทียบกับตัวอย่างเมล็ดวัชพืชในพิพิธภัณฑ์และใช้คู่มือจำแนกเมล็ดพืช

4.1.3 จำแนกโดยปลูกดูลักษณะต่างๆตั้งแต่เริ่มงอกเป็นต้นกล้า ลักษณะใบ ดอก ผล

4.2 จำแนกกลุ่มของแมลงโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology)

4.3 จัดเตรียมตัวอย่างแมลงและไรโดย

4.3.1 นำตัวอย่างแมลงที่เก็บรวบรวมได้มาจัดรูปร่าง (set) บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) ตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณด้านหน้าตรงมุมของปีกขวา (บริเวณมุมที่ปีกจรดกัน) ใช้ปากคีบจัดขาทั้งสามคู่ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดินโดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด ตัวเต็มวัยขนาด เช่น เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดด และด้วงที่มีขนาดเล็กให้ติดลงบนกระดาษรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและ

ศรีนครินทรวิโรฒ

ด้านข้าง นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 30 – 60 วัน ขึ้นกับขนาดของแมลง

4.3.2 ทำสไลด์ถาวร แมลงจำพวกปากดูดที่มีขนาดเล็กเช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอย ต้องนำมาทำสไลด์ถาวร และนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เพื่อจำแนกชนิด

4.3.3 ไร ทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้ชัดเจน โดยจัดท่าทางของไรให้อยู่ในท่าคว่ำและท่าตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะต่างๆที่ใช้ในการจำแนก จากนั้นปิดสไลด์ด้วย cover glass ใช้ปากกาเขียนแก้ววงกลมล้อมรอบตัวไรทันทีหลังจากทำสไลด์เรียบร้อยแล้ว เพื่อสะดวกในการหาตัวไรได้ง่ายขึ้น นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ cover glass ด้วยน้ำยา ทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บ และพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

4.4 ตรวจเชื้อรา เช่น *Cercospora zeae-maydis* และ *Cephalosporium maydis* ด้วยวิธี Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003) โดยการนำเมล็ดที่วางไว้ในภาชนะให้ความชื้นไปวางใต้แสง near ultra violet (NUV) โดยให้แสงสลับกับมืด 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน และตรวจจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) และกำลังขยายสูงต่อไป

4.5 ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ เช่น *Pantoea stewartii* และ *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis* โดยวิธี Dilution plate method ตรวจสอบและจำแนกชนิดแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา เช่น Enzyme – linked Immunosorbent Assay (ELISA)

4.6 ตรวจและจำแนกชนิดไวรัสที่ติดมากับเมล็ด เช่น *High plains virus, Maize chlorotic dwarf virus, Maize chlorotic mottle virus, Maize mosaic virus* และ *Maize rayado fino virus* ด้วยวิธี ELISA โดยตรวจจากเมล็ดโดยตรงหรือตรวจจากต้นกล้าตามวิธีการที่เหมาะสมกับไวรัสแต่ละชนิด

5. เพาะเมล็ดพันธุ์ เพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติของต้นพืชในโรงเรือนของกลุ่มวิจัย การกักกันพืช โดยสังเกตดูลักษณะอาการบริเวณโคนต้น ลำต้น ใบเลี้ยง และใบ ของต้นพืช บันทึกผล กรณีถ้าพบอาการผิดปกติให้นำส่วนของพืชไปทำการแยกเชื้อและจำแนกชนิด

6. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตหรือในโรงเรือนเพาะเมล็ดของบริษัทที่นำเข้า

7. จัดทำรายชื่อศัตรูที่ตรวจพบและสรุปผล

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกชนิดและลักษณะของศัตรูพืชที่ตรวจพบ

2. บันทึกภาพของศัตรูพืช และลักษณะอาการพืชที่ถูกทำลาย และเก็บตัวอย่างศัตรูพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

ศรีวิชาการ

1. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. ด่านตรวจพืช เช่น ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ด่านตรวจพืชไปรษณีย์ ด่านตรวจพืชไปรษณีย์ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

3. แปลงปลูกของบริษัท ในจังหวัด เช่น จังหวัดขอนแก่น สกลนคร กาญจนบุรี สุพรรณบุรี ลพบุรี นครสวรรค์ พิษณุโลก สุโขทัย กำแพงเพชร เพชรบูรณ์ ตาก อุตรดิตถ์ แพร่ ลำปาง เชียงใหม่ และเชียงราย

การทดลองที่ 1.10 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากนิวซีแลนด์ และญี่ปุ่น (2563-2564)

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ และวารสาร
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติค มาร์กเกอร์ คัตเตอร์ หลาว
3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี ชุดตรวจสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ และตู้บ่มเชื้อ
4. โรงเรือนปลูกพืชทดสอบ
5. พืชทดสอบ เช่น ต้นยาสูบ ต้นมะเขือเทศ
6. เมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลี

วิธีการปฏิบัติการทดลอง

มีขั้นตอนและวิธีในดำเนินการการวิจัยดังต่อไปนี้

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย เช่น ชีววิทยา วิธีการตรวจศัตรูพืชในเมล็ดพันธุ์ และวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากด่านตรวจพืช ตามมาตรฐาน International Seed Testing Association (ISTA, 2018) ปริมาณเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีที่ใช้สำหรับตรวจสอบศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการ น้ำหนัก 100 กรัม โดยสุ่มตามวิธีการดังนี้

2.1 การสุ่มตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในกระสอบ หรือภาชนะอื่นๆ ที่มีขนาดบรรจุของภาชนะแต่ละใบเท่าๆกัน โดยมีน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์จำนวน 15 กิโลกรัม ถึง 100 กิโลกรัม

2.1.1 เมล็ดพันธุ์จำนวน 1 – 4 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 3 ตัวอย่างจากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.2 เมล็ดพันธุ์จำนวน 5 – 8 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 2 ตัวอย่างจากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.3 เมล็ดพันธุ์จำนวน 9 – 15 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 1 ตัวอย่างจากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.4 เมล็ดพันธุ์จำนวน 16 – 30 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 15 ตัวอย่างจากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.5 เมล็ดพันธุ์จำนวน 31 – 59 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 20 ตัวอย่างจากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.6 เมล็ดพันธุ์จำนวนตั้งแต่ 60 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 30 ตัวอย่างจากภาชนะบรรจุทั้งหมด

กรมวิชาการเกษตร

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ ด้วยตาเปล่า สังเกตลักษณะสี ผิว และรูปร่างว่ามีอะไรผิดปกติหรือไม่ มีรอยเจาะ หรือแตกกระเทาะของเมล็ดพันธุ์หรือไม่ และจึงนำเมล็ดพันธุ์ที่สุ่มได้นำไปตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4. การตรวจศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4.1 ตรวจสอบและจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชขั้นละเอียดโดยทำการคัดแยกองค์ประกอบทางกายภาพได้แก่ เมล็ดพืชบริสุทธิ์ เมล็ดพืชอื่น และสิ่งเจือปน นำแต่ละส่วนมาชั่งหาน้ำหนัก แล้วนำมาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบโดย

4.1.1 ตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) เพื่อศึกษาและบันทึกลักษณะภายนอกของเมล็ด เช่น สี ผิว รูปร่างและลายบนผิวของเมล็ด วัดขนาดความกว้าง ยาวของเมล็ด

4.1.2 เปรียบเทียบกับตัวอย่างเมล็ดวัชพืชในพิพิธภัณฑ์และใช้คู่มือจำแนกเมล็ดพืช

4.1.3 จำแนกโดยปลูกดูลักษณะต่างๆตั้งแต่เริ่มงอกเป็นต้นกล้า ลักษณะใบ ดอก ผล

4.2 จำแนกกลุ่มของแมลงโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology)

4.3 จัดเตรียมตัวอย่างแมลงและไรโดย

4.3.1 นำตัวอย่างแมลงที่เก็บรวบรวมได้มาจัดรูปร่าง (set) บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) ตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณด้านหน้าตรงมุมของปีกขวา (บริเวณมุมที่ปีกจรดกัน) ใช้ปากคีบจัดขาทั้งสามคู่ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดินโดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด ตัวเต็มวัยขนาด เช่น เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดด และด้วงที่มีขนาดเล็กให้ติดลงบนกระดาษรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 30 – 60 วัน ขึ้นกับขนาดของแมลง

4.3.2 ทำสไลด์ถาวร แมลงจำพวกปากดูดที่มีขนาดเล็กเช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอย ต้องนำมาทำสไลด์ถาวร และนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เพื่อจำแนกชนิด

4.3.3 ไร ทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) หยด Hoyer’s solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้ชัดเจน โดยจัดท่าทางของไรให้อยู่ในท่าคว่ำและท่าตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะต่างๆที่ใช้ในการจำแนก จากนั้นปิดสไลด์ด้วย cover glass ใช้ปากกาเขียนแก้ววงกลมล้อมรอบตัวไรทันทีหลังจากทำสไลด์เรียบร้อยแล้ว เพื่อสะดวกในการหาตัวไรได้ง่ายขึ้น นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ cover glass ด้วยน้ำยา ทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บ และพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

4.4 ตรวจเชื้อรา *Chalala elegans*, *Phytophthora megasperma* ด้วยวิธี Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003) โดยการนำเมล็ดที่วางไว้ในภาชนะให้ความชื้นไปวางใต้แสง near ultra violet (NUV) โดยให้แสงสลับกับมืด 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน และตรวจจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope)และกำลังขยายสูงต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

4.5 ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas marginalis* pv. *maginalis* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์โดยวิธี Dilution plate method และ เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ตรวจสอบและจำแนกชนิดแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา เช่น Enzyme – linked Immunosorbent Assay (ELISA)

การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียด้วยเทคนิค ELISA (ชุดตรวจสอบของบริษัท Agdia) โดยมีขั้นตอน ดังนี้

1) ทำการเตรียม capture antibody เจือจางด้วย carbonate coating อัตรา 1:200 โดยหยอด capture antibody ในหลุม ELISA ปริมาตร 100 µl ต่อหลุม

2) บ่มจานหลุมในกล่องชื้นที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง หรือ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืน

3) ทำการล้างจานหลุมด้วย 1x PBST 2 ครั้ง ในครั้งสุดท้ายให้เคาะจานหลุมกับกระดาษให้แห้ง

4) ทำการหยอดเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นต่างๆ รวมถึง negative control (น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ) ลงในแต่ละหลุม แล้วบ่มจานหลุมในกล่องชื้นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

5) ทำการล้างจานหลุมด้วย 1x PBST มากกว่า 2 ครั้ง ในครั้งสุดท้ายให้เคาะจานหลุมกับกระดาษให้แห้ง

6) ทำการเตรียมสาร alkaline phosphatase enzyme conjugate เจือจางด้วย RUB3 buffer อัตรา 1:200 โดยหยอดหลุมละ 100 µl (ควรเตรียม 10 นาที ก่อนใช้งาน) แล้วบ่มจานหลุมในกล่องชื้นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืน

7) ทำการล้างจานหลุมด้วย 1x PBST 7 ครั้ง ในครั้งสุดท้ายให้เคาะจานหลุมกับกระดาษให้แห้ง

8) ทำการเตรียมสาร PNP tablet จำนวน 1 เม็ด เจือจางด้วย PNP buffer ปริมาตร 5 ml. โดยเก็บสารละลายไว้ในที่มืด แล้วจึงหยอดสาร PNP solution หลุมละ 100 µl แล้วบ่มจานหลุมในอุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปวัดเครื่องอ่านอิไลซ่า ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร (OD405) และทำการบันทึกผลต่อไป

4.6 ตรวจและจำแนกชนิดไวรัส Turnip mosaic virus ที่ติดมากับเมล็ดด้วยวิธี ELISA โดยตรวจจากเมล็ดโดยตรงหรือตรวจจากต้นกล้า

5. เพาะเมล็ดพันธุ์ 25-50 เมล็ดต่อถุง และเก็บถุงเพาะที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เมื่อต้นกล้าเริ่มออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนพืช โดยสังเกตดูลักษณะอาการบริเวณโคนต้น ลำต้น ใบเลี้ยง และใบของต้นพืช บันทึกผล กรณีถ้าพบอาการผิดปกติให้นำส่วนของพืชไปทำการแยกเชื้อและจำแนกชนิด

6. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตหรือในโรงเรือนเพาะเมล็ดของบริษัทที่นำเข้า ช่วงอายุ 25-30 วัน

7. จัดทำรายชื่อศัตรูที่ตรวจพบและสรุปผล

การบันทึกข้อมูล

1. ชนิดและลักษณะของศัตรูพืชที่ตรวจพบ

2. ภาพของศัตรูพืช และลักษณะอาการพืชที่ถูกทำลาย และเก็บตัวอย่างศัตรูพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

ระยะเวลาดำเนินการ

เริ่มงานวิจัย ตุลาคม 2562 ถึง กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

กรมวิชาการเกษตร

1. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. ด่านตรวจพืช ท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ไปรษณีย์ และท่าเรือกรุงเทพ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

3. แปลงปลูกกะหล่ำปลีนำเข้าของบริษัทหรือเกษตรกร ในจังหวัดเพชรบูรณ์ เลย ตาก น่าน แพร่ ลำพูน ลำปาง เชียงใหม่ เชียงราย

การทดลองที่ 1.11 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักชีนำเข้าจากอิตาลี และสหรัฐอเมริกา (2563-2564)

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ และวารสาร
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติค มาร์กเกอร์ คัตเตอร์ หลาว
3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี ชุดตรวจสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ และตู้บ่มเชื้อ
4. โรงเรือนปลูกพืชทดสอบ
5. พืชทดสอบ เช่น ต้นยาสูบ ต้นมะเขือเทศ
6. เมล็ดพันธุ์ผักชี

วิธีการปฏิบัติการทดลอง

มีขั้นตอนและวิธีในดำเนินการการวิจัยดังต่อไปนี้

1. การสืบค้นข้อมูลผักชีและศัตรูพืชเป้าหมาย

โดยทำการสืบค้นข้อมูลจากฐานข้อมูล ตำราวิชาการ วารสารทางวิชาการ กฎระเบียบด้านกักกันพืชสำหรับการนำเข้าและส่งออกของต่างประเทศ และจากข้อมูลทางอิเล็กทรอนิกส์ เว็บไซต์ต่าง ๆ เพื่อค้นหาข้อมูลศัตรูพืชของผักชีข้อมูลรายชื่อศัตรูพืชที่มีรายงานในอิตาลี และสหรัฐอเมริกาเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศไทย

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากด่านตรวจพืช ตามมาตรฐาน International Seed Testing Association (ISTA, 2020) ปริมาณเมล็ดพันธุ์ผักชีที่ใช้สำหรับตรวจสอบศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการ น้ำหนัก 400 กรัม โดยสุ่มตามวิธีการดังนี้

2.1 การสุ่มตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในกระสอบ หรือภาชนะอื่น ๆ ที่มีขนาดบรรจุของภาชนะแต่ละใบเท่า ๆ กัน โดยมีน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์จำนวน 15 กิโลกรัม ถึง 100 กิโลกรัม

2.1.1 เมล็ดพันธุ์จำนวน 1 – 4 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 3 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.2 เมล็ดพันธุ์จำนวน 5 – 8 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 2 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.3 เมล็ดพันธุ์จำนวน 9 – 15 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 1 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.4 เมล็ดพันธุ์จำนวน 16 – 30 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 15 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

กรมวิชาการเกษตร

2.1.5 เมล็ดพันธุ์จำนวน 31 – 59 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 20 ตัวอย่าง ขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.6 เมล็ดพันธุ์จำนวนมากกว่าหรือเท่ากับ 60 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 30 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ ด้วยตาเปล่า สังเกตลักษณะสี ผิว และรูปร่างว่ามีอะไรผิดปกติหรือไม่ มีรอยเจาะ หรือแตกกะเทาะของเมล็ดพันธุ์หรือไม่ และจึงนำเมล็ดพันธุ์ที่สุ่มได้นำไปตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4. การตรวจศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4.1 ตรวจสอบและจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืช เช่น วัชพืช *Chenopodium album, Cirsium arvens, Emex australis, Galium aparine, Orobanche ramosa, Polygonum aviculare, Polygonum convolvulus* ขั้นละเอียดโดยทำการคัดแยกองค์ประกอบทางกายภาพได้แก่ เมล็ดพืชบริสุทธิ์ เมล็ดพืชอื่น และสิ่งเจือปน นำแต่ละส่วนมาชั่งหาน้ำหนัก แล้วนำมาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบ (Linda, 1993)

4.1.1 ตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) เพื่อศึกษาและบันทึกลักษณะภายนอกของเมล็ด เช่น สี ผิว รูปร่างและลายบนผิวของเมล็ด วัดขนาด ความกว้างและยาวของเมล็ด

4.1.2 เปรียบเทียบกับตัวอย่างเมล็ดวัชพืชในพิพิธภัณฑ์และใช้คู่มือจำแนกเมล็ดพืช

4.1.3 จำแนกโดยปลูกดูลักษณะต่าง ๆ ตั้งแต่เริ่มงอกเป็นต้นกล้า ลักษณะใบ ดอก และผล

4.2 จำแนกกลุ่มของแมลงโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology)

4.3 จัดเตรียมตัวอย่างแมลงและไร โดย

4.3.1 นำตัวอย่างแมลงที่เก็บรวบรวมได้มาจัดรูปร่าง (set) บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) ตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณด้านหน้าตรงมุมของปีกขวา (บริเวณมุมที่ปีกจรดกัน) ใช้ปากคีบจัดขาทั้งสามคู่ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดินโดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด ตัวเต็มวัยขนาด เช่น เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดด และด้วงที่มีขนาดเล็กให้ติดลงบนกระดาษรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 30 – 60 วัน ขึ้นกับขนาดของแมลง

4.3.2 ทำสไลด์ถาวร แมลงจำพวกปากดูดที่มีขนาดเล็กเช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอย ต้องนำมาทำสไลด์ถาวร และนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เพื่อจำแนกชนิด

4.3.3 ไร ทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้ชัดเจน โดยจัดท่าทางของไรให้อยู่ในท่าคว่ำและท่าตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ที่ใช้ในการจำแนก จากนั้นปิดสไลด์ด้วย cover glass ใช้ปากกาเขียนแก้ววงกลมล้อมรอบตัวไรทันทีหลังจากทำสไลด์เรียบร้อยแล้ว เพื่อสะดวกในการหาตัวไรได้ง่ายขึ้น นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

สัปดาห์ ผนึกขอบ cover glass ด้วยน้ำยา ทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บ และพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

4.4 ตรวจเชื้อรา ด้วยวิธี Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003) โดยการนำเมล็ดที่วางไว้ในภาชนะให้ความชื้นไปวางใต้แสง near ultra violet (NUV) โดยให้แสงสลับกับมืด 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน และตรวจจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) และกำลังขยายสูงต่อไป

4.5 ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ เช่น *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae* ตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

4.5.1 แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate ในกรณีที่เชื้อติดมาในปริมาณมากจะสามารถแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรงหลังจากทำการแยกเชื้อด้วยวิธี blotter method (Mathur and Kongdal, 2003) หรือทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี dilution plate โดยสุ่มเมล็ดตามมาตรฐาน นำมาแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที ล้างตามด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ เมื่อได้เมล็ดพันธุ์จึงนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบด แล้วนำผงของเมล็ดใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ (0.85% NaCl2) หรือบัฟเฟอร์ จำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยวางบนเครื่องเขย่า จากนั้นนำมาทำให้เจือจางในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ให้มีความเจือจางเป็น 10-1, 10-2, 10-3, 10-4 และ 10-5 ตามลำดับ ใช้ไปเปตต์ดูด suspension แต่ละความเข้มข้น จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) แล้วใช้แท่งแก้วลนไฟ ผึ่งให้เย็น และ spread ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

4.5.2 แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ดผิดปกติบนใบพืชหรือต้นพืช โดยการเพาะเมล็ดในดินนึ่งฆ่าเชื้อ จำนวน 100 เมล็ด จำนวน 2 ถุง นำถุงไปไว้ในโรงเรือนปลูกพืช และเก็บถุงเพาะที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เมื่อต้นกล้าออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชุ่มชื้นเป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนใบพืช เก็บใบพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธี dilution plate ตัดใบพืชที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิว ด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ แล้วบดชิ้นส่วนในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาทำให้เจือจางเป็นลำดับจาก 10-1 ถึง 10-5 และดำเนินการเช่นเดียวกับ ขั้นตอนในข้อ 4.5.1

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

1) ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

2) ทดสอบแกรม (gram reaction) โดยใช้สารละลายโปรแตสเซียม-ไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 3

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

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 108 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เข้าไปในใบยาสูบ (Nicotiana tabacum L.) บริเวณใต้ใบโดยฉีดเข้าเนื้อใบระหว่างเส้นใบ สังเกตลักษณะอาการเซลล์ตายตรงเนื้อใบหลังการฉีดเชื้อ 24-48 ชั่วโมง หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช

4) ทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical properties) เช่น การใช้ยูเรีย การย่อยเจลาติน การย่อยเอสคูลิน และแป้ง reduce ไนเตรต ความสามารถใน การเจริญที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นต้น

5) ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัย (pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 108 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่นปลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยงหรือเนื้อใบของต้นผักชีอายุ 2-3 สัปดาห์ ฉีดพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28 - 30 องศาเซลเซียส ตรวจลักษณะอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6) การตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme-linked Immunosorbent Assay; ELISA ซึ่งเป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา โดยใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

4.6 ตรวจและจำแนกชนิดไวรัส เช่น *Alfalfa mosaic virus* ที่ติดมากับเมล็ดด้วยวิธี ELISA โดยตรวจจากเมล็ดโดยตรงหรือตรวจจากต้นกล้าตามวิธีการที่เหมาะสมกับไวรัสแต่ละชนิด

5. เพาะเมล็ดพันธุ์ เพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติของต้นพืชในโรงเรือนปลูกพืช ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช โดยสังเกตดูลักษณะอาการบริเวณโคนต้น ลำต้น ใบเลี้ยง และใบ ของต้นพืช บันทึกผล กรณีถ้าพบอาการผิดปกติให้นำส่วนของพืชไปทำการแยกเชื้อและจำแนกชนิด

6. ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ผักชีภายหลังการนำเข้าจากอิตาลีและสหรัฐอเมริกา ในพื้นที่จังหวัดสุพรรณบุรี เพชรบูรณ์ เชียงใหม่ เชียงราย สระบุรี และนครราชสีมา

7. จัดทำรายชื่อศัตรูพืชและสรุปผล

การบันทึกข้อมูล

1. ชนิดและลักษณะของศัตรูพืชที่ตรวจพบ

2. ภาพของศัตรูพืช และลักษณะอาการพืชที่ถูกทำลาย และเก็บตัวอย่างศัตรูพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

ระยะเวลาดำเนินการ

เริ่มงานวิจัย ตุลาคม 2562 ถึง กันยายน 2564

กรมวิชาการเกษตร

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

1. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. ด่านตรวจพืช เช่น ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ท่าเรือกรุงเทพ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

3. แปลงปลูกผักชีนำเข้าของบริษัทหรือเกษตรกร ในจังหวัดนครราชสีมา เพชรบูรณ์ เลย เชียงใหม่ เชียงราย ราชบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี กาญจนบุรี

การทดลองที่ 1.12 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์คะน้านำเข้าจากจีน และนิวซีแลนด์ (2563-2564) (เลื่อนการทดลองจากปี 2561-2562)

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ และวารสาร
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติค มาร์กเกอร์ คัตเตอร์ หลาว
3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี ชุดตรวจสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ และตู้บ่มเชื้อ
4. โรงเรือนปลูกพืชทดสอบ
5. พืชทดสอบ เช่น ต้นยาสูบ ต้นมะเขือเทศ
6. เมล็ดพันธุ์คะน้า

วิธีการปฏิบัติการทดลอง

มีขั้นตอนและวิธีในดำเนินการการวิจัยดังต่อไปนี้

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย เช่น ชีววิทยา วิธีการตรวจศัตรูพืชในเมล็ดพันธุ์ และวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากด่านตรวจพืช ตามมาตรฐาน International Seed Testing Association (ISTA, 2018) ปริมาณเมล็ดพันธุ์คะน้าที่ใช้สำหรับตรวจสอบศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการ น้ำหนัก 100 กรัม โดยสุ่มตามวิธีการดังนี้

2.1 การสุ่มตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในกระสอบ หรือภาชนะอื่นๆ ที่มีขนาดบรรจุของภาชนะแต่ละใบเท่าๆกัน โดยมีน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์จำนวน 15 กิโลกรัม ถึง 100 กิโลกรัม

2.1.1 เมล็ดพันธุ์จำนวน 1 – 4 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 3 ตัวอย่างจากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.2 เมล็ดพันธุ์จำนวน 5 – 8 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 2 ตัวอย่างจากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.3 เมล็ดพันธุ์จำนวน 9 – 15 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 1 ตัวอย่างจากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.4 เมล็ดพันธุ์จำนวน 16 – 30 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 15 ตัวอย่างจากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.5 เมล็ดพันธุ์จำนวน 31 – 59 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 20 ตัวอย่างจากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.6 เมล็ดพันธุ์จำนวนตั้งแต่ 60 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 30 ตัวอย่างจากภาชนะบรรจุทั้งหมด

กรมวิชาการเกษตร

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ ด้วยตาเปล่า สังเกตลักษณะสี ผิว และรูปร่าง ว่ามีอะไรผิดปกติหรือไม่ มีรอยเจาะ หรือแตกกระเทาะของเมล็ดพันธุ์หรือไม่ และจึงนำเมล็ดพันธุ์ที่สุ่มได้นำไปตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4. การตรวจศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4.1 ตรวจสอบและจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชขั้นละเอียดโดยทำการคัดแยกองค์ประกอบทางกายภาพได้แก่ เมล็ดพืชบริสุทธิ์ เมล็ดพืชอื่น และสิ่งเจือปน นำแต่ละส่วนมาชั่งหาน้ำหนัก แล้วนำมาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบโดย

4.1.1 ตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) เพื่อศึกษาและบันทึกลักษณะภายนอกของเมล็ด เช่น สี ผิว รูปร่างและลายบนผิวของเมล็ด วัดขนาดความกว้าง ยาวของเมล็ด

4.1.2 เปรียบเทียบกับตัวอย่างเมล็ดวัชพืชในพิพิธภัณฑ์และใช้คู่มือจำแนกเมล็ดพืช

4.1.3 จำแนกโดยปลูกดูลักษณะต่างๆตั้งแต่เริ่มงอกเป็นต้นกล้า ลักษณะใบ ดอก ผล

4.2 จำแนกกลุ่มของแมลงโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology)

4.3 จัดเตรียมตัวอย่างแมลงและไรโดย

4.3.1 นำตัวอย่างแมลงที่เก็บรวบรวมได้มาจัดรูปร่าง (set) บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) ตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณด้านหน้าตรงมุมของปีกขวา (บริเวณมุมที่ปีกจรดกัน) ใช้ปากคีบจัดขาทั้งสามคู่ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดินโดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด ตัวเต็มวัยขนาด เช่น เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดด และด้วงที่มีขนาดเล็กให้ติดลงบนกระดาษรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 30 – 60 วัน ขึ้นกับขนาดของแมลง

4.3.2 ทำสไลด์ถาวร แมลงจำพวกปากดูดที่มีขนาดเล็กเช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอย ต้องนำมาทำสไลด์ถาวร และนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เพื่อจำแนกชนิด

4.3.3 ไร ทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) หยด Hoyer’s solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้ชัดเจน โดยจัดท่าทางของไรให้อยู่ในท่าคว่ำและท่าตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะต่างๆที่ใช้ในการจำแนก จากนั้นปิดสไลด์ด้วย cover glass ใช้ปากกาเขียนแก้ววงกลมล้อมรอบตัวไรทันทีหลังจากทำสไลด์เรียบร้อยแล้ว เพื่อสะดวกในการหาตัวไรได้ง่ายขึ้น นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ cover glass ด้วยน้ำยา ทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บ และพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

4.4 ตรวจเชื้อรา *Chalala elegans* ด้วยวิธี Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003) โดยการนำเมล็ดที่วางไว้ในภาชนะให้ความชื้นไปวางใต้แสง near ultra violet (NUV) โดยให้แสงสลับกับมืด 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน และตรวจจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) และกำลังขยายสูงต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

4.5 ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Psedomonas cichorii* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์โดยวิธี Dilution plate method และ เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Agar plate method) ตรวจสอบและจำแนกชนิดแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา เช่น Enzyme – linked Immunosorbent Assay (ELISA)

การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียด้วยเทคนิค ELISA (ชุดตรวจสอบของบริษัท Agdia) โดยมีขั้นตอน ดังนี้

1) ทำการเตรียม capture antibody เจือจางด้วย carbonate coating อัตรา 1:200 โดยหยอด capture antibody ในหลุม ELISA ปริมาตร 100 µl ต่อหลุม

2) บ่มจานหลุมในกล่องชื้นที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง หรือ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืน

3) ทำการล้างจานหลุมด้วย 1x PBST 2 ครั้ง ในครั้งสุดท้ายให้เคาะจานหลุมกับกระดาษให้แห้ง

4) ทำการหยอดเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นต่างๆ รวมถึง negative control (น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ) ลงในแต่ละหลุม แล้วบ่มจานหลุมในกล่องชื้นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

5) ทำการล้างจานหลุมด้วย 1x PBST มากกว่า 2 ครั้ง ในครั้งสุดท้ายให้เคาะจานหลุมกับกระดาษให้แห้ง

6) ทำการเตรียมสาร alkaline phosphatase enzyme conjugate เจือจางด้วย RUB3 buffer อัตรา 1:200 โดยหยอดหลุมละ 100 µl (ควรเตรียม 10 นาที ก่อนใช้งาน) แล้วบ่มจานหลุมในกล่องชื้นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืน

7) ทำการล้างจานหลุมด้วย 1x PBST 7 ครั้ง ในครั้งสุดท้ายให้เคาะจานหลุมกับกระดาษให้แห้ง

8) ทำการเตรียมสาร PNP tablet จำนวน 1 เม็ด เจือจางด้วย PNP buffer ปริมาตร 5 ml. โดยเก็บสารละลายไว้ในที่มืด แล้วจึงหยอดสาร PNP solution หลุมละ 100 µl แล้วบ่มจานหลุมในอุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปวัดเครื่องอ่านอิไลซ่า ที่ความยาวคลื่น 405 (OD405) และทำการ

4.6 ตรวจและจำแนกชนิดไวรัส Turnip mosaic virus ที่ติดมากับเมล็ดด้วยวิธี ELISA โดยตรวจจากเมล็ดโดยตรงหรือตรวจจากต้นกล้าตามวิธีการที่เหมาะสมกับไวรัสแต่ละชนิด

5. เพาะเมล็ดพันธุ์ 25-50 เมล็ดต่อถุง และเก็บถุงเพาะที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เมื่อต้นกล้าเริ่มออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนพืช โดยสังเกตดูลักษณะอาการบริเวณโคนต้น ลำต้น ใบเลี้ยง และใบของต้นพืช บันทึกผล กรณีถ้าพบอาการผิดปกติให้นำส่วนของพืชไปทำการแยกเชื้อและจำแนกชนิด

6. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตหรือในโรงเรือนเพาะเมล็ดของบริษัทที่นำเข้า

7. จัดทำรายชื่อศัตรูที่ตรวจพบและสรุปผล

การบันทึกข้อมูล

1. ชนิดและลักษณะของศัตรูพืชที่ตรวจพบ

2. ภาพของศัตรูพืช และลักษณะอาการพืชที่ถูกทำลาย และเก็บตัวอย่างศัตรูพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

ระยะเวลาดำเนินการ

เริ่มงานวิจัย ตุลาคม 2562 ถึง กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

กรมวิชาการเกษตร

1. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. ด่านตรวจพืช เช่น ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ท่าเรือกรุงเทพ ไปรษณีย์ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

3. แปลงปลูกคะน้าของบริษัทหรือเกษตรกร ในจังหวัด ราชบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี กาญจนบุรี เพชรบูรณ์ ตาก น่าน แพร่ ลำปางลำพูน เชียงใหม่ เชียงราย

การทดลองที่ 1.13 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งนำเข้าจากประเทศนิวซีแลนด์และสาธารณรัฐประชาชนจีน (2562 – 2563)

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ และวารสาร
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติค มาร์กเกอร์ คัตเตอร์ หลาว
3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี ชุดตรวจสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ ตู้บ่มเชื้อ
4. โรงเรือนปลูกพืชทดสอบ
5. พืชทดสอบ เช่น ต้นยาสูบ ต้นมะเขือเทศ

วิธีการปฏิบัติการทดลอง

มีขั้นตอนและวิธีในดำเนินการการวิจัยดังต่อไปนี้

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย เช่น ชีววิทยา วิธีการตรวจศัตรูพืชในเมล็ดพันธุ์ และวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากด่านตรวจพืช ตามมาตรฐาน International Seed Testing Association (ISTA, 2018) ปริมาณเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งที่ใช้สำหรับตรวจสอบศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการ น้ำหนัก 70 กรัม โดยสุ่มตามวิธีการดังนี้

2.1 การสุ่มตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในกระสอบ หรือภาชนะอื่นๆ ที่มีขนาดบรรจุของภาชนะแต่ละใบเท่าๆกัน โดยมีน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์จำนวน 15 กิโลกรัม ถึง 100 กิโลกรัม

2.1.1 เมล็ดพันธุ์จำนวน 1 – 4 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 3 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.2 เมล็ดพันธุ์จำนวน 5 – 8 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 2 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.3 เมล็ดพันธุ์จำนวน 9 – 15 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 1 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.4 เมล็ดพันธุ์จำนวน 16 – 30 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 15 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.5 เมล็ดพันธุ์จำนวน 31 – 59 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 20 ตัวอย่าง ขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.6 เมล็ดพันธุ์จำนวนมากกว่าหรือเท่ากับ 60 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 30 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

กรมวิชาการเกษตร

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ ด้วยตาเปล่า สังเกตลักษณะสี ผิว และรูปร่าง ว่ามีอะไรผิดปกติหรือไม่ มีรอยเจาะ หรือแตกกระเทาะของเมล็ดพันธุ์หรือไม่ และจึงนำเมล็ดพันธุ์ที่สุ่มได้นำไปตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4. การตรวจศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4.1 ตรวจสอบและจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชขั้นละเอียด เช่น *Chenopodium album*, *Cirsium arvense*, *Polygonum aviculare*, *Rumex acetosella*, *Phalaris minor*, *Emex spinosa* และ *Spergula arvensis* โดยทำการคัดแยกองค์ประกอบทางกายภาพได้แก่ เมล็ดพืชบริสุทธิ์ เมล็ดพืชอื่น และสิ่งเจือปน นำแต่ละส่วนมาชั่งหาน้ำหนัก แล้วนำมาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบโดย

4.1.1 ตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) เพื่อศึกษาและบันทึกลักษณะภายนอกของเมล็ด เช่น สี ผิว รูปร่างและลายบนผิวของเมล็ด วัดขนาดความกว้าง ยาวของเมล็ด

4.1.2 เปรียบเทียบกับตัวอย่างเมล็ดวัชพืชในพิพิธภัณฑ์และใช้คู่มือจำแนกเมล็ดพืช

4.1.3 จำแนกโดยปลูกดูลักษณะต่างๆตั้งแต่เริ่มงอกเป็นต้นกล้า ลักษณะใบ ดอก ผล

4.2 จำแนกกลุ่มของแมลงโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology)

4.3 จัดเตรียมตัวอย่างแมลงและไร โดย

4.3.1 นำตัวอย่างแมลงที่เก็บรวบรวมได้มาจัดรูปร่าง (set) บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) ตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณด้านหน้าตรงมุมของปีกขวา (บริเวณมุมที่ปีกจรดกัน) ใช้ปากคีบจัดขาทั้งสามคู่ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดินโดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด ตัวเต็มวัยขนาด เช่น เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดด และด้วงที่มีขนาดเล็กให้ติดลงบนกระดาษรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 30 – 60 วัน ขึ้นกับขนาดของแมลง

4.3.2 ทำสไลด์ถาวร แมลงจำพวกปากดูดที่มีขนาดเล็กเช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้ง และเพลี้ยหอย ต้องนำมาทำสไลด์ถาวร และนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เพื่อจำแนกชนิด

4.3.3 ไร ทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope)หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้ชัดเจน โดยจัดท่าทางของไรให้อยู่ในท่าคว่ำและท่าตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะต่างๆที่ใช้ในการจำแนก จากนั้นปิดสไลด์ด้วย cover glass ใช้ปากกาเขียนแก้ววงกลมล้อมรอบตัวไรทันทีหลังจากทำสไลด์เรียบร้อยแล้ว เพื่อสะดวกในการหาตัวไรได้ง่ายขึ้น นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ cover glass ด้วยน้ำยา ทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บ และพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

4.4 ตรวจเชื้อรา เช่น *Verticillium dahliae* และ *Botryotinia fuckeliana* ด้วยวิธี Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003) โดยการนำเมล็ดที่วางไว้ในภาชนะให้ความชื้นไปวางใต้แสง near

กรมวิชาการเกษตร

ultra violet (NUV) โดยให้แสงสลับกับมืด 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน และตรวจจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) และกำลังขยายสูงต่อไป

4.5 ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ เชื้อ *Pseudomonas cichorii* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์โดยวิธี Dilution plate method ตรวจสอบและจำแนกชนิดแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา เช่น Enzyme – linked Immunosorbent Assay (ELISA)

4.6 ตรวจและจำแนกชนิดไวรัส เช่น *Turnip mosaic virus*, *Beet western yellows virus*, *Broad bean wilt virus*, *Turnip ringspot virus* ที่ติดมากับเมล็ดด้วยวิธี ELISA โดยตรวจจากเมล็ดโดยตรงหรือตรวจจากต้นกล้าตามวิธีการที่เหมาะสมกับไวรัสแต่ละชนิด

5. เพาะเมล็ดพันธุ์ เพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติของต้นพืชในโรงเรือนของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช โดยสังเกตดูลักษณะอาการบริเวณโคนต้น ลำต้น ใบเลี้ยง และใบ ของต้นพืช บันทึกผล กรณีถ้าพบอาการผิดปกติให้นำส่วนของพืชไปทำการแยกเชื้อและจำแนกชนิด

6. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตหรือในโรงเรือนเพาะเมล็ดของบริษัทที่นำเข้า

7. จัดทำรายชื่อศัตรูที่ตรวจพบและสรุปผล

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกชนิดและลักษณะของศัตรูพืชที่ตรวจพบ

2. บันทึกภาพของศัตรูพืช และลักษณะอาการพืชที่ถูกทำลาย และเก็บตัวอย่างศัตรูพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

1. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. ด่านตรวจพืช เช่น ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ด่านตรวจพืชไปรษณีย์ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

3. แปลงปลูกของบริษัท ในจังหวัด เช่น ราชบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี กาญจนบุรี นครราชสีมา เพชรบูรณ์ ตาก แพร่ น่าน ลำปาง ลำพูน เชียงใหม่ เชียงราย

การทดลองที่ 1.14 การตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาในเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้า (2562 – 2563)

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ และวารสาร
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติค มาร์กเกอร์ คัตเตอร์ หลาว
3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี ชุดตรวจสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ ตู้บ่มเชื้อ
4. โรงเรือนปลูกพืชทดสอบ

กรมวิชาการเกษตร

5. พืชทดสอบ เช่น ต้นยาสูบ ต้นมะเขือเทศ

วิธีการปฏิบัติการทดลอง

มีขั้นตอนและวิธีในดำเนินการการวิจัยดังต่อไปนี้

1. สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับเชื้อไฟโตพลาสมาและวิธีการตรวจสอบด้วยเทคนิคพีซีอาร์

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากด่านตรวจพืช ตามมาตรฐาน International Seed Testing Association (ISTA, 2018) ปริมาณเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่ใช้สำหรับตรวจสอบศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการ น้ำหนัก 15 กรัม โดยสุ่มตามวิธีการดังนี้

2.1 การสุ่มตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในกระสอบ หรือภาชนะอื่นๆ ที่มีขนาดบรรจุของภาชนะแต่ละใบเท่าๆกัน โดยมีน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์จำนวน 15 กิโลกรัม ถึง 100 กิโลกรัม

2.1.1 เมล็ดพันธุ์จำนวน 1 – 4 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 3 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.2 เมล็ดพันธุ์จำนวน 5 – 8 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 2 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.3 เมล็ดพันธุ์จำนวน 9 – 15 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 1 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.4 เมล็ดพันธุ์จำนวน 16 – 30 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 15 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.5 เมล็ดพันธุ์จำนวน 31 – 59 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 20 ตัวอย่าง ขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.6 เมล็ดพันธุ์จำนวนมากกว่าหรือเท่ากับ 60 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 30 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

หลังจากนั้นจึงนำตัวอย่างเมล็ดมะเขือเทศมาทำการตรวจสอบเบื้องต้น ด้วยตาเปล่า สังเกตลักษณะสี ผิว และรูปร่างของเมล็ด เช่น ขนาดเมล็ดเล็กกว่าปกติ บิดเบี้ยว สีเปลี่ยนไปจากปกติ พร้อมทั้งบันทึกข้อมูลต่าง ๆ และบันทึกภาพ จากนั้นทำการแบ่งเมล็ดพันธุ์แต่ละตัวอย่าง (แต่ละรายการของการนำเข้า) ออกเป็น 2 ส่วนดังนี้ เมล็ดพันธุ์ส่วนที่ 1 นำไปเพาะบนกระดาษกรอง เมื่อเมล็ดงอกและเริ่มมีใบจริง (ที่อายุประมาณ 7-15 วัน) จึงทำการเก็บตัวอย่างมาตรวจสอบ โดยทำการสกัดดีเอ็นเอและตรวจสอบด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) และเมล็ดพันธุ์ส่วนที่ 2 นำมาสกัดดีเอ็นเอจากเมล็ด และตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR

3. สกัดดีเอ็นเอ (Total DNA) ทั้งจากเมล็ดพันธุ์และต้นกล้า

3.1 การสกัดดีเอ็นเอ (Total DNA) ทั้งจากเมล็ดพันธุ์โดยตรง และการสกัดดีเอ็นเอจากต้นกล้าโดยเพาะเมล็ดพันธุ์ เพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติของต้นพืชในโรงเรือนของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช โดยสังเกตดูลักษณะอาการบริเวณโคนต้น ลำต้น ใบเลี้ยง และใบ ของต้นพืช บันทึกผล กรณีถ้าพบอาการผิดปกติให้นำส่วนของพืชไปสกัดดีเอ็นเอ เพื่อตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมาในห้องปฏิบัติการต่อไป

3.2 ขั้นตอนสกัดดีเอ็นเอ มีดังนี้

นำตัวอย่าง (เมล็ดพันธุ์/ต้นกล้า) มาสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัดสำเร็จรูป DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) โดยบดตัวอย่างร่วมกับสารละลายบัฟเฟอร์ AP1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ย้ายของเหลวที่ได้ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดใหม่นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที โดยกลับหลอดทุก 5 นาที

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

จากนั้นเติมสารละลายบัฟเฟอร์ AP2 ปริมาตร 130 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้ววางบนน้ำแข็ง นาน 5 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นย้ายของเหลวใส่ลงในชุดคอลัมน์ (QIAshredder spin column) แล้วปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm เป็นเวลา 2 นาที ย้ายของเหลวที่อยู่ด้านล่างคอลัมน์ใส่หลอดใหม่ เติมสารละลายบัฟเฟอร์ AP3/E ปริมาตร 1.5 เท่าของของเหลวที่อยู่ในหลอดใหม่ ผสมให้เข้ากันจากนั้นย้ายใสในชุดคอลัมน์ DNeasy Mini spin column ปริมาตร 650 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที ทิ้งของเหลว จากนั้นเติมสารบัฟเฟอร์ AW ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในคอลัมน์แล้วปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที ทิ้งของเหลว เติมสารบัฟเฟอร์ AW ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในคอลัมน์อีกครั้ง แล้วปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที ทิ้งของเหลว จากนั้นปั่นเหวี่ยงคอลัมน์เปล่าอีกครั้งที่ความเร็ว 12,000 rpm ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 นาที หลังจากนั้น ย้ายส่วนของคอลัมน์ใส่ลงให้หลอดใหม่ (ขนาด 1.5 ไมโครลิตร) เติมสารละลาย AE ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บริเวณกึ่งกลางเมมเบรน (membrane) ภายในคอลัมน์ จากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 rpm ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที เก็บรักษาสารละลายกรดนิวคลีอิกที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส

4. การตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยเทคนิค PCR

4.1 การตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาเตรียมองค์ประกอบของปฏิกิริยาดังนี้

น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	7.5	ไมโครลิตร
บัฟเฟอร์ 2X reaction mix	10.0	ไมโครลิตร
10 uM Forward primer	1.0	ไมโครลิตร
10 uM Reverse primer	1.0	ไมโครลิตร
ดีเอ็นเอตัวอย่าง	0.5	ไมโครลิตร
ปริมาตรรวม	20.0	ไมโครลิตร

4.2 หลังจากนั้นใส่ลงในเครื่องพีซีอาร์ (DNA thermalcycler) เพื่อดำเนินปฏิกิริยาการเพิ่มปริมาณชิ้นยีนเป้าหมาย แล้วตรวจสอบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอ (PCR product) ด้วยเทคนิค Gel electrophoresis และยืนยันผลในตัวอย่างที่ให้ผลบวก (positive) โดยการส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์แล้วนำมาวิเคราะห์ผล เพื่อจัดจำแนกเชื้อโดยการเปรียบเทียบกับข้อมูลที่มีรายงานในฐานข้อมูล GenBank

4.3 หากตรวจพบเชื้อไฟโตพลาสมาจะนำไปทำการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ ดังขั้นตอนต่อไปนี้

1) โคลนยีนของเชื้อ

เตรียมดีเอ็นเอให้บริสุทธิ์สำหรับการเชื่อมต่อพลาสมิดพาหะตามวิธี QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN®) โดยนำดีเอ็นเอจากปฏิกิริยา PCR มาแยกขนาดด้วยวิธีเจลอิเล็คโตรโฟรีซีสบน 1% agarose gel ใน 0.5X TBE buffer แยกดีเอ็นเอออกจากเจลโดยตัดเจลบริเวณที่มีแถบดีเอ็นเอขนาดที่ต้องการ ชั่งน้ำหนักเจลที่ตัดได้ใส่หลอดไมโครทิวป์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติม QG buffer ปริมาตร 3 เท่าของน้ำหนักเจล บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เขย่าทุก ๆ 5 นาที จนเจลละลาย ผสมให้เข้ากันดูดสารละลายทั้งหมดใส่ใน column นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที เทของเหลวทิ้ง เติม QG buffer ปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ทิ้ง

กรมวิชาการเกษตร

ส่วนของเหลว จากนั้นล้าง column ด้วย PE buffer ปริมาตร 750 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ทิ้งส่วนของเหลว และหมุนเหวี่ยงซ้ำอีกครั้ง ด้วยความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที จากนั้น ย้าย column ใส่ลงหลอดใหม่ เพื่อชะดีเอ็นเอออกจาก column โดยเติม EB buffer ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 1 นาที หมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที เก็บดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ตรวจสอบขนาดของแถบดีเอ็นเอ ด้วยวิธีเจลอิเล็คโตรโฟรีซีสบน 1% agarose gel ใน 0.5X TBE buffer จากนั้นแช่ในสารละลาย ethidium bromide (0.5 mg/ml) นาน 10 นาที แล้วแช่น้ำ 10 นาที ก่อนนำไปตรวจดูภายใต้แสง UV และบันทึกภาพ

2) หลังจากนั้นทำการเชื่อมต่อดีเอ็นเอที่บริสุทธิ์เข้าสู่พาหะ pGEM® - T Easy (Promega coporation) ตามวิธีการของบริษัทผู้ผลิตในคู่มือ ดังนี้ เติม 2X T4 DNA ligase buffer ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ตามด้วย pGEM® - T Easy vector ปริมาตร 1 ไมโครลิตร จากนั้นเติมผลผลิตของดีเอ็นเอจากปฏิกิริยา RT-PCR ปริมาตร 1 ไมโครลิตร และเติม T4 DNA ligase ปริมาตร 1 ไมโครลิตร และสุดท้ายเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อให้ครบปริมาตร 10 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดไมโครทิวป์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันนำหลอดไปบ่มที่อุณหภูมิ 16 องศาเซลเซียส นานข้ามคืน หลังจากนั้นจึงทำการบรรจุพลาสมิดดีเอ็นเอสายผสม (recombinant DNA) เข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย *Escherichia coli* สายพันธุ์ DH5α ด้วยวิธี heat shock transformation โดยนำสารละลายพลาสมิดดีเอ็นเอสายผสมปริมาตร 5 ไมโครลิตร กับเซลล์ *E.coli* สายพันธุ์ DH5α (competent cell) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการดูดขึ้นลงเบา ๆ แล้วแช่ในน้ำแข็งเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นจุ่มในน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 วินาที แล้วแช่ในน้ำแข็งทันที นาน 5 นาที จากนั้นเติมอาหาร LB ปริมาตร 600 มิลลิลิตร นำไปเลี้ยงในสภาพเขย่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 90 นาที เมื่อครบกำหนดเวลานำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที เพื่อตกตะกอนเซลล์ จากนั้นทิ้งอาหารเหลวแล้วเติมอาหารเหลว LB ใหม่อีก 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันดีแล้วนำมาเกลี่ยบนอาหารแข็ง LB ที่ผสมแอมพิซิลิน (1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และเติมสารประกอบ X-Gal (5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-galactosides) ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรใน Dimethylformamide ปริมาตร 40 ไมโครลิตร และ IPTG (isopropyl β-D-1-thiogalactopypanoside) ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นานข้ามคืน (ประมาณ 16-18 ชั่วโมง) จากนั้นนำมาคัดเลือกหาเซลล์ที่มีดีเอ็นเอสายผสม โดยเลือกโคโลนีเดี่ยวสีขาวซึ่งคาดว่ามีดีเอ็นเอสายผสมและโคโลนีสีฟ้าซึ่งเป็นเซลล์แบคทีเรียที่ได้รับพลาสมิดที่ไม่มีดีเอ็นเอสายผสมเพื่อใช้เปรียบเทียบขนาด โดยการใช้ไม้จิ้มฟันปลายแหลมที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วแตะที่โคโลนี แล้วนำมาเลี้ยงบนอาหารแข็ง LB ที่ผสมแอมพิซิลิน สำหรับเตรียมเป็น master plate บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นานข้ามคืน

3) ทำการคัดเลือกเซลล์แบคทีเรียที่มีพลาสมิดสายผสม โดยสกัดพลาสมิดสายผสมออกจากเซลล์แบคทีเรีย *E.coli* ด้วยวิธี Boiling method เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียโคโลนีสีขาวซึ่งคาดว่ามีดีเอ็นเอสายผสม (recombinant DNA) ในอาหารเหลว LB ที่เติมแอมพิซิลิน (1 mg/ml) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปเลี้ยงในสภาพเขย่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที นานข้ามคืน จากนั้นนำสารละลายเซลล์ไปหมุน

ศูนย์วิทยทรัพยากร

เหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที เพื่อตกตะกอนเซลล์ เทส่วนของอาหารเหลวทิ้ง ละลายตะกอนเซลล์แบคทีเรียด้วยสาร STEL (0.1M NaCl, 10mM Tris-HCl pH 8.0, 1mM EDTA pH 8.0, Triton X-100) ที่เติม lysozyme (1 mg/ml) ปริมาตร 110 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mix และเติมเพิ่มอีก 110 ไมโครลิตร จากนั้นทำให้เซลล์แบคทีเรียแตกโดยการต้มด้วยน้ำร้อน 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที แช่ในน้ำแข็งทันทีนาน 5 นาที จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วใช้ไม้จิ้มฟันเขี่ยตะกอนเซลล์ซึ่งมีลักษณะเหนียว ๆ ออกให้หมด เติม RNase A ปริมาตร 2.2 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ตกตะกอนพลาสมิดดีเอ็นเอด้วยการเติม isopropanol ปริมาตร 220 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ล้างตะกอนด้วย 70% ethanol ปริมาตร 400 ไมโครลิตร นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที เทส่วนของเหลวทิ้งแล้วตากตะกอนให้แห้ง หลังจากนั้นละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 50 ไมโครลิตร ตรวจสอบพลาสมิดสายผสม เปรียบเทียบกับพลาสมิดควบคุมที่ไม่มีดีเอ็นเอสายผสม และพลาสมิดที่มีดีเอ็นเอสายผสมที่ทราบขนาดแน่นอนด้วยวิธีเจลอิเล็คโตรโฟรีซีสบน 1% agarose gel ใน 0.5X TBE buffer ด้วยกระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ จากนั้นแช่ในสารละลาย ethidium bromide (0.5 mg/ml) นาน 10 นาที แล้วแช่น้ำ 10 นาที ก่อนนำไปตรวจดูแถบภายใต้แสง UV และบันทึกภาพ

4) ทำการตรวจสอบพลาสมิดสายผสมด้วยเทคนิคพีซีอาร์ เพื่อตรวจสอบทิศทางของ insert DNA และตรวจสอบขนาดชิ้นดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ โดยใช้พลาสมิดสายผสมเป็นต้นแบบ (template) ในปฏิกิริยา PCR รวม 10 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย พลาสมิดสายผสมปริมาตร 1 ไมโครลิตร, 10X PCR buffer 1 ไมโครลิตร, 10mM dNTPs 0.2 ไมโครลิตร, 50mM $MgCl_2$ 0.8 ไมโครลิตร, forward primer และ reverse primer (ความเข้มข้น 10 พิโคโมลต่อไมโครลิตร) อย่างละ 0.5 ไมโครลิตร, Taq DNA polymerase 0.2 ไมโครลิตร (2u/µl) และเติมน้ำให้ครบปฏิกิริยา จากนั้นนำไปไว้ในเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (DNA thermal cycler) โดยกำหนดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที ตามด้วยปฏิกิริยาเพื่อสังเคราะห์ดีเอ็นเอให้เพิ่มปริมาณมากขึ้นในแต่ละรอบ ดังนี้ ขั้นที่ 1 ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เพื่อแยกสายดีเอ็นเอต้นแบบให้เป็นสายเดี่ยว (denaturing) นาน 90 วินาที ขั้นที่ 2 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที เพื่อให้ไพรเมอร์จับกับดีเอ็นเอต้นแบบ (annealing) และขั้นที่ 3 ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 90 วินาที เพื่อสังเคราะห์ cDNA ต่อจากไพรเมอร์ (extension) จำนวน 30 รอบ เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ต้องการและปฏิกิริยาขั้นสุดท้ายที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอด้วยวิธีเจลอิเล็คโตรโฟรีซีสบน 1% agarose gel ใน 0.5X TBE buffer ด้วยกระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ จากนั้นแช่ในสารละลาย ethidium bromide (0.5 mg/ml) นาน 10 นาที แล้วแช่น้ำ 10 นาที นำไปตรวจดูภายใต้แสง UV และบันทึกภาพ

4.4 วิเคราะห์และเปรียบเทียบลำดับเบส

นำแบคทีเรียที่คาดว่ามีชิ้นดีเอ็นเอสายผสมตามขนาดที่ต้องการแทรกอยู่มาเลี้ยงในหลอด ไมโครทิวป์ที่มีอาหารเหลว LB ผสมแอมพิซิลิน (100 mg/ml) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร เลี้ยงในสภาพเขย่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นานข้ามคืน (16-18 ชั่วโมง) จากนั้นทำการสกัดพลาสมิดดีเอ็นเอและส่งไปวิเคราะห์ลำดับนิ

ศูนย์วิทยทรัพยากร

วคลีโอไทด์ และเมื่อได้รับผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์แล้ว นำมาทำการจัดการข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปและโปรแกรมจาก DNASTAR

5. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตหรือในโรงเรือนปลูกพืชของบริษัทนำเข้าเมล็ดพันธุ์

6. จัดทำรายชื่อศัตรูที่ตรวจพบและสรุปผล

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกลักษณะของเชื้อไฟโตพลาสมาที่ตรวจพบ

2. บันทึกภาพของศัตรูพืช และลักษณะอาการพืชที่ถูกทำลาย และเก็บตัวอย่างเชื้อไฟโตพลาสมาเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

1. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช กลุ่มวิกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. ด่านตรวจพืช เช่น ด่านตรวจพืช ท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ท่าเรือกรุงเทพฯ ไปรษณีย์ ลาดกระบัง สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

3. แปลงปลูกของบริษัทและโรงเรือนเพาะเมล็ดของบริษัทที่นำเข้า ในจังหวัด เช่น จังหวัดขอนแก่นจังหวัดสกลนคร จังวัดอุดรธานี

ผลการวิจัย (Results)

การทดลองที่ 1.1 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากอินเดีย จีน สหรัฐอเมริกา และเนเธอร์แลนด์ (2559-2562)

ระยะที่ 1ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากอินเดียและจีน (2559-2560 รวม 2 ปี)

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย

จากการสืบค้นข้อมูลพืชเป้าหมายพบว่า ศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากอินเดีย ได้แก่ เชื้อรา ; *Verticillium albo-atrum* แบคทีเรีย ; *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* , *Pseudomonas corrugata* และ *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ไวรัส ; *Tobacco ringspot virus*, *Tobacco streak virus*, *Tomato black ring virus* ไวรอยด์ *; Chrysanthemum stunt viroid*, *Citrus exocortis viroid* และ *Potato spindle tuber viroid*

ศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากจีน ได้แก่ เชื้อรา ; *Verticillium albo-atrum* แบคทีเรีย ; *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, และ *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ไวรัส ; *Pepino mosaic virus*, *Tobacco ringspot virus*, *Tobacco streak virus*, Tomato black ring virus และ *Tomato bushy stunt virus* ไวรอยด์ ; *Chrysanthemum stunt viroid*, *Citrus exocortis viroid* *Potato spindle tuber viroid*

2. การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากด่านตรวจพืช

ศรีวิชาการเกษตร

ปี 2559 สุ่มเมล็ดมะเขือเทศที่นำเข้าจากอินเดียจำนวน 37 ครั้ง น้ำหนัก 2,109.40 กิโลกรัม และจีน จำนวน 4 ครั้ง น้ำหนัก 18.04 กิโลกรัม จากด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ และด่านตรวจพืชไปรษณีย์

ปี 2560 สุ่มเมล็ดมะเขือเทศที่นำเข้าจากอินเดียจำนวน 30 ครั้ง น้ำหนัก 1676.20 กิโลกรัม และจีน จำนวน 6 ครั้ง น้ำหนัก 35.96 กิโลกรัม จากด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ และด่านตรวจพืชไปรษณีย์

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น

ผลการตรวจเบื้องต้นไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ ไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืช และไม่พบเมล็ดวัชพืชปนเปื้อนกับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากอินเดีย จีน อเมริกา และเนเธอร์แลนด์

4. ตรวจศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4.1 ผลการตรวจเชื้อรา ด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา *Curvularia lunata, Fusarium monoliforme, F. oxysporum และ Phoma* sp. ชนิดละ 1 ครั้งกับเมล็ดมะเขือเทศที่นำเข้าจากอินเดีย พบเชื้อรา *F. oxysporum* กับเมล็ดมะเขือเทศที่นำเข้าจากอเมริกา 2 ครั้ง และไม่พบเชื้อราในเมล็ดที่นำเข้าจากจีนและเนเธอร์แลนด์

4.2 ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์โดยวิธี Dilution plate method และจำแนกชนิดแบคทีเรียโดยวิธี ELISA ไม่พบแบคทีเรีย Cmm.

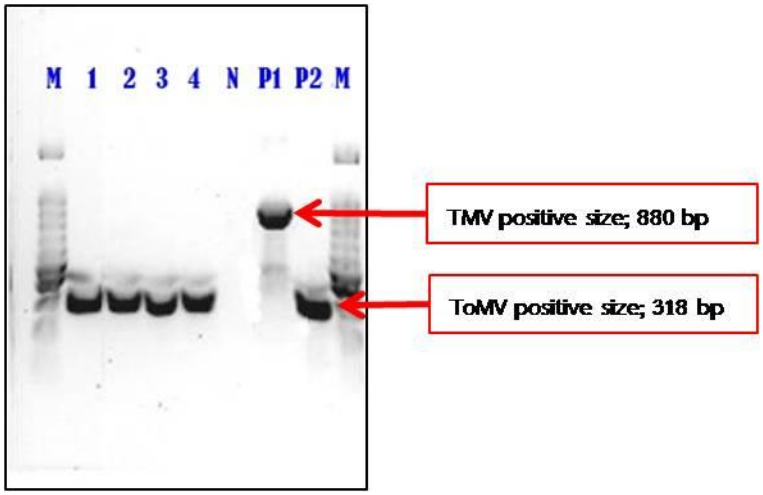
4.3 ผลการตรวจและจำแนกชนิดไวรัส

4.3.1 ตรวจและจำแนกชนิดไวรัส TMV, ToMV, CMV, PepMV, TRSV, TSV และ TBSV ที่ติดมากับเมล็ดด้วยวิธี ELISA ผลการตรวจพบตัวอย่างเมล็ดมะเขือเทศจากอินเดีย ให้ผลบวกกับชุดตรวจ TMV และ ToMV จำนวน 2 ตัวอย่าง เมล็ดจากจีน ตรวจไม่พบเชื้อไวรัสทั้ง 7 ชนิด ตัวอย่างเมล็ดมะเขือเทศจากอเมริกา ให้ผลบวกกับชุดตรวจ TMV และ ToMV จำนวน 1 ตัวอย่าง ส่วนเมล็ดจากเนเธอร์แลนด์ ให้ผลบวกกับชุดตรวจ TMV จำนวน 1 ตัวอย่าง

4.3.2 ผลการจำแนกชนิด *Tobamovirus* ที่ตรวจพบโดยใช้ไพร์เมอร์ที่จำเพาะเจาะจงกับไวรัส TMV ToMV และ ToMMV และยืนยันผลด้วยการส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลของ GenBank พบว่าตัวอย่างที่ตรวจพบให้ผลบวกกับไพร์เมอร์ที่จำเพาะกับ ToMV ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ขนาดประมาณ 300 bp (ภาพที่ 1.1.1) โดยมีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ขนาด 309 bp (ภาพที่ 1.1.2) และมีความคล้ายกับเชื้อไวรัส ToMV มากกว่า 93 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับในฐานข้อมูล

TMV และ ToMV จัดอยู่ในจีนัส Tobamovirus ไวรัสทั้งสองชนิดมีคุณลักษณะที่คล้ายกัน ทั้งชนิดพืชอาศัย ลักษณะอาการ และโปรตีนห่อหุ้มอนุภาค ดังนั้นการใช้เทคนิคทางเซรุ่มวิทยา เช่นวิธี ELISA ซึ่งตรวจหาโปรตีนของไวรัส อาจไม่สามารถจำแนกชนิดของ TMV และ ToMV ได้ หากแอนติบอดีที่ใช้ไม่มีความจำเพาะ ดังนั้นจึงต้องใช้วิธีการอณูชีววิทยา ซึ่งตรวจในระดับดีเอ็นเอจึงมีความจำเพาะสูง สามารถตรวจจำแนกชนิด หรือสายพันธุ์ของไวรัสได้

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 1.1.1 ผลการตรวจสอบการตรวจหาเชื้อไวรัส TMV และ ToMV ด้วยวิธีเจลอิเล็คโตรโฟรีซีสบน 1.5% อะกาโรสเจล : M คือดีเอ็นเอมาตรฐาน (100 bp DNA Ladder, Invitrogen) หมายเลข 1-4 คือ เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ, N คือเมล็ดมะเขือเทศปกติ, P1 และ P2 คือ TMV และ ToMV

Sample-1

5′ (1)
CGAGAGGGGG CACAAACATG TCCCAAACTT CAATGGAGCT TTCGACAGAT ACGCTGAAAT
GCCAAACGAA GTAGTCTGTC ATGATACTTT CCAAACGTGT AGGCATTCGC AAGAATGTTA
CACGGGAAGA GTGTATGCTA TTGCTTTGCA TAGTATATAC GATATACCTG CCGACGAGTT
CGGCGCGGCA CTGCTGAGAA AGAATGTACA TGTATGTTAT GCCGCTTTCC ACTTTTCCGA
GAATTTACTT CTCGAAGATC ACACGTCAAC TCGAGAAGTC TTGCATGTTT CCAAAGAGGG
AAGACAGGT 3′ (309 bp)

Sample-3

5′ (1)
CGAGAGGGGG CACAAACATG TCCCAAACTT CCATGGAGCT TTCGACAGAT ACGCTGAAAT
GCCAAACGAA GTAGTCTGTC ATGATACTTT CCAAACGTGT AGGCATTCGC AAGAATGTTA
CACGGGAAGA GTGTATGCTA TTGCTTTGCA TAGTATATAC GATATACCTG CCGACGAGTT
CGGCGCGGCA CTGCTGAGAA AGAATGTACA TGTATGTTAT GCCGCTTTCC ACTTTTCCGA
GAATTTACTT CTCGAAGATC ACACGTCAAC TCGAGAGATT ATGCATGTTT CCAAAGAGGG
AAGACAGGT 3′ (309 bp)

ภาพที่ 1.1.2 ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไวรัส ToMV ที่ตรวจพบในตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา

5. การปลูกเพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติ

ผลการปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือนของกลุ่มวิจัยการกักกัน ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นมะเขือเทศ

6. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า

กรมวิชาการเกษตร

การติดตามตรวจสอบในในโรงเรือนเพาะกล้าของบริษัทผลิตเมล็ดพันธุ์ที่จังหวัดขอนแก่น และสกลนคร จำนวน 2 ครั้ง และสุ่มตัวอย่างใบมาตรวจไวรัส TMV ToMV CMV PepMV TRSV TSV TBSV และ *Pospiviroid* ตัวอย่างละ 100 ใบ ไม่พบอาการผิดปกติและตรวจไม่พบศัตรูพืชเป้าหมาย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสุ่มเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าจากอินเดีย และจีน ตรวจพบไวรัส TMV และ ToMV ในเมล็ดที่นำเข้าจากอินเดีย ถึงแม้ว่าไวรัสทั้งสองชนิดมีรายงานระบาดทั่วไปในแหล่งปลูกมะเขือเทศทั่วโลก แต่ในปัจจุบันยังไม่มีการพิสูจน์ยืนยันว่าการพบ ToMV ในประเทศไทย และเมล็ดที่ตรวจพบไวรัสทั้งสองชนิดเป็นเมล็ดพ่อแม่ที่นำเข้าเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม ซึ่งหากเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดระบาดในแปลงและติดไปกับเมล็ดพันธุ์ที่ผลิตได้ และทำให้มีผลกระทบในการส่งออกเมล็ดพันธุ์ จึงต้องปฏิเสธการรับรองเมล็ดพันธุ์ที่จะส่งออก หรือมีการกำกับดูแลให้บริษัทผู้นำเข้าทำการกำจัดเชื้อในเมล็ดด้วยความร้อนก่อนนำไปปลูก

ระยะที่ 2 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา และเนเธอร์แลนด์ (2561-2562 รวม 2 ปี)

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย

จากการสืบค้นข้อมูล ศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากอเมริกาได้แก่ **เชื้อรา** ; *Verticillium albo-atrum* **แบคทีเรีย ;** *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* , *Pseudomonas corrugate* และ *Pseudomonas syringae* pv. tomato **ไวรัส** ; *Alfalfa mosaic virus*, *Pepino mosaic virus*, *Tobacco ringspot virus*, *Tobacco streak virus* และ *Tomato bushy stunt virus* **ไวรอยด์** ; *Potato spindle tuber viroid*

ศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากเนเธอร์แลนด์ ได้แก่ **เชื้อรา** ; *Verticillium albo-atrum* **แบคทีเรีย ;** *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* , **ไวรัส** ; *Alfalfa mosaic virus*, *Pepino mosaic virus*, *Tobacco streak virus* และ *Tomato black ring virus*

2. การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากด่านตรวจพืช

สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา จำนวน 63 ครั้ง น้ำหนัก 37.270 กิโลกรัม ทางด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ และด่านตรวจพืชไปรษณีย์ และเมล็ดพันธุ์ มะเขือเทศนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ จำนวน 74 ครั้ง น้ำหนัก 38.139 กิโลกรัม ทางด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ไปรษณีย์ และด่านตรวจพืชลาดกระบัง

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น

ผลการตรวจเบื้องต้นไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ ไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืช และไม่พบเมล็ดวัชพืชปนเปื้อนกับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากอเมริกาและเนเธอร์แลนด์

4. ตรวจศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

กรมวิชาการเกษตร

4.1 ผลการตรวจแมลง ไร และเมล็ดวัชพืช ในห้องปฏิบัติการ ไม่พบมีการปนเปื้อนของแมลง ไร และเมล็ดวัชพืช

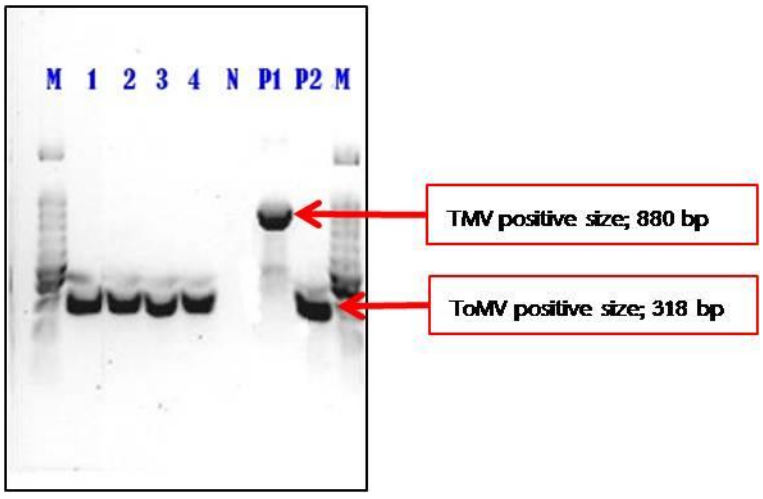
4.2 ผลการตรวจเชื้อรา ด้วยวิธี Blotter method ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์โดยวิธี Dilution plate method และจำแนกชนิดแบคทีเรียโดยวิธี ELISA ไม่พบเชื้อราสาเหตุโรคพืช และ แบคทีเรีย (Cmm)

4.3 ผลการตรวจและจำแนกชนิดไวรัส TMV ToMV CMV PepMV TRSV TSV TBSV ที่ติดมากับเมล็ดด้วยวิธี ELISA ผลการตรวจพบตัวอย่างเมล็ดมะเขือเทศจากอเมริกา ให้ผลบวกกับชุดตรวจ TMV และ ToMV จำนวน 1 ตัวอย่าง ส่วนเมล็ดจากเนเธอร์แลนด์ ไม่พบเชื้อไวรัสเป้าหมาย

4.4 ผลการจำแนกชนิดไวรัส TMV และ ToMV ที่ตรวจพบในเมล็ดมะเขือเทศจากอเมริกาด้วยวิธี multiplex RT-PCR โดยใช้ไพร์เมอร์ที่จำเพาะเจาะจงกับเชื้อทั้งสองชนิด และยืนยันผลด้วยการส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และเปรียบเทียบผลของลำดับนิวคลีโอไทด์กับฐานข้อมูลของ GenBank พบว่าตัวอย่างที่ตรวจพบให้ผลบวกกับไพร์เมอร์ที่จำเพาะกับ ToMV ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ขนาดประมาณ 300 bp (ภาพที่ 1.1.3) โดยมีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ขนาด 309 bp (ภาพที่ 1.1.4) และมีความคล้ายกับเชื้อไวรัส ToMV มากกว่า 93 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับในฐานข้อมูล

TMV และ ToMV จัดอยู่ในจีนัส Tobamovirus ไวรัสทั้งสองชนิดมีคุณลักษณะที่คล้ายกัน ทั้งชนิดพืชอาศัย ลักษณะอาการ และโปรตีนห่อหุ้มอนุภาค ดังนั้นการใช้เทคนิคทางเซรุ่มวิทยา เช่นวิธี ELISA ซึ่งตรวจหาโปรตีนของไวรัส อาจไม่สามารถจำแนกชนิดของ TMV และ ToMV ได้ หากแอนติบอดีที่ใช้ไม่มีความจำเพาะ ดังนั้นจึงต้องใช้วิธีการอณูชีววิทยา ซึ่งตรวจในระดับดีเอ็นเอจึงมีความจำเพาะสูง สามารถตรวจจำแนกชนิด หรือสายพันธุ์ของไวรัสได้

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 1.1.3 ผลการตรวจสอบการตรวจหาเชื้อไวรัส TMV และ ToMV ด้วยวิธีเจลอิเล็คโตโฟรีซีสบน 1.5% อะกาโรสเจล : M คือดีเอ็นเอมาตรฐาน (100 bp DNA Ladder, Invitrogen) หมายเลข 1-4 คือ เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ, N คือเมล็ดมะเขือเทศปกติ, P1 และ P2 คือ TMV และ ToMV

Sample-1

```
5′ (1)
CGAGAGGGGG CACAAACATG TCCCAAACTT CAATGGAGCT TTCGACAGAT ACGCTGAAAT
GCCAAACGAA GTAGTCTGTC ATGATACTTT CCAAACGTGT AGGCATTCGC AAGAATGTTA
CACGGGAAGA GTGTATGCTA TTGCTTTGCA TAGTATATAC GATATACCTG CCGACGAGTT
CGGCGCGGCA CTGCTGAGAA AGAATGTACA TGTATGTTAT GCCGCTTTCC ACTTTTCCGA
GAATTTACTT CTCGAAGATC ACACGTCAAC TCGAGAAGTC TTGCATGTTT CCAAAGAGGG
AAGACAGGT 3′ (309 bp)
```

Sample-3

```
5′ (1)
CGAGAGGGGG CACAAACATG TCCCAAACTT CCATGGAGCT TTCGACAGAT ACGCTGAAAT
GCCAAACGAA GTAGTCTGTC ATGATACTTT CCAAACGTGT AGGCATTCGC AAGAATGTTA
CACGGGAAGA GTGTATGCTA TTGCTTTGCA TAGTATATAC GATATACCTG CCGACGAGTT
CGGCGCGGCA CTGCTGAGAA AGAATGTACA TGTATGTTAT GCCGCTTTCC ACTTTTCCGA
GAATTTACTT CTCGAAGATC ACACGTCAAC TCGAGAGATT ATGCATGTTT CCAAAGAGGG
AAGACAGGT 3′ (309 bp)
```

ภาพที่ 1.1.4 ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไวรัส ToMV ที่ตรวจพบในตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา

กรมวิชาการเกษตร

5. การปลูกเพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติ

ผลการปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือนของกลุ่มวิจัยการกักกัน ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นมะเขือเทศ

6. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า

การติดตามตรวจสอบในในโรงเรือนเพาะกล้าของบริษัทผลิตเมล็ดพันธุ์ที่จังหวัดขอนแก่น และสกลนคร จำนวน 2 ครั้ง และสุ่มตัวอย่างใบมาตรวจไวรัส TMV ToMV CMV PepMV TRSV TSV และTBSV ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี ELISA ตัวอย่างละ 100 ใบ ไม่พบอาการผิดปกติและตรวจไม่พบไวรัสเป้าหมาย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสุ่มเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าจากอเมริกา และเนเธอร์แลด์ ด้วยวิธี ELISA ผลการตรวจพบตัวอย่างเมล็ดมะเขือเทศนำเข้าจากอเมริกาให้ผลบวกกับชุดตรวจ TMV และ ToMV แต่เมื่อตรวจจำแนกชนิดด้วยวิธี multiplex RT-PCR สามารถยืนยันผลว่าไวรัสที่ตรวจพบเป็น ToMV แสดงว่าวิธี ELISA โดยใช้ชุดตรวจของบริษัท Agdia ไม่สามารถจำแนกชนิดของ TMV และ ToMV เนื่องจาก แอนติบอดีที่ใช้ไม่มีความจำเพาะในระดับที่จะแยกชนิดไวรัสสองชนิดนี้ได้ ดังนั้นการตรวจจำแนกชนิดจึงควรจะตรวจเบื้องต้นด้วยวิธี ELISA เมื่อตรวจพบตัวอย่างที่ให้ผลบวก จึงตรวจจำแนกชนิดด้วยวิธี RT-PCR และถึงแม้ว่า ToMV มีรายงานระบาดทั่วไปในแหล่งปลูกมะเขือเทศทั่วโลก แต่ในปัจจุบันยังไม่มีการพิสูจน์ยืนยันว่าการพบ ToMV ในประเทศไทย และเมล็ดที่ตรวจพบไวรัสเป็นเมล็ดพ่อแม่ที่นำเข้าเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม ซึ่งหากเชื้อไวรัสดังกล่าวระบาดในแปลงและติดไปกับเมล็ดพันธุ์ที่ผลิตได้ ทำให้มีผลกระทบในการส่งออกเมล็ดพันธุ์ จึงต้องปฏิเสธการรับรองเมล็ดพันธุ์ที่จะส่งออก และมีการกำกับดูแลให้บริษัทผู้นำเข้าทำการกำจัดเชื้อในเมล็ดด้วยความร้อนก่อนนำไปปลูก

การทดลองที่ 1.2 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา อินเดีย ญี่ปุ่น อิสราเอล ชิลี และฟิลิปปินส์ (2559-2564)

ระยะที่ 1 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกาและ อินเดีย (2559-2560 รวม 2 ปี)

1. การรวบรวมข้อมูลทั่วไปของแตงโม และข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

- การจัดจำแนกแตงโม

Kingdom: Plantae
Division: Magnoliophyta
Class: Magnoliopsida
Order: Cucurbitales
Family: Cucurbitaceae
Genus: *Citrullus*
Species: *C. lanatus*

แตงโม (ชื่อวิทยาศาสตร์: *Citrullus lanatus*) เป็นผลไม้ที่มีน้ำประกอบอยู่เป็นจำนวนมาก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือเรียก บักโม ภาคเหนือเรียก บะเต้า จังหวัดตรังเรียกแตงจีน ถิ่นกำเนิดอยู่ในทะเลทรายคาลาฮารีทวีปแอฟริกา ชาวอียิปต์เป็นชาติแรกที่ปลูกแตงโมไว้รับประทานเมื่อสี่พันปีมาแล้ว ชาวจีนเริ่มปลูกแตงโมที่ซินเกียงสมัยราชวงศ์ถัง และชาวมัวร์ได้นำแตงโมไปสู่ทวีปยุโรป แตงโมแพร่หลายเข้าสู่ทวีปอเมริกาพร้อมกับชาวแอฟริกาที่ถูกขายเป็นทาส แตงโมต้องการดินที่มีความชุ่มชื้นพอเหมาะ น้ำไม่ขัง มักปลูกกันในดินร่วนปนทราย ในประเทศไทยมีการปลูกแตงโมทั่วทุกภูมิภาค และปลูกได้ทุกฤดู

กรมวิชาการเกษตร

แตงโมเป็นพืชในวงศ์เดียวกับแคนตาลูปและฟัก เป็นพืชล้มลุกเป็นเถา อายุสั้น เถาจะเลื้อยไปตามพื้นดิน มีขนอ่อนปกคลุม ผลมีทั้งทรงกลมและทรงกระบอก เปลือกแข็ง มีทั้งสีเขียวและสีเหลือง บางพันธุ์มีลวดลายบนเปลือก ในเนื้อมีเมล็ดสีดำแทรกอยู่ แตงโมที่นิยมปลูกโดยทั่วไปมี 3 พันธุ์

-พันธุ์ธรรมดา มีเมล็ดขนาดเล็ก รสหวาน แบ่งย่อยได้อีกหลายพันธุ์ เช่น แตงโมจินตหรา ผลยาวรี เปลือกเขียวเข้ม มีลาย เนื้อสีแดง แตงโมตอร์ปิโด ลูกรีกว่าพันธุ์จินตหรา แตงโมกินรี ผลกลม เนื้อแดง แตงโมน้ำผึ้ง ผลกลม เนื้อเหลือง แตงโมไดอานา เปลือกเหลือง เนื้อสีแดง แตงโมจิ๋ว ผลขนาดเท่ากำปั้น เนื้อเหลือง เป็นต้น

-พันธุ์ไม่มีเมล็ด เป็นพันธุ์ผสมเพื่อใช้ในการส่งออก ไม่มีเมล็ดแก่สีดำภายใน ในญี่ปุ่นมีการทำแตงโมให้เป็นทรงสี่เหลี่ยมโดยให้ผลเจริญในกล่อง เพื่อความสะดวกในการขนส่ง

-พันธุ์กินเมล็ด ปลูกเพื่อนำเมล็ดมาคั่วเป็นเม็ดก๋วยจี๊ พันธุ์นี้มีเนื้อน้อย เมล็ดขนาดใหญ่

ปริมาณการนำเข้า

- ปริมาณการนำเข้าเมล็ดพันธุ์แตงโมจากสหรัฐอเมริกาปี 2559-2560 ปริมาณ 5,390.72 กิโลกรัม
- ปริมาณการนำเข้าเมล็ดพันธุ์แตงโมจากอินเดีย ปี 2559-2560 ปริมาณ 1,956.83 กิโลกรัม

ศัตรูพืชที่พบเข้าทำลายแตงโม

ศัตรูพืชของแตงโมในประเทศไทย รวมทั้งสิ้น 43 ชนิด เป็น แมลง 20 ชนิด ไร 2 ชนิด ไส้เดือนฝอย 4 ชนิด รา 11 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด ไวรัส 7 ชนิด และวัชพืช 2 ชนิด (CABI, 2007)

ศัตรูพืชของแตงโมในสหรัฐอเมริกา รวมทั้งสิ้น 87 ชนิด เป็นแมลง 24 ชนิด ไร 3 ชนิด ไส้เดือนฝอย 7 ชนิด รา 30 ชนิด แบคทีเรีย 7 ชนิด ไวรัส 10 ชนิด และวัชพืช 6 ชนิด (CABI, 2007)

ศัตรูพืชของแตงโมในอินเดีย รวมทั้งสิ้น 81 ชนิด เป็นแมลง 26 ชนิด ไร 2 ชนิด ไส้เดือนฝอย 6 ชนิด รา 27 ชนิด แบคทีเรีย 4 ชนิด ไวรัส 10 ชนิด และวัชพืช 6 ชนิด (CABI, 2007)

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากต่างประเทศในห้องปฏิบัติการและในโรงเรือนปลูกพืช

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากประเทศสหรัฐอเมริกา จำนวน 60 ครั้ง จาก 5 ด่านตรวจพืช ได้แก่ ด่านตรวจพืชสุวรรณภูมิ ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ด่านตรวจพืช-ไปรษณีย์ ด่านตรวจพืชหนองคายและด่านตรวจพืชลาดกระบัง และเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากอินเดีย จำนวน 36 ครั้ง จาก 3 ด่านตรวจพืช ได้แก่ ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ด่านตรวจพืชสุวรรณภูมิ และด่านตรวจพืชไปรษณีย์ นำมาตรวจสอบเบื้องต้นไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ เมล็ดพันธุ์สมบูรณ์ ไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด และปิดมิดชิด (Figure 1.2.1)

กรมวิชาการเกษตร

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

การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์แตงโมที่นำเข้าจากสหรัฐอเมริกาในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อราจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ 1) *Fusarium oxysporum* จำนวน 1 ครั้ง (Figure 1.2.2) และ 2) *F. solani* จำนวน 1 ครั้ง (Figure 1.2.3) และเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากอินเดียตรวจพบเชื้อรา จำนวน 8 ชนิด ชนิดละ 1 ครั้ง ได้แก่ 1) *Drechslera halodes,* 2) *Curvularia pallescens,* 3) *Cladosporium* sp., 4) *Phoma cucurbitacearum,* 5) *Fusarium oxysporum*, 6) *F. solani*, 7) *Macrophomina phaseolina* และ 8) *Drechslera hawaiiensis* (Figure 1.2.4)

การตรวจด้วยวิธี dilution plate method ไม่พบศัตรูพืชที่น่าสงสัยว่าเป็นสาเหตุโรคพืช

การตรวจการปนเปื้อนของเชื้อ *Acidovorax avaenae* pv. *citrulli* (Aac.), CGMMV, KGMMV, SqMV และCMV ด้วยวิธี ELISA พบเชื้อ Aac. จำนวน 2 ครั้ง

เมื่อนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการในโรงเรือนกักกันพืช (Seedling symptom) และโรงเรือนปลูกพืชของบริษัทผู้นำเข้าหรือและเกษตรกร ไม่พบอาการของโรคหรือศัตรูพืชกับต้นแตงโมจากเมล็ดพันธุ์นำเข้าทั้งสองประเทศ

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์นำเข้าในพื้นที่ของเกษตรกร

การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา ใน จังหวัดขอนแก่น สกลนคร และ อุดรธานี จำนวน 40 แปลง พบโรคกับต้นแตงโม จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ โรครากเน่าและเหี่ยว เชื้อสาเหตุ *Fusarium oxysporum* (Figure 1.2.5), โรคผลเน่า เชื้อสาเหตุ *Pythium* sp. (Figure 1.2.6), โรคเถาแตกยางไหล เชื้อสาเหตุ *Didymella bryoniae* (Figure 1.2.7), โรคเหี่ยวสเคลอโรเตียม เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* (Figure 1.2.8), โรคแอนแทรกโนส เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum orbiculare* (Figure 1.2.9), โรคราน้ำค้าง เชื้อสาเหตุ *Pseudoperonospora cubensis* (Figure 1.2.10), โรคผลเน่า เชื้อสาเหตุ *Acidovorax avenae* pv. *citrulli* (Figure 1.2.11) ซึ่งอาการของโรคที่พบ**ไม่เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย** แต่ไม่มีแปลงปลูกของเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากอินเดีย

4. การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและศัตรูพืชที่ติดตามตรวจสอบในแปลงปลูก และสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจสอบเมล็ดพันธุ์แตงโมที่นำเข้าจากสหรัฐอเมริกาและอินเดียในห้องปฏิบัติการ (Table 1.2.1) และสรุปรายชื่อศัตรูพืชที่ติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์แตงโมที่นำเข้าจากต่างประเทศ (Table 2)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา จำนวน 60 ครั้ง และเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากอินเดีย จำนวน 36 ครั้ง โดยนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบเบื้องต้นภายใต้กล้องจุลทรรศน์- สเตอริโอ ไม่พบลักษณะ

กรมวิชาการเกษตร

อาการผิดปกติ ไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืชและไม่มีวัชพืชติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบว่าเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา พบเชื้อราจำนวน 2 ชนิด ชนิดละ 1 ครั้ง และเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากอินเดีย ตรวจพบเชื้อรา จำนวน 8 ชนิด ชนิดละ 1 ครั้ง ส่วนการตรวจสอบด้วยวิธี Dilution plate technique และ ELISA technique ไม่พบศัตรูพืชติดมากับเมล็ดพันธุ์ และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นแตงโม และผลการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา ใน จังหวัดขอนแก่น สกลนคร และ อุดรธานี พบโรคกับต้นแตงโม จำนวน 7 ชนิด ซึ่งศัตรูพืชที่พบในแปลงปลูก**ไม่เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย**

กรมวิชาการเกษตร

Table 1.2.1 Pest interception with watermelon seeds import from USA and India in laboratory (October 2015-Sebtember 2017).

No.	Importing country	No. of shipment	Weight (Kgs)	Plant quarantine station	Result	No. of shipment detected
1	USA	60	5,390.72	- Suvarnabhumi Airport Plant Quarantine Station - Bangkok Maritime Port Plant Quarantine Station - Post Plant Quarantine Station - Lat Krabang Plant Quarantine Station - Nong Khai Plant Quarantine Station	**Blotter method** - *Fusarium oxysporum* - *F. solani* **ELISA test** -	1 1
2	India	36	4,902.16	- Suvarnabhumi Airport Plant Quarantine Station - Bangkok Maritime Port Plant Quarantine Station - Post Plant Quarantine Station	**Blotter method** 1. *Drechslera halodes* 2. *Curvularia pallescens* 3. *Cladosporium* sp. 4. *Phoma cucurbitacearum* 5. *Fusarium oxysporum* 6. *F. Solani* 7. *Macrophomina phaseolina* 8. *Drechslera hawaiiensis* **ELISA test** 1. *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*	1 1 1 1 1 1 1 1 2

กรมวิชาการเกษตร

Table 1.2.2 The watermelon diseases on field inspection.

No.	disease	pathogen	Plant part	Province
Symptom caused by fungi				
1	Fusarium wilt	*Fusarium oxysporum*	crown	Khon Kaen, Sakon Nakhon and Udon Thani
2	Pythium rot	*Pythium* sp.	fruit	Khon Kaen, Sakon Nakhon and Udon Thani
3	Gummy stem blight	*Didymella bryoniae*	leaf	Khon Kaen, Sakon Nakhon and Udon Thani
4	Fruit rot	*Sclerotium rolfsii*	fruit	Khon Kaen, Sakon Nakhon and Udon Thani
5	Anthacnose	*Colletotrichum orbiculare*	fruit	Khon Kaen, Sakon Nakhon and Udon Thani
6	Downy mildew	*Pseudoperonospora cubensis*	leaf	Khon Kaen, Sakon Nakhon and Udon Thani
Symptom caused by bacteria				
7	Bacterial fruit blotch	*Acidovorax avenae* pv. *citrulli*	fruit	Khon Kaen

กรมวิชาการเกษตร

Figure 1.2.1 The packaging and imported watermelon seeds

A) The watermelon seeds imported from United States

B) The watermelon seeds imported from India

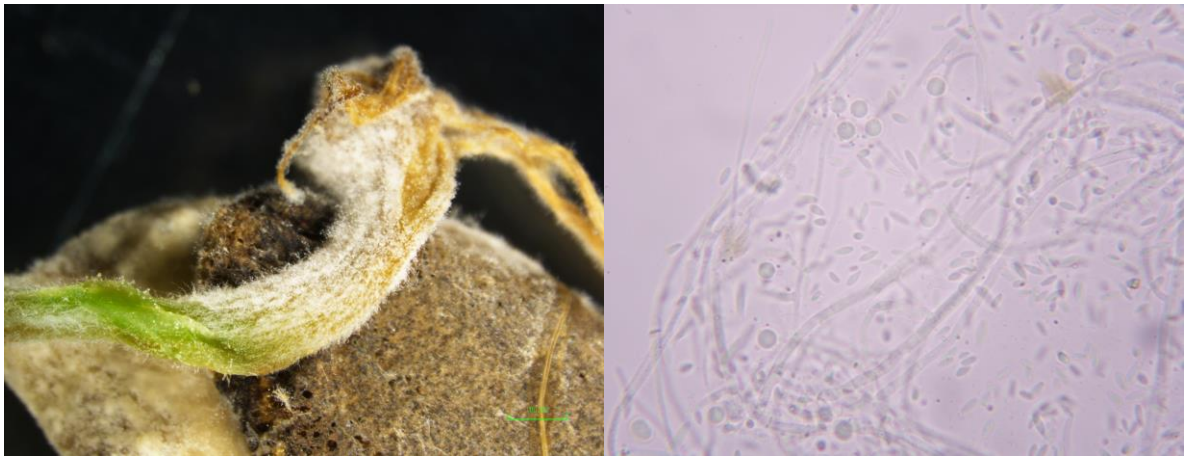


Figure 1.2.2 *Fusarium oxysporium* on imported watermelon seeds from United States of America of Low magnification (50x) and conidia structure of high magnification (1000x).

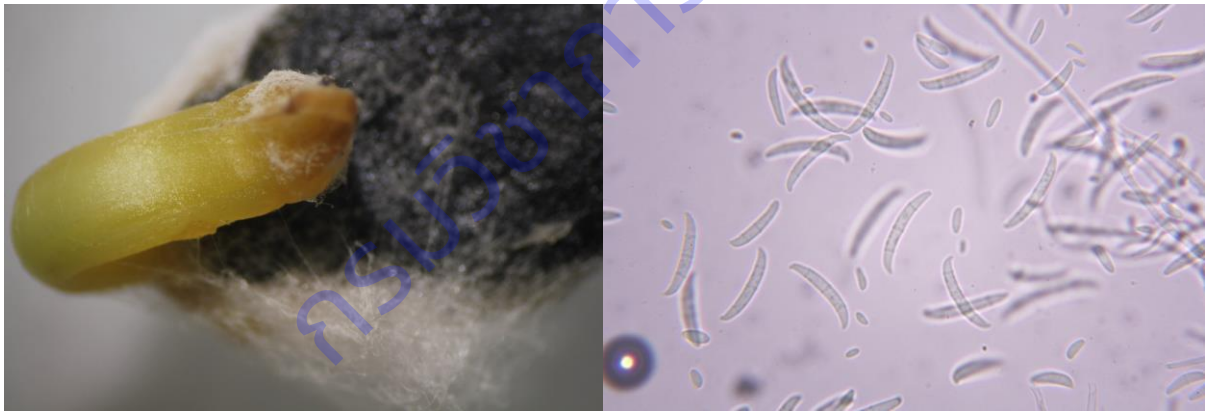


Figure 1.2.3 *Fusarium solani* on imported watermelon seeds from United States of America of Low magnification (50x) and conidia structure of high magnification (1000x).

กรมวิชาการเกษตร

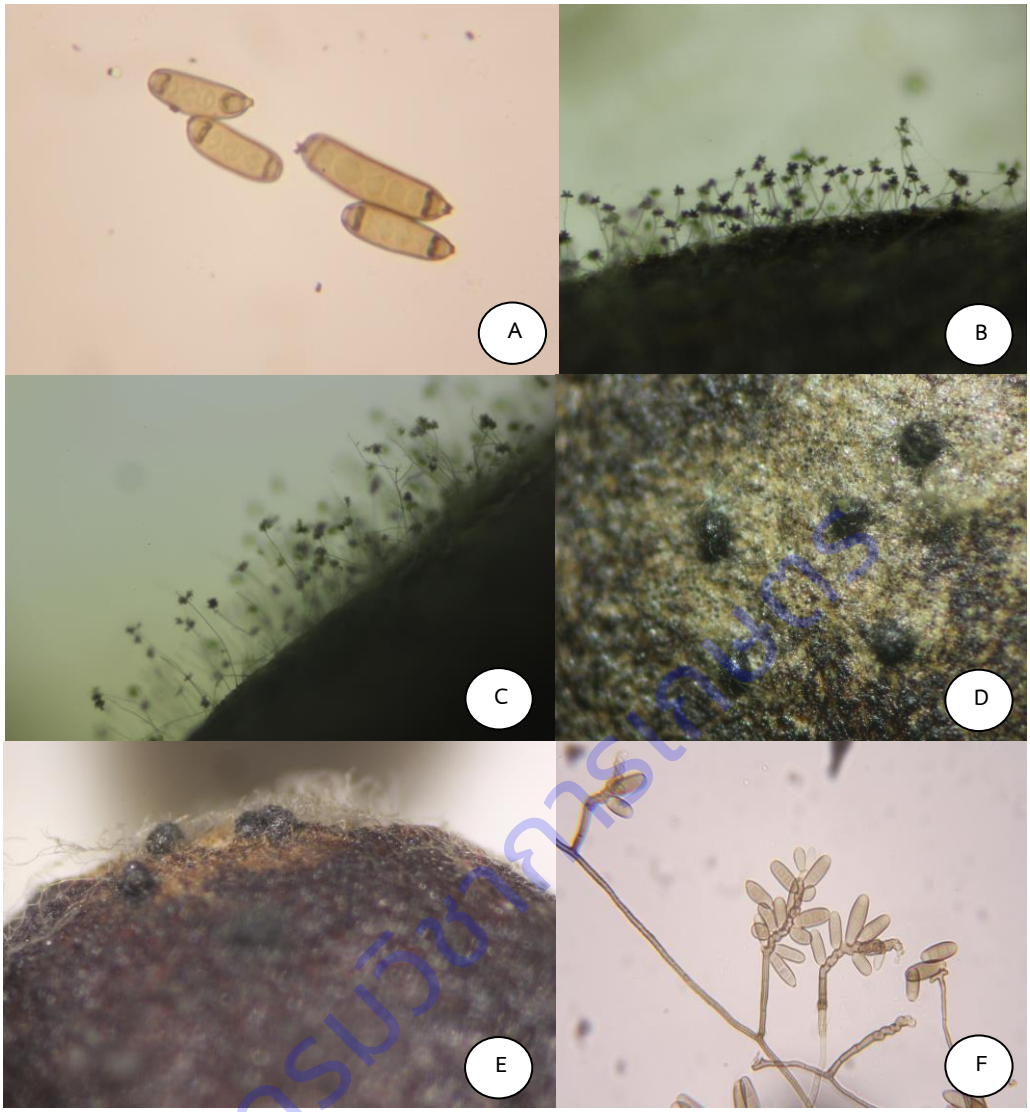


Figure 1.2.4 Fungi associated on imported watermelon seeds from India under stereo microscope and compound microscope

A) *Drechslera halodes* at 1000x B) *Curvularia pallescens* at 50x

C) *Cladosporium* sp. at 50x D) *Phoma cucurbitacearum* at 50x

E) *Macrophomina phaseolina* at 50x F) *Drechslera hawaiiensis* at 1000x

กรมวิชาการเกษตร

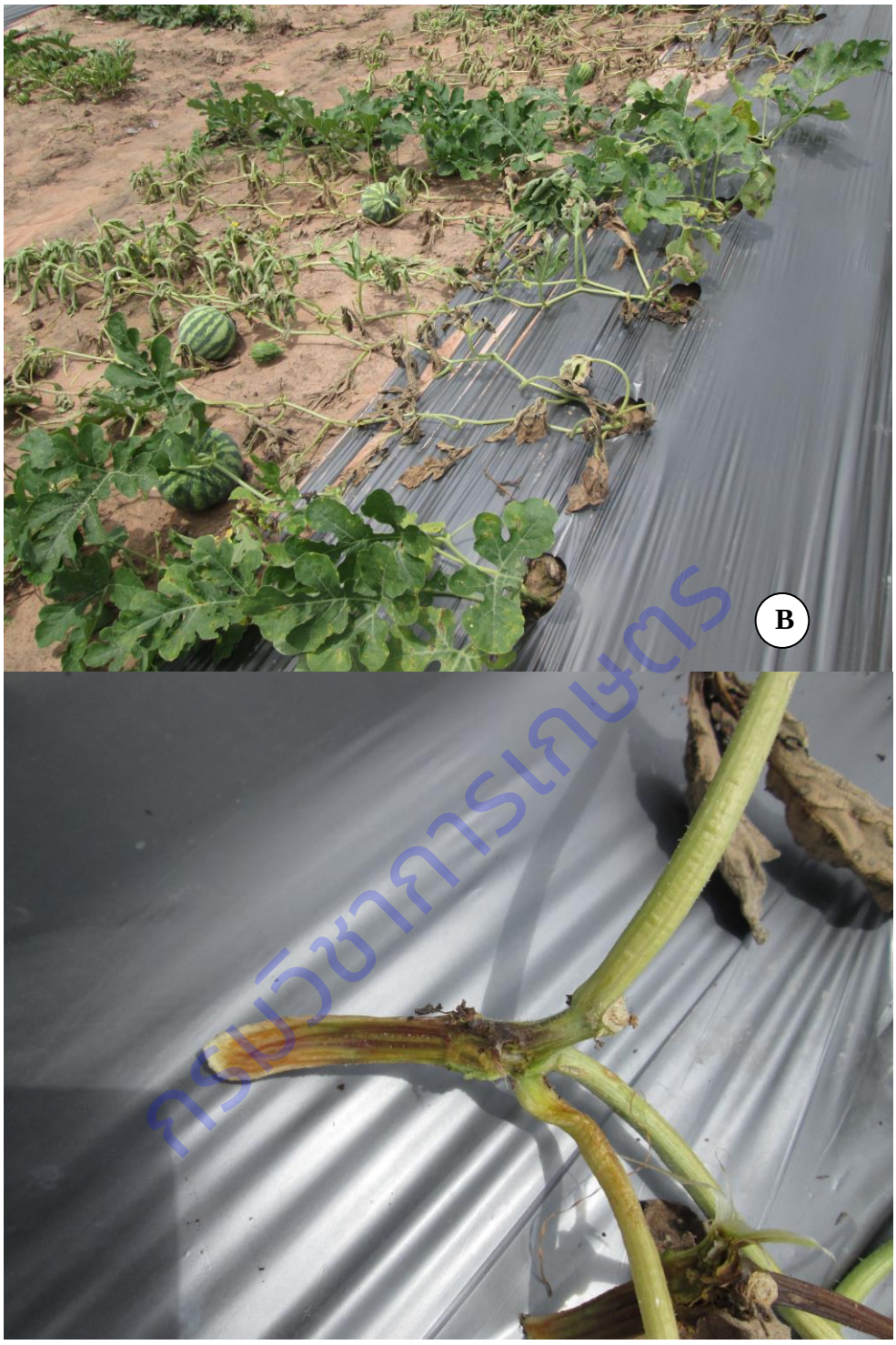


Figure 1.2.5 Fusarium wilt on watermelon A) Fusarium wilt on watermelon B) A discoloration of the vascular system (xylem), which can be observed readily in longitudinal or cross section of roots or stems.

กรมวิชาการเกษตร

Figure 1.2.6 Pythium fruit rot of watermelon caused by *Pythium* sp.

Figure 1.2.7 Gummy stem blight on watermelon leaf.

Figure 1.2.8 The southern blight fungus caused by *Sclerotium rolfsii* which produces seed-like resting structures.

Figure 1.2.9 Anthracnose (*Colletotrichum orbiculare*) symptoms on watermelon.

Figure 1.2.10 Downy mildew on watermelon leaf

Figure 1.2.11 Bacterial Fruit Blotch caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* that cross section through mature fruit shows internal damage.

ระยะที่ 2 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากญี่ปุ่นและ อิสราเอล (2561-2562 รวม 2 ปี)

ระยะที่ 3 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากชิลีและฟิลิปปินส์ (2563-2564 รวม 2 ปี)

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของแตงโม และข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในชิลีและฟิลิปปินส์ เปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ปริมาณการนำเข้า

- ปริมาณการนำเข้าเมล็ดพันธุ์แตงโมจากชิลี ในช่วงเดือนตุลาคม 2562 – กันยายน 2564 จำนวน 32 ครั้ง น้ำหนักรวม 23,833.981 กิโลกรัม โดยการนำเข้าที่ด่านตรวจพืช จำนวน 2 ด่าน ได้แก่ ด่านตรวจพืชไปรษณีย์ และด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ

- ปริมาณการนำเข้าเมล็ดพันธุ์แตงโมจากจากฟิลิปปินส์ ช่วงเดือนตุลาคม 2562 – กันยายน 2563 จำนวน 21 ครั้ง น้ำหนักรวม 777.937 กิโลกรัม โดยการนำเข้าที่ด่านตรวจพืช จำนวน 2 ด่าน ได้แก่ ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพและด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ

ศัตรูพืชที่พบเข้าทำลายแตงโม

- ข้อมูลศัตรูพืชของแตงโม พบศัตรูพืชรวม 91 ชนิด เป็น แมลง 27 ชนิด ไร 3 ชนิด ไส้เดือนฝอย 8 ชนิด รา 30 ชนิด แบคทีเรีย 8 ชนิด ไวรัส 10 ชนิด และวัชพืช 5 ชนิด โดยพบเป็นศัตรูพืชที่มีในชิลี จำนวน 84 ชนิด เป็นแมลง 22 ชนิด ไร 3 ชนิด ไส้เดือนฝอย 7 ชนิด รา 30 ชนิด แบคทีเรีย 8 ชนิด ไวรัส 10 ชนิด และวัชพืช 4 ชนิด (CABI, 2020; EPPO-PQR, 2020)

- ข้อมูลศัตรูพืชของแตงโมในชิลี ยังไม่มีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช แต่จากการค้นข้อมูลเบื้องต้น พบว่ามีศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากชิลี ได้แก่ เชื้อรา 2 ชนิด ได้แก่ *Phytophthora cryptogea* และ *Verticillium albo-atrum* และไวรัส 5 ชนิด ได้แก่ *Tobacco streak virus, Tomato black ring virus, Tomato spotted wilt virus, Tomato ringspot virus* และ *Zucchini yellow mosaic virus* (CPC, 2020)

- ข้อมูลศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ ยังไม่มีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช แต่จากการค้นข้อมูลเบื้องต้น พบว่ากักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ ได้แก่ เชื้อรา 3 ชนิด *Alternaria dauci, Chalara elegans* และ *Verticillium albo-atrum* แบคทีเรีย จำนวน 1 ชนิด ได้แก่ *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* ไวรัส 2 ชนิด ได้แก่ *Squash mosaic virus* และ *Tobacco streak virus* (CPC, 2020)

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากต่างประเทศในห้องปฏิบัติการและในโรงเรือนปลูกพืช

2.1 สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากด่านตรวจพืชและกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แตงโมการนำเข้าหากมีปริมาณน้อยกว่า 15 กิโลกรัม ปริมาณการสุ่มตัวอย่างเข้าห้องปฏิบัติการเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักที่นำเข้า

สำนักวิชาการเกษตร

โดยนำเมล็ดพันธุ์แตงโมที่นำเข้าจากประเทศชิลีและฟิลิปปินส์ มาตรวจสอบเบื้องต้น ด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติเมล็ดพันธุ์สมบูรณ์ ไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และเมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด และปิดมิดชิด (Figure 1.2.12)

2.2 การตรวจวินิจฉัยโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการและในโรงเรือนปลูกพืช

2.2.1 การตรวจสอบและจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชกับเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากประเทศชิลีและฟิลิปปินส์ ไม่พบการปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืชกับเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากทั้งสองประเทศ

2.2.2 การตรวจแมลงกับเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากประเทศชิลีและฟิลิปปินส์ ไม่พบร่องรอยการเจาะหรือกัดกินหรือตัวแมลงติดมากับเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากทั้งสองประเทศ

2.2.3 การตรวจไรกับเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากประเทศชิลีและฟิลิปปินส์ โดยการตรวจเมล็ดพันธุ์แตงโมภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ไม่พบตัวไรติดมกับเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากทั้งสองประเทศ

2.2.4 การตรวจสอบเชื้อรา

1) การตรวจสอบเมล็ดพันธุ์พืชขณะยังไม่งอก (Dry seed examination)

จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากประเทศชิลี และฟิลิปปินส์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ พบว่าเมล็ดพันธุ์มีรูปร่างปกติ ไม่พบเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์แตงโมที่นำเข้าจากชิลีและฟิลิปปินส์

2) การตรวจสอบเมล็ดพันธุ์พืชขณะเมล็ดงอก

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากประเทศชิลี และฟิลิปปินส์ นำมาทดสอบด้วยวิธี Blotter method เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิด เชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอและกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงพบว่าเมล็ดพันธุ์มีความงอกดีและตรวจพบเชื้อรากับเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากประเทศชิลี จำนวน 1 ครั้ง ได้แก่ เชื้อรา *Fusarium oxysporum* (Figure 1.2.13) ส่วนเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากฟิลิปปินส์ไม่พบเชื้อราสาเหตุโรคพืช อย่างไรก็ตามจะเห็นว่าเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากทั้งสองประเทศมีการคลุกเมล็ดด้วยสารเคมีมาอย่างดี ทำให้การพบเชื้อราติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้น้อย ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่ตรวจพบเชื้อรามีการแนะนำให้มีการคลุกสารเคมีกำจัดเชื้อราก่อนนำเมล็ดดังกล่าวไปปลูกต่อไป

2.2.5 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

1) การแยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

นำเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากประเทศชิลีและฟิลิปปินส์ มาทำการแยก เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate บนอาหาร Nutrient agar (NA) บ่มจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน หลังจากนั้นทำการตรวจลักษณะโคโลนีของเชื้อที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วจึงนำเชื้อมาแยกให้บริสุทธิ์และขยายปริมาณบนอาหาร NA อีกครั้ง นำเชื้อแบคทีเรียที่ได้มาย้อมแกรม พบว่าเชื้อที่แยกได้เป็นแกรมบวก ซึ่งเชื้อดังกล่าวไม่เป็นเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค

2) แยกเชื้อจากต้นกล้าที่ปลูกสังเกตลักษณะอาการโรคบนต้นกล้า (Seedling symptom test)

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

จากการนำเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากประเทศชิลีและฟิลิปปินส์มาเพาะเมล็ด ในโรงเรือนกักกันพืช ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช เฝ้าสังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้นพืช ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติกับต้นกล้าและต้นกล้าจากเมล็ดพันธุ์แตงโมจากทั้งสองประเทศเจริญเติบโตได้ดี

3) การตรวจจากต้นกล้าโดยตรง โดยนำเมล็ดพันธุ์แตงโมเพาะบนกระดาษชื้น นาน 7 วัน แล้วเก็บรวบรวมต้นกล้านำมาบดด้วย extract buffer แล้วนำไปตรวจด้วย Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) พบว่าเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากชิลี พบเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* จำนวน 1 ครั้ง ส่วนเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากฟิลิปปินส์ ไม่พบเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

2.2.6 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

การปลูกสังเกตลักษณะอาการโรคบนต้นกล้า (Seedling symptom test) โดยเพาะเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากประเทศชิลีและฟิลิปปินส์ในดินนอบฆ่าเชื้อ นำไปปลูกไว้ในโรงเรือนปลูกพืช เป็นเวลา 14 วัน โดยสังเกตลักษณะอาการต่างๆ กับต้นกล้าแตงโม ผลการตรวจสอบไม่พบลักษณะอาการผิดปกติบนต้นกล้าแตงโมจากทั้งสองประเทศและต้นกล้าเจริญเติบโตได้ดี

การตรวจจากต้นกล้าโดยตรง โดยนำเมล็ดพันธุ์แตงโมเพาะบนกระดาษชื้น นาน 7 วัน แล้วเก็บรวบรวมต้นกล้านำมาบดด้วย extract buffer แล้วนำไปตรวจด้วย Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) กับเชื้อไวรัส ได้แก่ *Squash mosaic virus*, *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV), *Kyuri green mottle mosaic virus* (KGMMV) ผลการตรวจ ไม่พบไวรัสกับเมล็ดพันธุ์แตงโม นำเข้าจากทั้งสองประเทศ

3. การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบในเมล็ดพันธุ์นำเข้า

การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจสอบเมล็ดพันธุ์แตงโมที่นำเข้าจากประเทศชิลีและฟิลิปปินส์สรุปได้ดังตาราง (Table 1.2.3)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากประเทศชิลี เมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากชิลี จำนวน 32 ครั้ง และเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากฟิลิปปินส์ 21 ครั้ง นำเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบเบื้องต้นภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ ไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืช และไม่มีวัชพืชติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการและปลูกทดสอบโรคในโรงเรือนปลูกพืช พบเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากประเทศชิลี พบเชื้อ *Fusarium oxysporum* จำนวน 1 ครั้ง และเชื้อ *Acidovorax avenae* pv. *citrulli* **ซึ่งเชื้อที่พบไม่เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย** ส่วนเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากฟิลิปปินส์ ไม่พบเชื้อโรคพืชติดเมล็ดพันธุ์นำเข้า

กรมวิชาการเกษตร

Table 1.2.3 Pests associated with imported watermelon seeds from Chile and Philippines in laboratory (October 2019-Sebtember 2021).

No.	Importing country	No. of shipment	Weight (Kgs)	Plant quarantine station	Result	No. of shipment detected
1	Chile	32	23,833.981	- Suvarnabhumi Airport Plant Quarantine Station - Post Office Plant Quarantine Station	- *Fusarium oxysporum* - *Acidovorax avenae* pv. *citrulli*	1 1
2	Philippines	21	777.937	- Suvarnabhumi Airport Plant Quarantine Station - Port of Bangkok Plant Quarantine Station	-	-

กรมวิชาการเกษตร

Figure 1.2.12. The packaging and imported watermelon seeds

A. The packaging and imported watermelon seeds from Chile

B. The packaging and imported watermelon seeds from Philippines

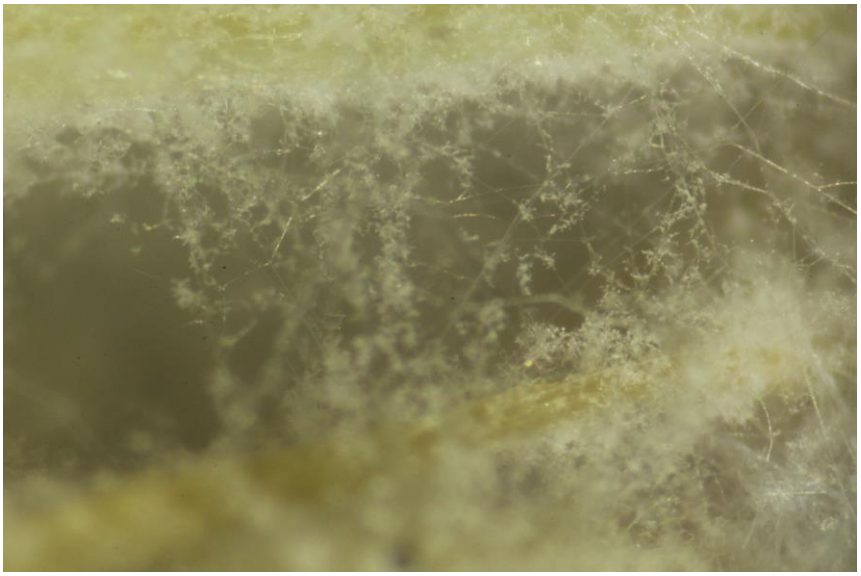


Figure 1.2.13. *Fusarium oxysporum* on watermelon seeds from Chile (10x)

การทดลองที่ 1.3 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา อินเดีย ญี่ปุ่น อิสราเอล ชิลี และเนเธอร์แลนด์ (2559-2564)

ระยะที่ 1 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากสหรัฐอเมริกาและอินเดีย (2559-2560 รวม 2 ปี)

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของเมลอน และข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในอเมริกาและอินเดียเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

การจำแนกพืช

Domain: Eukaryota

Kingdom: Viridiplantae

Phylum: Spermatophyta

Subphylum: Angiospermae

Class: Dicotyledonae

Order: Violales

Family: Cucurbitaceae

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cucumis melo* L., *Cucumis melo* var. *cantalupensis*

ชื่ออื่น ๆ เมลอน, แคนตาลูป, แตงเทศ

ปริมาณการนำเข้า

- ปริมาณการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา ปี 2559-2560 ปริมาณ 200.39 กิโลกรัม
- ปริมาณการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากอินเดีย ปี 2559-2560 ปริมาณ 518.40 กิโลกรัม

ศูนย์วิชาการเกษตร

ศัตรูพืชที่พบเข้าทำลายเมลอน

ศัตรูพืชของเมลอนในประเทศไทย มีทั้งหมด 73 ชนิด โดยมีศัตรูพืชจัดเป็นแมลง 26 ชนิด ไร 3 ชนิด หอย 1 ชนิด แบคทีเรีย 4 ชนิด รา 24 ชนิด ไวรัส 4 ชนิด ไมโครพลาสมา 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 8 ชนิด วัชพืช 2 ชนิด

ศัตรูพืชของเมลอนในสหรัฐอเมริกา มีทั้งสิ้นจานวน 136 ชนิด โดยจัดเป็นแมลง 42 ชนิด ไร 4 ชนิด หอย 1 ชนิด แบคทีเรีย 13 ชนิด รา 40 ชนิด ไวรัส 18 ชนิด ไมโครพลาสมา 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 10 ชนิด วัชพืช 6 ชนิด สัตว์มีกระดูกสันหลัง 1 ชนิด ทำการจัดลำดับศัตรูพืชของ แคนตาลูปที่จะวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest categorization) พบว่ามีศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์แคนตาลูปนำเข้าจากสหรัฐอเมริกาได้แก่ ไวรัส *Alfalfa mosaic virus, Cucumber green mottle mosaic virus, Melon necrotic spot virus, Squash mosaic virus* และ *Tobacco ringspot virus* (คมศร และคณะ, 2557)

ศัตรูพืชของเมลอนในอินเดีย มีทั้งสิ้น 91 ชนิด โดยจัดเป็นแมลง 27 ชนิด ไร 3 ชนิด หอย 1 ชนิด แบคทีเรีย 8 ชนิด รา 30 ชนิด ไวรัส 8 ชนิด ไส้เดือนฝอย 6 ชนิด วัชพืช 8 ชนิด ยังไม่มีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช แต่จากการค้นข้อมูล พบว่า มีศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงที่อาจติดมากับ เมล็ดพันธุ์เมลอนจากอินเดีย ได้แก่ *Cucumber green mottle mosaic virus, Squash mosaic virus* และ *Tobacco ringspot virus*

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากอเมริกา และอินเดียในห้องปฏิบัติการและในโรงเรือนปลูกพืช

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจาก 3 ด่านตรวจพืช ได้แก่ ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ด่านตรวจพืชสุวรรณภูมิ และด่านตรวจพืชไปรษณีย์ มีเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากอเมริกาจำนวน 12 ครั้ง และนำเข้าจากอินเดีย จำนวน 6 ครั้ง นำมาตรวจสอบเบื้องต้น ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ เมล็ดพันธุ์สมบูรณ์ ไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และบางตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มีการเคลือบเมล็ดด้วยสารเคมีไทแรม ปริมาณ 80-160 กรัม ต่อเมล็ด 100 กิโลกรัม (Figure 1.3.1)

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

จากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์เมลอนที่นำเข้าจากอเมริกาและอินเดียในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี Blotter method พบว่าเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา พบเชื้อรา จำนวน 2 ชนิด ชนิดละ 1 ครั้ง ได้แก่ 1) *Fusarium oxysporum* และ 2) *F. solani* (Figure 1.3.2) และเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากอินเดีย ตรวจพบเชื้อรา จำนวน 2 ชนิด ชนิดละ 1 ครั้ง ได้แก่ 1) *Drechslera halodes* และ 2) *Macrophomina phaseolina* (Figure 1.3.3) ซึ่งเชื้อสาเหตุดังกล่าว ไม่เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

กรมวิชาการเกษตร

ส่วนการตรวจด้วยวิธี dilution plate method และการตรวจการปนเปื้อนของเชื้อ *Acidovorax avaenae* pv. *citrulli*, CGMMV, KGMMV, SqMV และCMV ด้วยวิธี ELISA ในห้องปฏิบัติการ ไม่พบการปนเปื้อนเชื้อต่างๆ ในเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากทั้งสองประเทศ

เมื่อนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการในโรงเรือนกักกันพืช (Seedling symptom) และโรงเรือนปลูกพืชของบริษัทผู้นำเข้าหรือและเกษตรกร ไม่พบอาการของโรคหรือศัตรูพืชกับต้นแตงโมจากเมล็ดพันธุ์นำเข้าทั้งสองประเทศ

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าในพื้นที่ของเกษตรกร

จากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจติดกับเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากอเมริกาในแปลงปลูกในพื้นที่ของเกษตรกรใน จังหวัดขอนแก่น กาฬสินธุ์ และ อุดรธานี จำนวน 25 แปลง ได้แก่ โรคต้นแตกหรือยางไหล เชื้อสาเหตุ *Didymella bryoniae* (Figure 1.3.4), โรคราน้ำค้าง เชื้อสาเหตุจาก *Pseudoperonospora cubensis* (Figure 1.3.5), โรคแอนแทรคโนส เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum orbiculare* (Figure 1.3.6), และโรคต้นเหี่ยวหรือผลเน่า เชื้อสาเหตุ *Fusarium oxysporum* (Figure 1.3.7 และ1.3.8) แต่ไม่มีแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากอินเดีย ซึ่งอาการของโรคที่พบ**ไม่เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย** แต่เมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากอินเดียไม่มีแปลงปลูก (Table 1.3.1)

4. การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและศัตรูพืชที่ติดตามตรวจสอบในแปลงปลูก และสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจสอบเมล็ดพันธุ์เมลอนที่นำเข้าจากอเมริกาและอินเดียจากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์เมลอนที่นำเข้าจากต่างประเทศ สรุปได้ดัง Table 1.3.2

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา จำนวน 12 ครั้ง และเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากอินเดีย จำนวน 6 ครั้ง (ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 ถึง กันยายน 2559) โดยนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบเบื้องต้นภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ และเมื่อนำ เมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบว่า เมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา พบเชื้อรา จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Fusarium oxysporum* และ *F. solani* และเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากอินเดีย ตรวจพบเชื้อรา จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Drechslera halodes* และ *Macrophomina phaseolina* ส่วนการตรวจเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้า ด้วยวิธี Dilution technique และ ELISA technique ไม่พบศัตรูพืชติดมากับเมล็ดพันธุ์ และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นเมลอน และผลการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากอเมริกา ในจังหวัดขอนแก่น กาฬสินธุ์ และอุดรธานี พบ โรคกับต้นเมลอน จำนวน 4 ชนิด ซึ่งศัตรูพืชที่พบทั้งในห้องปฏิบัติการและในแปลงปลูก **ไม่เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย**

กรมวิชาการเกษตร

Table 1.3.1 Pest interception with melon seeds import from USA and India in laboratory (October 2015-Sebtember 2017)

No.	Importing country	No. of shipment	Weight (Kgs)	Plant quarantine station	Result	No. of shipment detected
1	USA	30	200.39	- Suvarnabhumi Airport Plant Quarantine Station - Bangkok Maritime Port Plant Quarantine Station - Post Plant Quarantine Station - Lat Krabang Plant Quarantine Station	**Blotter method** 1. *Fusarium oxysporum* 2. *F. solani*	1 1
2	India	19	518.40	- Suvarnabhumi Airport Plant Quarantine Station - Post Plant Quarantine Station	**Blotter method** 1. *Drechslera halodes* 2. *Macrophomina phaseolina*	1 1

Table 1.3.2 The melon diseases on field inspection

No.	disease	pathogen	Plant part	Province
Symptom caused by fungi				
1	Gummy stem blight	*Didymella bryoniae*	leaf	Khon Kean, Kalasin and Udorn Thani
2	Downy mildew	*Pseudoperonospora cubensis*	leaf	Khon Kean, Kalasin and Udorn Thani
3	Anthacnose	*Colletotrichum orbiculare*	leaf	Khon Kean, Kalasin and Udorn Thani
4	Fusarium rot	*Fusarium oxysporum*	fruit	Khon Kean,

สำนักวิชาการเกษตร

Figure 1.3.1 The packaging and imported melon seeds A) The imported melon

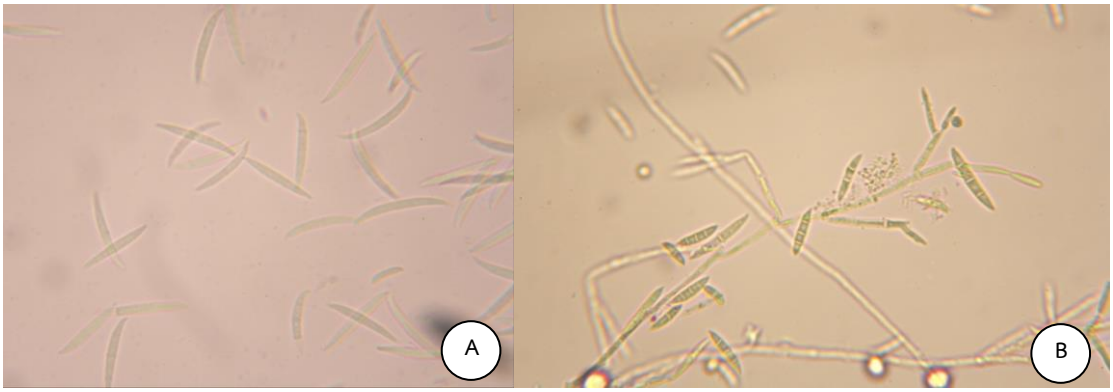
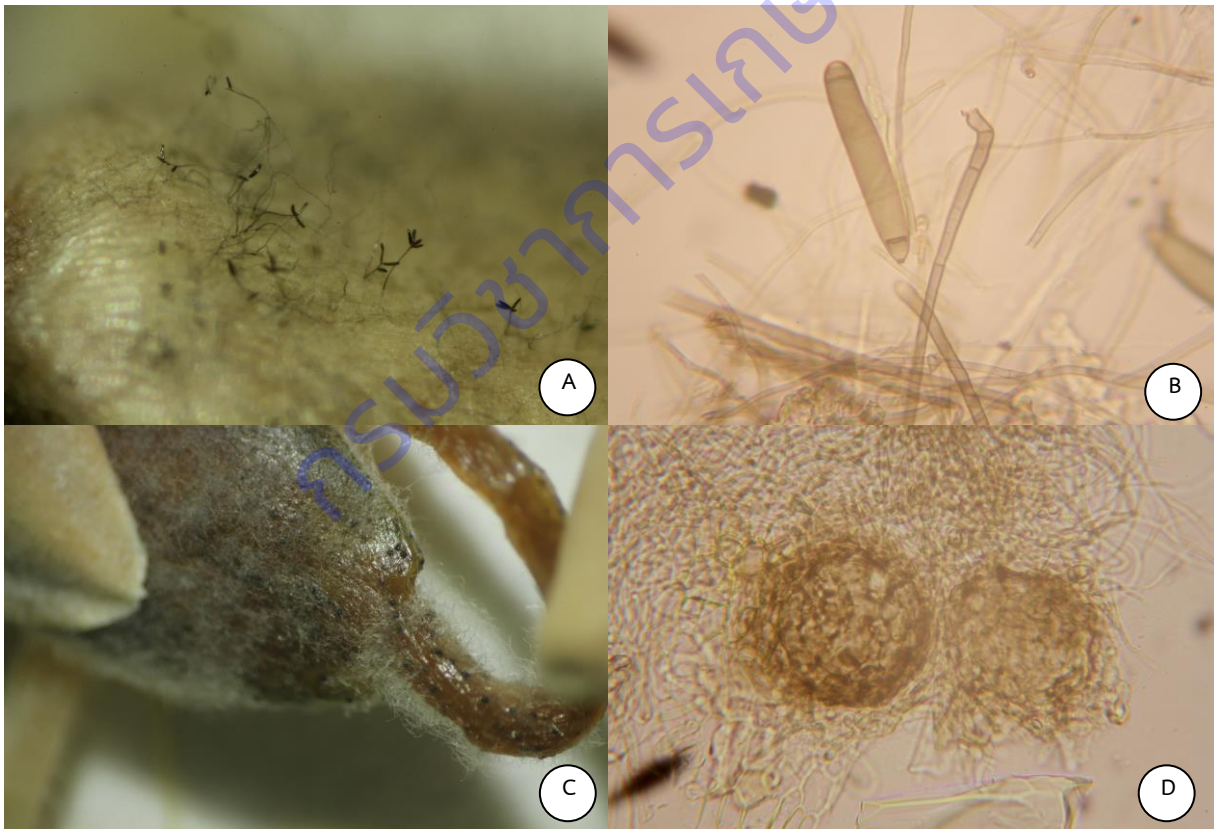


Figure 1.3.2 Fungi associated on imported watermelon seeds from United States of America under stereo microscope and compound microscope
A) *Fusarium oxysporum* at 400x B) *F. solani* at 400x



กรมวิชาการเกษตร

Figure 1.3.3 Fungi associated on imported watermelon seeds from India under stereo microscope and compound microscope
A) *Drechslera halodes* at 165x B) *Drechslera halodes* at 400x
C) *Macrophomina phaseolina* at 50x D) *Macrophomina phaseolina* at 200x

Figure 1.3.5. Canker of gummy stem blight on melon with fruiting bodies of *Didymella bryoniae*

Figure 1.3.6. Downy mildew symptoms on melon. Angular-shaped lesions on the upper side of leaves are light green to yellow in color.

กรมวิชาการเกษตร

Figure 1.3.7. Anthracnose on melon leaf.

Figure 1.3.8. Fusarium rot on melon fruit

กรมวิชาการเกษตร

ระยะที่ 2 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากญี่ปุ่น และอิสราเอล (2561-2562 รวม 2 ปี)

ระยะที่ 3 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากชิลีและเนเธอร์แลนด์ (2563-2564 รวม 2 ปี)

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของเมลอน และข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในชิลีและเนเธอร์แลนด์ เปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ปริมาณการนำเข้า

- ปริมาณการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากชิลี ในช่วงเดือนตุลาคม 2562 – กันยายน 2564 ชิลี จำนวน 21 ครั้ง น้ำหนักรวม 9.414 กิโลกรัม นำเข้าทางด่านตรวจพืช จำนวน 2 ด่าน ได้แก่ ด่านตรวจพืชไปรษณีย์ และด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ

- ปริมาณการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ ในช่วงเดือนตุลาคม 2562 – กันยายน 2564 จำนวน 2 ครั้ง น้ำหนักรวม 0.375 กิโลกรัม นำเข้าทางด่านตรวจพืชหนองคาย และด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ

ศัตรูพืชที่พบเข้าทำลายเมลอน

- ศัตรูพืชของเมลอน มีทั้งหมด 73 ชนิด โดยมีศัตรูพืชจัดเป็นแมลง 26 ชนิด ไร 3 ชนิด หอย 1 ชนิด แบคทีเรีย 4 ชนิด รา 24 ชนิด ไวรัส 4 ชนิด ไมโครพลาสมา 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 8 ชนิด วัชพืช 2 ชนิด

- ข้อมูลศัตรูพืชของเมลอนในชิลี ยังไม่มีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช แต่จากการค้นข้อมูลเบื้องต้น พบว่าศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากชิลี ได้แก่ เชื้อรา 2 ชนิด ได้แก่ *Phytophthora cryptogea* และ *Verticillium albo-atrum* และไวรัส 5 ชนิด ได้แก่ *Tobacco streak virus, Tomato black ring virus, Tomato spotted wilt virus, Tomato ringspot virus Zucchini yellow mosaic virus* และ *Tobacco ringspot virus* (CPC, 2020; EPPO-PQR, 2020)

- ข้อมูลศัตรูพืชของเมลอนในเนเธอร์แลนด์ ยังไม่มีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช แต่จากการค้นข้อมูลเบื้องต้น พบว่าศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ ได้แก่ เชื้อรา 4 ชนิด คือ *Alternaria dauci, Chalara elegans, Phytophthora cryptogea* และ *Verticillium albo-atrum* แบคทีเรีย 1 ชนิด ได้แก่ *Pseudomonas syringae pv. lachrymans* ไวรัส 6 ชนิด ได้แก่ *Arabis mosaic virus, Squash mosaic virus, Tobacco streak virus, Tomato black ring virus, Tomato spotted wilt virus* และ *Zucchini yellow mosaic virus*

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากชิลีและเนเธอร์แลนด์ในห้องปฏิบัติการและในโรงเรือนปลูกพืช

2.1 สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากด่านตรวจพืชและกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากชิลีและเนเธอร์แลนด์ มีปริมาณ การนำเข้าน้อยกว่า 15 กิโลกรัม ปริมาณการสุ่มตัวอย่างเข้าห้องปฏิบัติการเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักที่นำเข้า เช่นเดียวกับ

ศูนย์วิทยทรัพยากร

เมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ มีการนำเข้าปริมาณน้อยกว่า 15 กิโลกรัม ดังนั้น ปริมาณการสุ่มตัวอย่างเข้าห้องปฏิบัติการเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนัก ที่นำเข้า

โดยนำเมล็ดพันธุ์เมลอนที่นำเข้าจากประเทศชิลีและเนเธอร์แลนด์ มาตรวจสอบเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ เมล็ดพันธุ์สมบูรณ์ ไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และเมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด และปิดมิดชิด (Figure 1.3.9)

2.2 การตรวจวินิจฉัยโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการและในโรงเรือนปลูกพืช

2.2.1 การตรวจสอบและจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชกับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากประเทศชิลีและเนเธอร์แลนด์ ไม่พบการปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืชกับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากทั้งสองประเทศ

2.2.2 การตรวจแมลงกับเมล็ดพันธุ์นำเข้าเมลอนจากประเทศชิลีและเนเธอร์แลนด์ไม่พบร่องรอยการเจาะหรือกัดกินหรือตัวแมลงติดมากับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากทั้งสองประเทศ

2.2.3 การตรวจไรกับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากประเทศชิลีและเนเธอร์แลนด์โดยการตรวจดูเมล็ดพันธุ์เมลอนภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ไม่พบตัวไรติดมกับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากทั้งสองประเทศ

2.2.4 การตรวจสอบเชื้อรา

1) การตรวจสอบเมล็ดพันธุ์พืชขณะยังไม่งอก (Dry seed examination)

จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากประเทศชิลีและเนเธอร์แลนด์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ พบว่าเมล็ดพันธุ์มีรูปร่างปกติ ไม่พบเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์เมลอนที่นำเข้าจากชิลีและเนเธอร์แลนด์

2) การตรวจสอบเมล็ดพันธุ์พืชขณะเมล็ดงอก

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากประเทศชิลีและเนเธอร์แลนด์ นำมาทดสอบด้วยวิธี Blotter method เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอและกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง พบเชื้อรา *Fusarium oxysporum* (Figure 1.3.10) กับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากชิลี จำนวน 1 ครั้ง ซึ่งเมล็ดพันธุ์ที่ตรวจพบเชื้อรา มีการแนะนำให้มีการคลุกสารเคมีกำจัดเชื้อราก่อนนำเมล็ดดังกล่าวไปปลูกต่อไปซึ่งเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากทั้งสองประเทศมีการบรรจุปิดมิดชิดใหม่และสะอาด และบางครั้งมี การคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสารเคมี เช่น Metalaxyl จึงไม่ค่อยพบเชื้อราสาเหตุโรคปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากทั้งสองประเทศ

2.2.5 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

1) การแยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

นำเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากประเทศชิลีและเนเธอร์แลนด์ มาทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate บนอาหาร Nutrient agar (NA) บ่มจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน หลังจากนั้นทำการตรวจลักษณะโคโลนีของเชื้อที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบโคโลนีมีสีขาว ขุ่น นูนเหนืออาหาร ขอบโคโลนีกลมเรียบ จึงนำเชื้อมาแยกให้บริสุทธิ์และขยายปริมาณบนอาหาร NA อีกครั้ง นำเชื้อแบคทีเรียที่ได้มาย้อมแกรม พบว่าเชื้อที่แยกได้เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งเชื้อดังกล่าวไม่เป็นเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคกับเมลอน

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

2) การแยกเชื้อจากต้นกล้าที่ปลูกสังเกตลักษณะอาการโรคบนต้นกล้า (Seedling symptom test)

จากการนำเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากประเทศชิลีและเนเธอร์แลนด์ มาเพาะเมล็ดในโรงเรือนกักกันพืชของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช เฝ้าสังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้นพืช กิ่ง ก้านและใบ พบว่าต้นกล้าเมลอนนำเข้าจากทั้งสองประเทศ มีการเจริญเติบโตได้ดีและไม่พบลักษณะอาการผิดปกติกับต้นกล้าเมลอน

3) การตรวจจากต้นกล้าโดยตรง โดยนำเมล็ดพันธุ์เมลอนเพาะบนกระดาษชื้น นาน 7 วัน แล้วเก็บรวบรวมต้นกล้านำมาบดด้วย extract buffer แล้วนำไปตรวจด้วย Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) เชื้อแบคทีเรียเป้าหมาย ได้แก่ เชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* ไม่พบเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวกับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากทั้งชิลีและเนเธอร์แลนด์

2.2.6 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

การปลูกสังเกตลักษณะอาการโรคบนต้นกล้า (Seedling symptom test) โดยเพาะเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากประเทศชิลีและเนเธอร์แลนด์ในดินอบฆ่าเชื้อ นำไปปลูกไว้ในโรงเรือนปลูกพืช เป็นเวลา 14 วัน โดยสังเกตลักษณะอาการต่างๆ กับต้นกล้าเมลอน ผลการตรวจสอบไม่พบลักษณะอาการผิดปกติที่มีสาเหตุจากไวรัสสาเหตุโรคพืชบนต้นกล้าเมลอนจากทั้งสองประเทศและต้นกล้าเจริญเติบโตได้ดี

การตรวจจากต้นกล้าโดยตรง โดยนำเมล็ดพันธุ์เมลอนเพาะบนกระดาษชื้น นาน 7 วัน แล้วเก็บรวบรวมต้นกล้านำมาบดด้วย extract buffer แล้วนำไปตรวจด้วย Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) กับเชื้อไวรัส ได้แก่ *Squash mosaic virus*, *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV), *Kyuri green mottle mosaic virus* (KGMMV) ผลการตรวจ ไม่พบไวรัสต่างๆ กับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากทั้งสองประเทศ

3. การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบในเมล็ดพันธุ์นำเข้า

การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจสอบเมล็ดพันธุ์เมลอนที่นำเข้าจากชิลีและเนเธอร์แลนด์ สามารถสรุปได้ดังตาราง (Table 1.3.3)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากชิลี จำนวน 21 ครั้ง น้ำหนักรวม 9.414 กิโลกรัม และนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ 2 ครั้ง น้ำหนักรวม 0.375 กิโลกรัม โดยนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบเบื้องต้นภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา *Fusarium oxysporum* บนเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากชิลี จำนวน 1 ครั้ง ส่วนเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ไม่พบเชื้อราสาเหตุโรคพืช และเมื่อนำเข้ามาตรวจสอบด้วยวิธี Dilution technique และ ELISA technique ไม่พบเชื้อสาเหตุโรคพืชติดมากับเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากทั้งสองประเทศ ส่วนจากการนำเมล็ดพันธุ์เมลอนนำมาปลูกสังเกตลักษณะอาการโรคในโรงเรือน ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นกล้าเมลอนนำเข้าจากทั้งสองประเทศ

กรมวิชาการเกษตร

Table 1.3.3 Pest interception with melon seeds import from Chile and Netherland in laboratory (October 2019-Sebtember 2020)

No.	Importing country	No. of shipment	Weight (Kgs)	Plant quarantine station	Result	No. of shipment detected
1	Chile	8	1.106	- Post Plant Quarantine Station - Suvarnabhumi Airport Plant Quarantine Station	*Fusarium oxysporum*	1
2	Netherland	1	0.35	- Nong Khai Plant Quarantine Station	-	-

กรมวิชาการเกษตร

Figure 1.3.9 The packaging and imported melon seeds from Chile

Figure 1.3.10. *Fusarium oxysporum* on imported melon seeds from Chile

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 1.4 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกา (2559-2562)

ระยะที่ 1 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดียและจีน (2559-2560)

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของพริก และข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในอินเดีย และจีน เปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

จากการสืบค้นข้อมูลพริก พบว่ามีถิ่นกำเนิดดั้งเดิมในทวีปอเมริกาใต้ และใช้ประโยชน์มานานนับหลายพันปี ถูกนำเข้ามาเผยแพร่ในยุโรปในชื่อของพริกแดง (red pepper: *Capsicum* spp.) ตามลักษณะสีของผล พริกมีประมาณ 25 ชนิด ที่นิยมปลูกกันมีเพียง 5 ชนิดเท่านั้น ได้แก่ *Capsicum annuum* L., *C. baccatum* L., *C. chinensis* Jacq., *C. frutescens* L. และ *C. pubescens* R. & P. และมีพันธุ์ที่ถูกพัฒนาขึ้นอีกมากมาย โดยมีชื่อที่ใช้เรียกกันอยู่หลายคำ ได้แก่ pepper, chili และ capsicum คนไทยอาจจะคุ้นเคยกับคำว่า chili ในประเทศไทยนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริกเพื่อผลิต เมล็ดพันธุ์เพื่อใช้เป็นการค้าหรือเป็นเมล็ดพันธุ์พ่อแม่เพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมเพื่อการส่งออก

จากการศึกษาข้อมูลศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากต่างประเทศโดยการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าระหว่างเดือน มกราคม 2553 - ธันวาคม 2555 จาก 16 ประเทศ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน สหรัฐอเมริกา เนเธอร์แลนด์ เกาหลี อินเดีย ชิลี ฝรั่งเศส อิสราเอล ญี่ปุ่น เม็กซิโก แอฟริกาใต้ อิตาลี สเปน ฟิลิปปินส์ ไต้หวัน และอินโดนีเซีย จำนวน 48 ตัวอย่าง และทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือการปนเปื้อนของวัชพืช และผลจากการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี blotter method และ dilution plate method พบเชื้อรา *Alternaria tenuis, Alternaria raphani, Curvularia pallescens, Fusarium semitectum* เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* แต่ไม่พบอาการผิดปกติที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ภายหลังการปลูกทดสอบ (seedling symptom test) ในสถานกักพืช และศัตรูพืชที่ตรวจพบ ไม่จัดเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช (ชลธิชา และคณะ, 2556) แต่ยังไม่ยังมีการการศึกษาและวิจัยอย่างจริงจังกับประเทศใดประเทศหนึ่ง เช่น อินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกา และจาก การตรวจเอกสารใบรับรองสุขอนามัยพืชของอินเดียในบื้องต้น มิได้ระบุมาตรการในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชใดๆ

จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย พบว่า ศัตรูพืชที่สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดพันธุ์ ตลอดจนเป็นเชื้อโรคและศัตรูพืชที่สามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกา พบว่าพริกจากอินเดียและจีน มีศัตรูพืชที่สำคัญ 9 ชนิด ได้แก่ ด้วงอิฐ *Trogoderma granarium* วัชพืช *Circium arvense*, *Orobanche cernua*, *O. aegyptiaca*, *O. ramosa* เชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas viridiflava* เชื้อไวรัส *Alfalfa mosaic virus* และ *Tobacco streak virus* ส่วนเมล็ดพันธุ์พริกจากเนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกา ยังอยู่ในช่วงสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย ซึ่งศัตรูพืชเป้าหมายของพริกจากอินเดียและจีนมีรายละเอียดดังนี้

ด้วงอิฐ (*Trogoderma granarium*) จัดเป็นแมลงศัตรูพืชในโรงเก็บกับเมล็ดพืชหลายชนิดเช่นข้าวโพด และมีรายงานแพร่ระบาดในอินเดียประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรปจัดเป็นศัตรูพืชกักกัน ระดับ A2 (Smith *et al.*,

ศรีวิชาการเกษตร

1992) สามารถตรวจสอบเบื้องต้นด้วยตาเปล่า แว่นขยาย และกล้องจุลทรรศน์แบบสเตริโอ การตรวจสอบว่าปลอดจากแมลง *Trogoderma* spp. เมล็ดพันธุ์ต้องผ่านการตรวจรับรองตามวิธีการวิเคราะห์ของ ISTA การรมเมล็ดพันธุ์ด้วย Methyl bromide อัตรา 80 g/m^3 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส หรือรมด้วย Phosphine อัตรา 1.0-1.5 g/m^3 เป็นเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิระหว่าง 15-25 องศาเซลเซียส หรือที่อัตรา 1.0-1.5 g/m^3 เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิมากกว่า 25 องศาเซลเซียส (CABI, 2016)

Circium arvense, *Orobanche cernua*, *Orobanche aegyptiaca* และ *Orobanche ramosa* เป็นวัชพืชที่สำคัญทางกักกันพืชที่สามารถปนเปื้อนหรือติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกได้ วิธีการตรวจสอบเมล็ดวัชพืชเหล่านี้ สามารถตรวจสอบเบื้องต้นด้วยตาเปล่า แว่นขยาย และกล้องจุลทรรศน์แบบสเตริโอ ตลอดจนปลูกสังเกตลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (CABI, 2016)

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* มีพืชอาศัยที่สำคัญ ได้แก่ มะเขือเทศ พริก มันฝรั่ง วิธีการตรวจสอบ ทำได้โดย Dilution plate method บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไป เช่น Nutrient Glucose Agar (NGA) และ Yeast Peptone Glucose Agar (YPGA) อาหารกึ่งเฉพาะเจาะจง (semi selective) เช่น KBNP และ ELISA ใช้ขั้นตอนตาม AGDIA reagent (CABI, 2016) การกำจัดเชื้อที่ติดมากับเมล็ดทำได้หลายวิธี เช่น การหมักเมล็ด หรือการแช่เมล็ดใน hydrochloric acid ซึ่งเป็นขั้นตอนปกติที่เกษตรกรใช้แยกเมล็ดออกจากเนื้อของผล และยังสามารถช่วยลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียได้ หรือการใช้สารเคมี o-hydroxydiphenyl 0.05%, calcium hypochlorite 0.5% และ sodium hypochlorite หรือการแช่เมล็ดในน้ำอุ่นที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 25 นาที สามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่ติดมากับเมล็ดได้โดยไม่มีผลกระทบต่อความงอก (Thyr *et al*., 1973; Dhanvantari, 1989; Fatmi *et al*., 1991; Dhanvantari and Brown, 1993 Dhanvantari, 1994).

Pseudomonas viridiflava มีพืชอาศัยหลายชนิด ได้แก่ พริก มะเขือเทศ พีทูเนีย พืชตระกูลกะหล่ำบางชนิด เช่น ผักกาดหัว กะหล่ำปลี และกะหล่ำดอก เป็นต้น เชื้อนี้สามารถติดมากับผิวของเมล็ดพืชได้ (Mariano and McCarter, 1992) วิธีการตรวจสอบเชื้อนี้ สามารถตรวจสอบบนโดยการเลี้ยงบนอาหารกึ่งเฉพาะเจาะจง เช่น T-5 medium ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส นาน 16-20 วัน (Gitaitis *et al*., 1997)

Alfalfa mosaic virus (AMV) มีพืชอาศัยหลายชนิด ได้แก่ คื่นฉ่าย ผักชี พริก มะเขือเทศ มะเขือม่วง มันฝรั่ง ยาสูบ พีทูเนีย หัวบีท แตงกวา ถั่วเหลือง ลูเซิร์น ถั่วแขก ถั่วลันเตา ถั่วพู ถั่วเขียว องุ่น เป็นต้น และจากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเบื้องต้น พบว่า AMV มีความสำคัญทางเศรษฐกิจสูง มีแหล่งแพร่กระจายกว้างขวาง สามารถติดกับเมล็ดพันธุ์ได้ปานกลาง และถ่ายทอดโรคกับเมล็ดพันธุ์ได้ (CABI, 2016) นอกจากนี้ AMV ยังสามารถถ่ายทอดโรคโดยเพลี้ยอ่อน *Acyrthosiphon pisum* และ*Myzus persicae* (Edwardson and Christie, 1997) วิธีการตรวจสอบไวรัส *Alfalfa mosaic virus* สามารถทำได้โดยการปลูกสังเกตอาการบนต้นกล้า (seedling symptom test) ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ (infectivity test) และตรวจสอบด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา เช่น การตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme – linked Immunosorbent Assay; ELISA (Bailiss and Offei, 1990) ซึ่งวิธีการนี้สามารถตรวจสอบเชื้อไวรัสที่มีความไวสูง แม้จะมีเชื้อไวรัสปริมาณต่ำหรืออนุภาคแตกหักก็สามารถตรวจได้ ให้ผลรวดเร็ว แน่นอน และยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมาก

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

Tobacco streak virus (TSV) เป็นไวรัสที่มีพืชอาศัยกว้างมาก เช่นพริก มะเขือเทศ หน่อไม้ฝรั่ง ถั่วเหลือง ฝ้าย ถั่วแดง สตรอเบอรี ทานตะวัน ผักกาดหอม และมันฝรั่ง เป็นต้น เชื้อสามารถถ่ายทอดโรคด้วยวิธีกล แต่ไม่มีความคงทนในน้ำคั้นพืช อนุภาคของ TSV ในน้ำคั้นพืชจะสูญเสียความสามารถในการเข้าทำลาย (infectivity) ภายใน 2-3 นาที หลังจากสกัดเซลล์ ในสภาพธรรมชาติไวรัสสามารถแพร่กระจายโดยเพลี้ยไฟทั้งตัวเต็มวัยและตัวอ่อนของ *Thrips tabaci* และ *Frankliniella occidentalis* เป็นพาหะ นอกจากนี้ ยังสามารถถ่ายทอดโรคโดยทางเมล็ดและผ่านทางละอองเกสร มีรายงานการถ่ายทอดโรคในเมล็ด ถั่วแดง สตรอเบอรี และมะเขือเทศ 40-76% ในเมล็ดมะเขือเทศส่วนใหญ่พบไวรัสอยู่ใน endosperm (40-90%) และ คัพภะ (10-50%) แต่ส่วนน้อยพบที่เปลือกหุ้มเมล็ด (CABI, 2016) เชื้อไวรัสนี้สามารถทำได้โดยการปลูกสังเกตอาการบนต้นกล้า (seedling symptom test) ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ (infectivity test) และตรวจสอบด้วยวิธีทาง เซรุ่มวิทยา เช่น การตรวจสอบด้วยวิธีวิธี ELISA ได้แก่ Direct antigen coated immunosorbent assay (DAC-ELISA) (Vemana and Jain, 2010)

2. การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชเบื้องต้นและขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดียและจีนในห้องปฏิบัติการและโรงเรือนปลูกพืช

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดียและจีน จำนวน 118 ตัวอย่าง จำนวน 8,965 กิโลกรัม นำมาตรวจสอบการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตริโอ และตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์นำเข้าในห้องปฏิบัติการและโรงเรือนปลูกพืช ได้ผลดังนี้

2.1 การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตริโอ

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดียและจีน จำนวน 118 ตัวอย่าง

2.1.1 ผลการตรวจสอบแมลงศัตรูพืช พบว่า เมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดีย มีลักษณะของเมล็ดสีเหลือง เมล็ดค่อนข้างสมบูรณ์ ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืช ส่วนเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากจีน มีลักษณะของเมล็ดสีเหลือง สมบูรณ์ ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืช นอกจากนี้ยังมีการเคลือบเมล็ดด้วยสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

2.1.2 ผลการตรวจสอบวัชพืช

เมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดียและจีนไม่พบการปะปนของเมล็ดวัชพืช แต่พบสิ่งเจือปนอื่นๆกับเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจากอินเดีย

2.2 การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์นำเข้าในห้องปฏิบัติการและโรงเรือนปลูกพืช

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดียและจีน จำนวน 118 ตัวอย่าง

2.2.1 การตรวจสอบเชื้อรากับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดียและจีน

1) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะยังไม่งอก (dry seed examination) ผลจากการตรวจสอบด้วยตาเปล่า และภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ พบลักษณะอาการสีผิดปกติ เช่น สีคล้ำอยู่ภายในเมล็ดพันธุ์พริก แต่ไม่พบการปนเปื้อนของเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์

2) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะเมล็ดงอก ด้วยวิธี blotter method

พบว่าเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าอินเดีย พบเชื้อรา 11 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis*, *Alternaria raphani*, *Cercospora capsici*, *Curvularia lunata, Curvularia pallescens*, *Drechslera halodes*, *Drechslera hawaiiensis, Drechslera tetramera, Fusarium oxysporum, Fusarium semitectum* และ *Fusarium solani* ซึ่งบางชนิดสามารถปนเปื้อนและติดมากับเมล็ดพันธุ์ภายหลังการเก็บเกี่ยว บางชนิดสร้างความเสียหายกับเมล็ดพันธุ์โดยตรงโดยการเข้าไปทำลายภายในเมล็ดพันธุ์ทำให้เมล็ดพันธุ์มีเปอร์เซนต์ความงอกค่อนข้างต่ำ ส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพ และคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ ส่วนเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากจีน พบเชื้อรา 3 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis*, *Curvularia pallescens*, *Drechslera cynodontis* ซึ่งไม่ใช่ศัตรูที่สำคัญด้านกักกันพืชของประเทศไทย แต่ควรให้คำแนะนำการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเบื้องต้น เช่น คลุกสารเคมีกำจัดเชื้อรา ด้วย Thiram หรือ Captan หรือ คลุกสารเคมีทั้ง 2 ชนิดกับเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าหรือก่อนนำไปปลูกตามอัตราแนะนำข้างฉลาก

2.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียกับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดียและจีน

จากการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชจากเมล็ดพริกที่นำเข้าโดยตรงและด้วยวิธี dilution plate method รวมทั้งเลี้ยงบนอาหารที่เหมาะสม พบเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 1 ชนิด ได้แก่ *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจากอินเดีย แต่ยังไม่พบเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นที่มีความสำคัญด้านกักกันพืช เช่น *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* และ *Pseudomonas viridiflava* ส่วนเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจากจีน ตรวจแล้วไม่พบเชื้อแบคทีเรีย ส่วนการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ดผิดปกติบนใบพืช โดยการนำเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจากอินเดียและจีนไปปลูกสังเกตอาการในโรงเรือนปลูกพืช ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ เช่น อาการเหี่ยว เหลือง ใบผิดปกติ ใบไหม้ ลักษณะต้นกล้าเจริญเติบโตสมบูรณ์ แต่อย่างไรก็ตามยังมีความจำเป็นที่ต้องปรับปรุงและพัฒนาเทคนิคในการตรวจสอบที่เฉพาะเจาะจงกับเมล็ดพันธุ์ตามมาตรฐาน ISTA หรือมาตรฐานอื่นๆ ที่น่าเชื่อถือเพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียที่มีความสำคัญด้านกักกันพืชและสร้างความเสียหายกับการผลิตพริกและพืชปลูกชนิดอื่นที่เป็นพืชอาศัยในประเทศไทย

2.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัสกับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดียและจีน

ผลจากการตรวจสอบเชื้อไวรัสของเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจากอินเดียและจีน โดยตรงตามมาตรฐาน ISTA ด้วยวิธี Enzyme – linked Immunosorbent Assay (ELISA) พบว่า เมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจากอินเดีย ตรวจพบเชื้อไวรัส จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *Cucumber mosaic virus, Tobacco mosaic virus* และ *Tomato mosaic virus* ส่วนเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจากจีน ตรวจพบเชื้อไวรัส จำนวน 4 ชนิด เชื้อไวรัส *Cucumber mosaic virus, Pepper mild mottle virus*, *Tobacco mosaic virus* และ *Tomato mosaic virus* ดังนั้นจะเห็นว่าเชื้อไวรัสที่ตรวจพบกับ เมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจากอินเดียและจีน ไม่ใช่ศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

ส่วนการปลูกเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจากอินเดียและจีนเพื่อสังเกตอาการในโรงเรือนปลูกพืชเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ไม่พบลักษณะอาการต้นกล้าผิดปกติ เจริญเติบโตสมบูรณ์แต่อย่างไรตามยังต้องมีการปลูกสังเกต

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

อาการต่อไปเนื่องจากเชื้อไวรัสที่ตรวจพบจากเมล็ดพันธุ์พริกส่วนใหญ่เมื่อนำมาปลูกสังเกตอาการ (seedling symptom test) สามารถถ่ายทอดโรคผ่านทางเมล็ดจากรุ่นสู่รุ่นได้ เช่น *Tobacco mosaic virus* สามารถถ่ายทอดโรคผ่านทางเมล็ดพันธุ์พริก ได้ประมาณ 45 เปอร์เซนต์ และ *Alfalfa mosaic virus* ซึ่งมีรายงานว่าสามารถถ่ายทอดโรคกับเมล็ดพันธุ์พริก ประมาณ 1-5 เปอร์เซนต์ (Sastry, 2013)

3. การติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์พริกภายหลังการนำเข้าจากอินเดียและจีน

จากการติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์พริกภายหลังการนำเข้าจากอินเดีย ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ (อ.สันทราย) และจังหวัดขอนแก่น (อ.ท่าพระ) จำนวนทั้งสิ้น 11 แปลง ตรวจพบศัตรูพืช จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Colletotrichum capsici, Colletotrichum gloeosporioides*, *Cercospora capsici*. *Peronospora tabacina* เชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* และเชื้อไวรัส *Tobacco mosaic virus* ส่วนแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์พริกภายหลัง การนำเข้าจากจีนในพื้นที่จังหวัดอุดรธานี (อ.กุดจับ) หนองบัวลำภู (อ.สุวรรณคูหา) และจังหวัดสกลนคร (อ.พังโคน) จำนวนทั้งสิ้น 24 แปลง ตรวจพบศัตรูพืช จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Colletotrichum capsici, Colletotrichum gloeosporioides*, *Peronospora tabacina* เชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* และเชื้อไวรัส *Tobacco mosaic virus* ในระหว่างการศึกษาไม่พบศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ระยะที่ 1 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดีย และจีน

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายเมล็ดพันธุ์พริกจากอินเดียและจีน พบว่ามีศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช 9 ชนิด ได้แก่ ด้วงอิฐ *Trogoderma granarium* วัชพืช *Circium arvense*, *Orobanche cernua*, *O. aegyptiaca*, *O. ramosa* เชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas viridiflava* เชื้อไวรัส *Alfalfa mosaic virus* และ *Tobacco streak virus*

2. จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดียและจีน 118 ตัวอย่าง เมื่อนำมาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชและการปนเปื้อนของวัชพืช และผลจากการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี blotter method, dilution plate method และ ELISA พบว่าเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดียมีศัตรูพืช 15 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Alternaria tenuis*, *Alternaria raphani*, *Cercospora capsici*, *Curvularia lunata, Curvularia pallescens*, *Drechslera halodes*, *Drechslera hawaiiensis, Drechslera tetramera, Fusarium oxysporum, Fusarium semitectum, Fusarium solani* เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* และเชื้อไวรัส *Cucumber mosaic virus, Tobacco mosaic virus* และ *Tomato mosaic virus* ส่วนเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากจีน มีศัตรูพืช 7 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Alternaria tenuis*, *Curvularia pallescens*, *Drechslera cynodontis* และเชื้อไวรัส *Cucumber mosaic virus, Pepper mild mottle virus*, *Tobacco mosaic virus* และ *Tomato mosaic virus* และไม่พบอาการผิดปกติภายหลังการปลูกทดสอบในโรงเรือนปลูกพืช

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

3. การติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์พริกภายหลังการนำเข้าจากอินเดียและจีน จำนวน 36 แปลง ไม่พบศัตรูพืชที่มีความสำคัญด้านกักกันพืช แต่อย่างไรก็ตามยังมีความจำเป็นต้องติดตามและตรวจสอบในแปลงต่อไป เพื่อป้องกันโรคและศัตรูพืชร้ายแรงซึ่งมีความสำคัญทางกักกันพืช

4. จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าศัตรูพืชที่ตรวจพบกับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดียและจีน เป็นศัตรูพืชที่ไม่มีความสำคัญด้านกักกันพืช แต่ก็มีความเสี่ยงที่ศัตรูพืชเหล่านี้จะทำความเสียหายกับเมล็ดพันธุ์พริกและพืชอื่นในประเทศไทย เช่น มะเขือเทศ มะเขือยาว มะเขือพวง โทงเทงฝรั่ง ยาสูบ มันฝรั่ง พีทูเนีย และพืชวงศ์แตง เป็นต้น ดังนั้นเพื่อป้องกันโรคและศัตรูพืชร้ายแรงซึ่งมีความสำคัญทางกักกันพืชสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริก จึงควรกำหนดมาตรการและเงื่อนไขในการนำเข้า โดยต้องขออนุญาตนำเข้า และดำเนินการดังต่อไปนี้

1) มีใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทางและหนังสือรับรองว่าไม่เป็นพืชดัดแปลงพันธุกรรม (Non-GMOs certificate)

2) เมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจะต้องมาจากพื้นที่ที่ปลอดจากเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas viridiflava* เชื้อไวรัส *Alfalfa mosaic virus* และ *Tobacco streak virus* หรือผ่านการตรวจสอบรับรองในห้องปฏิบัติการว่าเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวปลอดเชื้อ

3) เมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจะต้องสะอาด บรรจุอยู่ในภาชนะบรรจุสะอาดที่ปิดมิดชิด ไม่พบร่องรอยการทำลายแมลง เช่น *Trogoderma granarium* รวมทั้งไม่พบการปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืช และไม่มีดินและเศษซากพืชปะปนมาเพื่อป้องกันเมล็ดวัชพืชร้ายแรง เช่น *Circium arvense*, *Orobanche cernua* และ *O. ramosa* เป็นต้น

ระยะที่ 2 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์และสหรัฐอเมริกา (2561-2562)

จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกา เปรียบเทียบกับรายชื่อศัตรูพืชของประเทศไทย พบว่ามีศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพริก จำนวน 12 ชนิด ได้แก่ *Ambrosia artemesiifolia*, *Circium arvense*, *Orobanche cernua*, *O. aegyptiaca*, *O. ramosa* เชื้อแบคทีเรีย *Candidatus* Liberibacter solanacearum, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas viridiflava*, *P. corrugata* เชื้อไวรัส *Alfalfa mosaic virus* และ *Tobacco streak virus* (Table 1)

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกา

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์และสหรัฐอเมริกา ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 - กันยายน 2562 จำนวนทั้งหมด 253 ตัวอย่าง น้ำหนักโดยรวม 9,122.58 กิโลกรัม ผ่านทางด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ด่านตรวจท่าอากาศยานเชียงใหม่ ด่านตรวจพืชไปรษณีย์ และด่านตรวจพืชลาดกระบัง (Table 1.4.1) (Figure 1.4.1)

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น

สารบัญการเกษตร

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์และสหรัฐอเมริกา จำนวน 253 ตัวอย่าง พบว่าเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกา ไม่มีร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืช ไม่พบการปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืช แต่พบลักษณะผิดปกติกับเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจากอินเดีย คือ เมล็ดพริกเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีน้ำตาลเข้มและพบสิ่งเจือปน อื่น ๆ (Figure 1.4.2)

4. การตรวจศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

จากการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ผลการตรวจศัตรูพืชบนเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธี blotter method, dilution plate method และ ELISA กับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกา ผลปรากฏว่า ตรวจพบศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจากอินเดีย จำนวน 15 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Alternaria tenuis*, *A. raphani*, *Cercospora capsici*, *Curvularia lunata, C. pallescens*, *Drechslera halodes*, *D. hawaiiensis, D. tetramera, Fusarium oxysporum, F. semitectum, F. solani* เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* เชื้อไวรัส *Cucumber mosaic virus, Tobacco mosaic virus* (TMV) และ *Tomato mosaic virus* (ToMV) ส่วนเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจากจีน ตรวจพบศัตรูพืช จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Alternaria tenuis*, *Curvularia pallescens*, *Drechslera cynodontis* เชื้อไวรัส *Cucumber mosaic virus, Pepper mild mottle virus*, TMV และ ToMV รวมทั้งเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ ตรวจพบศัตรูพืช 2 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Fusarium oxysporum* และเชื้อไวรัส ToMV ส่วนเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจากสหรัฐอเมริกา ตรวจพบศัตรูพืช 2 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Fusarium oxysporum* และเชื้อไวรัส ToMV และระหว่างทำการศึกษาไม่พบศัตรูพืชกักกัน (Table 1.4.2) (Figure 1.4.3)

5. ปลูกเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์และสหรัฐอเมริกาในโรงเรือนกักกันพืช

จากการปลูกเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกา เพื่อสังเกตอาการในโรงเรือนปลูกพืช เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ไม่พบลักษณะอาการต้นกล้าผิดปกติ เจริญเติบโตสมบูรณ์ แต่อย่างไรตามยังต้องมีการปลูกสังเกตอาการต่อไปเนื่องจากเชื้อไวรัสที่ตรวจพบจากเมล็ดพันธุ์พริกส่วนใหญ่เมื่อนำมาปลูกสังเกตอาการ (seedling symptom test) สามารถถ่ายทอดโรคผ่านทางเมล็ดจากรุ่นสู่รุ่นได้ เช่น *Tobacco mosaic virus* สามารถถ่ายทอดโรคผ่านทางเมล็ดพันธุ์พริก ได้ประมาณ 45 เปอร์เซ็นต์ และ *Alfalfa mosaic virus* ซึ่งมีรายงานว่าสามารถถ่ายทอดโรคกับเมล็ดพันธุ์พริกได้ประมาณ ประมาณ 1-5 เปอร์เซ็นต์ (Sastry, 2013) (Figure 1.4.4)

6. ติดตามตรวจสอบศัตรูพืชภายหลังการนำเข้าในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์พริก

จากการติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์พริกภายหลังการนำเข้าจากอินเดียและจีน ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 - กันยายน 2560 จำนวน 56 แปลง ในพื้นที่ 6 จังหวัด จังหวัดเชียงใหม่ น่าน ขอนแก่น อุดรธานี หนองบัวลำภู และจังหวัดสกลนคร หลังจากนั้นทำการเก็บตัวอย่างในแปลงดังกล่าวและนำมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ผลปรากฏว่าตรวจแล้วไม่พบศัตรูพืชกักกัน และจากการติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์พริกภายหลังการนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกา ระหว่างเดือนตุลาคม 2560 - กันยายน 2562 จำนวน 75 แปลง ในพื้นที่ 8 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ น่าน ตาก ขอนแก่น อุดรธานี หนองบัวลำภู สกลนครและจังหวัดมุกดาหาร หลังจากนั้นทำการเก็บตัวอย่างในแปลงดังกล่าวและนำมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ผลปรากฏว่าตรวจแล้วไม่พบศัตรูพืชกักกัน (Figure 1.4.5)

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ข้อมูลศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพริกนำเข้าจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์และสหรัฐอเมริกา มี 12 ชนิด ได้แก่ *Ambrosia artemesiifolia*, *Circium arvense, Orobanche cernua, O. aegyptiaca*, *O. ramosa* เชื้อแบคทีเรีย *Candidatus* Liberibacter solanacearum, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas viridiflava, P. corrugata* เชื้อไวรัส *Alfalfa mosaic virus* และ *Tobacco streak virus* และจากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์นำเข้าพริกจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์และสหรัฐอเมริกา ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 - กันยายน 2562 จำนวน 253 ตัวอย่าง นำมาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชและการปนเปื้อนของวัชพืช และผลจากการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี blotter method, dilution plate method และ ELISA ตรวจพบศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจากอินเดีย 15 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis*, *A. raphani*, *Cercospora capsici*, *Curvularia lunata, C. pallescens*, *Drechslera halodes*, *D. hawaiiensis, D. tetramera, Fusarium oxysporum, F. semitectum, F. solani*, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, *Cucumber mosaic virus, Tobacco mosaic virus* (TMV) และ *Tomato mosaic virus* (ToMV) เมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากจีนตรวจพบศัตรูพืช 7 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis*, *Curvularia pallescens*, *Drechslera cynodontis*, *Cucumber mosaic virus, Pepper mild mottle virus*, TMV และ ToMV เมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์และสหรัฐอเมริกาตรวจพบศัตรูพืช 2 ชนิด ได้แก่ *Fusarium oxysporum* และ ToMV ส่วนผล การปลูกสังเกตอาการในโรงเรือนกักกันพืชและผลการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์พริก ตรวจแล้วไม่พบศัตรูพืชกักกัน และระหว่างทำการศึกษาไม่พบศัตรูพืชกักกัน

จากการศึกษานี้สามารถนำข้อมูลของศัตรูพืชที่ตรวจพบกับเมล็ดพริกนำเข้าจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์และสหรัฐอเมริกา ไปใช้ประโยชน์ในการจัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบประกอบการนำไปใช้วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อปรับปรุงกฎหมาย และเงื่อนไขการนำเข้า กำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช และจัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืชที่ตรวจพบของพริกที่นำเข้าจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์และสหรัฐอเมริกา รวมทั้งเก็บตัวอย่างที่ตรวจพบเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์กลุ่มวิจัยการกักกันพืชเพื่อใช้ประโยชน์ในการสืบค้นต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

Table 1.4.1 Quarantine pest of imported pepper seeds

No.	Quarantine pest	Distribution in countries	Reference
1	*Trogoderma granarium*	India, China and USA	CABI, 2016; 2019

No.	Quarantine pest	Distribution in countries	Reference
2	*Ambrosia artemesiifolia*	India, China, Netherlands and USA	CABI, 2016; 2019
3	*Circium arvense*	India, China, Netherlands and USA	CABI, 2016; 2019
4	*Orobanche cernua*	India and China	CABI, 2016; 2019
5	*Orobanche aegyptiaca*	India	CABI, 2016; 2019
6	*Orobanche ramosa*	India, China, Netherlands and USA	CABI, 2016; 2019
7	*Candidatus* Liberibacter solanacearum	USA	CABI, 2019
8	*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*	India, China, Netherlands and USA	CABI, 2016; 2019
9	*Pseudomonas viridiflava*	India, China and USA	CABI, 2016; 2019
10	*Pseudomonas corrugata*	India and USA	CABI, 2016; 2019
11	*Alfalfa mosaic virus*	India, China, Netherlands and USA	CABI, 2016; 2019
12	*Tobacco streak virus*	India, China, Netherlands and USA	CABI, 2016; 2019

กรมวิชาการเกษตร

Table 1.4.2 Pest associated with imported pepper seeds. (Oct. 2015 to Sep. 2019)

Countries	Quantity (Kgs)	Consignment	Pest list	Times

Countries	Quantity (Kgs)	Consignment	Pest list	Times
India	7,183.66	67.00	**Fungi;** *Alternaria tenuis*	12
			Alternaria raphani	1
			Cercospora capsici	2
			Curvularia lunata	2
			Curvularia pallescens	6
			Drechslera halodes	1
			Drechslera haweiensis	2
			Drechslera tetramera	2
			Fusarium oxysporum	10
			Fusarium semitectum	2
			Fusarium solani	5
			Bacteria; *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*	2
			Virus; *Cucumber mosaic virus*	6
			Tobacco mosaic virus	8
			Tomato mosaic virus	5
China	1,781.34	51.00	**Fungi;** *Alternaria alternata*	6
			Curvularia pallescens	8
			Drechslera cynodontis	2
			Cucumber mosaic virus	4
			Pepper mild mottle mosaic virus	2
			Virus; *Tobacco mosaic virus*	8
			Tomato mosaic virus	6
Netherlands	42.183	47.00	**Fungi;** *Fusarium oxysporum*	4
			Virus; *Tomato mosaic virus*	2
USA	115.40	88.00	**Fungi;** *Fusarium oxysporum*	6
			Virus; *Tomato mosaic virus*	2
Total	**9,122.58**	**253.00**	-	-

กรมวิชาการเกษตร

Figure 1.4.1 Seed samples.

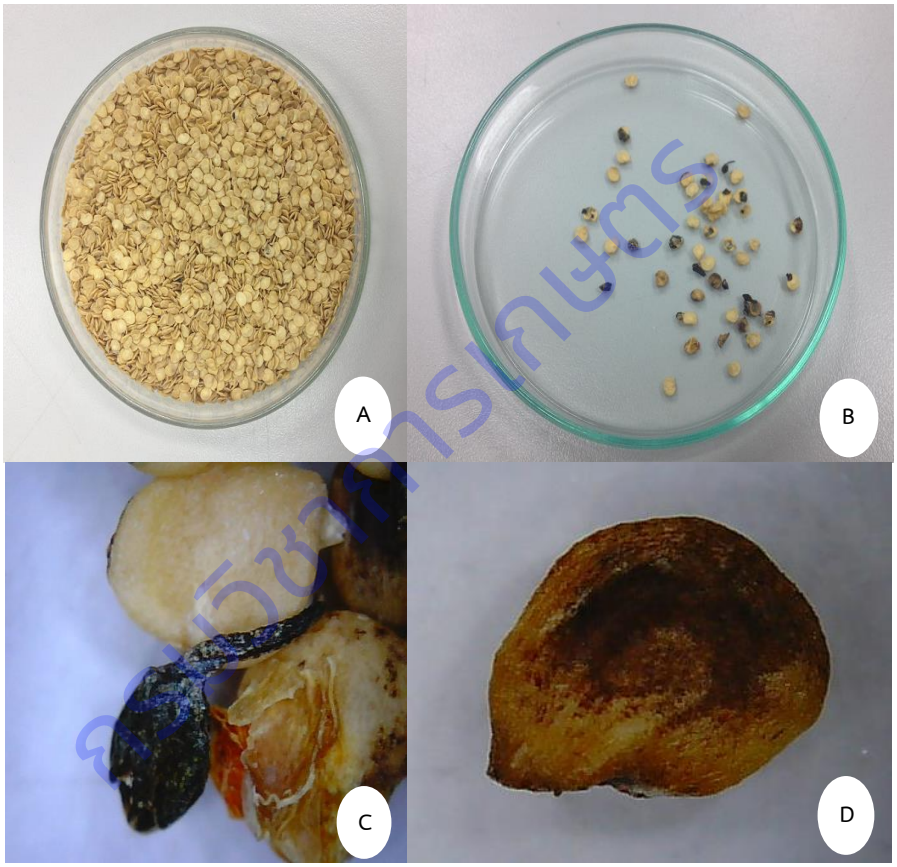


Figure 1.4.2 Seed contamination and seed-borne disease on pepper seeds from Republic of India.

A) The mixed seeds (normal and abnormal seeds).

B) The foreign matter.

C) The foreign matter under stereo microscope (5x).

D) The discoloration seed caused by plant pathogen.

Figure 1.4.3 A) Conidia of *Alternaria tenuis* (400X), B) Conidia of *Curvularia pallescens* (400X)

Figure 1.4.4 Seedling symptom test.

Figure 1.4.5 Green houses and field inspection.

การทดลองที่ 1.5 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากจีนและสหรัฐอเมริกา (2559-2560)

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย เช่น ชีววิทยา วิธีการตรวจศัตรูพืชในเมล็ดพันธุ์ และวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์

ผักกาดหอม (*Lactuca sativa* L.) เป็นพืชในวงศ์ Asteraceae จัดเป็นสิ่งกำกัด ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ พ.ศ. ๒๕๕๐ ซึ่งกำหนดให้ส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชในวงศ์ Asteraceae เป็นสิ่งกำกัด และตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 มาตรา 10 ได้ระบุไว้ว่า การนำเข้าหรือนำผ่านสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกำกัดจะต้องนำผ่านทางด่านตรวจพืชเพื่อให้พนักงานเจ้าหน้าที่ตรวจ และต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกำหนด แต่เนื่องจากในปัจจุบันยังไม่มีการกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม จึงมีความเสี่ยงสูงที่จะมีศัตรูพืชติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศได้

เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมมีรายงานเป็นพาหะของศัตรูพืชร้ายแรงและสามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ หลายชนิดที่ยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทยโดยเฉพาะเชื้อสาเหตุโรคพืช ได้แก่ เชื้อรา *Alternaria cichorii, Botryotinia fukeliana, Cercosspora beticola, Septoria lactucae* แบคทีเรีย *Pseudomonas cichorii, Xanthomonas campestris* pv. *vitians* ไวรัส *Alfalfa mosaic virus*, *Broad bean wilt virus, Lettuce mosaic virus*, *Tomato black ring virus, Tobacco ringspot virus*, *Tobacco streak virus*, *Tomato spotted wilt virus* (CABI, 2014)

แหล่งปลูกผักกาดหอมในประเทศไทย เนื้อที่ปลูกทั้งสิ้น 12,794 ไร่ พื้นที่ปลูก 34 จังหวัด ได้แก่ นนทบุรี ราชบุรี ขอนแก่น ปทุมธานี นครราชสีมา สมุทรสาคร พิษณุโลก นครปฐม เชียงใหม่ สุพรรณบุรี สงขลา กรุงเทพมหานคร อุดรธานี เพชรบูรณ์ นครสวรรค์ สกลนคร หนองคาย นครพนม อุบลราชธานี ลำพูน น่าน หนองบัวลำภู เลย ตาก ยโสธร บึงกาฬ มุกดาหาร ฉะเชิงเทรา ชัยภูมิ แพร่ นครศรีธรรมราช สุรินทร์ ชัยนาท และลำปาง (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2559)

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากด่านตรวจพืช ตามมาตรฐาน International Seed Testing Association (ISTA, 2016)

ช่วงเดือน ตุลาคม 2558 – กันยายน 2560 ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่นำเข้าจากประเทศจีนปริมาณนำเข้ารวม 33,252.4 กิโลกรัม โดยผ่านทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ ท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ และไปรษณีย์ จำนวน 11 ตัวอย่าง และ สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่นำเข้าจากประเทศสหรัฐอเมริกา ปริมาณนำเข้ารวม 6,685.69 กิโลกรัม นำเข้าทางด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ท่าเรือกรุงเทพฯ และลาดกระบัง จำนวน 14 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1.5.1 และ 1.5.2)

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น

ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่นำเข้าจากประเทศจีน จำนวน 11 ตัวอย่าง และตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่นำเข้าจากประเทศสหรัฐอเมริกา จำนวน 14 ตัวอย่าง เมื่อนำมาตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตา

กรมวิชาการเกษตร

เปล่า หรือภายใต้แว่นขยายหรือกล้องสเตอริโอและจำแนกศัตรูพืชในเบื้องต้น ผลการตรวจสอบพบมีเมล็ดวัชพืชปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากจีน 8 ชนิด ได้แก่ *Ageratina adephora, Amaranthus retroflexus, Amaranthus viridis, Cleome vicosa, Eleusine indica, Setaria viridis, Sonchus arvensis* และ *Oxalis corniculata*

4. ตรวจศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

ตัวอย่างเมล็ดผักกาดหอมที่นำเข้าจากประเทศจีน จำนวน 11 ตัวอย่าง และ สหรัฐอเมริกา จำนวน 14 ตัวอย่าง เมื่อนำไปตรวจสอบและจำแนกในห้องปฏิบัติการตามวิธีการมาตรฐานที่เหมาะสม ผลการตรวจเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา *Alternaria tenuis* 8 ครั้ง, *Alternaria raphani* 1 ครั้ง, *Cladosporium* sp. 2 ครั้ง, *Curvularia lunata* 1 ครั้ง, *Drechslera halodes* 1 ครั้ง, *Fusarium semitectum* 2 ครั้ง, *Fusarium oxysporum* 1 ครั้ง และ *Ulocladium* sp. 1 ครั้ง บนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากจีน (รูปที่ 1.5.3-9) และ ตรวจพบเชื้อรา *Alternaria tenuis* 1 ครั้ง บนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากสหรัฐอเมริกา (รูปที่ 1.5.10) ศัตรูพืชดังกล่าวไม่เป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช ผลการตรวจแบคทีเรียด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่เป็นศัตรูพืชกักกัน ผลการตรวจเชื้อไวรัสด้วยวิธี ELISA และ PCR ไม่พบเชื้อไวรัสที่เป็นศัตรูพืชกักกัน

5. เพาะเมล็ดพันธุ์ เพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติของต้นพืชในโรงเรือนปลูกพืช (Seedling symptom test)

ตัวอย่างเมล็ดผักกาดหอมที่นำเข้าจากประเทศจีน จำนวน 11 ตัวอย่าง และ สหรัฐอเมริกา จำนวน 14 ตัวอย่าง ปลูกเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมในโรงเรือนเพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติของต้นผักกาดหอม พบว่าต้นกล้าผักกาดหอมปกติ ไม่มีอาการผิดปกติที่เกิดจากเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลาย (รูปที่ 1.5.11)

6. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตหรือในโรงเรือนปลูกพืชของบริษัทนำเข้าเมล็ดพันธุ์

ผลการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชที่ติดมากับผักกาดหอมนำเข้าในแหล่งปลูก จังหวัดนครราชสีมา นครปฐม กาญจนบุรี และราชบุรี จำนวน 11 แปลง ไม่พบศัตรูพืชกักกันพืชที่เป็นศัตรูพืชเป้าหมาย
(รูปที่ 1.5.12-14)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากจีนจำนวน 6 ครั้ง 7 ตัวอย่าง น้ำหนัก 17,683.32 กิโลกรัม ทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ และด่านตรวจพืชไปรษณีย์ เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา จำนวน 10 ครั้ง 16 ตัวอย่าง น้ำหนัก 6,389.638 กิโลกรัม ทางด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ และด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ ผลการตรวจศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบเมล็ดวัชพืช 8 ชนิด ได้แก่ *Ageratina adephora, Amaranthus retroflexus, Amaranthus viridis, Cleome vicosa, Eleusine indica, Setaria viridis, Sonchus arvensis* และ *Oxalis corniculata* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากจีน และผลการตรวจเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา *Alternaria tenuis*, *Alternaria raphani*, *Cladosporium* sp., *Curvularia lunata*, *Drechslera halodes*, *Fusarium semitectum, Fusarium oxysporum* และ *Ulocladium* sp. บนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากจีน และตรวจพบเชื้อรา

กรมวิชาการเกษตร

Alternaria tenuis บนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากสหรัฐอเมริกา ศัตรูพืชดังกล่าวไม่เป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช (ตารางที่ 1) ผลการตรวจแบคทีเรียด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่เป็นศัตรูพืชกักกัน ผลการตรวจเชื้อไวรัสด้วยวิธี ELISA ไม่พบเชื้อไวรัสที่เป็นศัตรูพืชกักกัน ผลการปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom test) ไม่พบอาการผิดปกติ ผลการติดตามตรวจในแปลงปลูกที่ จังหวัดนครราชสีมา นครปฐม กาญจนบุรี และราชบุรีจำนวน 11 แปลง ไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย

กรณีที่พบเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมในปริมาณมาก ได้แนะนำให้บริษัทที่นำเข้าเมล็ดพันธุ์ทำการคลุกสารเคมีก่อนปลูก เนื่องจากเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์อาจมีผลต่อการงอกของเมล็ดพันธุ์ได้ และมีการเฝ้าระวังติดตามในแปลงปลูกเพื่อติดตามการติดมาและแพร่กระจายของเมล็ดวัชพืชต่างถิ่น

Teble 1.5.1 Pest associated with lettuce seeds.

Country	Quantity (Kg)	Consignment	Scientific name	Time
China	33,252.4	11	**Fungi**	
			Alternaria raphani	1
			Alternaria tenuis	8
			Cladosporium sp.	2
			Curvularia lunata	1
			Drechslera halodes	1
			Fusarium semitectum	2
			Fusarium oxysporum	1
			Ulocladium sp.	1
			Weed	
			Ageratina adephora	1
			Amaranthus retroflexus	1
			Amaranthus viridis	1
			Cleome vicosa	1
			Eleusine indica	1
			Setaria viridis	1
			Sonchus arvensis	1
			Oxalis corniculata	1
USA	6,685.69	14	*Alternaria tenuis*	1
Total	**39,938.09**	**25**		**26**

กรมวิชาการเกษตร

Figure 1.5.1 Lettuce seed from China.

Figure 1.5.2 Lettuce seed from USA.

Figure 1.5.3 Blotter method. lettuce seed germination 0 day (A) and 7days. (B-C)

กรมวิชาการเกษตร

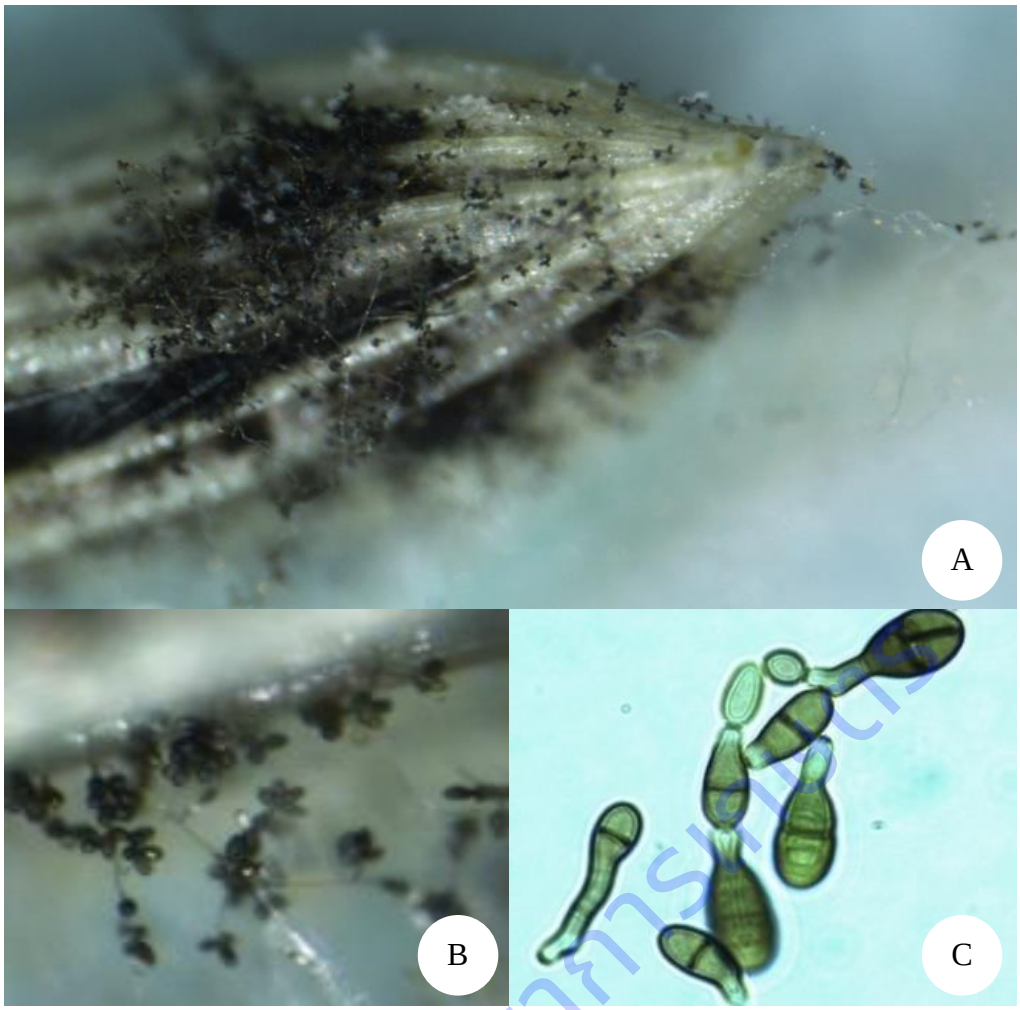


Figure 1.5.4 *Alternaria raphani* on lettuce seed imported from China.

A. *Alternaria raphani* on lettuce seed (5x)

B. Conidiophore and conidia of *Alternaria raphani* (11.25x)

C. Conidia of *Alternaria raphani* (100x)

กรมวิชาการเกษตร

Figure 1.5.5 *Alternaria tenuis* on lettuce seed imported from China.

A. *Alternaria tenuis* on lettuce seed (3x)

B. Conidiophore and conidia of *Alternaria tenuis* (11.25x)

C. Conidia of *Alternaria tenuis* (100x)

กรมวิชาการเกษตร

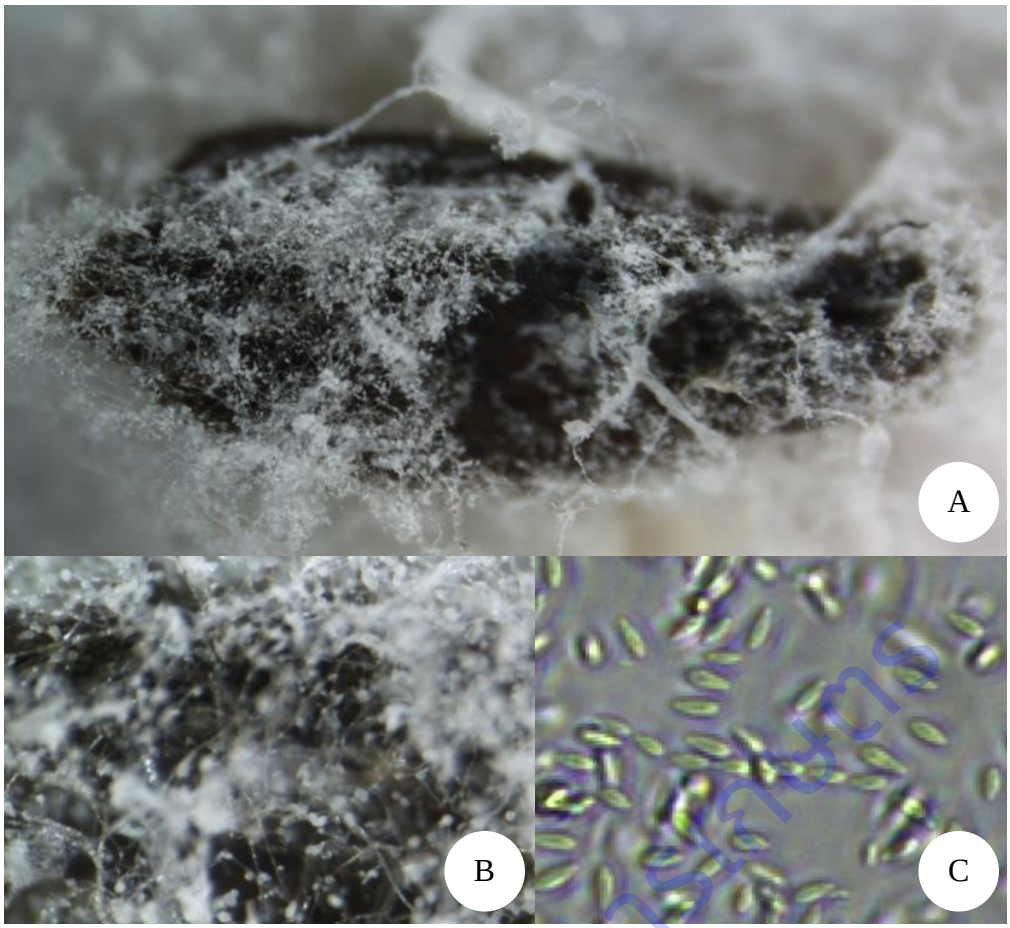


Figure 1.5.6 *Fusarium oxysporum* on lettuce seed imported from China.

A. *Fusarium oxysporum* on lettuce seed (3x)

B. Conidiophore and conidia of *Fusarium oxysporum* (11.25x)

C. Conidia of *Fusarium oxysporum* (40x)

กรมวิชาการเกษตร

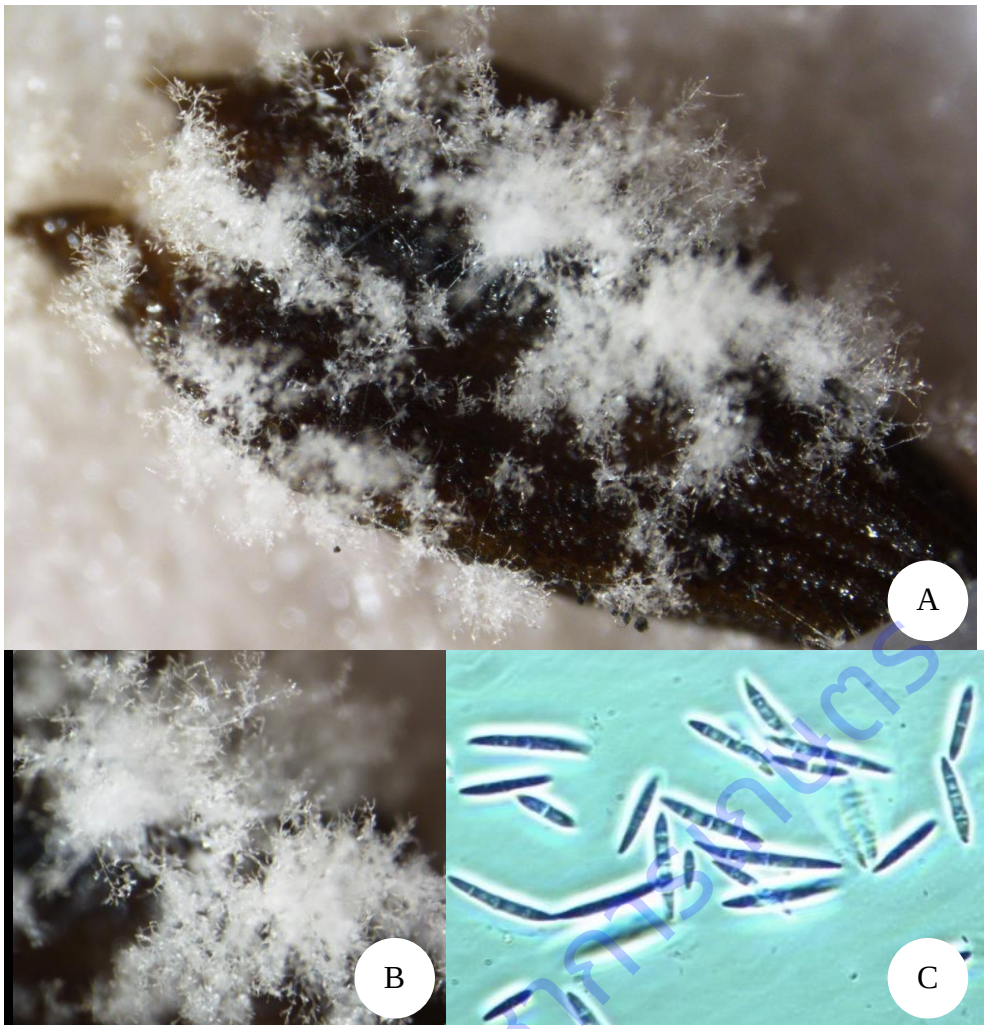


Figure 1.5.7 *Fusarium semitectum* on lettuce seed imported from China.

A. *Fusarium semitectum* on lettuce seed (4x)

B. Conidiophore and conidia of *Fusarium semitectum* (8x)

C. Conidia of *Fusarium semitectum* (100x)

กรมวิชาการเกษตร

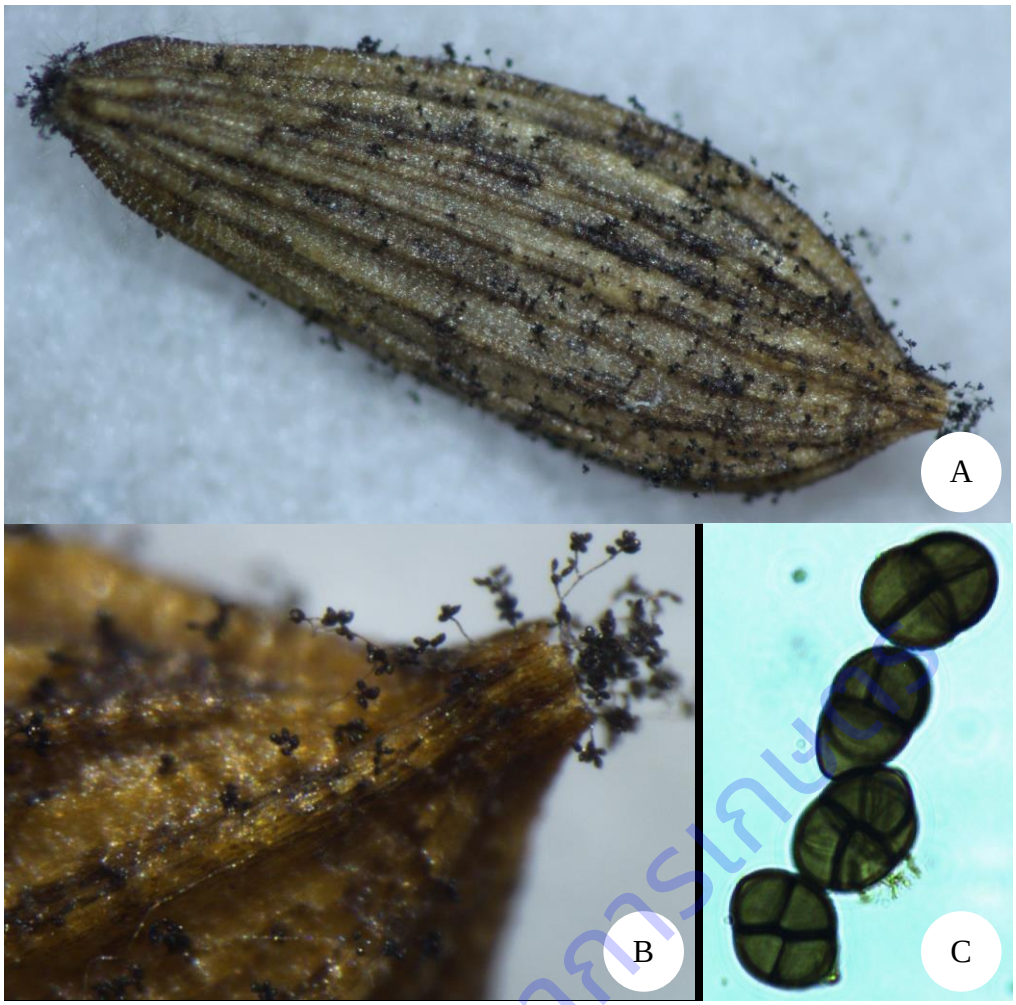


Figure 1.5.8 *Ulocladium* sp. on lettuce seed imported from China.

A. *Ulocladium* sp. on lettuce seed (4x)

B. Conidiophore and conidia of *Ulocladium* sp. (11.25x)

C. Conidia of *Ulocladium* sp. (100x)

กรมวิชาการเกษตร

Figure 1.5.9 *Cladosporium* sp. on lettuce seed.

A ,B. *Cladosporium* sp. on lettuce seed (2.5x)

C. *Cladosporium* sp. on lettuce seed (4x)

D. *Cladosporium* sp. on lettuce seed (5x)

กรมวิชาการเกษตร

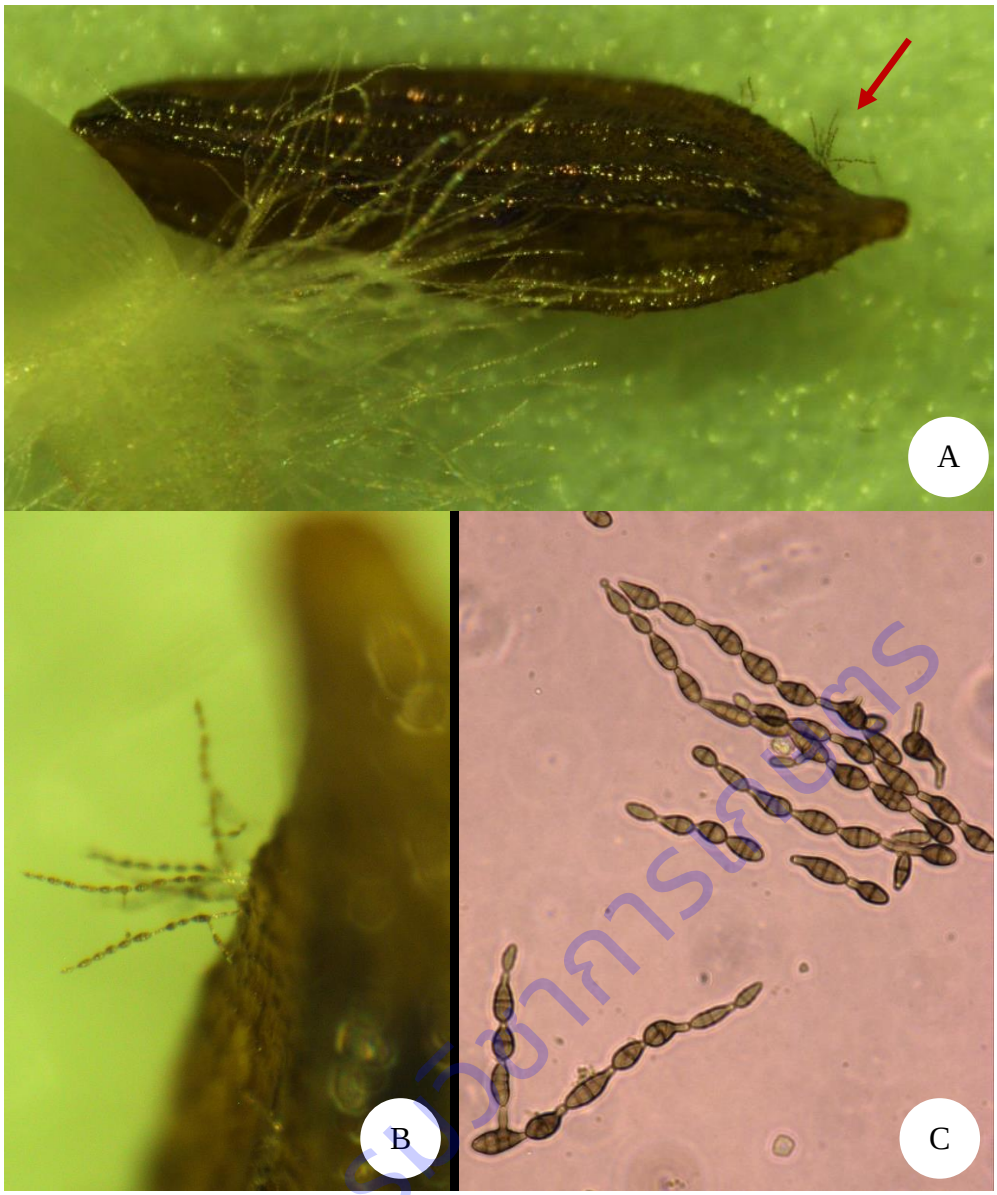


Figure 1.5.10 *Alternaria tenuis* on lettuce seed imported from USA.

A. *Alternaria tenuis* on lettuce seed (2x)

B. Conidiophore and conidia of *Alternaria tenuis* (11.25x)

C. Conidia of *Alternaria tenuis* (40x)

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

Figure 1.5.11 Seedling symptom test after 7 days (A) and 14 days (B,C) in greenhouse.

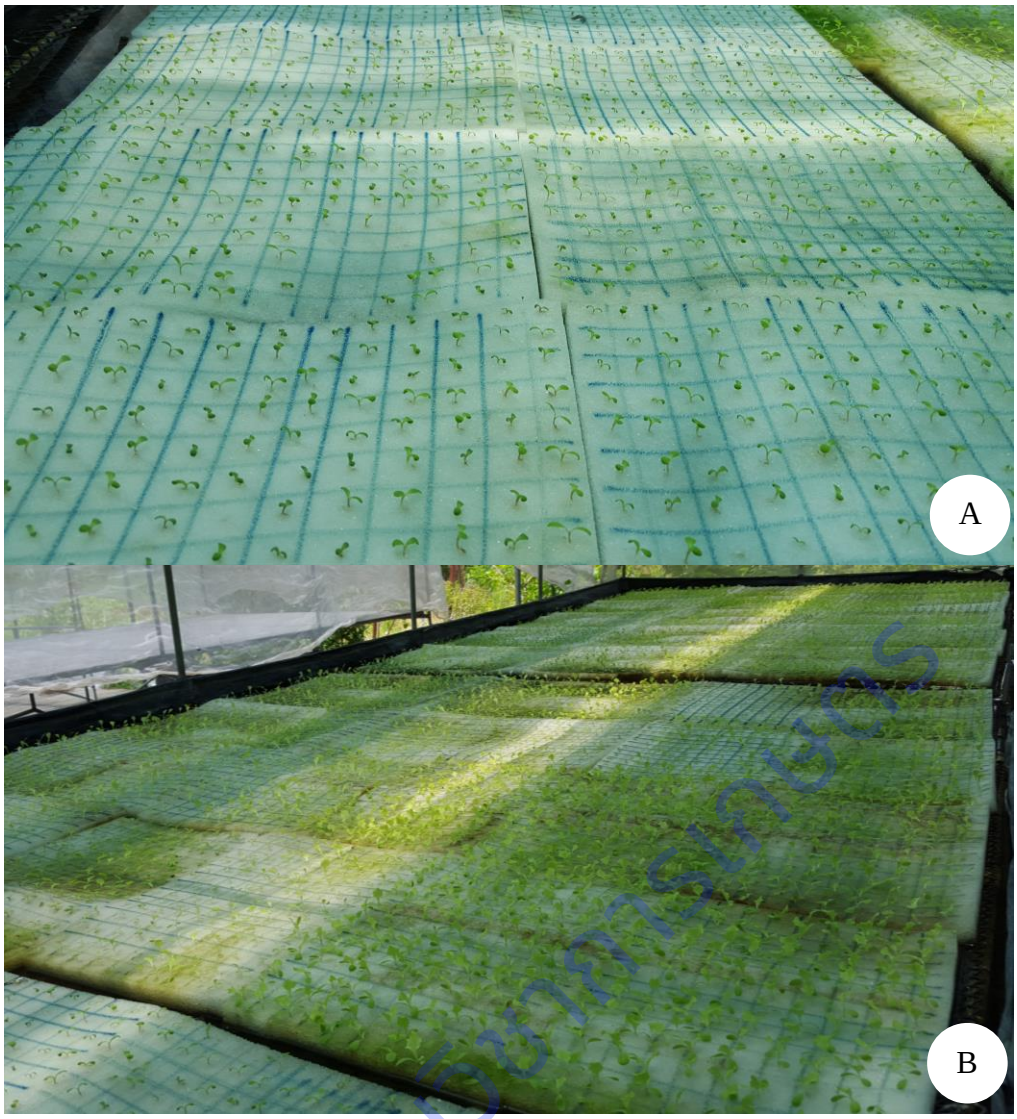


Figure 1.5.12 Field Inspection on lettuce after 7 days(A) and 14 days (B).

กรมวิชาการเกษตร

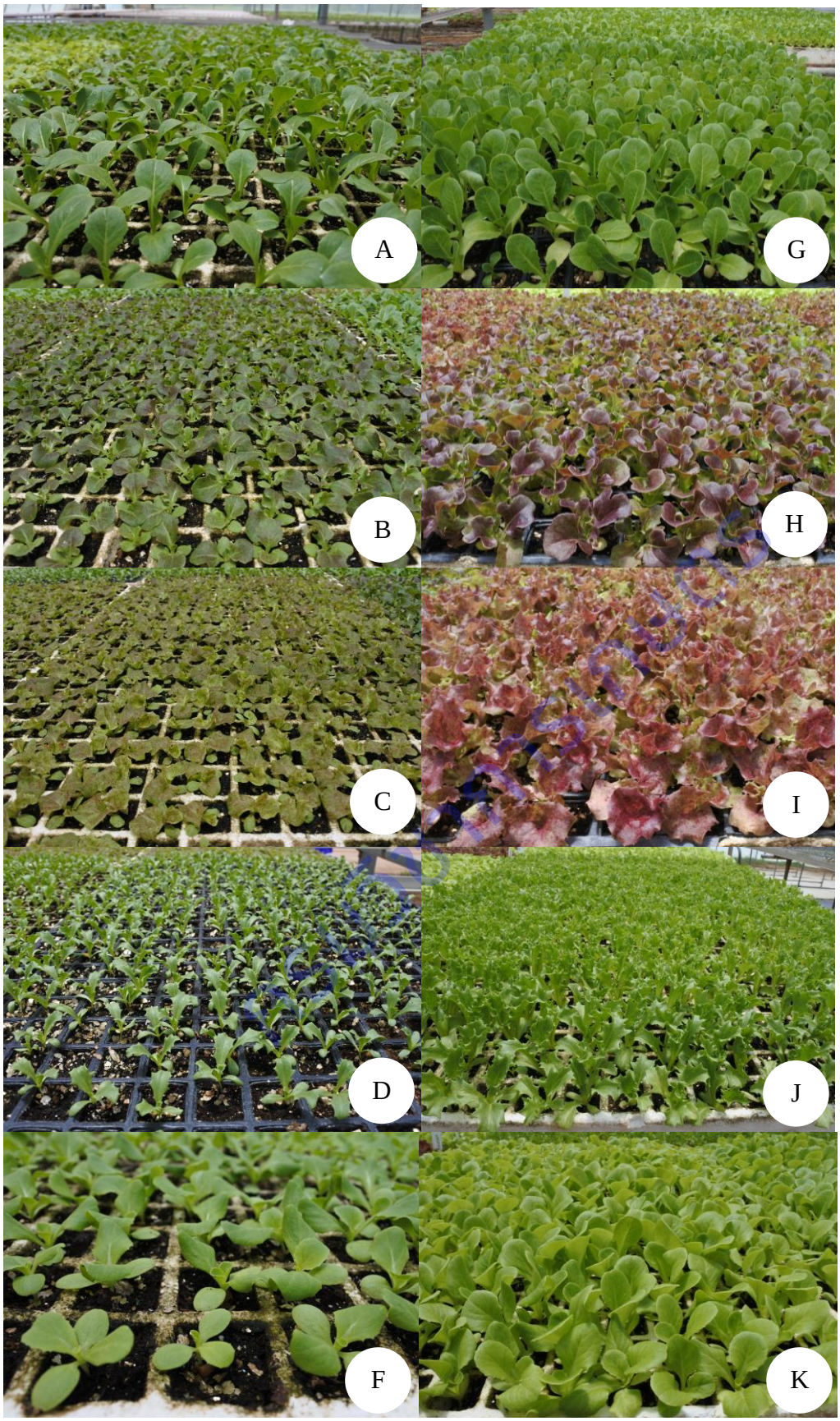


Figure 1.5.13 Field Inspection on lettuce after 14 days (A-F) and 21 days (G-K).

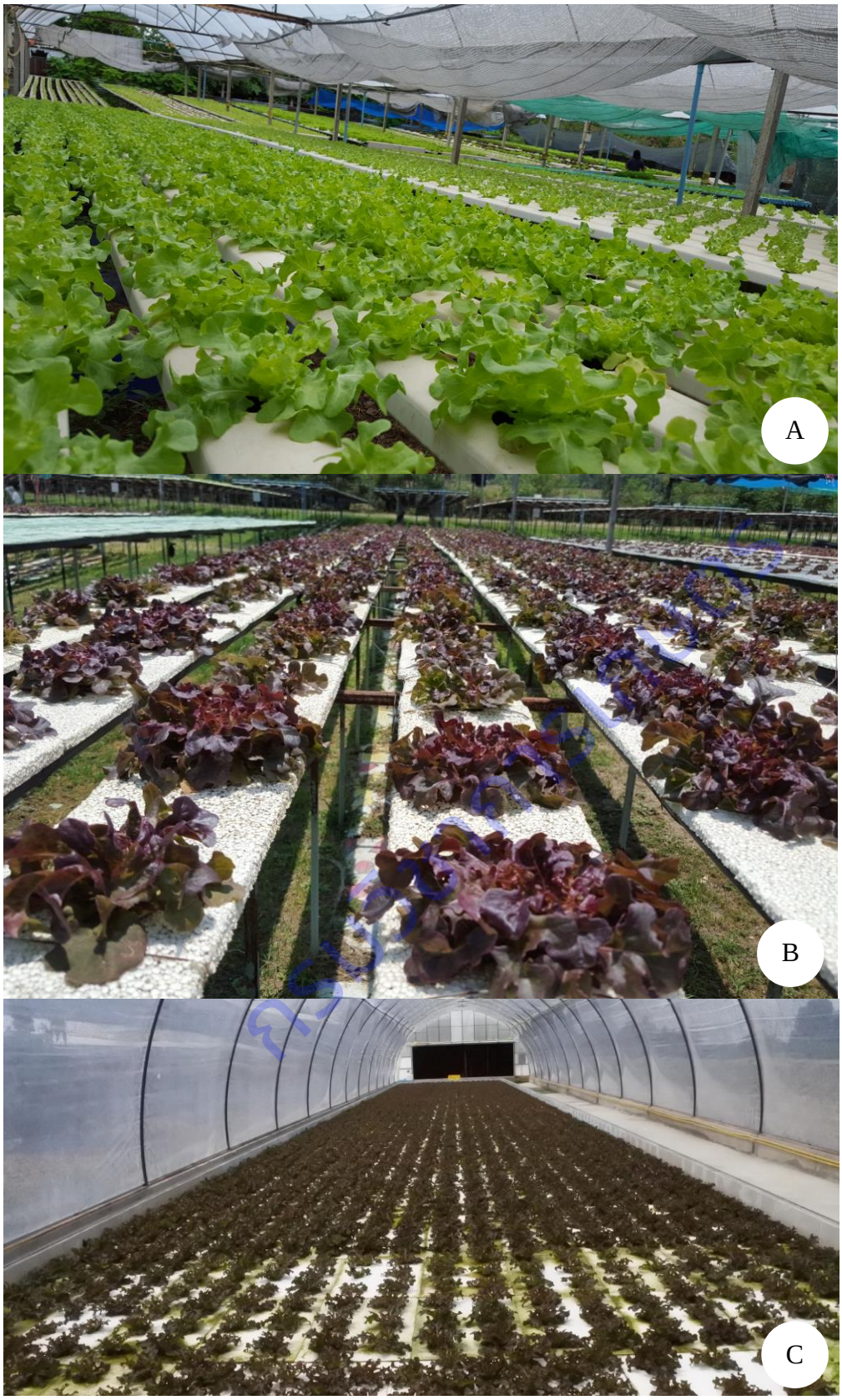


Figure 1.5.14 Field Inspection on lettuce 45 days.

การทดลองที่ 1.6 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสกอตแลนด์ ออสเตรเลีย เนเธอร์แลนด์ และแคนาดา (2559-2562)

ระยะที่ 1 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสกอตแลนด์และ ออสเตรเลีย (2559-2560 รวม 2 ปี)

1. การสืบค้นข้อมูลพืชและศัตรูพืชของหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสกอตแลนด์ ออสเตรเลีย เนเธอร์แลนด์ และแคนาดา

จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายหัวพันธุ์ของมันฝรั่งพบว่ามีศัตรูพืชเป้าหมายมีดังนี้

- สกอตแลนด์ ได้แก่เชื้อรา 5 ชนิด *Phoma foveata Polyscytalum pustulans Spongospora subterranea Synchytrium endobioticum Verticillium albo-atrum* ไวรัส 12 ชนิด *Alfalfa mosaic virus* (AMV) *Pepino mosaic virus* (PepMV) *Potato aucuba mosaic virus* (PAuMV) *Potato mop top virus* (PMTV) *Potato virus A* (PVA) *Potato virus M* (PVM) *Tobacco rattle virus* (TRV) *Tobacco ringspot virus* (TRSV) *Tobacco streak virus* (TSV) *Tomato black ring virus* (ToBRV) *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด *Potato witches' broom* ไส้เดือนฝอย 4 ชนิดไสเดือนฝอย *Ditylenchus destructor Ditylenchus dipsaci Globodera pallida Globodera rostochiensis*

- ออสเตรเลีย ได้แก่ แมลง *Symmetrischema tangolias* ไส้เดือนฝอย*Meloidogyne fallax Ditylenchus destructor Ditylenchus dipsaci* (potato race) เชื้อรา *Phoma foveata Spongospora subterranean Verticillium albo-atrum* ไวรัส *Alfalfa mosaic virus* (AMV) *Potato aucuba mosaic virus* (PAuMV) *Tobacco rattle virus* (TRV) *Tobacco ringspot virus* (TRSV) *Tobacco streak virus* (TSV) *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) ไวรอยด์*Potato spindle tuber viroid* (PSTVd)

- เนเธอร์แลนด์ ได้แก่ เชื้อรา *Polyscytalum pustulans, Spongospora subterranea, Synchytrium endobioticum, Verticillium albo-atrum* เชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* และไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci, Globodera pallida, Globodera rostochiensis, Meloidogyne chitwood* และ *M. fallax*

-ประเทศแคนาดา ได้แก่ เชื้อรา *Spongospora subterranea, Synchytrium endobioticum* เชื้อแบคทีเรีย*Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* และไส้เดือนฝอย *Globodera pallida*, *G. rostochiensis*

2. ผลการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืช เบื้องต้นและขั้นละเอียดกับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าในห้องปฏิบัติการ

ระยะที่ 1 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสกอตแลนด์ และออสเตรเลีย (2559-2560)

สุ่มตัวอย่างมันฝรั่งจากสกอตแลนด์ ณ จุดนำเข้าและตรวจสอบและจำแนกชนิดศัตรูพืชของหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจาก พบว่าจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดที่ปนเปื้อนมากับมันฝรั่ง ในห้องปฏิบัติการพบ

กรมวิชาการเกษตร

เชื้อรา *Spongospora subterranea* จำนวน 8 ครั้งโดยแต่ละครั้งที่ตรวจพบร้อยละการทำลายของโรค powdery scab ครอบคลุมพื้นที่ผิวไม่เกินที่กำหนดไว้

สุ่มตัวอย่างมันฝรั่งจากออสเตรเลีย ณ จุดนำเข้าและตรวจสอบและจำแนกชนิดศัตรูพืชของหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจาก พบว่าจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดที่ปนเปื้อนมากับมันฝรั่ง ในห้องปฏิบัติการพบเชื้อรา *Spongospora subterranea* จำนวน 1 ครั้งโดยแต่ละครั้งที่ตรวจพบร้อยละการทำลายของโรค powdery scab ครอบคลุมพื้นที่ผิวไม่เกินที่กำหนดไว้ พร้อมติดตามผลผลิตจากการที่นำหัวพันธุ์ฝรั่งจากทั้งสองประเทศไปปลูกจากการสุ่มตัวอย่างผลผลิตในแปลงปลูกมาตรวจไม่พบโรค powdery scab

ระยะที่ 2 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งจากเนเธอร์แลนด์ และแคนาดา (2561-2562)

สุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ จำนวน 12 ครั้ง เมื่อนำมาตรวจสอบเบื้องต้น พบลักษณะอาการ powdery scab หรืออาการแผลสะเก็ดบนหัวพันธุ์มันฝรั่ง เมื่อนำตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ มาตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ตรวจพบเชื้อรา 1 ชนิด คือ *Spongospora subterranea* สาเหตุของโรค powdery scab กับหัวพันธุ์มันฝรั่ง ตรวจพบร้อยละการทำลายของโรค powdery scab ครอบคลุมพื้นที่ผิวไม่เกินที่กำหนดไว้ จำนวน 8 ครั้ง และหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากประเทศแคนาดามีการนำเข้า1 ครั้ง ตรวจสอบไม่พบศัตรูพืช พร้อมติดตามผลผลิตจากการที่นำหัวพันธุ์ฝรั่งจากทั้งสองประเทศไปปลูกจากการสุ่มตัวอย่างผลผลิตในแปลงปลูกมาตรวจไม่พบโรค powdery scab

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชนำเข้าในแปลงปลูก

จากลงตรวจสำรวจพื้นที่ปลูกมันฝรั่งที่นำหัวพันธุ์จากทั้ง 4 ประเทศมาปลูก ในช่วง 2559 - 2562 ที่อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ จากการสำรวจสุ่มตรวจผลผลิตหัวมันจากการเพาะปลูกไม่พบการระบาด powdery scab ที่ก่อความเสียทางเศรษฐกิจ ได้ผลผลิตต่อไร่จะอยู่ที่ 3,000 – 4,000 กก./ไร่

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายหัวพันธุ์ของมันฝรั่งพบว่ามีศัตรูพืชเป้าหมายมีดังนี้ ประเทศสกอตแลนด์ ได้แก่ เชื้อรา 5 ชนิด ไวรัส 12 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 4 ชนิดไสเดือนฝอย และประเทศออสเตรเลีย ได้แก่ แมลง 1ไส้เดือนฝอย 3 ชนิด เชื้อรา 3 ชนิด ไวรัส 6 ชนิด ไวรอยด์ 1 ชนิด ประเทศเนเธอร์แลนด์ ได้แก่ เชื้อรา 4 ชนิด เชื้อแบคทีเรีย 1 ชนิด และไส้เดือนฝอย 5 ชนิด ประเทศแคนาดา ได้แก่ เชื้อรา 2 ชนิด เชื้อแบคทีเรีย 1 ชนิด และไส้เดือนฝอย 2 ชนิด

จากการตรวจสุ่มตรวจศัตรูพืช ณ ด่านตรวจพืช และผลการ วินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ระหว่างเดือนตุลาคม2559 - กันยายน 2562 พบจากการสุ่มตัวอย่างมันฝรั่งจากสกอตแลนด์ ณ จุดนำเข้าและตรวจสอบและจำแนกชนิดศัตรูพืชของหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจาก พบว่าจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดที่ปนเปื้อนมากับมันฝรั่ง ในห้องปฏิบัติการพบเชื้อรา *Spongospora subterranea* เชื้อสาเหตุโรค powdery scab จำนวน 8 ครั้งจากการนำเข้าทั้งหมด 8ครั้ง ส่วนหัวพันธุ์มันฝรั่งจากออสเตรเลียพบเชื้อรา *Spongospora subterranea* จำนวน 1 ครั้ง จากการนำเข้าทั้งหมด 1 ครั้ง หัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจาก

กรมวิชาการเกษตร

เนเธอร์แลนด์พบเชื้อรา *Spongospora subterranea* จำนวน 7 ครั้ง จากการนำเข้าทั้งหมด 12 ครั้ง โดยแต่ละครั้งที่ตรวจพบร้อยละการทำลายของโรค powdery scab ครอบคลุมพื้นที่ผิวไม่เกินที่กำหนดไว้และหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากประเทศแคนาดามีการนำเข้า1 ครั้งไม่พบศัตรูพืช ไว้ พร้อมติดตามผลผลิตจากการที่นำหัวพันธุ์ฝรั่งจากทั้ง4ประเทศไปปลูกจากการสุ่มตัวอย่างผลผลิตในแปลงปลูกมาตรวจไม่พบโรค powdery scab ที่ก่อความเสียหายทางเศรษฐกิจของหัวมันฝรั่งแต่อย่างไร

ผลการศึกษาสรุปได้ว่าการตรวจหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าส่วนใหญ่จะพบเชื้อรา *Spongospora subterranea* ซึ่งเชื้อสาเหตุโรค powdery scab ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันกำหนดไว้ในเงื่อนไขการนำเขาหัวพันธุมันฝรั่งถึงจะอยู่ในระดับการยอมรับได้(มีหัวพันธุ์มันฝรั่งจำนวนไม่เกินร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนักของหัวพันธุ์มันฝรั่งซึ่งแสดงอาการของโรคครอบคลุมพื้นที่ผิวร้อยละ 5 ของหัวมันฝรั่ง) แต่ก็แสดงให้เห็นว่าการจัดการภายหลังเก็บเกี่ยวยังไม่ดีมีโอกาสที่ศัตรูพืชจะติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่ง จึงควรมีการตรวจนำเข้าที่เข้มงวดมากขึ้น บันทึกข้อมูลพร้อมเก็บตัวอย่างศัตรูพืชหรือสิ่งมีชีวิตที่พบไว้เป็นหลักฐาน และแจ้งประเทศผู้ส่งออกทุกครั้ง หากมีการตรวจพบศัตรูพืชบ่อย ๆ ควรมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเพิ่มเติมซึ่งอาจนำไปสู่การทบทวนหรือปรับปรุงมาตรการด้านสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งต่อไป

ระยะที่ 2 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งจาก เนเธอร์แลนด์ และแคนาดา (2561-2562 รวม 2 ปี)

การทดลองที่ 1.7 การตรวจติดตามเชื้อ *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากต่างประเทศ (2559 - 2560)

1. สืบค้นข้อมูลการนำเข้าและสุ่มเก็บตัวอย่างมันฝรั่ง

จากสืบค้นข้อมูล การนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศพบว่าตั้งแต่ตุลาคม 2558 - ธันวาคม 2559 ประเทศไทยนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่ง รวมทั้งสิ้น จำนวน 466,7592 กิโลกรัม โดยนำเข้าจาก 4 ประเทศ ได้แก่ ออสเตรเลีย เนเธอร์แลนด์ สก๊อตแลนด์ และสหรัฐอเมริกา (ข้อมูลกลุ่มวิจัยการกักกันพืช)

เชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* อยู่ในลำดับ Actinomycetales วงศ์ Microbacteriaceae เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ที่แหล่งแพร่กระจายในทวีปเอเชีย ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน ไต้หวัน เกาหลี ปากีสถาน เนปาล ทวีปอเมริกา เช่น สหรัฐอเมริกา ทวีปยุโรป เช่น เนเธอร์แลนด์แต่อยู่ภายใต้ข้อกำหนดของสหภาพยุโรปเกี่ยวกับการควบคุมโรค bacterial ring rot ได้แก่ Council Directive 93/85/EC on the control of bacterial ring rot เป็นต้น

ข้อกำหนดการนำเข้าพบว่าประเทศไทยมีข้อกำหนดสำหรับดินซึ่งจะนำศัตรูพืชติดเข้ามาได้หลายชนิดจึงกำหนดไว้ดังนี้ เช่น ต้องจัดการกับดินให้หัวพันธุ์มันฝรั่งปราศจากดินเท่าที่จะเป็นไปได้ในทางปฏิบัติ ดินที่มีลักษณะเป็นผงติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งต้องมีน้ำหนักไม่เกิน 100 กรัมต่อหัวพันธุ์มันฝรั่งน้ำหนัก 50 กิโลกรัม (เท่ากับร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก) สำหรับดินที่มีลักษณะเป็นก้อนเกาะติดบนหัวพันธุ์มันฝรั่ง หัวพันธุ์มันฝรั่งซึ่งมีดินลักษณะเป็นก้อนเกาะติดมาครอบคลุมพื้นที่ผิวเกินกว่าร้อยละ 20 ต้องมีไม่เกินจำนวน 30 หัว จากตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งจำนวน 600 หัว(เท่ากับร้อยละ 5) เป็นต้น สำหรับข้อกำหนดด้านศัตรูพืช โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter*

กรมวิชาการเกษตร

michiganensis subsp. *sepedonicus* พบรายงานการการแพร่ระบาดที่ เนเธอร์แลนด์ ซึ่งประเทศไทยนำเข้าจากแหล่งที่มีรายงานการระบาด ทั้งนี้ข้อกำหนดสำหรับการนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ นั้นได้กำหนดโรคพืชกักกันซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรียโรค bacterial ring rot, *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* ว่าห้ามนำเข้าราชอาณาจักรไทยสำหรับหัวพันธุ์มันฝรั่งซึ่งมาจากแปลงผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งที่มีการแพร่ระบาดของโรคและแปลงผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งซึ่งใช้เครื่องจักรกล สถานที่ และ หรือพนักงานร่วมกันต้องมีการบังคับใช้กฎระเบียบด้านสุขอนามัยพืชเพื่อควบคุมโรคbacterial ring rot ในแปลงผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งที่พบการระบาด การบริหารจัดการด้านสุขอนามัยพืชสำหรับโรค bacterial ring rot ต้องเป็นไปตามข้อกำหนดของสหภาพยุโรปเกี่ยวกับการควบคุมโรค bacterial ring rot ได้แก่ Council Directive 93/85/EC on the control of bacterial ring rot ต้องดำเนินการตรวจวิเคราะห์หัวพันธุ์มันฝรั่งจากแปลงผลิตที่จะส่งออกมายังราชอาณาจักรไทยในห้องปฏิบัติการของ NAK เพื่อตรวจหาโรค bacterial ring rotเฉพาะหัวพันธุ์ มันฝรั่งจากแปลงผลิตซึ่งผลการตรวจวิเคราะห์ไม่พบโรค bacterial ring rot เท่านั้นจะได้รับอนุญาตให้นำเข้าได้วิธีการตรวจวินิจฉัยโรค bacterial ring rot ต้องเป็นไปตามข้อกำหนดของสหภาพยุโรปที่ได้ระบุไว้ใน Council Directive 93/85/EC on the control of bacterial ring rot สำหรับข้อกำหนดการนำเข้าจากสหรัฐอเมริกากำหนดไว้ดังนี้ห้ามนำเข้าราชอาณาจักรไทยสำหรับหัวพันธุ์มันฝรั่งซึ่งมาจากแปลงผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งที่มีการแพร่ระบาดของโรค bacterial ring rot, *Clavibacter michiganensis* subsp.*sepedonicus* และต้องตรวจวิเคราะห์หัวพันธุ์มันฝรั่งจากแปลงผลิตที่จะส่งออกมายังราชอาณาจักรไทยในห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจหาโรค bacterial ring rot โดยห้องปฏิบัติการของ USDA-APHIS หรือห้องปฏิบัติการที่ได้รับการยอมรับจาก USDA-APHIS เฉพาะหัวพันธุ์มันฝรั่งจากแปลงผลิต ซึ่งผลการตรวจวิเคราะห์ไม่พบโรค bacterial ring rot เท่านั้นจะได้รับอนุญาตให้นำเข้ามาประเทศไทย อย่างไรก็ตามประเทศผู้นำเข้าทุกประเทศจะต้องตรวจสอบและติดตามเชื้อโรคดังกล่าวว่าภายหลังการนำเข้าอีกครั้งเพื่อให้มั่นใจว่าปลอดจากศัตรูพืชดังกล่าวจริงตามข้อกำหนด

2. ตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (Cms) ที่อาจติดเข้ามากับมันฝรั่ง

จากการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (Cms) ที่ติดมาหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจาก 6 ประเทศ ได้แก่ สหราชอาณาจักร (สก็อตแลนด์) เนเธอร์แลนด์ ออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา เปรู และเกาหลี จำนวน 38 ตัวอย่าง จากตัวอย่างจำนวนทั้งสิ้น 4,667,591.78 กิโลกรัม เมื่อนำมาตรวจสอบด้วยวิธี dilution technique การทดสอบเชื้อบนพืชทดสอบโดยใช้ต้นมะเขือ การตรวจจำแนกชนิด ด้วยวิธี ELISA และ วิธี PCR ตรวจสอบแล้วไม่พบเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* สาเหตุของโรค bacterial ring rot (ตารางที่ 1.6.1)

3. การปลูกทดสอบและสังเกตอาการและความผิดปกติในโรงปลูกพืชทดสอบ

จากการนำหัวมันฝรั่งไปปลูกทดสอบและสังเกตอาการและความผิดปกติในโรงปลูกพืชทดสอบ พบว่าต้นเติบโตดี ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* สาเหตุของโรค bacterial ring rot

4. การติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้าในแปลงปลูกเกษตรกร

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

จากการติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้าในแปลงปลูกเกษตรกรในพื้นที่ภาคเหนือ ได้แก่ อำเภอพบพระ และอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก อำเภอไชยปราการ อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ และพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ อำเภอพังโคน อำเภอพรรณานิคม จังหวัดสกลนคร โดยเก็บตัวอย่างระยะก่อนเก็บเกี่ยว และเก็บตัวอย่างที่สังสัย ใบ ลำต้น หัว นำมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ตรวจสอบแล้วไม่พบศัตรูพืชดังกล่าว

ระหว่างทำการศึกษาตรวจสอบแล้วไม่พบเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* สาเหตุของโรค bacterial ring rot เนื่องจากประเทศต้นทางปฏิบัติตามเงื่อนไขที่ประเทศไทยกำหนด รวมทั้งหลายประเทศที่มีการส่งออกมายังประเทศไทย ได้มาตรการในการควบคุมเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้โดยกำหนดให้แปลงผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งซึ่งใช้เครื่องจักรกล สถานที่ และพนักงานร่วมกันต้องมีการบังคับใช้กฎระเบียบด้านสุขอนามัยพืชเพื่อควบคุมโรค bacterial ring rot ในแปลงผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งที่พบการระบาด การบริหารจัดการด้านสุขอนามัยพืชสำหรับโรค bacterial ring rot ต้องเป็นไปตามข้อกำหนดของสหภาพยุโรปเกี่ยวกับการควบคุมโรค bacterial ring rot ได้แก่ Council Directive 93/85/EC on the control of bacterial ring rot รวมทั้งประเทศที่นำเข้าทั้ง 6 ประเทศมีการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ในห้องปฏิบัติก่อนการส่งออกมายังราชอาณาจักรไทยแต่อย่างไรก็ตามก็ยังมีความเสี่ยงที่เชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* สาเหตุของโรค bacterial ring rot จะทำความเสียหายกับมันฝรั่ง และพืชอื่นในประเทศไทย เช่น มะเขือเทศ และมะเขือยาว เป็นต้น ดังนั้นเพื่อป้องกันโรคและศัตรูพืชร้ายแรงชนิดนี้ซึ่งมีความสำคัญทางกักกันพืช สำหรับการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากต่างประเทศยังมีความเป็นจะต้องสุ่มตัวอย่างเพื่อตรวจสอบเบื้องต้นโดยการผ่าสังเกตอาการ และตรวจสอบ รวมทั้งจำแนกชนิด ตลอดจนติดตามตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ต่อไป เพื่อป้องกันไม่ให้เข้ามาแพร่ระบาดในราชอาณาจักรไทย

กรมวิชาการเกษตร

Table 1.6.1 Diagnostic result of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (Cms) associated with imported seed potatoes.

Countries	Quantity (Kgs)	Consignment	Result
United Kingdom (Scotland)	2,920,300	22	Not found Cms
Netherlands	1,040,850	10	Not found Cms
Australia	705,200	3	Not found Cms
USA	1,205	1	Not found Cms
Peru	36	1	Not found Cms
South Korea	0.78	1	Not found Cms
Total	**4,667,591.78**	**38**	**-**

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 1.8 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์และญี่ปุ่น (2561 - 2562)

1. การสืบค้นข้อมูลและตรวจเอกสาร

จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์และญี่ปุ่นเปรียบเทียบรายชื่อศัตรูพืชของประเทศไทย พบว่า จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ 9 ชนิด ได้แก่ วัชพืช *Cirsium arvense*, *Lolium temulentum*, *Senecio vulgaris*, *Spergula arvensis* เชื้อรา *Verticillium dahliae* เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*, *Pseudomonas viridiflava* ไส้เดือนฝอย *Heterodera shachtii* ศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากญี่ปุ่น 8 ชนิด ได้แก่ วัชพืช *Cirsium arvense*, *Lolium temulentum*, *Senecio vulgaris*, *Spergula arvensis* เชื้อรา *Verticillium dahliae* เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* และ *Pseudomonas viridiflava*

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์และญี่ปุ่น ณ ด่านตรวจพืช และทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้า ได้ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ ผ่านทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ และไปรษณีย์ จำนวน 7 ตัวอย่าง ปริมาณนำเข้า 58,052.3 กิโลกรัม และญี่ปุ่น ผ่านทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ และไปรษณีย์ จำนวน 7 ตัวอย่าง ปริมาณนำเข้า 7,392.56 กิโลกรัม (figure 1.8.1, 2 และ 3)

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น

การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น เมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ และญี่ปุ่น ผลการตรวจศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ ไม่พบสิ่งปนเปื้อน แมลง ไร และเมล็ดวัชพืช (figure 1.8.4)

4. ตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

จากการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ผลการตรวจศัตรูพืชบนเมล็ดพันธุ์ด้วย วิธี blotter method, dilution plate technique และ ELSA ผลปรากฏว่าการตรวจเชื้อราด้วยวิธีการ blotter method พบเชื้อรา *Alternaria raphani* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ 1 ครั้ง และญี่ปุ่น 1 ครั้ง ส่วนผลการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธีการ dilution plate technique และ ELSA ตรวจไม่พบเชื้อแบคทีเรียเป้าหมาย (table 1.8.1) (figure 1.8.5 และ 1.8.6)

5. ปลูกเมล็ดพันธุ์พันธุ์ผักกาดหัวจากนิวซีแลนด์และญี่ปุ่น ในโรงเรือนปลูกพืช

จากการปลูกเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัว จำนวน 14 ตัวอย่าง เพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้นพืชในโรงเรือนปลูกพืช (seedling symptom test) ผลการปลูกทดสอบ ต้นกล้าเจริญปกติ ไม่พบอาการที่แสดงถึงการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช เช่น อาการใบด่าง ใบจุด ใบไหม้ ต้นเหลือง แคระแกรน (figure 1.8.7)

6. ติดตามตรวจสอบศัตรูพืชภายหลังการนำเข้าในแหล่งปลูก

ติดตามตรวจสอบในแปลงปลูกผักกาดหัวภายหลังการนำเข้าจากนิวซีแลนด์ และญี่ปุ่น จำนวน 9 แปลง ในเขตจังหวัดเพชรบูรณ์ และราชบุรี กาญจนบุรี ไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมายในแหล่งปลูก (figure 1.8.8)

7. บันทึกและสรุปผลการวิจัย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ข้อมูลศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ มี 9 ชนิด ได้แก่ วัชพืช *Cirsium arvense*, *Lolium temulentum*, *Senecio vulgaris*, *Spergula arvensis* เชื้อรา *Verticillium dahliae* เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*, *Pseudomonas viridiflava* ไส้เดือนฝอย *Heterodera shachtii* ศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากญี่ปุ่น มี 8 ชนิด ได้แก่ วัชพืช *Cirsium arvense*, *Lolium temulentum*, *Senecio vulgaris*, *Spergula arvensis* เชื้อรา *Verticillium dahliae* เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* และ *Pseudomonas viridiflava* ศัตรูพืชดังกล่าวยังไม่มีรายงานในประเทศไทย (CABI, 2018) และเป็นศัตรูพืชร้ายแรง ถ้าเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศจะทำความเสียหายให้กับการเกษตรในประเทศได้ ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ โดยผ่านทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ และไปรษณีย์ จำนวน 7 ตัวอย่าง ปริมาณนำเข้า 58,052.3 กิโลกรัม และญี่ปุ่น ผ่านทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ และไปรษณีย์ จำนวน 7 ตัวอย่าง ปริมาณนำเข้า 7,392.56 กิโลกรัม จากการตรวจสอบเบื้องต้น ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ เมล็ดพันธุ์สมบูรณ์ ไม่มีร่องรอย การทำลายของไร และแมลงศัตรูพืช รวมทั้งไม่พบการปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืชกับเมล็ดพันธุ์นำเข้าดังกล่าว เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด และปิดมิดชิด นำเมล็ดมาตรวจเชื้อ

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

รา แบคทีเรีย และไวรัสในห้องปฏิบัติการ ไม่พบแบคทีเรียและไวรัสสาเหตุโรคพืช แต่ตรวจพบเชื้อรา *Alternaria raphani* บนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ จำนวน 1 ครั้ง และญี่ปุ่น จำนวน 1 ครั้ง เชื้อราขนิดนี้เป็นเชื้อราที่สามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ และเข้าทำลายเมล็ดพันธุ์หลังการเก็บเกี่ยวทำให้มีผลต่อคุณภาพการงอกของพืช คำแนะนำถ้าพบมีการปนเปื้อนปริมาณสูงควรมีการจัดการโดยใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา เช่น ไทแรม คลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนเก็บรักษาหรือเพาะปลูก เพื่อให้เมล็ดพันธุ์ยังคงคุณภาพในการงอกและเจริญเติบโต อย่างไรก็ตามเชื้อราชนิดนี้พบมีรายงานในประเทศไทย (CABI, 2018) และไม่ใช่ศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย จากนั้นนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการในโรงเรือนกักกันพืช ไม่พบอาการของโรคหรือศัตรูพืชกับต้นผักกาดหัวจากเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากนิวซีแลนด์และญี่ปุ่น และจากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกผักกาดหัวนำเข้า ในจังหวัดราชบุรี กาญจนบุรี และเพชรบูรณ์ จำนวน 9 แปลง สำรวจศัตรูพืชไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย

Teble 1.8.1 Pest associated with radish seeds.

Country	Quantity (Kg)	Consignment	Scientific name	Time
New Zealand	58,052.3	7	*Alternaria raphani*	1
Japan	7,392.56	7	*Alternaria raphani*	1
Total	**65,444.86**	**14**		**2**

Figure 1.8.1 Seed sampling.

กรมวิชาการเกษตร

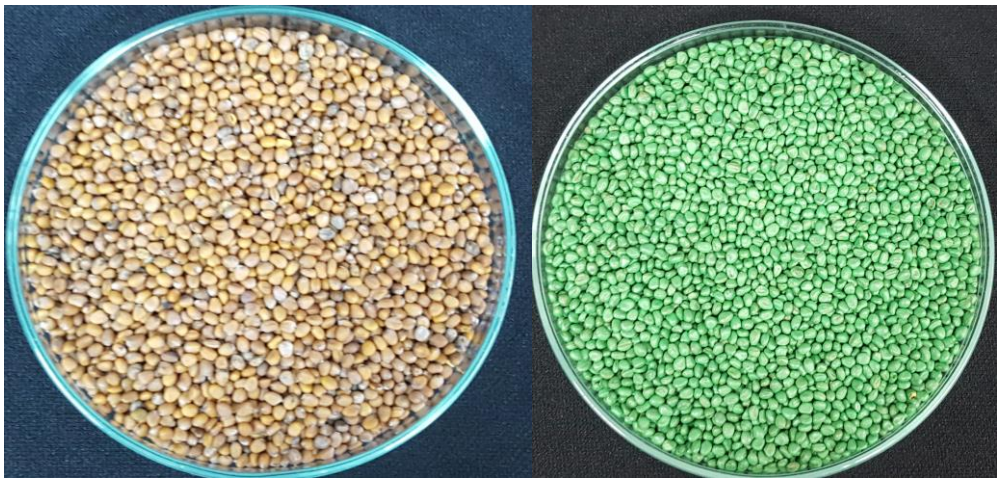


Figure 1.8.2 Radish seed from New Zealand.

Figure 1.8.3 Radish seed from Japan.

Figure 1.8.4 Visual inspection.

Figure 1.8.5 Blotter method.

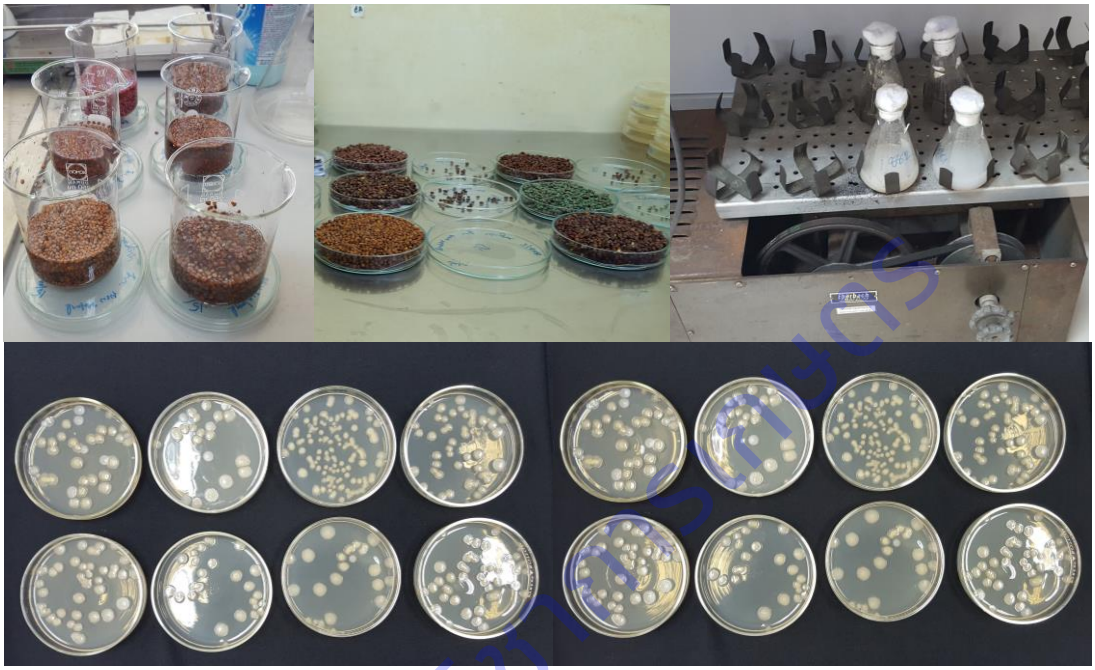


Figure 1.8.6 Dilution technique.

Figure 1.8.7 Seedling symptom test.

Figure 1.8.8 Field inspection.

การทดลองที่ 1.9 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากอินเดียและสหรัฐอเมริกา (2561 - 2562)

1. สืบค้นข้อมูลพืชและศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่นำเข้าจากอินเดีย และสหรัฐอเมริกา เปรียบเทียบกับรายชื่อศัตรูพืชของประเทศไทย

ข้าวโพด (*Zea may* L.) จัดเป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากอินเดียมีศัตรูพืชที่ร้ายแรงและยังไม่มีรายงานในประเทศไทย หลายชนิด (CABI, 2019) ด้วงอิฐ (*Trogoderma* spp.) จัดเป็นแมลงศัตรูพืชในโรงเก็บกับเมล็ดพืชหลายชนิด เช่น ข้าวโพด และมีรายงานแพร่ระบาดในอินเดียประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรปจัดเป็นศัตรูพืชกักกัน ระดับ A2 (Smith *et al.*, 1992) สำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากสหรัฐอเมริการะหว่างปี 2555-2556 มีการนำเข้า จำนวน 3.026 กิโลกรัม เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากสหรัฐอเมริกามีศัตรูพืชที่ร้ายแรงและยังไม่มีรายงานในประเทศไทย หลายชนิด เช่น เชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis* พบครั้งแรกที่ เมือง Nebraskensis สามารถถ่ายทอดโรคได้ทางเมล็ดพันธุ์อยู่ที่ระดับ 1.6 % (Schuster, 1975) ญี่ปุ่นได้ศึกษาพัฒนาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะอย่างที่เหมาสมสำหรับแยกเชื้อดังกล่าว นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรียสามารถติดไปกับเมล็ดและถ่ายทอดโรคทางเมล็ดพันธุ์ได้ และเชื้อแบคทีเรีย *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* (Smith *et al.*, 1992) พบการแพร่ระบาดในทุกแหล่งผลิตข้าวโพดในสหรัฐอเมริกาเป็นเชื้อที่ติดกับเมล็ดได้แต่การถ่ายทอดโรคผ่านทางเมล็ดพันธุ์นั้นอยู่ในระดับต่ำ (Block, 1996; McGee, 1999) เป็นต้น

จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากอินเดียและสหรัฐอเมริกา พบว่ามีศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดข้าวโพด 12 ชนิด จัดเป็นแมลง 3 ชนิด เชื้อรา 2 ชนิด

เชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด และเชื้อไวรัส 5 ชนิด โดยมีศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากอินเดีย 5 ชนิด ได้แก่ แมลง *Trogoderma granarium*, *Spodoptera frugiperda* เชื้อรา *Cephalosporium maydis* เชื้อแบคทีเรีย *Pantoea stewartii* และไวรัส *Maize mosaic virus* (CABI, 2019) ศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากสหรัฐอเมริกา มีศัตรูพืชกักกัน 11 ชนิด ได้แก่ แมลง *Trogoderma granarium, Trogoderma variabile, Spodoptera frugiperda* เชื้อรา *Cercospora zeae-maydis* เชื้อแบคทีเรีย *Pantoea stewartii*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis* และเชื้อไวรัส *High plains virus, Maize chlorotic dwarf virus, Maize chlorotic mottle virus, Maize mosaic virus* และ *Maize rayado fino virus* (CABI, 2019)

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่นำเข้าจากอินเดียเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดและสหรัฐอเมริกา

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากอินเดียและสหรัฐอเมริการะหว่างเดือนตุลาคม 2560 - กันยายน 2562 จำนวนทั้งหมด 70 ตัวอย่าง น้ำหนักโดยรวม 1,042.38 ตัน ผ่านทางด่านตรวจพืชลาดกระบัง ด่านตรวจพืชไปรษณีย์ ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ และด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานเชียงใหม่ (Figure 1.9.1)

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากอินเดียและสหรัฐอเมริกา จำนวนทั้งหมด 70 ตัวอย่าง พบว่าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่นำเข้าจากอินเดีย ไม่มีร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืช ไม่พบการปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืช ส่วนเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่นำเข้าจากสหรัฐอเมริกา ตรวจพบร่องรอยการทำแมลง เมื่อนำไปจัดจำแนกชนิดพบว่า เป็นแมลงสกุล *Trogoderma* 2 ชนิด คือ *Trogoderma granarium* และ *T. variabile* และเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่ตรวจพบ *T. granarium* และ *T. variabile* ได้รับการกำจัดศัตรูพืชโดยการรมด้วยเมทิลโบรไมด์ อัตรา 80 กรัม/ลูกบาศก์เมตรนาน 48 ชั่วโมงก่อนส่งกลับประเทศต้นทาง (Figure 1.9.2 and Figure 1.9.3)

4. การตรวจศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

จากการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ผลการตรวจศัตรูพืชบนเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธี blotter method, dilution plate method และ ELISA กับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากอินเดียและสหรัฐอเมริกา ผลปรากฏว่า ตรวจพบศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่นำเข้าจากอินเดีย 2 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Cephalosporium acremonium* และ *Fusarium moniliforme* และเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกาตรวจพบศัตรูพืช 1 ชนิด คือ เชื้อรา *F. moniliforme* ในการศึกษานี้ตรวจพบเชื้อรา 2 ชนิด ได้แก่ *F. moniliforme* และ *C. acremonium* ซึ่งสามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์ภายหลังการเก็บเกี่ยว และสร้างความเสียหายกับเมล็ดพันธุ์โดยตรงโดยการเข้าไปทำลายภายในเมล็ดพันธุ์ทำให้เมล็ดพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์ความงอกค่อนข้างต่ำ ส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพ และคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ เชื้อราที่พบนี้ถึงแม้ไม่ใช่ศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืชของประเทศไทย แต่ควรให้คำแนะนำในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเบื้องต้น เช่น คลุกสารเคมีกำจัดเชื้อราก่อนปลูก อย่างไรก็ตามยังต้องศึกษาและเข้มงวดกับการตรวจวินิจฉัยเมล็ดข้าวโพดต่อไป

5. ปลูกเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากอินเดียและสหรัฐอเมริกาในโรงเรือนกักกันพืช

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

จากการปลูกเมล็ดข้าวโพดนำเข้าจากอินเดียและสหรัฐอเมริกาเพื่อสังเกตอาการในโรงเรือนปลูกพืช เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ไม่พบลักษณะอาการต้นกล้าผิดปกติ เจริญเติบโตสมบูรณ์

6. ติดตามตรวจสอบศัตรูพืชภายหลังการนำเข้าในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด

จากการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดภายหลังการนำเข้าจากอินเดียและสหรัฐอเมริกา จำนวนทั้งสิ้น 300 แปลง ในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากอินเดียและสหรัฐอเมริกาในพื้นที่ปลูกข้าวโพด 23 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดขอนแก่น ชัยภูมิ สกลนคร นครราชสีมา อุบลราชธานี บุรีรัมย์ กาญจนบุรี สุพรรณบุรี สระบุรี ลพบุรี นครสวรรค์ พิษณุโลก สุโขทัย กำแพงเพชร เพชรบูรณ์ ตาก แม่ฮ่องสอน อุตรดิตถ์ แพร่ ลำพูน ลำปาง เชียงใหม่ และเชียงราย ผลปรากฏว่าการติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้าในพื้นที่ปลูกไม่พบศัตรูพืชกักกันติดมา แต่พบ การระบาดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (Fall army worm, *Spodoptera frujiperda*) ในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดภายหลังการนำเข้าในพื้นที่ผลิต 17 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดขอนแก่น ชัยภูมิ นครราชสีมา อุบลราชธานี กาญจนบุรี สระบุรี ลพบุรี นครสวรรค์ พิษณุโลก กำแพงเพชร ตาก แม่ฮ่องสอน แพร่ ลำพูน ลำปาง เชียงใหม่ และเชียงราย และได้ดำเนินการด้านมาตรการสุขอนามัยพืช ดังนี้

1) การเฝ้าระวังศัตรูพืช และการสำรวจติดตามอย่างต่อเนื่อง โดยใช้กับดักฟีโรโมนล่อแมลง และสังเกตด้วยตาเปล่าอย่างเข้มงวดในทุกพื้นที่ที่มีการผลิตข้าวโพด

2) การควบคุมศัตรูพืช ดังนี้

- การเขตกรรม ได้แก่ การเตรียมดิน โดยทำการไถพรวนและตากดินเพื่อกำจัดระยะดักแด้ที่อยู่ในดิน รวมทั้งการปลูกพืชไม่เป็นพืชอาศัยของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด เพื่อตัดวงจรชีวิตของแมลง

- การใช้สารเคมีป้องกันกำจัด ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร ตั้งแต่ ก่อนปลูกการปลูก โดย ควรคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสารสารคลุกเมล็ดในกลุ่มต่าง ๆ ดังนี้

IRAC กลุ่ม 28: ไซแอนทรานิลิโพรล 20% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อเมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม

ส่วนสารเคมีพ่นทางใบ ได้แก่

IRAC กลุ่ม 5

- สารสไปนีโทแรม 12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

-สารสไปนีโทแรม 25% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

IRAC กลุ่ม 6

-สารอีมาเมกตินเบนโซเอต 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

-สารอีมาเมกตินเบนโซเอต 5% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

IRAC กลุ่ม 13

-สารคลอร์ฟีนาเพอร์10% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

IRAC กลุ่ม 22

-สารอินดอกซาคาร์บ 15% EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

IRAC กลุ่ม 18+5

-สารเมทอกซีฟิโนไซด์+สไปนีโทแรม 30+6% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรมวิชาการเกษตร

IRAC กลุ่ม 28

-สารคลอแรนทรานิลิโพรล 5.17% SC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

IRAC กลุ่ม 28

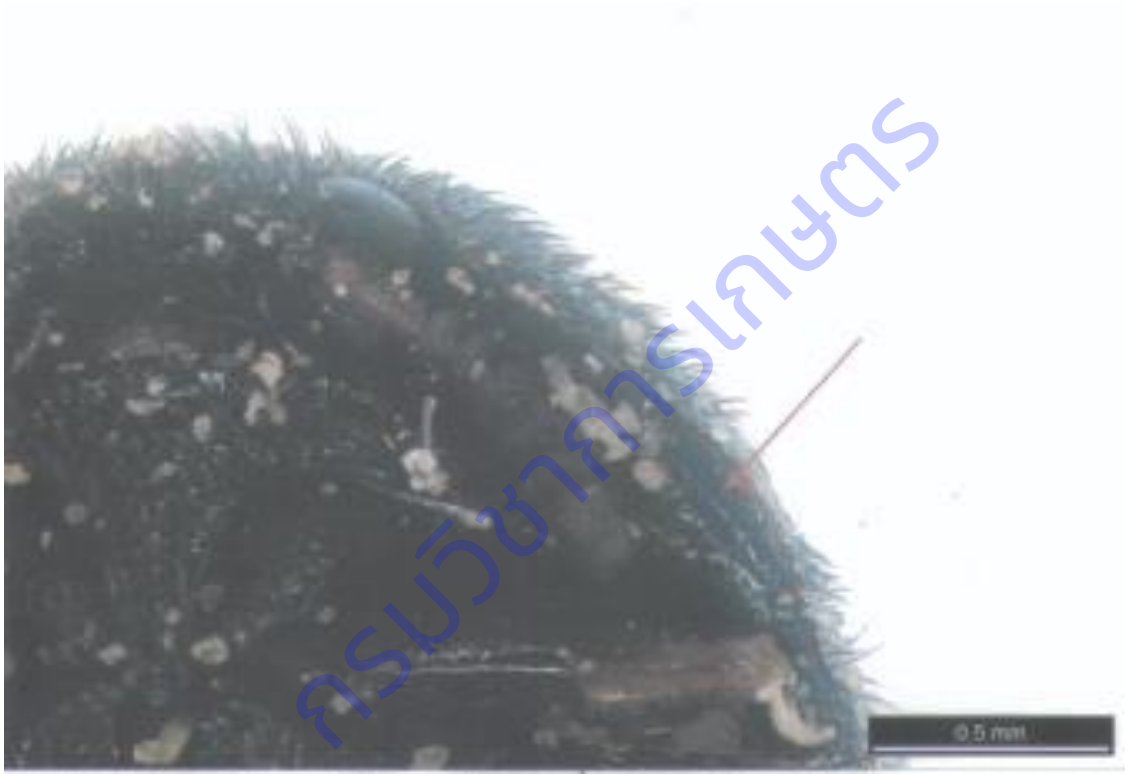
-ฟลูเบนไดอะไมด์ 20% WG อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากอินเดียและสหรัฐอเมริกา พบว่ามีศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากอินเดีย 5 ชนิด ได้แก่ แมลง *Trogoderma granarium*, *Spodoptera frugiperda* เชื้อรา *Cephalosporium maydis* เชื้อแบคทีเรีย *Pantoea stewartii* และไวรัส *Maize mosaic virus* ศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากสหรัฐอเมริกา มีศัตรูพืชกักกัน 11 ชนิด ได้แก่ แมลง *Trogoderma granarium, Trogoderma variabile, Spodoptera frugiperda* เชื้อรา *Cercospora zeae-maydis* เชื้อแบคทีเรีย *Pantoea stewartii*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis* และเชื้อไวรัส *High plains virus, Maize chlorotic dwarf virus, Maize chlorotic mottle virus, Maize mosaic virus* และ *Maize rayado fino virus* ส่วนเมล็ดพันธุ์นำเข้าได้รับการสุ่มตัวอย่างตามหลักเกณฑ์ของ ISTA เพื่อตรวจสอบศัตรูพืช 3 วิธี ได้แก่ การตรวจสอบโดยตรงด้วยตาเปล่า (visual inspection), วิธี blotter method และปลูกสังเกตอาการของโรคในระยะกล้า (Seedling symptom test) และมีการติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้าในพื้นที่ปลูก ผลการตรวจสอบในเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกาตรวจพบแมลงสกุล *Trogoderma* 2 ชนิด คือ *Trogoderma granarium* และ *T. variabile* จากการตรวจสอบโดยตรงและพบเชื้อรา *Fusarium moniliforme* จากการตรวจสอบด้วยวิธี Blotter method ส่วนเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากอินเดีย ตรวจพบเชื้อรา 2 ชนิด คือ *Cephalosporium acremonium* และ *Fusarium moniliforme* จากการตรวจสอบด้วยวิธี Blotter method เมล็ดพันธุ์จากทั้งสองแหล่งไม่พบศัตรูพืชจากการตรวจสอบโดยวิธีปลูกตรวจสอบอาการในระยะกล้า เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่ตรวจพบ *T. granarium* และ *T. variabile* ได้รับการกำจัดศัตรูพืชโดยการรมด้วยเมทิลโบรไมด์อัตรา 80 กรัม/ลูกบาศก์เมตรนาน 48 ชั่วโมงก่อนส่งกลับประเทศต้นทาง การติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้าในพื้นที่ปลูกไม่พบศัตรูพืชกักกันติดมา แต่พบการระบาดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (Fall army worm, *Spodoptera frujiperda*)

กรมวิชาการเกษตร

Figure 1.9.1 Corn seed samples from India and USA



กรมวิชาการเกษตร

Figure 1.9.2 Antennae of *Trogoderma granarium* (Adult female)

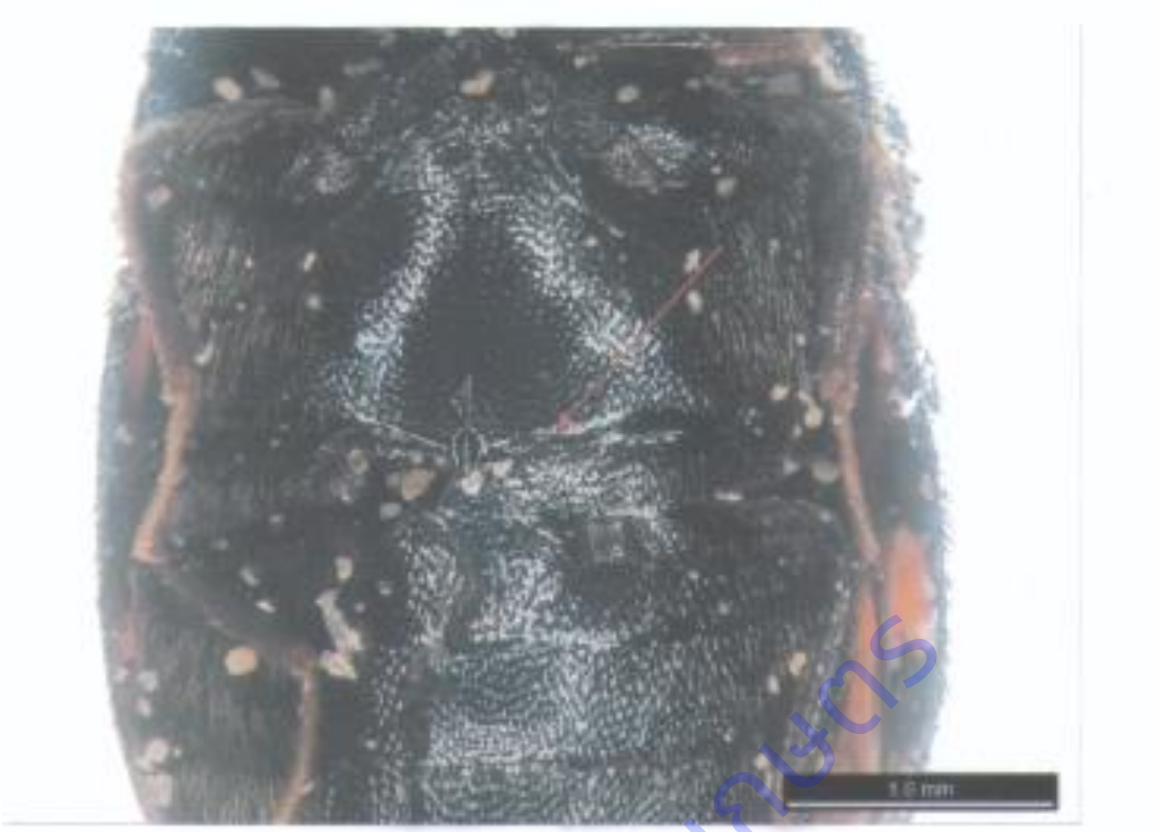


Figure 1.9.3 Body of *Trogoderma granarium*

การทดลองที่ 1.10 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากนิวซีแลนด์ และญี่ปุ่น (2563 - 2564)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสืบค้นข้อมูลและตรวจเอกสาร

จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากนิวซีแลนด์และญี่ปุ่นเปรียบเทียบรายชื่อศัตรูพืชของประเทศไทย พบว่า ศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากนิวซีแลนด์ มี 17 ชนิด ดังนี้ วัชพืช 5 ชนิด ได้แก่ *Chenopodium album*, *Cirsium arvense*, *Lolium temulentum*, *Senecio vulgaris*, *Polygonum aviculare* และ *Spergula arvensis* แมลง 1 ชนิด คือ *Liriomyza bryoniae* เชื้อรา 7 ชนิด ได้แก่ *Botryotinia fuckeliana, Chalara elegans, Phytophthora cryptogea, Phytophthora megasperma, Phytophthora poorri, Verticillium albo-atrum และ Verticillium dahliae* เชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด ได้แก่ *Psedomonas cichorii*, *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* และ *Pseudomonas viridiflava* ศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากญี่ปุ่น 18 ชนิด ได้แก่ วัชพืช 6 ชนิด ได้แก่ *Chenopodium album*, *Chenopodium murale*, *Cirsium arvense*, *Lolium temulentum*, *Senecio vulgaris* และ *Polygonum aviculare* ไส้เดือนฝอย 2 ชนิด ได้แก่ *Heterodera schachtii* และ *Xiphinema diversicaudatum* เชื้อรา 6 ชนิด ได้แก่ *Botryotinia fuckeliana, Chalara elegans, Phytophthora cryptogea, Phytophthora megasperma,*

ศรีวิชาการเกษตร

Verticillium albo-atrum และ Verticillium dahliae เชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด ได้แก่ *Psedomonas cichorii*, *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* และ *Pseudomonas viridiflava*

จากการสืบค้นพบมีรายงานศัตรูพืชหลายชนิดของเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากประเทศญี่ปุ่นและนิวซีแลนด์ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย ดังนั้นการนำเข้าเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีจึงมีความเสี่ยงที่จะมีศัตรูพืชกักกันติดเข้ามาแพร่ระบาดสร้างความเสียหายต่อการเพาะปลูกกะหล่ำปลีในประเทศไทยได้ จึงเป็นที่มาของการทดลองในครั้งนี้ เพื่อกำหนดมาตรการป้องกันไม่ให้มีศัตรูพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศไทย

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากนิวซีแลนด์และญี่ปุ่น และทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้า ได้ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากญี่ปุ่น (Figure 1.10.1) จำนวน 48 ตัวอย่าง ผ่านทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ เชียงใหม่ และไปรษณีย์ ปริมาณนำเข้า 17,765.44 กิโลกรัม ส่วนเมล็ดพันธุ์จากนิวซีแลนด์ไม่มีการนำเข้ามา

จากการทดลอง พบว่าในปีที่ดำเนินการทดลองนั้น ปรากฏว่าไม่มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีจากประเทศนิวซีแลนด์ ซึ่งก่อนที่จะกำหนดประเทศในการทดลองนั้น ได้ทำการสืบค้นข้อมูลจากฐานข้อมูลการนำเข้า พบว่ามีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีจากประเทศนิวซีแลนด์เป็นอันดับต้นของการนำเข้า ดังนั้นจึงได้สอบถามไปยังผู้ประกอบการที่เคยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลี ทราบว่าปัจจุบันสายพันธุ์กะหล่ำปลีที่ผลิตในประเทศนิวซีแลนด์เป็นสายพันธุ์ที่ไม่เหมาะต่อการเพาะปลูกในประเทศไทย ซึ่งเป็นสาเหตุหลักที่ไม่มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีจากประเทศนิวซีแลนด์ อย่างไรก็ตามหากอนาคตประเทศนิวซีแลนด์ได้ผลิตเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีสายพันธุ์ที่มีความเหมาะสมต่อการเพาะปลูกของประเทศไทย อาจมีการนำเข้าในปริมาณที่สูงเช่นเคย ดังนั้นข้อมูลศัตรูพืชกักกันก็ยังสามารถใช้เป็นฐานข้อมูลในการเฝ้าระวังศัตรูพืชได้

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น

การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นกับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าญี่ปุ่น จำนวน 48 ตัวอย่าง ผลการตรวจศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ พบเมล็ดวัชพืช 2 ชนิด ได้แก่ *Polygonum convolvulus* 1 ครั้ง และ *Galium* sp. 1 ครั้ง (Figure 1.10.2) วัชพืชที่ตรวจพบทั้ง 2 ชนิดไม่ใช่ศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย แต่วัชพืช *Polygonum convolvulus* เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยเมื่อตรวจพบได้ดำเนินการตามมาตรการในการจัดการศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย โดยให้ผู้ประกอบการที่นำเข้ามา ทำลายหรือส่งเมล็ดพันธุ์กลับโดยได้ดำเนินมาตรการทางด้านกักกันพืช ในส่วนของวัชพืช *Galium* sp. มีลักษณะสัณฐานวิทยาไม่ตรงกับที่ระบุเป็นชนิดศัตรูพืชกักกัน คณะผู้วิจัยจะดำเนินการหาวิธีที่เหมาะสมในการจำแนกชนิดต่อไป

4. ตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

จากการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการกับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าญี่ปุ่น จำนวน 48 ตัวอย่าง ผลการตรวจเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ ด้วย วิธี blotter method พบเชื้อรา *Altenaria alternata* 1 ครั้ง *Alternaria brassicicola* 8 ครั้ง *Altenaria raphani* 3 ครั้ง *Cladosporium* sp. 4 ครั้ง และ *Urocladium* sp. 1 ครั้ง ติดมากับเมล็ดพันกะหล่ำปลีนำเข้าจากประเทศญี่ปุ่น ตรวจแบคทีเรียด้วยวิธี dilution ไม่พบแบคทีเรียศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลี (Table 1.10.1) (Figure 1.10.3-5) เชื้อราทั้ง 5

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

ชนิด ที่ตรวจพบไม่ใช่ศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย การปนเปื้อนของเชื้อรา ถ้าพบปริมาณสูงจะแนะนำให้ผู้ประกอบการทำการทรีตเม้นท์เมล็ดพันธุ์ก่อนจะนำไปแบ่งบรรจุจำหน่าย หรือก่อนนำไปปลูก

5. ปลูกเมล็ดพันธุ์พันธุ์กะหล่ำปลีจากนิวซีแลนด์และญี่ปุ่น ในโรงเรือนปลูกพืช

จากการปลูกเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลี จำนวน 48 ตัวอย่าง เพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้นพืชในโรงเรือนปลูกพืช (seedling symptom test) ผลการปลูกทดสอบ ต้นกล้าเจริญปกติ ไม่พบอาการที่แสดงถึงการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช เช่น อาการใบด่าง ใบจุด ใบไหม้ ต้นเหลือง แคระแกรน ตรวจสอบแล้วไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย

6. ติดตามตรวจสอบศัตรูพืชกะหล่ำปลีภายหลังการนำเข้า

จากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชแหล่งปลูกกะหล่ำปลีภายหลังการนำเข้าจากประเทศญี่ปุ่น ในพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์ จำนวน 12 แปลง และโรงเรือนเพาะกล้ากะหล่ำปลี จำนวน 2 โรงเรือน ตรวจสอบศัตรูพืชแล้ว ไม่พบศัตรูพืชกักกัน (Figure 1.10.6-8) ในแปลงปลูกกะหล่ำปลีพบเชื้อรา *Alternaria brassicicola* (Figure 1.10.9) เข้าทำลายใบกะหล่ำปลี เชื้อราชนิดนี้มีรายงานพบในประเทศไทย ไม่ใช่ศัตรูพืชกักกัน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ข้อมูลศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากนิวซีแลนด์ มี 17 ชนิด ศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากญี่ปุ่น มี 18 ชนิด ศัตรูพืชดังกล่าวยังไม่มีรายงานในประเทศไทย (CABI, 2021) และเป็นศัตรูพืชร้ายแรง ถ้าเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศจะทำความเสียหายให้กับการเกษตรในประเทศได้ จากการทดลองได้ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากประเทศญี่ปุ่น จำนวน 48 ตัวอย่าง ปริมาณนำเข้า 17,765.44 กิโลกรัม จากการตรวจสอบเบื้องต้น พบการปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืชกับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากญี่ปุ่น 2 ชนิด ได้แก่ *Polygonum convolvulus* และ *Gallium* sp. พบว่าวัชพืช *Polygonum convolvulus* เป็นวัชพืชกักกันของประเทศไทย ดังนั้นจึงได้ดำเนินการตามมาตรการในการจัดการศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย โดยให้ผู้ประกอบการที่นำเข้าเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีดังกล่าวจะต้องถูกทำลายหรือส่งเมล็ดพันธุ์กลับไปยังประเทศต้นทาง ส่วนวัชพืช *Gallium* sp. เป็นวัชพืชที่พบมีรายงานในประเทศไทย (CABI, 2021) จากการตรวจพบเมล็ดวัชพืชที่เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยนั้น ข้อมูลในส่วนนี้ได้นำไปกำหนดมาตรการข้อปฏิบัติในการเข้มงวดในการตรวจเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีที่จะนำเข้าจากประเทศญี่ปุ่นเพื่อไม่ให้มีวัชพืชชนิดใหม่เข้ามาแพร่กระจายในประเทศไทย ส่วนผลการตรวจสอบเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ ไม่พบแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากญี่ปุ่น ส่วนพบการตรวจสอบเชื้อรา พบเชื้อรา *Altenaria alternata* 1 ครั้ง *Alternaria brassicicola* 8 ครั้ง *Altenaria raphani* 3 ครั้ง *Cladosporium* sp. 4 ครั้ง และ *Urocladium* sp. 1 ครั้ง ติดมากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากประเทศญี่ปุ่น เชื้อราทั้ง 4 ชนิดนี้เป็นเชื้อราที่สามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ และสามารถเข้าทำลายเมล็ดพันธุ์หลังการเก็บเกี่ยวทำให้มีผลต่อคุณภาพการงอกของเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีได้ คำแนะนำถ้าพบมีการปนเปื้อนของเชื้อราในปริมาณมากควรมีการจัดการโดยใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา เช่น ไทแรม หรือ iprodione คลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนนำไปจำหน่ายหรือเพาะปลูก

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

(อรพรรณ วิเศษสังข์, 2552) เพื่อให้เมล็ดพันธุ์ยังคงคุณภาพในการงอกและเจริญเติบโตได้ดี อย่างไรก็ตามเชื้อราทั้ง 5 ชนิดนี้พบมีรายงานในประเทศไทย (CABI, 2021) ซึ่งไม่ใช่ศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย ส่วนผลการทดลองนำเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากญี่ปุ่นไปปลูกสังเกตอาการในโรงเรือนกักกันพืช ไม่พบอาการผิดปกติของโรคหรือศัตรูพืชกับต้นกล้า เช่น อาการเหลือง ใบจุด แคระแกรน เป็นต้น และจากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกกะหล่ำปลีและในโรงเรือนเพาะกล้า ในจังหวัดเพชรบูรณ์ จำนวน 12 แปลง และ 2 โรงเรือน ไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมายแต่อย่างไรก็ตามการนำเข้าเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีจากประเทศญี่ปุ่นมีปริมาณที่สูงต่อปี และประเทศญี่ปุ่นยังคงมีรายงานเป็นแหล่งของศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยที่มีโอกาสติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลี เพราะฉะนั้นการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ยังคงมีความเสี่ยงจึงต้องมีการเฝ้าระวังต่อไป ส่วนข้อมูลศัตรูพืชที่ได้จากการทดลองทั้งที่เป็นศัตรูพืชกักกันและไม่ใช่ศัตรูพืชกักกัน สามารถใช้เป็นฐานข้อมูลเพื่อกำหนดมาตรการในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีจากประเทศญี่ปุ่นและนิวซีแลนด์เพื่อไม่ให้มีการปนเปื้อนของศัตรูพืชติดเข้ามา หรือติดมาในปริมาณที่สูงเกินไป จนอาจมีผลต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ได้ เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อเกษตรกรผู้นำเมล็ดพันธุ์ไปใช้ในการเพาะปลูกต่อไป

Table 1.10.1 Pest associated with cabbage seeds. (October 2019 -September 2021)

Country	Number of consignment	Quantity (Kgs.)	Pest	pest status	No. of detected shipment
New Zealand	0	0	-	-	-
Japan	48	17,765.44	**Fungi**		
			Alternaria alternata	Non-regulated	1
			Alternaria brassicicola	Non-regulated	8
			Alternaria raphani	Non-regulated	3
			Cladosporium sp.	Non-regulated	4
			Ulocladium sp.	Non-regulated	1
			Weeds		
			Polygonum convolvulus	Regulated	1
			Galium sp.	Non-regulated	1
รวม	**48**	17,765.44			

กรมวิชาการเกษตร

Figure 1.10.1 Seed samples of packed in cans (A) or plastic (B) and cabbage seeds from Japan (C) .

Figure 1.10.2 Weed seeds contaminated in cabbage seed imported from Japan.
Polygonum convolvulus (A) and *Galium* sp. (B)

กรมวิชาการเกษตร

Figure 1.10.3 Cabbage seeds infected with *Alternaria brassicicola* are marked 'AB' (A). Habit characters of *Alternaria brassicicola* on a cabbage seed (B, x10, C, x112.5).

Figure 1.10.4 Conidial chains on a cabbage seed (A, x112.5) and Conidia of *Alternaria brassicicola* (B, x200; C, x400).

Figure 1.10.5 Habit characters of *Alternaria raphani* on a cabbage seed (A, x112.5) and Conidia of *Alternaria raphani* (B, x400).

กรมวิชาการเกษตร

Figure 1.10.6 Field inspection in cabbage crop (March 2021) (A-E).

Figure 1.10.7 Field inspection in cabbage crop (March 2021) (A-D).

Figure 1.10.8 Field inspection in cabbage crop (A). Dark leaf spot of cabbage in cabbage crop (November 2021) (B-D).

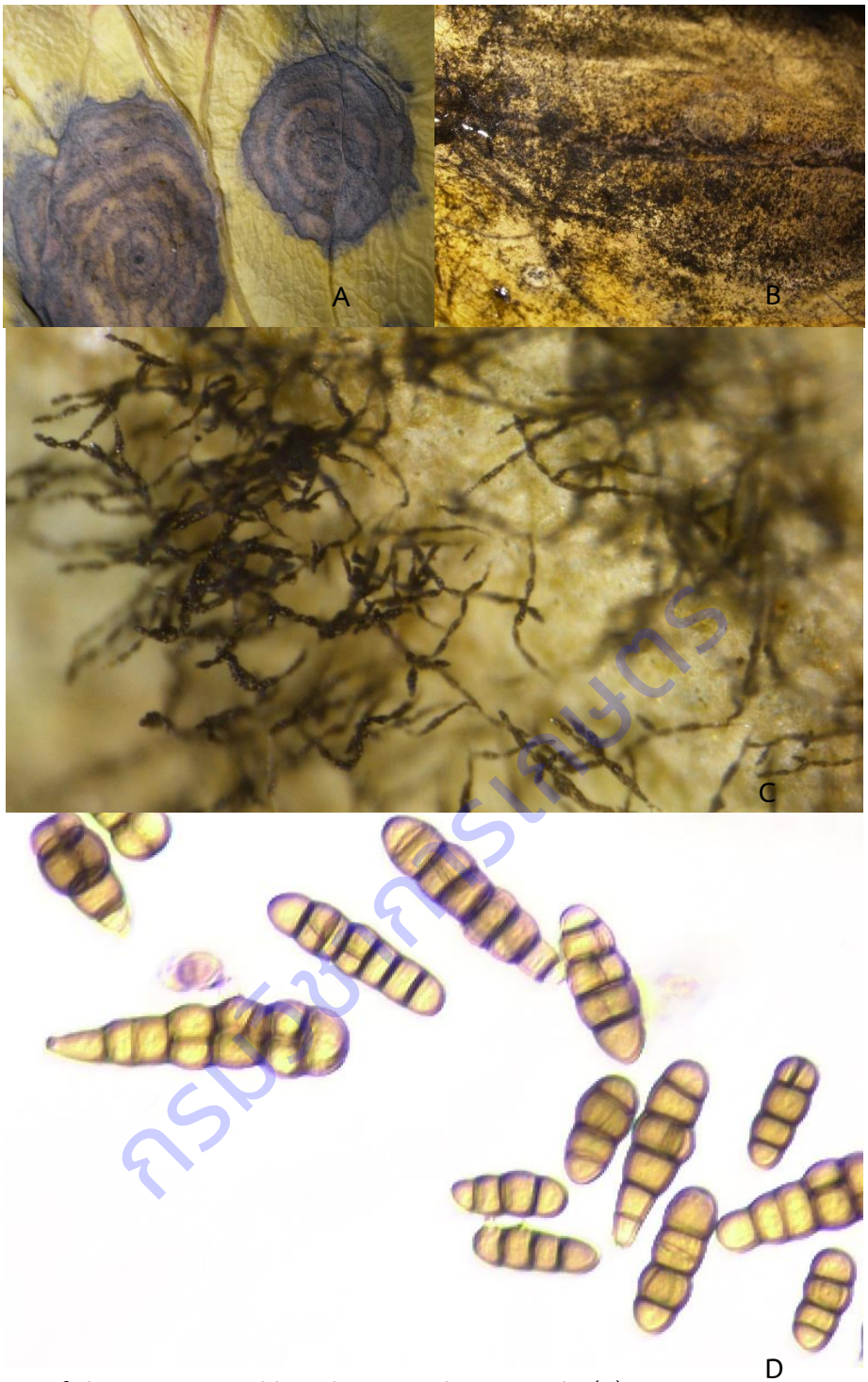


Figure 1.10.9 Leaf damage caused by *Alternaria brassicicola* (A).
Conidial chains of *Alternaria brassicicola* (B, x25; C, x112.5).
Conidia of *Alternaria brassicicola* (D, x400; 10-130 x 6-20 µm).

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 1.11 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักชีนำเข้าจากอิตาลีและสหรัฐอเมริกา (2563 - 2564)

1. การสืบค้นข้อมูลผักชีและศัตรูพืชเป้าหมาย

ผักชี (Coriander: *Coriandrum sativum* L.) เป็นพืชในวงศ์ *Apiaceae* จัดเป็นสิ่งกำกัดตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 ในปี พ.ศ. 2555 - 56 ประเทศไทยนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักชีจากอิตาลีและสหรัฐอเมริกา ปริมาณรวมทั้งสิ้น 1,598,384 กิโลกรัม (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2556) นงพรและคณะ (2556) ได้ทำการศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักชีนำเข้าจากต่างประเทศ ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2555 ที่กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักชีที่นำเข้าจากจีน สหรัฐอเมริกา บัลแกเรีย และอิตาลี จำนวน 32 ตัวอย่าง ทำการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชของผักชีจากแหล่งต่าง ๆ ทั่วโลก ผลการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายผักชี พบศัตรูพืชจำนวน 45 ชนิด จัดเป็นแมลง 18 ชนิด ไร 3 ชนิด เชื้อรา 9 ชนิด แบคทีเรีย 7 ชนิด ไวรัส 5 ชนิด และวัชพืช 3 ชนิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี 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* (*Fallopia*) *convolvulus* ส่วนวัชพืชที่ไม่มีความสำคัญด้านกักกัน 5 ชนิด ได้แก่ *Avena* sp., *Convolvulus arvensis*, *Malva* sp., *Ranunculus arvensis* และ *Torilis* sp. สำหรับวัชพืชกักกันได้ควบคุมโดยอาศัยพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติมเพื่อป้องกันมิให้วัชพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดภายในประเทศไทย

จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักชีจากอิตาลี มีศัตรูพืชกักกัน 8 ชนิด ได้แก่ วัชพืช *Chenopodium album, Cirsium arvens, Orobanche ramosa*, *Polygonum aviculare*, *Polygonum* (*Fallopia*) *convolvulus* เชื้อรา *Chalara elegans* เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae* และไวรัส *Alfalfa mosaic virus* ส่วนผักชีจากสหรัฐอเมริกา มีศัตรูพืชกักกัน 8 ชนิด ได้แก่วัชพืช *Emex australis*, *Orobanche ramosa*, *Polygonum aviculare*, *Polygonum convolvulus*, *Chenopodium album* เชื้อรา *Chalara elegans* เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae* และไวรัส *Alfalfa mosaic virus*

Chenopodium album, Cirsium arvens, Galium aparine, Orobanche ramosa, *Polygonum aviculare*, *Polygonum* (*Fallopia*) *convolvulus* เป็นวัชพืชที่สำคัญทางกักกันพืชที่สามารถปนเปื้อนหรือติด

กรมวิชาการเกษตร

มากับเมล็ดพันธุ์ผักชีได้ วิธีการตรวจสอบเมล็ดวัชพืชเหล่านี้ สามารถตรวจสอบเบื้องต้นด้วยตาเปล่า หรือแว่นขยาย และกล้องจุลทรรศน์แบบสเตริโอ ตลอดจนปลูกสังเกตลักษณะทางพฤกษศาสตร์

Xanthomonas hortorum pv. *carotae* มีพืชอาศัยที่สำคัญ ได้แก่ ผักชี และแครอท จากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเบื้องต้น พบว่า มีความสำคัญทางเศรษฐกิจต่ำ มีแหล่งแพร่กระจายกว้างขวาง สามารถติดกับเมล็ดพันธุ์ได้ปานกลาง สามารถควบคุมเชื้อโรคด้วยความร้อนอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที วิธีการตรวจสอบทำได้โดย Dilution plate method และเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง (semi selective media) เช่น Modified D5 medium (MD5) (Kuan *et al*., 1985) หรือ XCS medium (Williford and Schaad, 1984)

Alfalfa mosaic virus (AMV) มีพืชอาศัยหลายชนิด ได้แก่ คื่นฉ่าย ผักชี พริก มะเขือเทศ มะเขือม่วง มันฝรั่ง ยาสูบ พีทูเนีย หัวบีท แตงกวา ถั่วเหลือง ลูเซิร์น ถั่วแขก ถั่วลันเตา ถั่วพู ถั่วเขียว องุ่น เป็นต้น จากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเบื้องต้น พบว่า AMV มีความสำคัญทางเศรษฐกิจสูง มีแหล่งแพร่กระจายกว้างขวาง สามารถติดกับเมล็ดพันธุ์ได้ปานกลาง และถ่ายทอดโรคกับเมล็ดพันธุ์ได้ (CABI, 2019) นอกจากนี้ AMV ยังสามารถถ่ายทอดโรคโดยเพลี้ยอ่อน *Acyrthosiphon pisum* และ *Myzus persicae* (Edwardson and Christie, 1997) วิธีการตรวจสอบไวรัส *Alfalfa mosaic virus* สามารถทำได้โดยการปลูกสังเกตอาการบนต้นกล้า (Seedling symptom test) ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) และตรวจสอบด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา (Serological techniques) เช่น การตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme – linked Immunosorbent Assay; ELISA (Bailiss and Offei, 1990) ซึ่งวิธีการนี้สามารถตรวจสอบเชื้อไวรัส ที่มีความไวสูง แม้จะมีเชื้อไวรัสปริมาณต่ำหรืออนุภาคแตกหักก็สามารถตรวจได้ ให้ผลรวดเร็ว แน่นอน และยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมาก

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากด่านตรวจพืช

สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักชีนำเข้าจากอิตาลีและสหรัฐอเมริกา ตามมาตรฐานของ ISTA จำนวนทั้งหมด 116 ครั้ง น้ำหนักโดยรวม 1,907.796 ตัน สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักชีนำเข้าจากอิตาลี จำนวน 79 ตัวอย่างน้ำหนัก 1,216.434 ตัน นำเข้าทางด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิและด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ ส่วนเมล็ดพันธุ์ผักชีนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา จำนวน 37 ครั้ง น้ำหนัก 691.362 ตัน นำเข้าทางด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ลาดกระบังและด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น

จากการตรวจสอบเบื้องต้น ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ เมล็ดพันธุ์สมบูรณ์ ไม่มีร่องรอยการทำลายของไร และแมลงศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด และปิดมิดชิด แต่ ตรวจพบเมล็ดวัชพืชติดมากับเมล็ดผักชีนำเข้าจากอิตาลี 6 ชนิด ได้แก่ *Convolvulus arvensis, Carthamus lanatus, Galium aparine, Helianthus annanus, Polygonum aviculare* และ *Polygonum (Fallopia) convovulus* จัดเป็นวัชพืชกักกัน 3 ชนิด คือ *Galium aparine, Polygonum aviculare* และ *Polygonum (Fallopia) convovulus* ส่วนเมล็ดผักชีที่นำเข้าจากสหรัฐอเมริกาตรวจพบเมล็ดวัชพืช 2 ชนิด ได้แก่ *Convolvulus arvensis* และ *Polygonum (Fallopia) convovulus* จัดเป็นวัชพืชกักกัน 1 ชนิด คือ *Polygonum (Fallopia) convovulus*

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

ซึ่งดำเนินการควบคุมกำกับดูแลโดยอาศัยพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม โดยการฝังกลบเผาทำลาย และส่งกลับประเทศต้นทาง **(Table 1.11.1)**

4. การตรวจศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

จากการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืช ได้แก่ เชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย และไวรัสพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี blotter method, dilution plate method และ ELISA ตรวจพบศัตรูพืช จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Alternaria alternata* และ *Alternaria raphani* กับเมล็ดพันธุ์ผักชีที่นำเข้าจากอิตาลีและสหรัฐอเมริกา **(Table 1.11.1)**

5. เพาะเมล็ดพันธุ์ เพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติของต้นพืชในโรงเรือนปลูกพืช

จากการปลูกเมล็ดพันธุ์ผักชีที่นำเข้าจากอิตาลี และสหรัฐอเมริกา เพื่อสังเกตอาการในโรงเรือนปลูกพืช เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ไม่พบลักษณะอาการต้นกล้าผิดปกติ เจริญเติบโตสมบูรณ์ แต่อย่างไรตามยังต้องมีการปลูกสังเกตอาการต่อไปเนื่องจากเชื้อไวรัสที่ตรวจพบจากเมล็ดพันธุ์ผักชี ส่วนใหญ่เมื่อนำมาปลูกสังเกตอาการ (seedling symptom test) สามารถถ่ายทอดโรคผ่านทางเมล็ดจากรุ่นสู่รุ่นได้ เช่น *Alfalfa mosaic virus* ซึ่งมีรายงานว่าสามารถถ่ายทอดโรคกับเมล็ดพันธุ์ผักชีได้ประมาณ ประมาณ 1-5 เปอร์เซ็นต์ (Sastry, 2013)

6. ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ผักชีภายหลังการนำเข้าจากอิตาลีและสหรัฐอเมริกา

จากการติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ผักชีภายหลังการนำเข้าจากอิตาลีและสหรัฐอเมริกา จำนวน 61 แปลง ในพื้นที่ 6 จังหวัด สุพรรณบุรี เพชรบูรณ์ เชียงใหม่ เชียงราย สระบุรี และนครราชสีมา หลังจากนั้นทำการเก็บตัวอย่างในแปลงดังกล่าวและนำมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ผลปรากฏว่าตรวจแล้วไม่พบศัตรูพืชกักกัน

สรุปผลและอภิปรายผล

1. จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักชีนำเข้าจากอิตาลีและสหรัฐอเมริกา 116 ตัวอย่าง น้ำหนักโดยรวม 1,907,796 ตัน นำมาตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ ตรวจพบเมล็ดวัชพืชติดมากับเมล็ดผักชีนำเข้าจากอิตาลี 6 ชนิด ได้แก่ *Convolvulus arvensis*, *Carthamus lanatus*, *Galium aparine*, *Helianthus annanus*, *Polygonum aviculare* และ *Polygonum (Fallopia) convovulus* จัดเป็นวัชพืชกักกัน 3 ชนิด คือ *Galium aparine, Polygonum aviculare* และ *Polygonum (Fallopia) convovulus* ส่วนเมล็ดผักชีที่นำเข้าจากสหรัฐอเมริกาตรวจพบเมล็ดวัชพืช 2 ชนิด ได้แก่ *Convolvulus arvensis* และ *Polygonum (Fallopia) convovulus* จัดเป็นวัชพืชกักกัน 1 ชนิด คือ *Polygonum (Fallopia) convovulus* ซึ่งดำเนินการควบคุมกำกับดูแลโดยอาศัยพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม และผลการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ตรวจพบศัตรูพืช 2 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Alternaria alternata* และ *Alternaria raphani* ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักชีที่นำเข้าจากอิตาลีและสหรัฐอเมริกา

2. จากการปลูกสังเกตอาการในโรงเรือนกักกันพืชและผลการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ผักชีตรวจแล้วไม่พบศัตรูพืชกักกัน

ศรีชาการ

ข้อเสนอแนะต่อผู้เกี่ยวข้องสำหรับการดำเนินงานในระยะต่อไป

จากการศึกษานี้สามารถนำข้อมูลของศัตรูพืชที่ตรวจพบกับเมล็ดผักชีที่นำเข้าจากอิตาลีและสหรัฐอเมริกาไปใช้ประโยชน์ในการจัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบประกอบการนำไปใช้วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อปรับปรุงกฎหมาย และเงื่อนไขการนำเข้า กำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช และจัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืชที่ตรวจพบของผักชีที่นำเข้าจากอิตาลีและสหรัฐอเมริกา รวมทั้งเก็บตัวอย่างที่ตรวจพบเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์กลุ่มวิจัยการกักกันพืชเพื่อใช้ประโยชน์ในการสืบค้นต่อไป

Table 1.11.1 Pest associated with coriander seeds from Italy and USA (Oct. 2019 to Sep. 2021)

Countries	Quantity (MT)	Consignment	Pest list	Times
Italy	1,216.434	79	*-Convolvulus arvensis*	13
			-Carthamus lanatus	1
			-Galium aparine	1
			-Helianthus annus	2
			-Polygonum aviculare	2
			-Polygonum (Fallopia) convovulus	9
			-Alternaria alternata	7
			-Alternaria raphani	43
USA	691.362	37	*-Convolvulus arvensis*	2
			-Polygonum (Fallopia) convovulus	1
			-Alternaria alternata	4
			-Alternaria raphani	7
Total	1,907.796	116	-	-

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 1.12 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์คะน้านำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน และประเทศนิวซีแลนด์ (เลื่อนจาก 2561-2562 เป็น 2563-2564)

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย

จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์คะน้านำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน มีศัตรูพืชกักกัน 10 ชนิด ได้แก่ วัชพืช *Amaranthus albus, Chenopodium album, Cuscuta campestris, Orobanche ramosa, Polygonum aviculare, Polygonum convolvulus* เชื้อรา *Chalara elegans, Verticillium dahliae* เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas cichorii* และ ไวรัส *Alfalfa mosaic virus* และส่วนคะน้าจากประเทศนิวซีแลนด์ มีศัตรูพืชกักกัน 8 ชนิด ได้แก่ วัชพืช *Amaranthus albus*, *Chenopodium*

album, Cuscuta campestris, Polygonum aviculare เชื้อรา *Chalara elegans*, *Verticillium dahliae* เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas cichorii* และ ไวรัส *Alfalfa mosaic virus*

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากด่านตรวจพืช

สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์คะน้านำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนและประเทศนิวซีแลนด์ รวมจำนวน 27 ครั้ง ปริมาณน้ำหนัก 18,5609.51 กิโลกรัม โดยมีการนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน จำนวน 10 ครั้ง ปริมาณน้ำหนัก 14,543.21 กิโลกรัม นำเข้าทางด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ด่านตรวจพืชไปรษณีย์ และด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ และนำเข้าจากประเทศนิวซีแลนด์ จำนวน 17 ครั้ง ปริมาณน้ำหนัก 17,1066.3 กิโลกรัม นำเข้าทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ และด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ (Table 1.12.1)

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น

จากการตรวจสอบเบื้องต้น ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ เมล็ดพันธุ์สมบูรณ์ ไม่มีร่องรอยการทำลายของไร และแมลงศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด และปิดมิดชิด ไม่พบการปนเปื้อนเมล็ดวัชพืชกับเมล็ดพันธุ์คะน้าที่นำเข้าจากนิวซีแลนด์และสาธารณรัฐประชาชนจีน

4. การตรวจศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

จากการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี blotter method และ dilution plate technique ผลปรากฏว่าเมล็ดพันธุ์คะน้านำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ตรวจพบศัตรูพืช จำนวน 2 ชนิด คือ *Alternaria brassicicola* และ *Alternaria raphani* และเมล็ดพันธุ์คะน้านำเข้าจากประเทศนิวซีแลนด์ ตรวจพบศัตรูพืช จำนวน 4 ชนิด คือ *Alternaria alternata Alternaria brassicicola Alternaria raphani* และ *Cladosporium* sp. ซึ่งไม่ใช่ศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย

5. เพาะเมล็ดพันธุ์ เพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติของต้นพืชในโรงเรือนกักกันพืช (seedling symptom)

จากการนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการในโรงเรือนกักกันพืช ไม่พบอาการของโรคหรือศัตรูพืชกับต้นคะน้าจากเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนและประเทศนิวซีแลนด์

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์คะน้านำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนและนิวซีแลนด์ ตามมาตรฐานของ ISTA ได้ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์คะน้าที่นำเข้าทั้งหมด 27ตัวอย่าง ได้แก่ เมล็ดพันธุ์คะน้านำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน จำนวน 10 ตัวอย่าง และเมล็ดพันธุ์คะน้านำเข้าจากประเทศนิวซีแลนด์ จำนวน 17 ตัวอย่าง เมื่อนำไปตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ ผลปรากฏว่ามีลักษณะของเมล็ดพันธุ์คะน้าที่สมบูรณ์ สะอาด เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในภาชนะบรรจุที่ปิดมิดชิด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืช และไม่พบการปะปนของเมล็ดวัชพืชกักกัน และจากการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี blotter method และdilution plate technique ผลปรากฏว่าตรวจพบศัตรูพืช จำนวน

กรมวิชาการเกษตร

4 ชนิด คือ *Alternaria alternata Alternaria brassicicola Alternaria raphani* และ *Cladosporium* sp. กับเมล็ดพันธุ์คะน้านำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนและประเทศนิวซีแลนด์ ซึ่งเป็นศัตรูพืชที่พบในประเทศไทยแล้ว ส่วนการปลูกเมล็ดพันธุ์คะน้านำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนและประเทศนิวซีแลนด์เพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้นพืชในโรงเรือนปลูกพืช ตรวจแล้วไม่พบอาการผิดปกติกับต้นคะน้า

จากการศึกษานี้สามารถนำข้อมูลของศัตรูพืชที่ตรวจพบกับเมล็ดคะน้าที่นำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนและประเทศนิวซีแลนด์ ไปใช้ประโยชน์ในการจัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบประกอบการนำไปใช้วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อปรับปรุงกฎหมาย และเงื่อนไขการนำเข้า กำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช และจัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืชที่ตรวจพบของผักคะน้าที่นำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนและประเทศนิวซีแลนด์

Table 1.12.1 Pest associated with chinese kale seeds imported from People's Republic of China and New Zealand

Country	Consignment	Quantity (Kg)	Pest associated	Pest status	Times detected
People's Republic of China	10	14,543.21	*Alternaria brassicicola*	Pest in Thailand	4
			Alternaria raphani	Pest in Thailand	3
New Zealand	17	171,066.3	*Alternaria alternata*	Pest in Thailand	3
			Alternaria brassicicola	Pest in Thailand	6
			Alternaria raphani	Pest in Thailand	2
			Cladosporium sp.	Pest in Thailand	4
Total	27	185,609.51			22

กรมวิชาการเกษตร

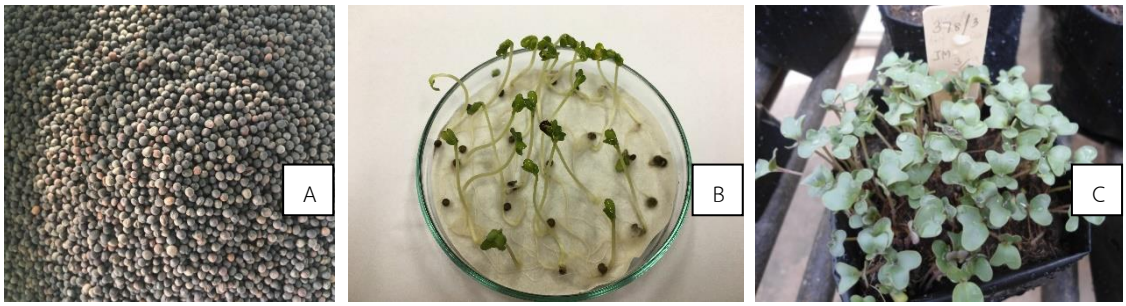


Figure 1.12.1 Plant quarantine laboratory: A) Imported kale seeds B) blotter method and C) seedling symptom test

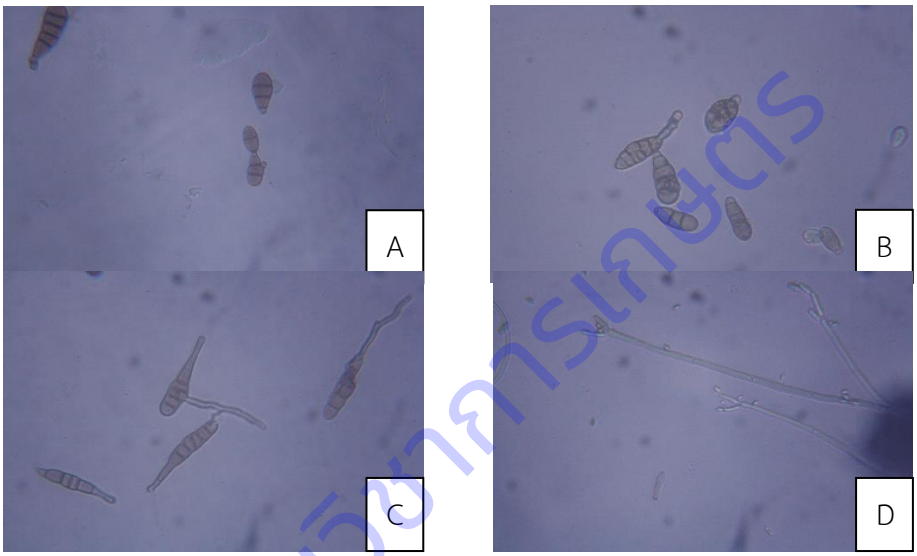


Figure 1.12.2 Conidia of fungi: A) *Alternaria alternata* (40X), B) *Alternaria brassicicola* (40X), C) *Alternaria raphanin* (40X), D) *Cladosporium* sp. (40X)

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 1.13 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งนำเข้าจากนิวซีแลนด์และจีน (2562-2563)

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชกักกัน

จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งจากประเทศนิวซีแลนด์พบศัตรูพืชกักกัน 8 ชนิด ได้แก่ วัชพืช *Senecio vulgaris*, *Spergula arvensis, Chenopodium album*, *Cirsium arvense*, *Polygonum aviculare*, *Emex spinosa* เชื้อรา *Verticillium dahlia* และเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas cichorii* ศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์จากสาธารณรัฐประชาชนจีน พบศัตรูพืชกักกัน 4 ชนิด ได้แก่ วัชพืช *Senecio vulgaris*, *Chenopodium album* เชื้อรา *Verticillium dahlia* และเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas cichorii* (CABI, 2020)

2. การสุ่มตัวอย่างและตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชเบื้องต้น

สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งทั้งหมด 77 ตัวอย่าง นำเข้าจากประเทศนิวซีแลนด์จำนวน 49 ครั้ง ปริมาณ 482,662.27 กิโลกรัม ทางด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิจำนวน 7 ครั้ง ด่านตรวจพืชไปรษณีย์จำนวน 2 ครั้ง และด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพจำนวน 40 ครั้ง ส่วนเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนมีการนำเข้าจำนวน 28 ครั้ง ปริมาณ 31,827.87 กิโลกรัม โดยนำเข้าทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพจำนวน 20 ครั้ง ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิจำนวน 7 ครั้ง และด่านตรวจพืชไปรษณีย์จำนวน 1 ครั้ง (Table 1.13.1) เมื่อนำมาทำการตรวจสอบตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ พบว่าเมล็ดพันธุ์มีลักษณะ สี ผิว และรูปร่างเมล็ดปกติ พบการปนของเมล็ดวัชพืชติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งนำเข้าจากทั้ง 2 ประเทศ (Figure 1.13.2)

3. การตรวจศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

เมื่อทำการตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ เพื่อจัดจำแนกชนิดศัตรูพืชพบเมล็ดวัชพืชปนมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งนำเข้าจากประเทศนิวซีแลนด์จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ *Polygonum aviculare*, *Chenopodium album, Persicaria lapathifolia, Viola arvensis*, *Plantago lanceolata*, *Malva neglecta, Chenopodium* sp. และ *Galium* spp. พบเชื้อราจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Alternaria raphani* และ *Cladosporium* sp. พบเมล็ดวัชพืชปนมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Galium* spp. และ *Chenopodium* sp. พบเชื้อราได้แก่ *Alternaria raphani*, *Alternaria brassicicola, Alternaria tenuis, Cladosporium* sp. และ *Ulocladium* sp. (Table 1.13.1, Figure 1.13.1,3,4) ได้ควบคุมโดยอาศัยพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม เพื่อป้องกันมิให้วัชพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดภายในประเทศไทย เช่น ฝังกลบ เผาทำลาย หรือส่งกลับประเทศต้นทาง

4. การเพาะเมล็ดพันธุ์เพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติของต้นพืชในโรงเรือนกักกันพืช (seedling symptom)

ทำการเพาะเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งนำเข้าจากประเทศนิวซีแลนด์และสาธารณรัฐประชาชนจีนเพื่อสังเกตอาการผิดปกติแล้ว ไม่พบอาการผิดปกติของโรคหรือศัตรูพืช (Figure 1.13.5)

5. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์นำเข้า

จากการติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์นำเข้าในพื้นที่จังหวัดนครปฐม ราชบุรี และนครราชสีมา ไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมายในแปลงปลูกของเกษตรกร แต่พบการเข้าทำลายของหนอนใยผักและด้วงหมัดผัก และวัชพืชในแปลงปลูก ได้แก่ ผักเบี้ยใหญ่ น้ำนมราชสีห์ กะเม็ง ผักโขม และแห้วหมู ซึ่งเป็นศัตรูพืชในประเทศ (Figure 1.13.6)

แต่อย่างไรก็ตามยังมีความจำเป็นต้องติดตามและตรวจสอบแปลงต่อไป เพื่อป้องกันโรคและศัตรูพืชร้ายแรงซึ่งมีความสำคัญทางกักกันพืช เช่น เชื้อรา *Verticillium dahliae* และเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas cichorii* มิให้เข้ามาตั้งรกราก แพร่ระบาด และสร้างความเสียหายให้กับการผลิตพืชในประเทศต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่สามารถติดปนมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งจากประเทศนิวซีแลนด์และสาธารณรัฐประชาชนจีน มีศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช 8 ชนิด ได้แก่ วัชพืช *Senecio vulgaris*, *Spergula arvensis, Chenopodium album*, *Cirsium arvense*, *Polygonum aviculare*, *Emex spinosa* เชื้อรา *Verticillium dahliae* และเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas cichorii*

2. การสุ่มตัวอย่างและตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งนำเข้าจากประเทศนิวซีแลนด์และสาธารณรัฐประชาชนจีน ทั้งหมด 77 ตัวอย่าง ตรวจพบเมล็ดวัชพืชปนมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งนำเข้าจากประเทศนิวซีแลนด์ 8 ชนิด และเชื้อรา 2 ชนิด ส่วนเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ตรวจพบเมล็ดวัชพืช 2 ชนิด และเชื้อรา 5 ชนิด

3. การติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งภายหลังการนำเข้าในพื้นที่จังหวัดนครปฐม ราชบุรี และนครราชสีมา ไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย

จากการศึกษาครั้งนี้ พบศัตรูพืชที่มีความสำคัญด้านกักกันพืช คือ เมล็ดวัชพืช *Polygonum aviculare* และ *Chenopodium album* ซึ่งวัชพืชทั้งสองชนิดมีศักยภาพเป็นศัตรูพืชร้ายแรงและเป็นศัตรูพืชกักกัน ก่อนนำเมล็ดพันธุ์มาใช้เพื่อวัตถุประสงค์ในการเพาะปลูกหรือเพื่อการค้า ควรทำการคัดแยกเมล็ดวัชพืชกักกันออกจากเมล็ดพันธุ์ก่อน แล้วทำลายเมล็ดวัชพืชดังกล่าว และทำการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังป้องกันการแพร่ระบาดในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกร ทั้งนี้ยังพบเมล็ดวัชพืช *Viola arvensis*, *Plantago lanceolata* และ *Malva neglecta* ซึ่งจากการสืบค้นข้อมูลวัชพืชทั้งสามชนิดเป็นวัชพืชที่ไม่มีรายงานพบในประเทศ (CABI, 2020) ทั้งยังเป็นวัชพืชรุกรานต่างถิ่นของต่างประเทศ (NRCS, 2020) ดังนั้นการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศในแต่ละปีมีความเสี่ยงที่ศัตรูพืชกักกันและศัตรูพืชที่ศักยภาพเป็นศัตรูพืชร้ายแรงติดปนมากับเมล็ดพันธุ์ จะทำความเสียหายกับพืชปลูกและระบบการเกษตรในประเทศไทย ต้องทำการศึกษาข้อมูลเพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อกำหนดมาตรการในการป้องกันศัตรูพืชกักกันและศัตรูพืชชนิดใหม่ที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชร้ายแรงมิให้เข้ามาแพร่ระบาดในประเทศ รวมทั้งทำการเฝ้าระวังในพื้นที่ปลูกเพื่อยืนยันสถานภาพของศัตรูพืช และกำหนดพื้นที่ปลอดศัตรูพืช และจัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืชที่ตรวจพบ ตลอดจนเก็บตัวอย่างที่ตรวจพบเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์กลุ่มวิจัยการกักกันพืชเพื่อใช้ประโยชน์ในการสืบค้นต่อไป

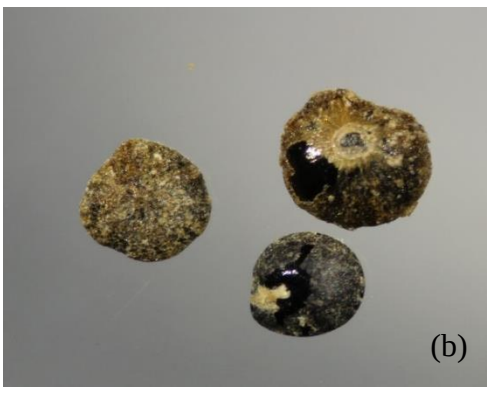
กรมวิชาการเกษตร

Table 1.13.1 The pests contaminated with pak choi seeds (*Brassica chinensis* L.) imported from New Zealand and China (October 2018 -September 2020).

Country	Number of consignment	Quantity (Kgs.)	Pest	Number of pest detection
New Zealand	49	482,662.27	**Weed seed :**	
			Polygonum aviculare	1
			Chenopodium album	2
			Persicaria lapathifolia	2
			Viola arvensis	1
			Plantago lanceolata	1
			Malva neglecta	1
			Chenopodium sp.	1
			Galium spp.	5
			Fungi :	
			Alternaria raphani	1
			Cladosporium sp.	1
China	28	31,827.87	**Weed seed :**	
			Galium spp.	1
			Chenopodium sp.	1
			Fungi :	
			Alternaria raphani	1
			Alternaria brassicicola	1
			Alternaria tenuis	1
			Cladosporium sp.	1
			ulocladium sp.	1
รวม	**77**	**514,490.14**		

กรมวิชาการเกษตร

(a)


(b)

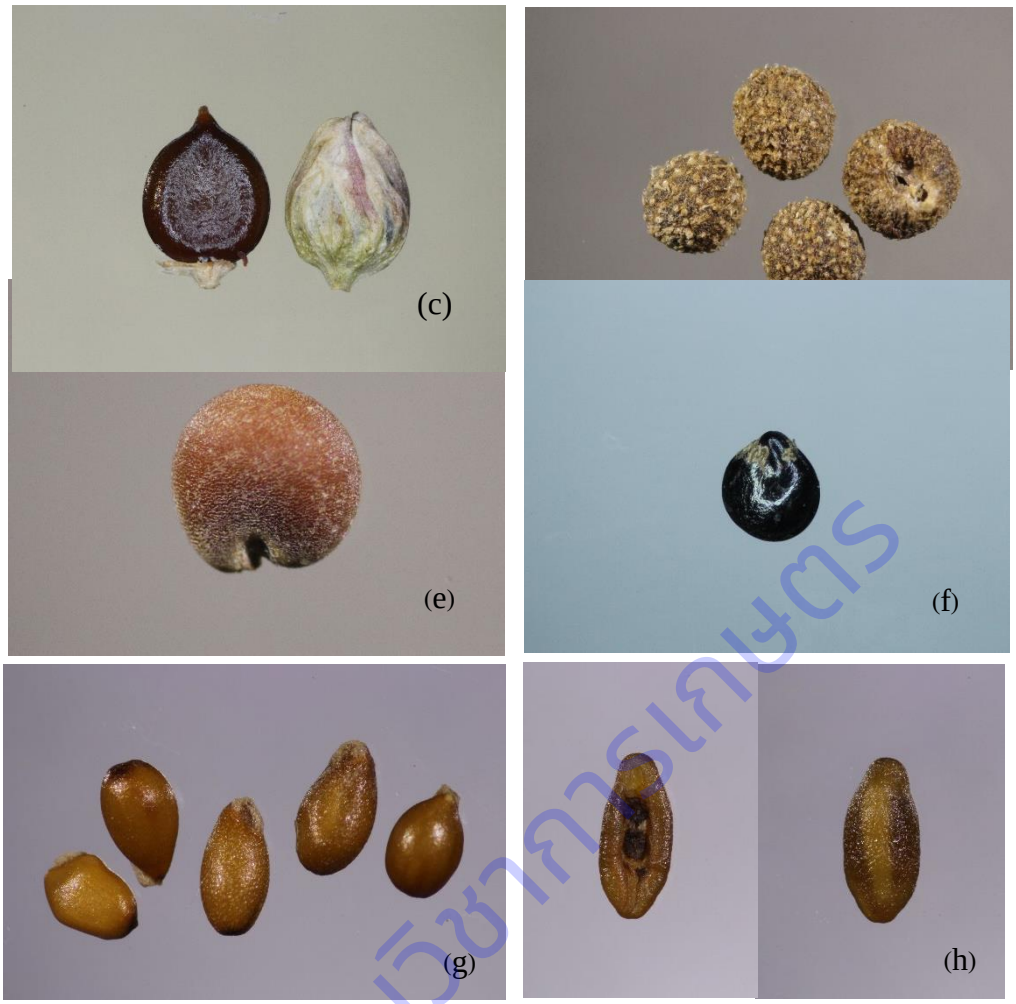


Figure 1.13.1 Weed seeds contaminated in pak choi seeds imported from New Zealand and China.

(a) *Polygonum aviculare* (c) *Polygonum lapathifolia*

(b) *Chenopodium album* (d) *Galium* spp.

(e) *Malva neglecta* (f) *Chenopodium* sp.

(g) *Viola arvensis* (h) *Plantago lanceolata*

กรมวิชาการเกษตร

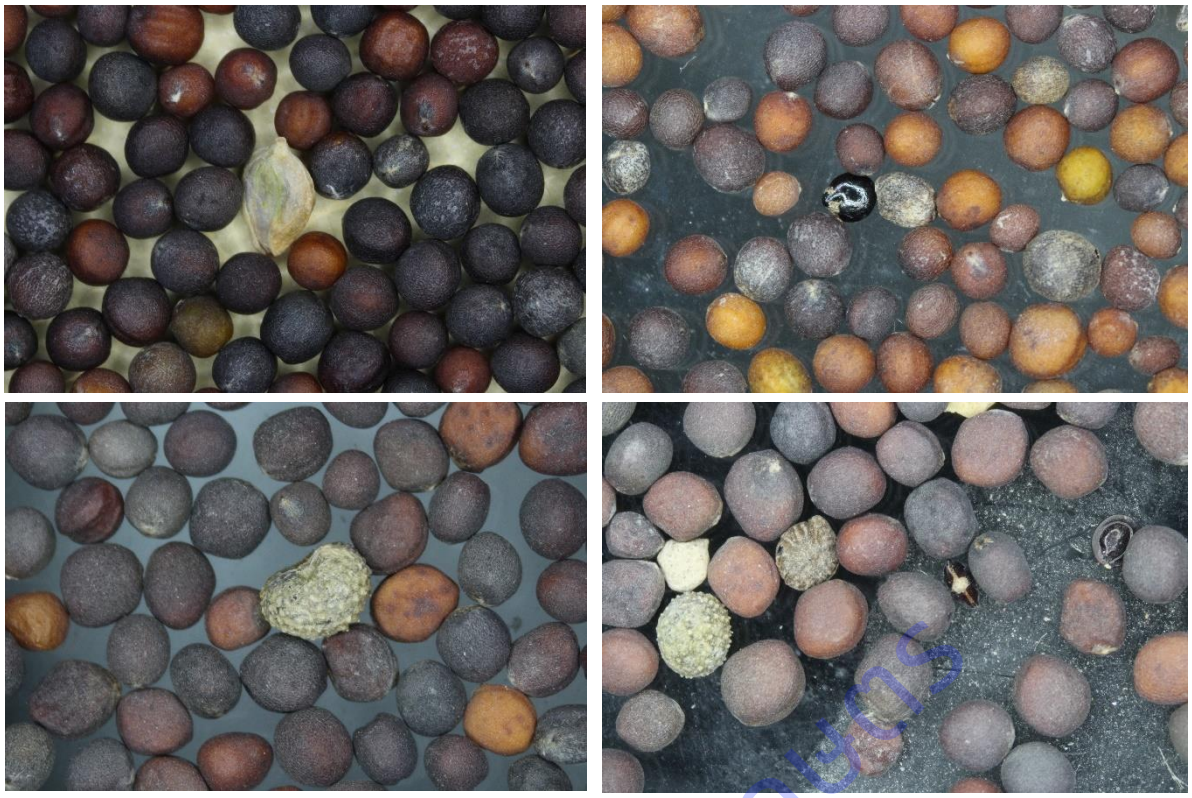


Figure 1.13.2 Weed seed contamination in imported pak choi seeds.

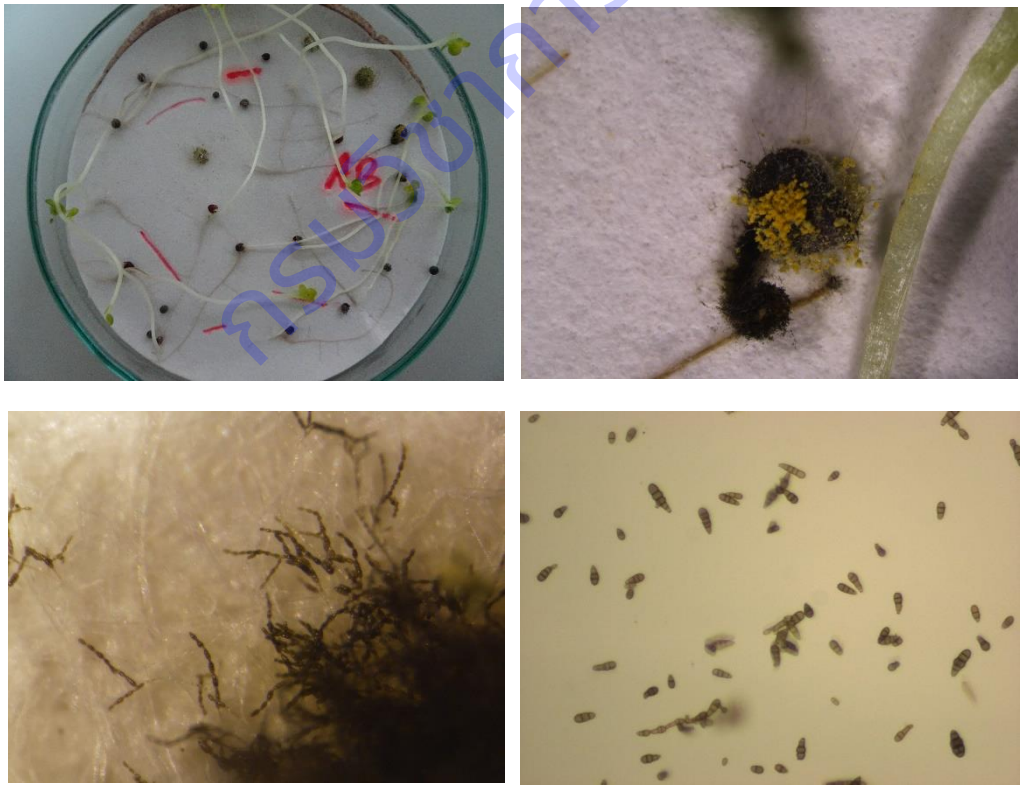


Figure 1.13.3 *Alternaria brassicicola* contaminated in pak choi seeds imported from China.

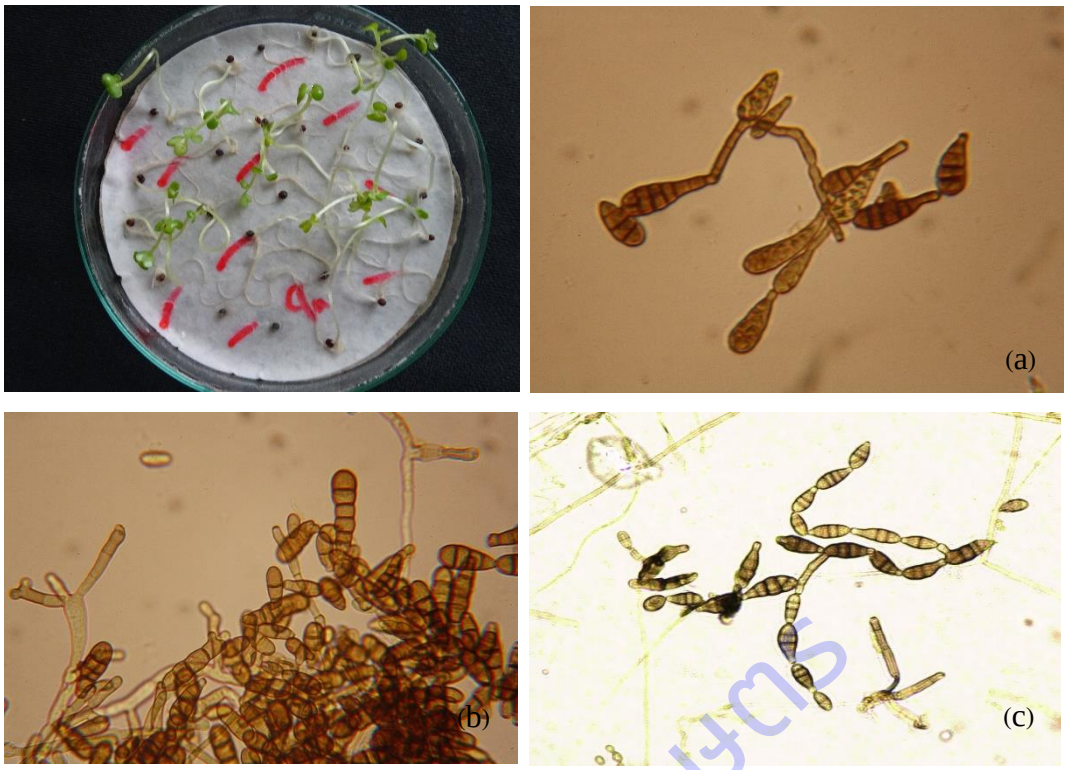


Figure 1.13.4 Fungus contaminated in pak choi seeds.

(a) *Alternaria raphani* (b) *Alternaria brassicicola* (c) *Alternaria tenuis.*

Figure 1.13.5 Seedling symptom test.

Figure 1.13.6 Field inspection and pests in pak choi crop at Nakhon Pathom province.

การทดลองที่ 1.14 การตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาในเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้า (2562-2563)

1. การสืบค้นข้อมูลไฟโตพลาสมา

จากการสืบค้นข้อมูลพบว่าไฟโตพลาสมาเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชชนิดหนึ่ง สามารถเข้าทำลายและก่อโรคกับพืชได้มากกว่า 300 ชนิด เป็นจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถแยกเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ และเป็นเชื้อที่อ่อนแอต่อสารปฏิชีวนะเตตราซัยคลินแต่ต้านทานต่อเพนนิซิลลิน การเจริญของเชื้อไฟโตพลาสมาภายในต้นพืชจะอยู่เฉพาะภายในเซลล์ท่ออาหาร (phloem) บริเวณ sieve cell เท่านั้น ซึ่งเชื้อมีลักษณะเป็นเซลล์ที่ไม่มีผนังเซลล์ (cell wall) มีเพียงเยื่อหุ้มเซลล์ (plasma membrane) ห่อหุ้มเซลล์เท่านั้น จึงทำให้มีรูปร่างไม่แน่นอน หลายรูปแบบ (pleomorphic หรือ polymorphic cell) ตั้งแต่ลักษณะกลม รี ยาว ลูกปัด จนถึงแยกเป็นเส้นสาย และมีขนาดตั้งแต่ 200-1,000 นาโนเมตร มีลักษณะเป็น obligate parasite อาศัยอยู่เฉพาะในส่วนของเซลล์ท่ออาหารของพืช ไม่สามารถเข้าสู่พืชได้โดยตรง ดังนั้นการถ่ายทอดเชื้อจากต้นหนึ่งไปยังอีกต้นหนึ่งต้องอาศัยพาหะนำไป อีกทั้งการที่เชื้อไม่มีผนังเซลล์จึงไม่สามารถถ่ายทอดได้โดยวิธีกลหรือวิธีการสัมผัส ซึ่งการถ่ายทอดจึงมีด้วยกัน 2 รูปแบบคือ 1.การถ่ายทอดภายในต้นพืช โดยการติดไปกับท่อนพันธุ์ การติดตาต่อกิ่ง และการถ่ายทอดผ่านทางเมล็ด 2.การถ่ายทอดระหว่างต้นพืช โดยการใช้พืชชั้นสูงที่เรียกว่า ฝอยทอง (*Cuscuta* spp.) ในการถ่ายทอดเชื้อ และการถ่ายทอดโดยแมลงพาหะ ได้แก่ เพลี้ยจักจั่น (leafhopper) เพลี้ยกระโดด (planthopper) และเพลี้ยไก่ฟ้า (psyllid) กลุ่มอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมาจะแสดงอาการแตกต่างกันไป ส่วนใหญ่มักมีอาการเหลือง และมีอาการเฉพาะอื่นๆ เช่น อาการแตกพุ่มแจ้ อาการแตกพุ่มฝอย และอาการดอกเขียว ซึ่งเชื้อไฟโตพลาสมาชนิดหนึ่งๆ อาจทำให้เกิดอาการหลายอาการร่วมกัน การเรียกชื่อโรคโดยส่วนใหญ่ประกอบไปด้วยชื่อสามัญของพืชและอาการของโรคที่เห็นเด่นชัด (สุภาพร, 2552) ไฟโตพลาสมาที่ก่อโรคในมะเขือเทศตามที่มีการรายงานไว้ คือ *Candidatus* Phytoplasma aurantifolia โดยก่อให้เกิดโรคที่เรียกกันว่า Tomato big bud ซึ่งลักษณะที่พบได้แก่ อาการใบม้วนขึ้น (upward curling) การชะลูดของกิ่ง (erect nature of branches) อาการยอดหด (short) ลำต้นหนา (thick stem) ใบผิดรูป (deformed leaves) ใบเป็นกระจุก (mass of leaves) ยอดเจริญผิดปกติ (erect shoot) และอาการพุ่มฝอย (bushy) (Pacific Pests and Pathogens, 2016) ซึ่งในประเทศไทยยังไม่มีรายงานการพบไฟโตพลาสมาชนิดที่ก่อโรคในมะเขือเทศและโรค Tomato big bud ที่เกิดกับมะเขือเทศที่ถูกไฟโตพลาสมาเข้าทำลาย

วิธีการที่ใช้ในการตรวจสอบไฟโตพลาสมาโดยทั่วไปคือ การตรวจสอบด้วยเทคนิคพีซีอาร์ แต่ในปัจจุบันวิธีการที่เป็นที่นิยมอีกวิธีหนึ่งคือ การตรวจสอบไฟโตพลาสมาด้วยเทคนิค nested PCR ทั้งในวิธีการมาตรฐานสำหรับการตรวจสอบไฟโตพลาสมาของ International Standard for Phytosanitary Measures No.27; Diagnostic Protocols for Regulated Pests (ISPM, 2016) และ European and Mediterranean Plant Protection Organization; PM 7/133 (1) Generic detection of phytoplasmas (EPPO, 2018) โดยที่วิธีการตรวจสอบด้วยเทคนิค nested PCR จะมีความไว (sensitivity) ในการตรวจสอบมากกว่าการตรวจสอบ

กรมวิชาการเกษตร

เทคนิคพีซีอาร์ (PCR) ธรรมดา เนื่องจากหลักการของเทคนิค nested PCR คือการขยายสัญญาณของยีนเป้าหมายด้วยการทำพีซีอาร์ในรอบที่หนึ่ง (first-stage PCR) ซึ่งจะทำให้ชิ้นของยีนเป้าหมายมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น หลังจากนั้นจึงทำพีซีอาร์ในรอบที่สอง (second-stage PCR) โดยนำผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอจากการทำพีซีอาร์ในรอบที่หนึ่งมาเป็นต้นแบบ (template) ในการทำพีซีอาร์ในรอบที่สอง ซึ่งจะทำให้มีชิ้นของยีนเป้าหมายเพิ่มมากขึ้นหากมียีนเป้าหมายในปฏิกิริยาดังกล่าว

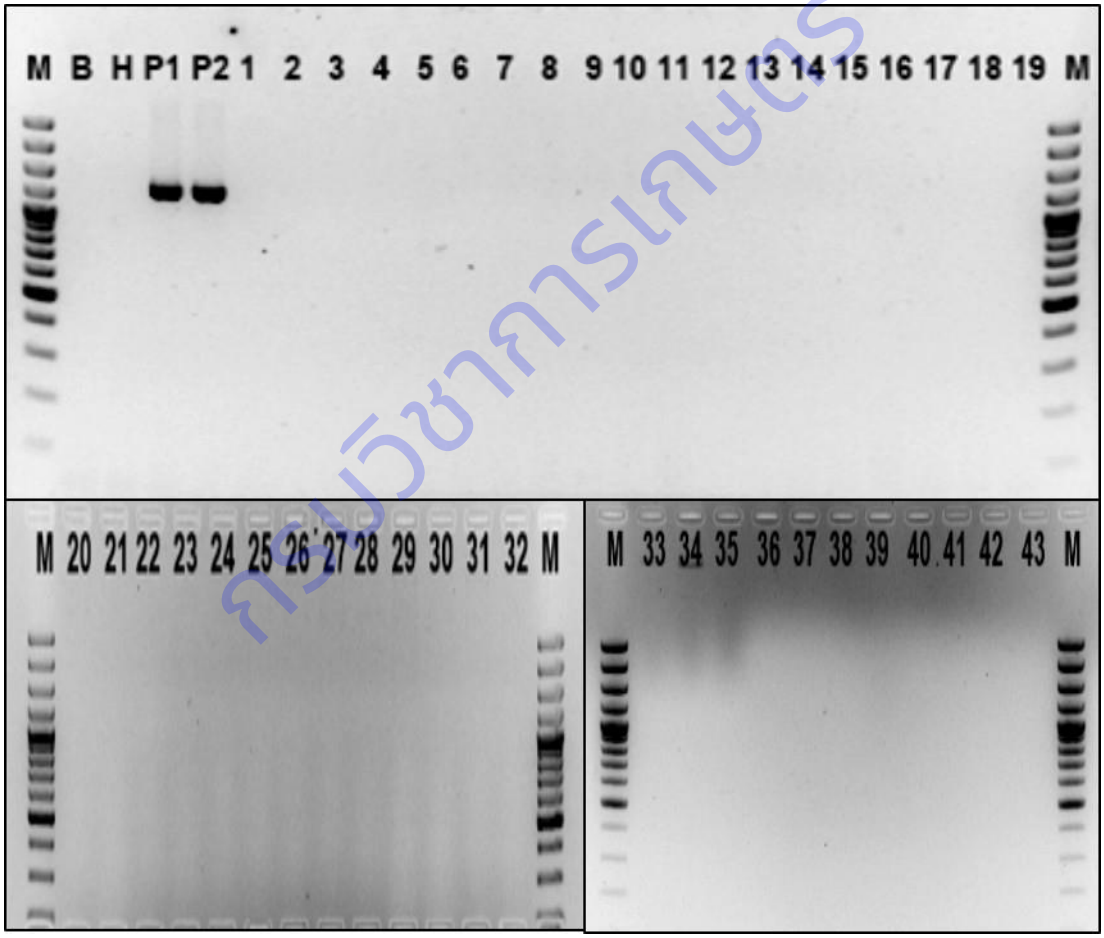
2. การสุ่มตัวอย่างและการตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาในเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้า

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่มีการนำเข้าจากต่างประเทศ ในระหว่างเดือนตุลาคม 2562 – กันยายน 2563 รวมทั้งสิ้นจำนวน 43 รายการ (shipments) นำเข้าจาก 9 ประเทศได้แก่ เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าจากฟิลิปปินส์ (Philippines) จำนวน 3 รายการ นำเข้าจากอินเดีย (India) จำนวน 30 รายการ นำเข้าจากจีน (China) 1 รายการ นำเข้าจากฮ่องกง (Hong Kong) จำนวน 1 รายการ นำเข้าจากอเมริกา (U.S.A.) จำนวน 1 รายการ นำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ (Netherlands) จำนวน 1 รายการ นำเข้าจากฝรั่งเศส (France) จำนวน 1 รายการ นำเข้าจากเกาหลีใต้ (Korea) จำนวน 1 รายการ และนำเข้าจากอิสราเอล (Israel) จำนวน 4 รายการ **(ตารางที่ 1.14.2)** ลักษณะของเมล็ดมะเขือเทศจากการตรวจดูเบื้องต้นด้วยตาเปล่า พบว่า ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศทั้ง 43 รายการมีลักษณะเมล็ดปกติ บางตัวอย่างมีการเคลือบสารเคมีที่มีสีและบางตัวอย่างมองเห็นเป็นสีเมล็ดปกติ นำเมล็ดที่ได้จากการสุ่มไปทำการเพาะบนกระดาษกรอง เพื่อให้ได้ต้นกล้ามะเขือเทศที่อายุประมาณ 7-10 วัน หลังจากนั้นนำต้นกล้ามะเขือเทศมาสกัดสารพันธุกรรมชนิดดีเอ็นเอ เพื่อนำไปตรวจสอบหาไฟโตพลาสมาที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศดังกล่าวด้วยเทคนิค nested PCR ผลการตรวจสอบพบว่าทั้ง 43 ตัวอย่าง *ไม่พบ*เชื้อไฟโตพลาสมาติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าดังกล่าว **(ตารางที่ 1.14.3 และภาพที่ 1.14.1)** จากผลการศึกษาในครั้งนี้ให้ผลการตรวจสอบที่ไม่สอดคล้องกับการรายงานของ Calari *et al.* (2011) ซึ่งพบการถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดของไฟโตพลาสมาในมะเขือเทศ โดยทำการเก็บรวบรวมเมล็ดพันธุ์จากต้นแม่ที่แสดงอาการและตรวจพบไฟโตพลาสมาจากแหล่งต่างๆ นำมาเพาะจนได้ต้นกล้า จากนั้นจึงทำการสกัดดีเอ็นเอและตรวจสอบเชื้อไฟโพลาสมาด้วยเทคนิค nested PCR และจัดจำแนกเชื้อด้วยเทคนิค RFLP หรือส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ซึ่งความไม่สอดคล้องของผลการศึกษาที่เกิดขึ้นอาจเป็นเพราะ 1.เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศดังกล่าวเป็นเมล็ดพันธุ์สะอาดปลอดจากไฟโตพลาสมา จึงทำให้ตรวจไม่พบ 2.เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศดังกล่าวผ่านกระบวนการในการทำความสะอาดและทำแห้งเมล็ดตามกระบวนการผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อการค้า จึงทำให้ไฟโตพลาสมาที่ติดอยู่กับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศถูกกำจัดหรือถูกทำลายไป

กรมวิชาการเกษตร

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ :

จากการสุ่มตัวอย่างและตรวจหาไฟโตพลาสมาในเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่มีการนำเข้าจากต่างประเทศในช่วงปี 2562 - 2563 (ตุลาคม 2562 - กันยายน 2563) จำนวน 43 ตัวอย่าง นำเข้าจาก 9 ประเทศดังกล่าว ไม่พบไฟโตพลาสมาติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศเหล่านั้น แม้ว่าการวิจัยในครั้งนี้จะบ่งชี้ว่าไม่มีไฟโตพลาสมาติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่มีการนำเข้าจากทั้ง 9 ประเทศ ก็ไม่ได้หมายความว่าจะไม่มีศัตรูพืชชนิดนี้ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่จะมีการนำเข้ามาจากต่างประเทศอีกในอนาคต ดังนั้น ผู้วิจัยมีความคิดเห็นว่าศัตรูพืชชนิดนี้ ที่เรียกว่า “ไฟโตพลาสมา” แม้จะยังไม่มีการยืนยันว่าสามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดได้ และยังไม่มีรายงานการพบศัตรูพืชชนิดนี้เข้าทำลายมะเขือเทศในประเทศไทย เจ้าหน้าที่ผู้ปฏิบัติงานที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชชนิดใหม่เข้ามาในประเทศไทยก็ควรที่จะมีการตรวจสอบไฟโตพลาสมาในเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่มีการนำเข้าจากต่างประเทศเป็นประจำอย่างต่อเนื่องต่อไป



ภาพที่ 1.14.1 ผลการตรวจสอบแถบแบนของดีเอ็นเอด้วยวิธี gel electrophoresis ของการตรวจหาไฟโตพลาสมาด้วยเทคนิค nested PCR โดย M คือ 100 bp Plus DNA Ladder, P1 และ P2 คือ positive control; ดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวของอ้อย และหมายเลข 1 - 43 คือ ตัวอย่างมะเขือเทศที่นำมาตรวจสอบ

กรมวิชาการเกษตร

อภิปรายผล (Discussion)

จากการสุ่มเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าจากอินเดีย และจีน ตรวจพบไวรัส TMV และ ToMV ในเมล็ดที่นำเข้าจากอินเดีย ถึงแม้ว่าไวรัสทั้งสองชนิดมีรายงานระบาดทั่วไปในแหล่งปลูกมะเขือเทศทั่วโลก แต่ในปัจจุบันยังไม่มีการพิสูจน์ยืนยันว่าการพบ ToMV ในประเทศไทย และเมล็ดที่ตรวจพบไวรัสทั้งสองชนิดเป็นเมล็ดพ่อแม่ที่นำเข้าเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม ซึ่งหากเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดระบาดในแปลงและติดไปกับเมล็ดพันธุ์ที่ผลิตได้ และทำให้มีผลกระทบในการส่งออกเมล็ดพันธุ์ จึงต้องปฏิเสธการรับรองเมล็ดพันธุ์ที่จะส่งออก หรือมีการกำกับดูแลให้บริษัทผู้นำเข้าทำการกำจัดเชื้อในเมล็ดด้วยความร้อนก่อนนำไปปลูก

จากการสุ่มเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าจากอเมริกา และเนเธอร์แลด์ ด้วยวิธี ELISA ผลการตรวจพบตัวอย่างเมล็ดมะเขือเทศนำเข้าจากอเมริกาให้ผลบวกกับชุดตรวจ TMV และ ToMV แต่เมื่อตรวจจำแนกชนิดด้วยวิธี multiplex RT-PCR สามารถยืนยันผลว่าไวรัสที่ตรวจพบเป็น ToMV แสดงว่าวิธี ELISA โดยใช้ชุดตรวจของบริษัท Agdia ไม่สามารถจำแนกชนิดของ TMV และ ToMV เนื่องจาก แอนติบอดีที่ใช้ไม่มีความจำเพาะในระดับที่จะแยกชนิดไวรัสสองชนิดนี้ได้ ดังนั้นการตรวจจำแนกชนิดจึงควรจะตรวจเบื้องต้นด้วยวิธี ELISA เมื่อตรวจพบตัวอย่างที่ให้ผลบวก จึงตรวจจำแนกชนิดด้วยวิธี RT-PCR และถึงแม้ว่า ToMV มีรายงานระบาดทั่วไปในแหล่งปลูกมะเขือเทศทั่วโลก แต่ในปัจจุบันยังไม่มีการพิสูจน์ยืนยันว่าการพบ ToMV ในประเทศไทย และเมล็ดที่ตรวจพบไวรัสเป็นเมล็ดพ่อแม่ที่นำเข้าเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม ซึ่งหากเชื้อไวรัสดังกล่าวระบาดในแปลงและติดไปกับเมล็ดพันธุ์ที่ผลิตได้ ทำให้มีผลกระทบในการส่งออกเมล็ดพันธุ์ จึงต้องปฏิเสธการรับรองเมล็ดพันธุ์ที่จะส่งออก และมีการกำกับดูแลให้บริษัทผู้นำเข้าทำการกำจัดเชื้อในเมล็ดด้วยความร้อนก่อนนำไปปลูก

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา จำนวน 60 ครั้ง และเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากอินเดีย จำนวน 36 ครั้ง โดยนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบเบื้องต้นภายใต้กล้องจุลทรรศน์- สเตอริโอ ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ ไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืชและไม่มีวัชพืชติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบว่าเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา พบเชื้อราจำนวน 2 ชนิด ชนิดละ 1 ครั้ง และเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากอินเดีย ตรวจพบเชื้อรา จำนวน 8 ชนิด ชนิดละ 1 ครั้ง ส่วนการตรวจสอบด้วยวิธี Dilution plate technique และ ELISA technique ไม่พบศัตรูพืชติดมากับเมล็ดพันธุ์ และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นแตงโม และผลการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา ใน จังหวัดขอนแก่น สกลนคร และ อุดรธานี พบโรคกับต้นแตงโม จำนวน 7 ชนิด ซึ่งศัตรูพืชที่พบในแปลงปลูกไม่เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากประเทศชิลี เมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากชิลี จำนวน 32 ครั้ง และเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากฟิลิปปินส์ 21 ครั้ง นำเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบเบื้องต้นภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ ไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืช และไม่มีวัชพืชติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการและปลูกทดสอบโรคในโรงเรือนปลูกพืช พบเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากประเทศชิลี พบเชื้อ

ศรีบูรพาวิทยาลัย

Fusarium oxysporum จำนวน 1 ครั้ง และเชื้อ *Acidovorax avenae* pv. *citrulli* ซึ่งเชื้อที่พบไม่เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย ส่วนเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากฟิลิปปินส์ ไม่พบเชื้อโรคพืชติดเมล็ดพันธุ์นำเข้า

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา จำนวน 12 ครั้ง และเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากอินเดีย จำนวน 6 ครั้ง โดยนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบเบื้องต้นภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบว่าเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา พบเชื้อราจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Fusarium oxysporum* และ *F. solani* และเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากอินเดีย ตรวจพบเชื้อรา จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Drechslera halodes* และ *Macrophomina phaseolina* ส่วนการตรวจเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้า ด้วยวิธี Dilution technique และ ELISA technique ไม่พบศัตรูพืชติดมากับเมล็ดพันธุ์ และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นเมลอน และผลการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากอเมริกา ในจังหวัดขอนแก่น กาฬสินธุ์ และ อุดรธานี พบ โรคกับต้นเมลอน จำนวน 4 ชนิด ซึ่งศัตรูพืชที่พบทั้งในห้องปฏิบัติการและในแปลงปลูก ไม่เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากชิลี จำนวน 21 ครั้ง น้ำหนักรวม 9.414 กิโลกรัม และนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ 2 ครั้ง น้ำหนักรวม 0.375 กิโลกรัม โดยนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบเบื้องต้นภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา *Fusarium oxysporum* บนเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากชิลี จำนวน 1 ครั้ง ส่วนเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ไม่พบเชื้อราสาเหตุโรคพืช และเมื่อนำเข้ามาตรวจสอบด้วยวิธี Dilution technique และ ELISA technique ไม่พบเชื้อสาเหตุโรคพืชติดมากับเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากทั้งสองประเทศ ส่วนจากการนำเมล็ดพันธุ์เมลอนนำมาปลูกสังเกตลักษณะอาการโรคในโรงเรือน ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นกล้าเมลอนนำเข้าจากทั้งสองประเทศ

ข้อมูลศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพริกนำเข้าจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์และสหรัฐอเมริกา มี 12 ชนิด ได้แก่ *Ambrosia artemesiifolia*, *Circium arvense, Orobanche cernua, O. aegyptiaca*, *O. ramosa* เชื้อแบคทีเรีย *Candidatus* Liberibacter solanacearum, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas viridiflava, P. corrugata* เชื้อไวรัส *Alfalfa mosaic virus* และ *Tobacco streak virus* และจากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์นำเข้าพริกจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์และสหรัฐอเมริกา ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 - กันยายน 2562 จำนวน 253 ตัวอย่าง นำมาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชและการปนเปื้อนของวัชพืช และผลจากการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี blotter method, dilution plate method และ ELISA ตรวจพบศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจากอินเดีย 15 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis*, *A. raphani*, *Cercospora capsici*, *Curvularia lunata, C. pallescens*, *Drechslera halodes*, *D. hawaiiensis, D. tetramera, Fusarium oxysporum, F. semitectum, F. solani*, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, *Cucumber mosaic virus, Tobacco mosaic virus* (TMV) และ *Tomato mosaic virus* (ToMV) เมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากจีนตรวจพบศัตรูพืช 7 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis*,

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

Curvularia pallescens, *Drechslera cynodontis*, *Cucumber mosaic virus, Pepper mild mottle virus*, TMV และ ToMV เมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์และสหรัฐอเมริกาตรวจพบศัตรูพืช 2 ชนิด ได้แก่ *Fusarium oxysporum* และ ToMV ส่วนผล การปลูกสังเกตอาการในโรงเรือนกักกันพืชและผลการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์พริก ตรวจแล้วไม่พบศัตรูพืชกักกัน และระหว่างทำการศึกษาไม่พบศัตรูพืชกักกัน

จากการศึกษานี้สามารถนำข้อมูลของศัตรูพืชที่ตรวจพบกับเมล็ดพริกนำเข้าจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์และสหรัฐอเมริกา ไปใช้ประโยชน์ในการจัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบประกอบการนำไปใช้วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อปรับปรุงกฎหมาย และเงื่อนไขการนำเข้า กำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช และจัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืชที่ตรวจพบของพริกที่นำเข้าจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์และสหรัฐอเมริกา รวมทั้งเก็บตัวอย่างที่ตรวจพบเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์กลุ่มวิจัยการกักกันพืชเพื่อใช้ประโยชน์ในการสืบค้นต่อไป

เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากจีนจำนวน 6 ครั้ง 7 ตัวอย่าง น้ำหนัก 17,683.32 กิโลกรัม ทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ และด่านตรวจพืชไปรษณีย์ เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา จำนวน 10 ครั้ง 16 ตัวอย่าง น้ำหนัก 6,389.638 กิโลกรัม ทางด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ และด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ ผลการตรวจศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบเมล็ดวัชพืช 8 ชนิด ได้แก่ *Ageratina adephora, Amaranthus retroflexus, Amaranthus viridis, Cleome vicosa, Eleusine indica, Setaria viridis, Sonchus arvensis* และ *Oxalis corniculata* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากจีน และผลการตรวจเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา *Alternaria tenuis*, *Alternaria raphani*, *Cladosporium* sp., *Curvularia lunata*, *Drechslera halodes*, *Fusarium semitectum, Fusarium oxysporum* และ *Ulocladium* sp. บนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากจีน และตรวจพบเชื้อรา *Alternaria tenuis* บนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากสหรัฐอเมริกา ศัตรูพืชดังกล่าวไม่เป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช ผลการตรวจแบคทีเรียด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่เป็นศัตรูพืชกักกัน ผลการตรวจเชื้อไวรัสด้วยวิธี ELISA ไม่พบเชื้อไวรัสที่เป็นศัตรูพืชกักกัน ผลการปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom test) ไม่พบอาการผิดปกติ ผลการติดตามตรวจในแปลงปลูกที่ จังหวัดนครราชสีมา นครปฐม กาญจนบุรี และราชบุรีจำนวน 11 แปลง ไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย

กรณีที่พบเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมในปริมาณมาก ได้แนะนำให้บริษัทที่นำเข้าเมล็ดพันธุ์ทำการคลุกสารเคมีก่อนปลูก เนื่องจากเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์อาจมีผลต่อการงอกของเมล็ดพันธุ์ได้ และมีการเฝ้าระวังติดตามในแปลงปลูกเพื่อติดตามการติดมาและแพร่กระจายของเมล็ดวัชพืชต่างถิ่น

จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายหัวพันธุ์ของมันฝรั่งพบว่ามีศัตรูพืชเป้าหมายมีดังนี้ ประเทศสกอตแลนด์ ได้แก่ เชื้อรา 5 ชนิด ไวรัส 12 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 4 ชนิดไสเดือนฝอย และประเทศออสเตรเลีย ได้แก่ แมลง 1ไส้เดือนฝอย 3 ชนิด เชื้อรา 3 ชนิด ไวรัส 6 ชนิด ไวรอยด์ 1 ชนิด ประเทศเนเธอร์แลนด์ ได้แก่ เชื้อรา 4 ชนิด เชื้อแบคทีเรีย 1 ชนิด และไส้เดือนฝอย 5 ชนิด ประเทศแคนาดา ได้แก่ เชื้อรา 2 ชนิด เชื้อแบคทีเรีย 1 ชนิด และไส้เดือนฝอย 2 ชนิด

จากการตรวจสุ่มตรวจศัตรูพืช ณ ด่านตรวจพืช และผลการ วินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ระหว่างเดือนตุลาคม2559 - กันยายน 2562 พบจากการสุ่มตัวอย่างมันฝรั่งจากสกอตแลนด์ ณ

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

จุดนำเข้าและตรวจสอบและจำแนกชนิดศัตรูพืชของหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจาก พบว่าจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดที่ปนเปื้อนมากับมันฝรั่ง ในห้องปฏิบัติการพบเชื้อรา *Spongospora subterranea* เชื้อสาเหตุโรค powdery scab จำนวน 8 ครั้งจากการนำเข้าทั้งหมด 8ครั้ง ส่วนหัวพันธุ์มันฝรั่งจากออสเตรเลียพบเชื้อรา *Spongospora subterranea* จำนวน 1 ครั้ง จากการนำเข้าทั้งหมด 1 ครั้ง หัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์พบเชื้อรา *Spongospora subterranea* จำนวน 7 ครั้ง จากการนำเข้าทั้งหมด 12 ครั้ง โดยแต่ละครั้งที่ตรวจพบร้อยละการทำลายของโรค powdery scab ครอบคลุมพื้นที่ผิวไม่เกินที่กำหนดไว้และหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากประเทศแคนาดามีการนำเข้า1 ครั้งไม่พบศัตรูพืช ไว้ พร้อมติดตามผลผลิตจากการที่นำหัวพันธุ์ฝรั่งจากทั้ง4ประเทศไปปลูกจากการสุ่มตัวอย่างผลผลิตในแปลงปลูกมาตรวจไม่พบโรค powdery scab ที่ก่อความเสียหายทางเศรษฐกิจของหัวมันฝรั่งแต่อย่างไร

ผลการศึกษาสรุปได้ว่าการตรวจหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าส่วนใหญ่จะพบเชื้อรา *Spongospora subterranea* ซึ่งเชื้อสาเหตุโรค powdery scab ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันกำหนดไว้ในเงื่อนไขการนำเขาหัวพันธุมันฝรั่งถึงจะอยู่ในระดับการยอมรับได้(มีหัวพันธุ์มันฝรั่งจำนวนไม่เกินร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนักของหัวพันธุ์มันฝรั่งซึ่งแสดงอาการของโรคครอบคลุมพื้นที่ผิวร้อยละ 5 ของหัวมันฝรั่ง) แต่ก็แสดงให้เห็นว่าการจัดการภายหลังเก็บเกี่ยวยังไม่ดีมีโอกาสที่ศัตรูพืชจะติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่ง จึงควรมีการตรวจนำเข้าที่เข้มงวดมากขึ้น บันทึกข้อมูลพร้อมเก็บตัวอย่างศัตรูพืชหรือสิ่งมีชีวิตที่พบไว้เป็นหลักฐาน และแจ้งประเทศผู้ส่งออกทุกครั้ง หากมีการตรวจพบศัตรูพืชบ่อย ๆ ควรมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเพิ่มเติมซึ่งอาจนำไปสู่การทบทวนหรือปรับปรุงมาตรการด้านสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งต่อไป

ระหว่างทำการศึกษาตรวจสอบแล้วไม่พบเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* สาเหตุของโรค bacterial ring rot เนื่องจากประเทศต้นทางปฏิบัติตามเงื่อนไขที่ประเทศไทยกำหนด รวมทั้งหลายประเทศที่มีการส่งออกมายังประเทศไทย ได้มาตรการในการควบคุมเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้โดยกำหนดให้แปลงผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งซึ่งใช้เครื่องจักรกล สถานที่ และพนักงานร่วมกันต้องมีการบังคับใช้กฎระเบียบด้านสุขอนามัยพืชเพื่อควบคุมโรค bacterial ring rot ในแปลงผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งที่พบการระบาด การบริหารจัดการด้านสุขอนามัยพืชสำหรับโรค bacterial ring rot ต้องเป็นไปตามข้อกำหนดของสหภาพยุโรปเกี่ยวกับการควบคุมโรค bacterial ring rot ได้แก่ Council Directive 93/85/EC on the control of bacterial ring rot รวมทั้งประเทศที่นำเข้าทั้ง 6 ประเทศมีการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ในห้องปฏิบัติก่อนการส่งออกมายังราชอาณาจักรไทยแต่อย่างไรก็ตามก็ยังมีความเสี่ยงที่เชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* สาเหตุของโรค bacterial ring rot จะทำความเสียหายกับมันฝรั่ง และพืชอื่นในประเทศไทย เช่น มะเขือเทศ และมะเขือยาว เป็นต้น ดังนั้นเพื่อป้องกันโรคและศัตรูพืชร้ายแรงชนิดนี้ซึ่งมีความสำคัญทางกักกันพืชสำหรับการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากต่างประเทศยังมีความเป็นจะต้องสุ่มตัวอย่างเพื่อตรวจสอบเบื้องต้นโดยการผ่าสังเกตอาการ และตรวจสอบ รวมทั้งจำแนกชนิด ตลอดจนติดตามตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ต่อไป เพื่อป้องกันไม่ให้เข้ามาแพร่ระบาดในราชอาณาจักรไทย

ข้อมูลศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ มี 9 ชนิด ได้แก่ วัชพืช *Cirsium arvense*, *Lolium temulentum*, *Senecio vulgaris*, *Spergula arvensis* เชื้อรา *Verticillium*

dahliae เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*, *Pseudomonas viridiflava* ไส้เดือนฝอย *Heterodera shachtii* ศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากญี่ปุ่น มี 8 ชนิด ได้แก่ วัชพืช *Cirsium arvense*, *Lolium temulentum*, *Senecio vulgaris*, *Spergula arvensis* เชื้อรา *Verticillium dahliae* เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* และ *Pseudomonas viridiflava* ศัตรูพืชดังกล่าวยังไม่มีรายงานในประเทศไทย (CABI, 2018) และเป็นศัตรูพืชร้ายแรง ถ้าเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศจะทำความเสียหายให้กับการเกษตรในประเทศได้ ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ โดยผ่านทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ และไปรษณีย์ จำนวน 7 ตัวอย่าง ปริมาณนำเข้า 58,052.3 กิโลกรัม และญี่ปุ่น ผ่านทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ และไปรษณีย์ จำนวน 7 ตัวอย่าง ปริมาณนำเข้า 7,392.56 กิโลกรัม จากการตรวจสอบเบื้องต้น ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ เมล็ดพันธุ์สมบูรณ์ ไม่มีร่องรอย การทำลายของไร และแมลงศัตรูพืช รวมทั้งไม่พบการปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืชกับเมล็ดพันธุ์นำเข้าดังกล่าว เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด และปิดมิดชิด นำเมล็ดมาตรวจเชื้อรา แบคทีเรีย และไวรัสในห้องปฏิบัติการ ไม่พบแบคทีเรียและไวรัสสาเหตุโรคพืช แต่ตรวจพบเชื้อรา *Alternaria raphani* บนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ จำนวน 1 ครั้ง และญี่ปุ่น จำนวน 1 ครั้ง เชื้อราขนิดนี้เป็นเชื้อราที่สามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ และเข้าทำลายเมล็ดพันธุ์หลังการเก็บเกี่ยวทำให้มีผลต่อคุณภาพการงอกของพืช คำแนะนำถ้าพบมีการปนเปื้อนปริมาณสูงควรมีการจัดการโดยใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา เช่น ไทแรม คลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนเก็บรักษาหรือเพาะปลูก เพื่อให้เมล็ดพันธุ์ยังคงคุณภาพในการงอกและเจริญเติบโต อย่างไรก็ตามเชื้อราชนิดนี้พบมีรายงานในประเทศไทย (CABI, 2018) และไม่ใช่ศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย จากนั้นนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการในโรงเรือนกักกันพืช ไม่พบอาการของโรคหรือศัตรูพืชกับต้นผักกาดหัวจากเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากนิวซีแลนด์และญี่ปุ่น และจากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกผักกาดหัวนำเข้า ในจังหวัดราชบุรี กาญจนบุรี และเพชรบูรณ์ จำนวน 9 แปลง สำรวจศัตรูพืชไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย

จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากอินเดียและสหรัฐอเมริกา พบว่ามีศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากอินเดีย 5 ชนิด ได้แก่ แมลง *Trogoderma granarium*, *Spodoptera frugiperda* เชื้อรา *Cephalosporium maydis* เชื้อแบคทีเรีย *Pantoea stewartii* และไวรัส *Maize mosaic virus* ศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากสหรัฐอเมริกา มีศัตรูพืชกักกัน 11 ชนิด ได้แก่ แมลง *Trogoderma granarium, Trogoderma variabile, Spodoptera frugiperda* เชื้อรา *Cercospora zeae-maydis* เชื้อแบคทีเรีย *Pantoea stewartii*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis* และเชื้อไวรัส *High plains virus, Maize chlorotic dwarf virus, Maize chlorotic mottle virus, Maize mosaic virus* และ *Maize rayado fino virus* ส่วนเมล็ดพันธุ์นำเข้าได้รับการสุ่มตัวอย่างตามหลักเกณฑ์ของ ISTA เพื่อตรวจสอบศัตรูพืช 3 วิธี ได้แก่ การตรวจสอบโดยตรงด้วยตาเปล่า (visual inspection), วิธี blotter method และปลูกสังเกตอาการของโรคในระยะกล้า (Seedling symptom test) และมีการติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้าในพื้นที่ปลูก ผลการตรวจสอบในเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากสหรัฐอเมริกาตรวจพบแมลงสกุล *Trogoderma* 2 ชนิด คือ *Trogoderma granarium* และ *T. variabile* จากการตรวจสอบโดยตรง

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

และพบเชื้อรา *Fusarium moniliforme* จากการตรวจสอบด้วยวิธี Blotter method ส่วนเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากอินเดีย ตรวจพบเชื้อรา 2 ชนิด คือ *Cephalosporium acremonium* และ *Fusarium moniliforme* จากการตรวจสอบด้วยวิธี Blotter method เมล็ดพันธุ์จากทั้งสองแหล่งไม่พบศัตรูพืชจากการตรวจสอบโดยวิธีปลูกตรวจสอบอาการในระยะกล้า เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่ตรวจพบ *T. granarium* และ *T. variabile* ได้รับการกำจัดศัตรูพืชโดยการรมด้วยเมทิลโบรไมด์อัตรา 80 กรัม/ลูกบาศก์เมตรนาน 48 ชั่วโมงก่อนส่งกลับประเทศต้นทาง การติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้าในพื้นที่ปลูกไม่พบศัตรูพืชกักกันติดมา แต่พบการระบาดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (Fall army worm, *Spodoptera frujiperda*)

ข้อมูลศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากนิวซีแลนด์ มี 17 ชนิด ศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากญี่ปุ่น มี 18 ชนิด ศัตรูพืชดังกล่าวยังไม่มีรายงานในประเทศไทย (CABI, 2021) และเป็นศัตรูพืชร้ายแรง ถ้าเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศจะทำความเสียหายให้กับการเกษตรในประเทศได้ ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้า จำนวน 48 ตัวอย่าง ปริมาณนำเข้า 17,765.44 กิโลกรัม จากการตรวจสอบเบื้องต้น พบการปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืชกับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากญี่ปุ่น 2 ชนิด ได้แก่ *Polygonum convolvulus* ซึ่งเป็นวัชพืชกันกันของประเทศไทย ดังนั้นจึงได้ดำเนินการตามมาตรการในการจัดการศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย โดยให้ผู้ประกอบการที่นำเข้ามา ทำลายหรือส่งเมล็ดพันธุ์กลับ และ พบวัชพืช *Gallium* sp. เป็นวัชพืชที่มีรายงานในประเทศไทย (CABI, 2021) จากการตรวจพบเมล็ดวัชพืชที่เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยนั้น ข้อมูลในส่วนนี้ได้นำไปกำหนดมาตรการข้อปฏิบัติในการเข้มงวดในการตรวจเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีที่นำเข้าจากประเทศญี่ปุ่นเพื่อไม่ให้มีวัชพืชชนิดใหม่เข้ามาแพร่กระจายในประเทศไทย ส่วนผลการตรวจสอบเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ ไม่พบแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช และพบเชื้อรา *Altenaria alternata* 1 ครั้ง *Alternaria brassicicola* 8 ครั้ง *Altenaria raphani* 3 ครั้ง *Cladosporium* sp. 4 ครั้ง และ *Urocladium* sp. 1 ครั้ง ติดมากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากประเทศญี่ปุ่น เชื้อราทั้ง 4 ชนิดนี้เป็นเชื้อราที่สามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ และเข้าทำลายเมล็ดพันธุ์หลังการเก็บเกี่ยวทำให้มีผลต่อคุณภาพการงอกของพืช คำแนะนำถ้าพบมีการปนเปื้อนควรมีการจัดการโดยใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา เช่น ไทแรม หรือ iprodione คลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูก (อรพรรณ วิเศษสังข์, 2552) เพื่อให้เมล็ดพันธุ์ยังคงคุณภาพในการงอกและเจริญเติบโต อย่างไรก็ตามเชื้อราชนิดนี้พบมีรายงานในประเทศไทย (CABI, 2021) ไม่ใช่ศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย จากนั้นนำเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากญี่ปุ่นไปปลูกสังเกตอาการในโรงเรือนกักกันพืช ไม่พบอาการผิดปกติของโรคหรือศัตรูพืชกับต้นกล้า และจากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกกะหล่ำปลีและในโรงเรือนเพาะกล้า ในจังหวัดเพชรบูรณ์ จำนวน 12 แปลง และ 2 โรงเรือน ไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมายแต่อย่างไรก็ตามการนำเข้าเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีจากประเทศญี่ปุ่นมีปริมาณที่สูงต่อปี และประเทศญี่ปุ่นยังคงมีรายงานเป็นแหล่งของศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยที่มีโอกาสติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลี เพราะฉะนั้นการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ยังคงมีความเสี่ยงจึงต้องมีการเฝ้าระวังต่อไป

1. จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักชีนำเข้าจากอิตาลีและสหรัฐอเมริกา 116 ตัวอย่าง น้ำหนักโดยรวม 1,907,796 ตัน นำมาตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ ตรวจพบเมล็ดวัชพืชติดมากับเมล็ดผักชีนำเข้าจากอิตาลี 6 ชนิด ได้แก่ *Convolvulus arvensis*, *Carthamus lanatus*,

Galium aparine, *Helianthus annanus*, *Polygonum aviculare* และ *Polygonum (Fallopia) convovulus* จัดเป็นวัชพืชกักกัน 3 ชนิด คือ *Galium aparine, Polygonum aviculare* และ *Polygonum (Fallopia) convovulus* ส่วนเมล็ดผักชีที่นำเข้าจากสหรัฐอเมริกาตรวจพบเมล็ดวัชพืช 2 ชนิด ได้แก่ *Convolvulus arvensis* และ *Polygonum (Fallopia) convovulus* จัดเป็นวัชพืชกักกัน 1 ชนิด คือ *Polygonum aviculare* ซึ่งดำเนินการควบคุมกำกับดูแลโดยอาศัยพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม และผลการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ตรวจพบศัตรูพืช 2 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Alternaria alternata* และ *Alternaria raphani* ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักชีที่นำเข้าจากอิตาลีและสหรัฐอเมริกา

2. จากการปลูกสังเกตอาการในโรงเรือนกักกันพืชและผลการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ผักชีตรวจแล้วไม่พบศัตรูพืชกักกัน

ข้อเสนอแนะต่อผู้เกี่ยวข้องสำหรับการดำเนินงานในระยะต่อไป

จากการศึกษานี้สามารถนำข้อมูลของศัตรูพืชที่ตรวจพบกับเมล็ดผักชีที่นำเข้าจากอิตาลีและสหรัฐอเมริกาไปใช้ประโยชน์ในการจัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบประกอบการนำไปใช้วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อปรับปรุงกฎหมาย และเงื่อนไขการนำเข้า กำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช และจัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืชที่ตรวจพบของผักชีที่นำเข้าจากอิตาลีและสหรัฐอเมริกา รวมทั้งเก็บตัวอย่างที่ตรวจพบเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์กลุ่มวิจัยการกักกันพืชเพื่อใช้ประโยชน์ในการสืบค้นต่อไป

การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์คะน้านำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนและนิวซีแลนด์ ตามมาตรฐานของ ISTA ได้ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์คะน้าที่นำเข้าทั้งหมด 27ตัวอย่าง ได้แก่ เมล็ดพันธุ์คะน้านำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน จำนวน 10 ตัวอย่าง และเมล็ดพันธุ์คะน้านำเข้าจากประเทศนิวซีแลนด์ จำนวน 17 ตัวอย่าง เมื่อนำไปตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ ผลปรากฏว่ามีลักษณะของเมล็ดพันธุ์คะน้าที่สมบูรณ์ สะอาด เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในภาชนะบรรจุที่ปิดมิดชิด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืช และไม่พบการปะปนของเมล็ดวัชพืชกักกัน และจากการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี blotter method และdilution plate technique ผลปรากฏว่าตรวจพบศัตรูพืช จำนวน 4 ชนิด คือ *Alternaria alternata Alternaria brassicicola Alternaria raphani* และ *Cladosporium* sp. กับเมล็ดพันธุ์คะน้านำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนและประเทศนิวซีแลนด์ ซึ่งเป็นศัตรูพืชที่พบในประเทศไทยแล้ว ส่วนการปลูกเมล็ดพันธุ์คะน้านำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนและประเทศนิวซีแลนด์เพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้นพืชในโรงเรือนปลูกพืช ตรวจแล้วไม่พบอาการผิดปกติกับต้นคะน้า

จากการศึกษานี้สามารถนำข้อมูลของศัตรูพืชที่ตรวจพบกับเมล็ดคะน้าที่นำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนและประเทศนิวซีแลนด์ ไปใช้ประโยชน์ในการจัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบประกอบการนำไปใช้วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อปรับปรุงกฎหมาย และเงื่อนไขการนำเข้า กำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช และจัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืชที่ตรวจพบของผักคะน้าที่นำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนและประเทศนิวซีแลนด์

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่สามารถติดปนมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งจากประเทศนิวซีแลนด์และสาธารณรัฐประชาชนจีน มีศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช 8 ชนิด ได้แก่ วัชพืช *Senecio vulgaris*, *Spergula*

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

arvensis, Chenopodium album, *Cirsium arvense*, *Polygonum aviculare*, *Emex spinosa* เชื้อรา *Verticillium dahliae* และเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas cichorii*

2. การสุ่มตัวอย่างและตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งนำเข้าจากประเทศนิวซีแลนด์และสาธารณรัฐประชาชนจีน ทั้งหมด 77 ตัวอย่าง ตรวจพบเมล็ดวัชพืชปนมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งนำเข้าจากประเทศนิวซีแลนด์ 8 ชนิด และเชื้อรา 2 ชนิด ส่วนเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ตรวจพบเมล็ดวัชพืช 2 ชนิด และเชื้อรา 5 ชนิด

3. การติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งภายหลังการนำเข้าในพื้นที่จังหวัดนครปฐม ราชบุรี และนครราชสีมา ไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย

จากการศึกษาครั้งนี้ พบศัตรูพืชที่มีความสำคัญด้านกักกันพืช คือ เมล็ดวัชพืช *Polygonum aviculare* และ *Chenopodium album* ซึ่งวัชพืชทั้งสองชนิดมีศักยภาพเป็นศัตรูพืชร้ายแรงและเป็นศัตรูพืชกักกัน ก่อนนำเมล็ดพันธุ์มาใช้เพื่อวัตถุประสงค์ในการเพาะปลูกหรือเพื่อการค้า ควรทำการคัดแยกเมล็ดวัชพืชกักกันออกจากเมล็ดพันธุ์ก่อน แล้วทำลายเมล็ดวัชพืชดังกล่าว และทำการสำรวจเพื่อเฝ้าระวังป้องกันการแพร่ระบาดในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกร ทั้งนี้ยังพบเมล็ดวัชพืช *Viola arvensis*, *Plantago lanceolata* และ *Malva neglecta* ซึ่งจากการสืบค้นข้อมูลวัชพืชทั้งสามชนิดเป็นวัชพืชที่ไม่มีรายงานพบในประเทศ (Cabi, 2020) ทั้งยังเป็นวัชพืชรุกรานต่างถิ่นของต่างประเทศ (NRCS, 2020) ดังนั้นการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศในแต่ละปีมีความเสี่ยงที่ศัตรูพืชกักกันและศัตรูพืชที่ศักยภาพเป็นศัตรูพืชร้ายแรงติดปนมากับเมล็ดพันธุ์ จะทำความเสียหายกับพืชปลูกและระบบการเกษตรในประเทศไทย ต้องทำการศึกษาข้อมูลเพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อกำหนดมาตรการในการป้องกันศัตรูพืชกักกันและศัตรูพืชชนิดใหม่ที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชร้ายแรงมิให้เข้ามาแพร่ระบาดในประเทศ รวมทั้งทำการเฝ้าระวังในพื้นที่ปลูกเพื่อยืนยันสถานภาพของศัตรูพืช และกำหนดพื้นที่ปลอดศัตรูพืช และจัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืชที่ตรวจพบ ตลอดจนเก็บตัวอย่างที่ตรวจพบเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์กลุ่มวิจัยการกักกันพืชเพื่อใช้ประโยชน์ในการสืบค้นต่อไป

จากการสุ่มตัวอย่างและตรวจหาไฟโตพลาสมาในเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่มีการนำเข้าจากต่างประเทศในช่วงปี 2562 - 2563 (ตุลาคม 2562 - กันยายน 2563) จำนวน 43 ตัวอย่าง นำเข้าจาก 9 ประเทศดังกล่าว ไม่พบไฟโตพลาสมาติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศเหล่านั้น แม้ว่าการวิจัยในครั้งนี้จะบ่งชี้ว่าไม่มีไฟโตพลาสมาติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่มีการนำเข้าจากทั้ง 9 ประเทศ ก็ไม่ได้หมายความว่าจะไม่มีศัตรูพืชชนิดนี้ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่จะมีการนำเข้ามาจากต่างประเทศอีกในอนาคต ดังนั้น ผู้วิจัยมีความคิดเห็นว่าศัตรูพืชชนิดนี้ ที่เรียกว่า “ไฟโตพลาสมา” แม้จะยังไม่มีการยืนยันว่าสามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดได้ และยังไม่มีรายงานการพบศัตรูพืชชนิดนี้เข้าทำลายมะเขือเทศในประเทศไทย เจ้าหน้าที่ผู้ปฏิบัติงานที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชชนิดใหม่เข้ามาในประเทศไทยก็ควรที่จะมีการตรวจสอบไฟโตพลาสมาในเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่มีการนำเข้าจากต่างประเทศเป็นประจำอย่างต่อเนื่องต่อไป

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

ผลจากการสุ่มตัวอย่างและตรวจสอบชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากอินเดีย จีน สหรัฐอเมริกา และเนเธอร์แลนด์ เมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา อินเดีย ญี่ปุ่น อิสราเอล ชิลี และฟิลิปปินส์ เมลอนนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา อินเดีย ญี่ปุ่น อิสราเอล ชิลี และเนเธอร์แลนด์ เมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกา เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากจีนและสหรัฐอเมริกา เมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ เมล็ดพันธุ์คะน้านำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน และประเทศนิวซีแลนด์ ด้วยวิธีการเบื้องต้น และขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ตรวจแล้วไม่พบศัตรูพืชกักกัน

จากการสุ่มตัวอย่างและตรวจสอบชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสกอตแลนด์ ออสเตรเลีย เนเธอร์แลนด์ และแคนาดา ด้วยวิธีการเบื้องต้น และขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ตรวจพบศัตรูพืชกักกัน 1 ชนิด คือ *Spongospora subterranea* ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสกอตแลนด์ ออสเตรเลีย และเนเธอร์แลนด์ โดยได้ดำเนินมาตรการทางด้านกักกันพืช

จากการตรวจติดตามเชื้อ *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากต่างประเทศ ด้วยวิธีการเบื้องต้น และขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ไม่พบศัตรูพืชกักกัน

ผลจากการสุ่มตัวอย่างและตรวจสอบชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากอินเดียและสหรัฐอเมริกาด้วยวิธีการเบื้องต้น ตรวจพบร่องรอยการทำแมลง เมื่อนำไปจัดจำแนกชนิดพบว่า เป็นแมลงสกุล *Trogoderma* 2 ชนิด คือ *Trogoderma granarium* และ *T. variabile* และเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่ตรวจพบ T. *granarium* และ *T. variabile* ได้รับการกำจัดศัตรูพืชโดยการรมด้วยเมทิลโบรไมด์อัตรา 80 กรัม/ลูกบาศก์เมตร นาน 48 ชั่วโมงก่อนส่งกลับประเทศต้นทางและขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติ และในแปลงปลูกพืช การระบาดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (Fall army worm, *Spodoptera frujiperda*) ในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดภายหลังการนำเข้าในพื้นที่ผลิต 17 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดขอนแก่น ชัยภูมิ นครราชสีมา อุบลราชธานี กาญจนบุรี สระบุรี ลพบุรี นครสวรรค์ พิษณุโลก กำแพงเพชร ตาก แม่ฮ่องสอน แพร่ ลำพูน ลำปาง เชียงใหม่ และเชียงราย และได้ดำเนินการด้านมาตรการสุขอนามัยพืช เช่นการเฝ้าระวังศัตรูพืช และการสำรวจติดตามอย่างต่อเนื่อง โดยใช้กับดักฟีโรโมนล่อแมลง และสังเกตด้วยตาเปล่าอย่างเข้มงวดในทุกพื้นที่ที่มีการผลิตข้าวโพด

ผลจากการสุ่มตัวอย่างและตรวจสอบชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากนิวซีแลนด์ และญี่ปุ่น ด้วยวิธีการเบื้องต้น และขั้นละเอียด ในห้องปฏิบัติการ ตรวจพบเมล็ดวัชพืชกักกัน 1 ชนิด ได้แก่ *Polygonum convolvulus* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากญี่ปุ่น โดยได้ดำเนินการตามมาตรการในการจัดการศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย โดยให้ผู้ประกอบการที่นำเข้ามา ทำลายหรือส่งเมล็ดพันธุ์กลับโดยได้ดำเนินมาตรการทางด้านกักกันพืช

ผลจากการสุ่มตัวอย่างและตรวจสอบชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งนำเข้าจากนิวซีแลนด์และจีน ด้วยวิธีการเบื้องต้น และขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ตรวจพบ Polygonum aviculare, Chenopodium albumได้ควบคุมโดยอาศัยพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม เพื่อป้องกันมิให้วัชพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดภายในประเทศไทย เช่น ฝังกลบ เผาทำลาย หรือส่งกลับประเทศต้นทาง

ส่วนผลการตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาในเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้า ด้วยวิธีการขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ จาก 9 ประเทศ ไม่พบไฟโตพลาสมาติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

กรมวิชาการเกษตร

กิจกรรมที่ 2

ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชและผลิตผลพืชที่นำเข้าเพื่ออุปโภคหรือบริโภค

ชื่อผู้วิจัย

ถาวร ธรรมกรณ์ ศิริชัย ถาวร แขจรรยา สีระแก้ว วิไลรัตน์ สิงห์แก้วฟู

Thaworn Thamagorn Sirichai Thaworn Khaejanya Seerakaew Wilairat Chaimongkol

คำสำคัญ (Key words)

กักกันพืช ศัตรูพืช พืชนำเข้า หัวพันธุ์มันฝรั่ง กุหลาบ องุ่น แอปเปิล มังคุด ญี่ปุ่น สาธารณรัฐประชาชนจีน เนเธอร์แลนด์ อินโดนีเซีย

plant quarantine, pest, imported plant, seed potato, rose, table grape, apple, mangosteen, Japan, China, the Netherlands, Indonesia

บทคัดย่อ

พืชและผลิตผลพืชที่นำเข้าเพื่ออุปโภคหรือบริโภค ได้แก่ กุหลาบตัดดอก ผลแอปเปิลสด และผลองุ่นสด ที่นำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งการนำเข้าต้องมีใบอนุญาตนำเข้า แจ้งการนำเข้า และมีใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทางกำกับมาเท่านั้น โดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยกำหนดไว้แต่อย่างใดในบางพืชและมีโอกาสสูงที่ศัตรูพืชกักกันติดเข้ามารวมทั้งอาจจะส่งผลกระทบกับการค้าระหว่างประเทศ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการทดลองเพื่อศึกษาชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชและผลิตผลพืชที่นำเข้าเพื่ออุปโภคหรือบริโภค โดยดำเนินการสุ่มตัวอย่างผลแอปเปิลสดนำเข้าจากญี่ปุ่น กุหลาบตัดดอก ผลองุ่นสดและผลแอปเปิลสดนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน และกุหลาบตัดดอกนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ ตามมาตรฐานสากล ISPM No.31 ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 - กันยายน 2564 นำมาทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น (วัชพืช ไรและศัตรูพืช) ด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ตรวจแล้วไม่พบศัตรูพืชกักกัน และผลจากการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการตรวจแล้วไม่พบศัตรูพืชกักกัน

กรมวิชาการเกษตร

Abstracts

Plant and plant products imported for consumption such as cut roses flowers, fresh apples and fresh grapes from abroad which importation must have an import permit import notice document and have a phytosanitary certificate from the country of origin without sanitary measures imposed on some plants and there is a high risk for quarantine pests will contaminate and has high potentially affect to international trade. Therefore, the objective of this study is to examine the quarantine pests infected with imported fresh apples from Japan, cut roses flowers, fresh grapes and fresh apples from the People's Republic of China. They were sampled according to international standard (ISPM No.31) between October 2015 - September 2021, The result of this study found that the quarantine pests were not found .

บทนำ (Introduction)

ประเทศไทยเป็นศูนย์กลางผลิต และส่งออกสินค้าเกษตร ในขณะเดียวกันมีความจำเป็นต้องนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศ จากหลายภูมิภาค เพื่ออุปโภค บริโภค เพาะปลูกและปรับปรุงพันธุ์ หรือนำเข้าเมล็ดพันธุ์พ่อแม่เพื่อผลิตเป็นเมล็ดพันธุ์ลูกผสมเพื่อการส่งออก ซึ่งอาจจะเป็นพาหะของ ศัตรูพืชหลายชนิดที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทย หากศัตรูพืชร้ายแรงดังกล่าวแพร่ระบาดเข้ามาในประเทศไทย นอกจากจะทำความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศแล้ว ยังก่อให้เกิดผลกระทบกับการส่งออกสินค้าเกษตรไปยังต่างประเทศด้วย ซึ่งจะส่งผลกับเศรฐกิจของประเทศ และต้องใช้งบประมาณสูงในการป้องกันกำจัด ดังนั้น การศึกษาและจัดจำแนกชนิดของศัตรูพืช เช่น เชื้อโรค วัชพืช แมลง และไร ที่อาจจะติดเข้ามากับพืชที่นำเข้าจากแหล่งต่างๆ ก่อนที่จะอนุญาตให้นำออกจากสถานกักพืชได้ เป็นการป้องกันมิให้ศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย เข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายต่อการเกษตรในประเทศ และข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์ต่องานด้านกักกันพืชทำให้ทราบข้อมูลศัตรูพืชของประเทศคู่ค้า และเก็บตัวอย่างศัตรูพืชที่ไว้เป็นหลักฐานทางวิชาการ และช่วยในการกำหนดมาตรการทางสุขอนามัยพืชให้ประเทศผู้ส่งออกปฏิบัติ เพื่อลดความเสี่ยงที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามา

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมที่กำลังพัฒนาเป็นประเทศอุตสาหกรรม พืชเศรษฐกิจที่สำคัญที่ทำรายได้ให้กับประเทศ เช่น ข้าว ยางพารา ปาล์มน้ำมัน ข้าวโพด อ้อย มันสำปะหลัง และผักผลไม้ จึงจำเป็นอย่างยิ่งต้องป้องกันพืชเศรษฐกิจเหล่านี้จากศัตรูพืชร้ายแรงจากต่างประเทศ พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และ พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ซึ่งบังคับใช้ในปัจจุบัน มีบทบัญญัติเกี่ยวกับการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชที่ติดมากับสินค้าเกษตรนำเข้า โดยแบ่งพืชออกเป็น 3 ประเภท คือ สิ่งต้องห้าม สิ่งกำกัด และสิ่งไม่ต้องห้าม การนำเข้าหรือนำผ่านสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกำกัดต้องนำเข้าหรือนำผ่านทางด่านตรวจพืชเพื่อให้พนักงานเจ้าหน้าที่ตรวจ และต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกำหนด

งานวิจัยนี้เป็นการตรวจหาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ พริก แตงโม เมลอน ข้าวโพด ผักกาดหัว ผักกาดหอม กะหล่ำปลี ผักกาดกวางตุ้ง หัวพันธุ์มันฝรั่ง ผลองุ่นสด ผลมังคุดสด แอปเปิล และดอกกุหลาบที่นำเข้าจากต่างประเทศ และทำการจัดจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ ตลอดจนหาข้อมูลเกี่ยวกับวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ตรวจพบโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ทราบชนิดของศัตรูพืชแหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้าและเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวสามารถใช้สำหรับอ้างอิงทางวิชาการ เพื่อกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสมรัดกุม และป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศ

การทบทวนวรรณกรรม (งานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ให้นำไปรวมในบทนำ)

ประเทศไทยมีการนำเข้าพืชและผลิตผลพืชจากแหล่งต่างๆทั่วโลก โดยเฉพาะเมล็ดพันธุ์ผักและพืชไร่ เช่น มะเขือเทศ พริก พืชตระกูลกะหล่ำ พืชตระกูลแตง และข้าวโพด นอกจากนี้ยังนำเข้าผัก ผลไม้ ไม้ดอก ซึ่งพืชที่นำเข้าอาจเป็นพาหะของศัตรูพืชร้ายแรงที่ยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทย การตรวจศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้า

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

เป็นการป้องกันศัตรูพืชจากต่างประเทศไม่ให้เข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายกับการเกษตรของประเทศ และยังใช้เป็นข้อมูลสำหรับกำหนดเงื่อนไขในการนำเข้าพืชและผลิตผลพืชจากต่างประเทศเพื่อกำจัดศัตรูพืชที่ติดมา

พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 ซึ่งบังคับใช้ในปัจจุบัน มีบทบัญญัติเกี่ยวกับการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชที่ติดมากับสินค้าเกษตรนำเข้า โดยแบ่งพืชออกเป็น 3 ประเภท คือ สิ่งต้องห้าม สิ่งกำกัด และสิ่งไม่ต้องห้าม การนำเข้าหรือนำผ่านสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกำกัด ต้องนำเข้าหรือนำผ่านทางด่านตรวจพืชเพื่อให้พนักงานเจ้าหน้าที่ตรวจ และต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกำหนด

มันฝรั่ง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Solanum tuberosum* เป็นพืชในวงศ์ *Solanaceae* จัดเป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้ามข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 ประเทศไทยมีการนำหัวพันธุ์มันฝรั่งมาเพื่อใช้ทำพันธุ์และเพื่อการอุตสาหกรรมผลิตมันฝรั่งทอด ปัจจุบันการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งเพื่อทำพันธุ์มีปริมาณมากและมีความเสี่ยงสูงที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามากับหัวพันธุ์ ซึ่งผู้นำเข้ามักจะส่งหัวพันธุ์กระจายไปในพื้นที่ต่างๆ ของประเทศ ปรียพรรณ และคณะ (2555) ได้ทำการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าในปี 2554 - 2555 จำนวน 82 ตัวอย่าง ตรวจพบศัตรูพืชกักกัน 1 ชนิด คือ *Spongospora subterranea* ในหัวพันธุ์จากสกอตแลนด์ จำนวน 13 ครั้ง ปริมาณ 838 ตัน ซึ่งพบว่า เกินเงื่อนไขที่กำหนดและได้ดำเนินมาตรการปฏิเสธการนำเข้า 5 ครั้ง ปริมาณ 264 ตัน ตรวจพบเชื้อที่ไม่ใช่ศัตรูพืชกักกันแต่ต้องมีมาตรการควบคุมคือ *Potato virus Y* ในหัวพันธุ์จากออสเตรเลีย 5 ครั้ง ปริมาณ 611 ตัน ซึ่งในจำนวนนี้พบว่าเกินเงื่อนไขที่กำหนดและได้ดำเนินมาตรการเผาทำลาย 1 ครั้ง 235 ตัน ประเทศสกอตแลนด์ แคนาดา และ ออสเตรเลีย มีศัตรูพืชของมันฝรั่ง ที่ยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทย เช่น *Globodera pallida, G. rostochiensis Synchytrium endobioticum* ศัตรูพืชเหล่านี้ถูกประกาศเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย (CAB, 2007; Richardson, 1990) และตามประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสกอตแลนด์ พ.ศ.2552 พบว่ามีศัตรูกักกันของหัวพันธุ์มันฝรั่งได้แก่ ไส้เดือนฝอย *Ditylenchus destructor Ditylenchus dipsaci* (potato race) เชื้อรา *Phoma foveata Polyscytalum pustulans Spongospora subterranean Spongospora subterranean Verticillium albo-atrum* ไวรัส *Alfalfa mosaic virus* (AMV) *Pepino mosaic virus* (PepMV) *Potato aucuba mosaic virus* (PAuMV) *Potato mop top virus* (PMTV) *Potato virus A* (PVA) *Potato virus M* (PVM) *Tobacco rattle virus* (TRV) *Tobacco ringspot virus* (TRSV) *Tobacco streak virus* (TSV) *Tomato black ring virus* (ToBRV) *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) ไฟโตพลาสมา *Potato witches' broom* ดังนั้นการนำหัวพันธุ์มันฝรั่ง จากแหล่งที่มีศัตรูพืชกักกันระบาดยิ่งมีความเสี่ยงมากหากศัตรูพืชนั้นสามารถติดเข้ามาตั้งรกรากและแพร่กระจายในประเทศได้ซึ่งจะมีผลต่อการเกษตรของไทยโดยเฉพาะการผลิตมันฝรั่ง

ประเทศไทยนำเข้าหัวมันฝรั่งมาจากประเทศที่มีรายงานการแพร่ระบาดของเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* สาเหตุโรค Potato ring rot ในมันฝรั่ง ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย พืชที่เป็นโรคจะแสดงอาการเหี่ยว ท่อน้ำท่ออาหารถูกทำลายเป็นสีน้ำตาล มีรายงานการ

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

แพร่ระบาดในเขตประเทศที่มีอากาศหนาวเย็น เช่น แคนาดา สหรัฐอเมริกา เนเธอร์แลนด์ และ สาธารณรัฐประชาชนจีน เป็นต้น (CABI, 2014) ลักษณะเชื้อมีรูปร่างเป็นท่อน มีคุณสมบัติเป็นแกรมบวก ไม่มี Flagella ที่ช่วยในการเคลื่อนที่ (Hayward and Waterston, 1964) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้ออยู่ที่ 21-23 องศาเซลเซียส (Nelson, 1984) พืชอาศัยหลัก ได้แก่ มันฝรั่ง Sugarbeet และมีรายงานกับพืชบางชนิดในวงศ์ *Solanceae* การแพร่ระบาดของเชื้อจะติดไปกับหัวพันธุ์ที่เป็นโรค และ อุปกรณ์เครื่องมือใช้และเครื่องจักรกลทางการเกษตร (Mansfield-Giese,1997) การป้องกันกำจัดที่ดีที่สุด คือการใช้หัวที่สะอาดปราศจากโรคหลีกเลี่ยงการก่อให้เกิดแผลขึ้นที่หัวมันที่ใช้ทำพันธุ์ (ศักดิ์, 2537) ความเสียหายที่เกิดจากเชื้อเข้าแพร่ระบาดในแปลงผลิตมันฝรั่งนั้นพบว่าจะเสียหายทั้งหมดไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ ทุกประเทศที่ผลิตหัวพันธุ์เพื่อการค้าจะต้องใช้ระบบรับรองการผลิต (Seed certification programs) เพื่อรับรองการปลอดศัตรูพืช (CABI, 2014)

กุหลาบ (rose; *Rosa* Hybrids) จัดเป็นสิ่งกำกัด ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 กุหลาบเป็นไม้ตัดดอกที่มีการปลูกเป็นการค้ากันแพร่หลายทั่วโลก มีต้นกำเนิดจากทวีปเอเชีย ประเทศที่ปลูกกุหลาบรายใหญ่ของโลกได้แก่ อิตาลี เนเธอร์แลนด์ สเปน สหรัฐอเมริกา โคลัมเบีย เอกวาดอร์ อิสราเอล เยอรมนี เคนยา ซิมบับเว เบลเยียม ฝรั่งเศส เม็กซิโก แทนซาเนีย และมาลาวี เป็นต้น กุหลาบ เป็นไม้ตัดดอกที่มีการปลูกเป็นการค้ากันแพร่หลายทั่วโลก มีต้นกำเนิดจากทวีปเอเชีย ประเทศที่ปลูกกุหลาบรายใหญ่ของโลกได้แก่ อิตาลี เนเธอร์แลนด์ สเปน สหรัฐอเมริกา โคลัมเบีย เอกวาดอร์ อิสราเอล เยอรมนี เคนยา ซิมบับเว เบลเยียม ฝรั่งเศส เม็กซิโก แทนซาเนีย และมาลาวี เป็นต้น ปัจจุบันประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกกุหลาบตัดดอกประมาณ 50,000 ไร่ กระจายอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศ แหล่งปลูกที่สำคัญได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย ตาก นครปฐม สมุทรสาคร ราชบุรี และกาญจนบุรี มีการขยายตัวของพื้นที่มากที่สุดใน อำเภอพบพระ จังหวัดตาก ซึ่งปัจจุบันประมาณว่ามีพื้นที่การผลิตถึง 3,000 ไร่ (วิกิพีเดียสารานุกรมเสรี, 2558) แต่ผลผลิตในประเทศยังไม่เพียงพอ และขาดความต่อเนื่อง ทำให้ยังต้องนำเข้ากุหลาบตัดดอกจากต่างประเทศ เช่น เนเธอร์แลนด์ และมาเลเซีย และจีน เป็นต้น และจากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่สามารถติดกับกุหลาบจากจีน พบว่ามีศัตรูพืชที่สำคัญ ดังนี้ หนอนม้วนใบ (tortrix) เช่น *Adoxophyes orana*, *Homona magnanima* แมลงหวี่ขาว *Trialeurodes vaporariorum* เพลี้ยอ่อน *Aphis pomi* และ *Metopolophium dirhodum* เพลี้ยหอย *Aspidiotus nerii* เชื้อรา *Verticillium dahliae* (CABI, 2014)

หนอนม้วนใบ *Adoxophyes orana* เป็นแมลงที่มีพืชอาศัยสำคัญ ได้แก่ เมเปิ้ล ฮอพ แอปเปิ้ล ท้อ กุหลาบ บลูเบอร์รี่ เป็นต้น และ *Homona magnanima* เป็นแมลงที่มีพืชอาศัยสำคัญ ได้แก่ ชา เบญจมาศ สาลี่ แอปเปิ้ล ถั่วเหลือง กุหลาบ มะเขือม่วง เป็นต้น แมลงหวี่ขาว*Trialeurodes vaporariorum* มีพืชอาศัยกว้าง ได้แก่ คื่นฉ่าย พริก ชา แตงโม เมลอน แตงกวา ฟักทอง เยอบีร่า เบญจมาศ กุหลาบ ถั่วเหลือง ทานตะวัน ผักกาดหอม มะเขือเทศ มะเขือม่วง มันฝรั่ง ถั่วแขก เป็นต้น แมลงหวี่ขาวชนิดนี้ ได้มีรายงานการถ่ายทอดไวรัสสำคัญกับพืช ช่น *Beet pseudo-yellows virus* (แตงกวา เมล่อน ผักกาดหอม หัวบีท) *Tomato infectious chlorosis virus* และ *Lettuce infectious yellow virus* รวมทั้ง *Strawberry pallidosis virus* (Tzanetakis *et al.*, 2004) เพลี้ยอ่อน *Aphis pomi* มีพืชอาศัย เช่น แอปเปิ้ล สาลี่ กุหลาบ และเพลี้ยอ่อน

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

Metopolophium dirhodum มีพืชอาศัยสำคัญ ได้แก่ สับปะรด ส้ม มะพร้าว มะม่วง มะกอก หม่อน คาร์เนชั่น กุหลาบ สน กล้วยไม้ องุ่น เป็นต้น เพลี้ยหอย *Aspidiotus nerii* เป็นแมลงที่มีพืชอาศัยหลายชนิด ได้แก่ องุ่น สับปะรด มะพร้าว มะม่วง คาร์เนชั่น กุหลาบ พืชวงศ์กล้วยไม้ เป็นต้น แมลงเหล่านี้สามารถตรวจสอบเบื้องต้นด้วยตาเปล่า แว่นขยาย และกล้องจุลทรรศน์แบบสเตริโอ รวมทั้งตรวจจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope (ศิริณี และคณะ, 2548; CABI, 2014)

Verticillium dahliae เป็นเชื้อราที่มีพืชอาศัยกว้าง ได้แก่ กระเจี๊ยบ พืชสกุล *Brassica* ถั่วลันเตา พืชในวงศ์ Solanaceae (พริก มะเขือเทศ มะเขือม่วง มันฝรั่ง) ผักขม ผักกาดหัว ดาวเรือง ทานตะวัน เบญจมาศ กุหลาบ ทับทิม อัลมอนด์ ท้อ ราสเบอร์รี่ แบล็คเบอร์รี่ มะยม มะม่วง โกโก้ องุ่น แก้วมังกร เป็นต้น (Douhan and Johnson, 2001) เชื้อราชนิดนี้สามารถตรวจสอบและจำแนกชนิดชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์

องุ่น (grape; *Vitis vinifera*) จัดเป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 ประเทศไทยนำเข้าผลองุ่นสดจากต่างประเทศเพิ่มขึ้นทุกปี สถิติตั้งแต่ปี 2550-2555 นำเข้าเฉลี่ยปีละ 45,644 ตัน มูลค่านำเข้า 4,154 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2556) การนำเข้าผลองุ่นสดจากจีนเป็นไปตามข้อตกลงพิธีสารไทย-จีน โดยนำเข้าที่ด่านตรวจพืชเชียงของ ระหว่างปี พ.ศ. 2553 - 2556 มีปริมาณเฉลี่ยปีละ 13,870 ตัน คิดเป็นมูลค่า 357 ล้านบาท และจากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่สามารถติดกับผลองุ่นสดนำเข้าจีน พบว่าผลองุ่นสดจากจีน มีศัตรูพืชที่สำคัญ เช่น แมลง *Ceratitis capitata, Macrosiphum euphorbiae, Parthenolecanium corni, Aspidiotus nerii* ไรแดง *Panonychus ulmi* เชื้อรา *Elsinoe ampelina, Botryosphaeria obtusa, Guignardia bidwellii* (CABI, 2014)

แมลงวันผลไม้ *Ceratitis capitata* (Mediterranean fruit fly) เป็นศัตรูพืชที่มีความสำคัญระดับเศรษฐกิจ มีพืชอาศัยหลายชนิด ได้แก่ องุ่น กีวี น้อยหน่า พริก มะละกอ ท้อ พืชสกุล *Citrus* กาแฟ เมลอน ลำไย ทุเรียน โลควอท ส้ม ลิ้นจี่ วอลนัท แอปเปิ้ล ละมุด เสาวรส พืชสกุล *Solanum* บางชนิด เช่น มะเขือเทศ มะเขือม่วง เงาะ มะกอก อินทผาลัม ท้อ ฝรั่ง ทับทิม ราสเบอร์รี่ ชมพู่ โกโก้ พุทรา เป็นต้น (Liquido *et al*., 1991; Hancock *et al*., 2000) เพลี้ยอ่อน *Macrosiphum euphorbiae* มีพืชอาศัยที่สำคัญ ได้แก่ คื่นฉ่าย หัวบีท พริก พืชสกุล *Citrus* บางชนิด องุ่น แตงกวา ฝ้าย มันเทศ ผักกาดหอม มะเขือเทศ มะเขือม่วง มันฝรั่ง ถั่วแขก ถั่วฝักยาว ข้าวโพด เป็นต้น (CABI, 2014) เพลี้ยหอย *Aspidiotus nerii* เป็นแมลงที่มีพืชอาศัยหลายชนิด ได้แก่ องุ่น สับปะรด มะพร้าว มะม่วง คาร์เนชั่น พืชวงศ์กล้วยไม้ เป็นต้น (CABI, 2014) สามารถตรวจสอบเบื้องต้นด้วยตาเปล่า แว่นขยาย และกล้องจุลทรรศน์แบบสเตริโอ (ศิริณี และคณะ, 2548)

ไรแดง *Panonychus ulmi* มีพืชอาศัยหลัก คือ ไม้ผล เช่น แอปเปิ้ล สาลี่ ท้อ พลัม องุ่น รวมทั้งยังมีพืชอาศัยชนิดอื่นๆ เช่น ถั่วลิสง ส้ม ฝ้าย กาแฟ (Jeppson *et al*., 1975) สามารถตรวจสอบเบื้องต้นด้วยตาเปล่า แว่นขยาย และกล้องจุลทรรศน์แบบสเตริโอ และตรวจจำแนกชนิดขั้นละเอียดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope (ศิริณี และคณะ, 2548)

ศรีบูรพาการเกษตร

Botryosphaeria obtusa เป็นเชื้อราสาเหตุของโรคเน่าดำ มีพืชอาศัยหลายชนิด ได้แก่ องุ่น แอปเปิ้ล โลควอท พลัม อัลมอนด์ ท้อ สาลี่ องุ่น เป็นต้น (CABI, 2014) เชื้อราชนิดนี้สามารถตรวจสอบและจำแนกชนิดชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope

Elsinoe ampelina เป็นเชื้อราสาเหตุของโรคแอนแทรคโนส มีพืชอาศัยสำคัญ ได้แก่ พืชสกุล *Vitis* เช่น องุ่น (*Vitis vinifera*) *Vitis labrusca* และ *Vitis rupestris* แบล็คเบอร์รี่ ราสเบอร์รี่ เชื้อราชนิดนี้ มีแหล่งแพร่ระบาดกว้างขวาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศจีนพบเชื้อราชนิดนี้ เกือบทุกมณฑล ลักษณะอาการของโรคสำคัญคือ ทำให้ผลเป็นแผลจุดสีน้ำตาลถึงดำ และขยายวงกว้าง เน่าเป็นวง แผลมีลักษณะคล้ายตานก ทางตอนเหนือของอินเดียมีรายงานความเสียหายของเชื้อนี้กับองุ่น พบ 10-50% (Bedi *et al*., 1969) เชื้อราชนิดนี้สามารถตรวจสอบและจำแนกชนิดชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope

Guignardia bidwellii เป็นเชื้อรา มีพืชอาศัยอยู่ในสกุล *Vitis* เช่น องุ่น (*Vitis vinefera*), *Vitis labrusca* (fox grape), *Vitis arizonica* (canyon grape) และส้ม เป็นต้น ในการควบคุมโรค สารเคมี เช่น mancozeb, captan, dichlofluanid, folpet, maneb, propineb และ zineb สามารถป้องกันเชื้อนี้ได้ดี (Barbe, 1984) เชื้อราชนิดนี้สามารถตรวจสอบและจำแนกชนิดชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope

มังคุด ; *Garcinia mangostana* เป็นสิ่งต้องห้าม ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 ซึ่งกำหนดให้ผลสดของพืชในสกุลการ์ซิเนีย (*Garcinia* spp.)เป็นสิ่งต้องห้าม ทุกๆปี ประเทศไทยจะมีการนำเข้ามังคุดมาเพื่อบริโภคสดในช่วงมังคุดไทยหมดฤดูและเพื่อการอุตสาหกรรม หรือเพื่อการส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ สำหรับปริมาณการนำเข้าผลมังคุดจากสาธารณรัฐอินโดนีเซีย ในปี 2558 มีปริมาณ ๑๘,๒๐๙ ตัน และมีมูลค่า ๔๖.๔ ล้านบาท (กรมศุลกากร. 2558)จากข้อมูลศัตรูพืช พบว่า มังคุดจากสาธารณรัฐอินโดนีเซีย มีศัตรูพืช เช่น *Bactrocera carambolae, Bactrocera papaya, Camponotus* sp., *Cardiocondyla* sp., *Chrysomphalus aonidum, Crematogaster* sp., *Dolichoderus* sp., *Dysmicoccus lepelleyi, Exallomochlus hispidus, Hordelicoccus heterotrichus, Iridomyrmex* sp., *Ischnaspis longirostris, Maconellicoccus hirsutus, Monomorium* sp., *Oecophylla smaragdina, Paracoccus interceptus, Paratrechina* sp., *Paraputo odontomachi., Pheidole* sp., *Plagiolepis* sp., *Planococcus citri, Planococcus lilacinus, Planococcus minor, Polyrhachis* sp., *Pseudaonidia trilobitiformis, Pseudococcus aurantiacus, Pseudococcus baliteus, Pseudococcus cryptus, Pulvinaria psidii, Rastrococcus spinosus, Scirtothrips dorsalis, Selenothrips rubrocintus*, *Tapinoma* sp., *Technomyrmex* sp., *Tetramorium* sp., *Tetranychus* sp., *Thrips hawaiiensis* และ *Wasmannia auropunctata* เป็นต้น(CPC, 2007 ; Affandi and Emilda, 2009 ; AntWeb, ๒๐๑๑)

แอปเปิล (apple; *Malus domestica*) จัดเป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 แอปเปิลมีต้นกำเนิดอยู่ในบริเวณประเทศอิหร่านในปัจจุบัน จากนั้นจึงกระจายพันธุ์

กรมวิชาการเกษตร

ไปยังเทือกเขาคอเคซัส และลุ่มแม่น้ำไทกริส-ยูเฟรติส แล้วแพร่หลายต่อไปในทวีปยุโรป ทวีปอเมริกา และดินแดนอื่นทั่วโลก ในประเทศไทยปลูกได้ในพื้นที่ภาคเหนือ เช่น ที่ดอยอ่างขาง (ศศิวิมล และคณะ, 2546)

แมลงศัตรูพืชที่สำคัญของแอปเปิลในญี่ปุ่น เช่น *Cydia inopinata* (Manchurian fruit moth), *Homona magnanima* (Oriental tea tortrix), *Stathmopoda auriferella* (apple heliodinid), *Spulerina astaurota* (pear barkminer), *Spilonota albicana* (white fruit moth), *Argyresthia conjugella* (apple fruit moth), *Rhynchites heros* (peach curculio), *Panonychus ulmi* (European red mite), *Pseudococcus comstocki* (Comstock mealybug), *Phenacoccus pergandei* (mealybug), *Dysmicoccus wistariae* (pear mealybug), *Coccura suwakoensis* (quince cottony scale), *Lepidosaphes conchiformioides* (pear oystershell scale), *Pseudaonidia duplex* (camphor scale), *Grapholita molesta* (Oriental fruit moth) โรคที่สำคัญได้แก่ *Alternaria mali* (alternaria blotch), *Diplocarpon mali* (marssonina blotch), *Phyllosticta solitaria* (apple blotch), *Botryosphaeria berengeriana* f.sp. *piricola* (physalospora canker), *Monilinia mali* (monilia leaf blight), dapple apple viroid and apple scar skin viroid. *Carposina sasakii* (peach fruit moth), *Adoxophyes* spp. (tortrix), *Tetranychus kanzawai* (tea red spider mite), *Tetranychus viennensis* (hawthorn red spider mite), *Gymnosporangium yamadae* (Japanese apple rust), *Nectria galligena* (European canker), *Monilinia fructigena* (brown rot) and *Erwinia amylovora* (bacterial shoot blight of pear) (Australian Quarantine & Inspection Service, 1998)

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

กิจกรรมที่ 2 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชและผลิตผลพืชที่นำเข้าเพื่ออุปโภคหรือบริโภค

การทดลองที่ 2.1 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับผลแอปเปิลสดนำเข้าจากญี่ปุ่น (2559-2560)

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ วารสาร และ ซีดีรอม CABI
2. อุปกรณ์ในการตรวจศัตรูพืช เช่น แว่นขยาย กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) และ compound microscope
3. อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิม เข็มหมุดหัวกลม ไม้จัดรูปร่างแมลง ปากคีบโหลชั้น ตู้อบแมลง ฯลฯ
4. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี ชุดตรวจสอบ
5. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่สารเคมีต่างๆ เช่น AGA, sodium hydroxide, potassium hydroxide, alcohol, hydrochloric acid, glacial acetic acid, xylene, carbolic acid, acid fuchsin, N-butyl alcohol, clove oil และ canada balsam

บีคเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร แผ่นสไลด์แก้วและแผ่นแก้วปิดสไลด์

6. กล้องถ่ายภาพ
7. ผลแอปเปิ้ลสดนำเข้า

ศรีวิชาการเกษตร

8. คู่มือการจำแนกศัตรูพืช คู่มือการจำแนกโรคพืช

วิธีการปฏิบัติการทดลอง

มีขั้นตอนและวิธีในดำเนินการการวิจัยดังต่อไปนี้

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย เช่น ชีววิทยา วิธีการตรวจ และวิธีการกำจัดศัตรูพืช

2. สุ่มตัวอย่างผลแอปเปิ้ล อย่างน้อย 20 ครั้ง (20 shipments) โดยวิธีการสุ่มดังนี้

- นำเข้าจำนวนน้อยกว่า 1,000 ผล สุ่มตัวอย่างจำนวน 450 ผลหรือพวง หรือทั้งหมด
- นำเข้าจำนวน 1,000 ผล หรือมากกว่า สุ่มตัวอย่างจำนวน 600 ผลหรือพวง (Whyte, 2009)

3. ตรวจหาศัตรูพืชเบื้องต้น ณ จุดนำเข้า โดยตรวจสอบด้วยตาเปล่า หรือใช้แว่นขยาย สังเกตลักษณะอาการผิดปกติ ที่อาจเกิดจากเชื้อสาเหตุโรคเช่น อาการเน่า แผลจุด รอยเจาะของแมลง ไข่ หรือตัวอ่อนของแมลง ไร และเมล็ดวัชพืชที่ติดมา โดยตรวจสอบภายนอกผลหรือผ่าดูภายในผล

4. หากพบแมลง ไร หอย หรือวัชพืช จะตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) และกำลังขยายสูงต่อไป หลังจากนั้นถ่ายภาพ และบันทึกรายละเอียด ขนาด รูปร่างลักษณะ และสีของศัตรูพืช

5. จำแนกกลุ่มของแมลงโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology)

6. จัดเตรียมตัวอย่างแมลงและไรโดย

6.1 นำตัวอย่างแมลงที่เก็บรวบรวมได้มาจัดรูปร่าง (set) บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) ตัวอย่างแมลงโดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณด้านหน้าตรงมุมของปีกขวา (บริเวณมุมที่ปีกจรดกัน) ใช้ปากคีบจัดขาทั้งสามคู่ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดินโดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด ตัวเต็มวัยขนาด เช่น เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดด และด้วงที่มีขนาดเล็กให้ติดลงบนกระดาษรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 30 – 60 วัน ขึ้นกับขนาดของแมลง

6.2 นำตัวอย่างแมลงในกลุ่มปากดูด เช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอย มาทำสไลด์ถาวรตามวิธีการของแมลงแต่ละชนิดโดยอ้างอิงวิธีการของ ศิริณี และ ลักขณา (2554) แล้วนำสไลด์ที่ได้ไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส ประมาณ 1-2 เดือน นำตัวอย่างสไลด์ที่ได้ไปตรวจจำแนกชนิด บันทึกรายละเอียดเกี่ยวกับพืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง บนแผ่นสไลด์ที่อบแห้งแล้ว

6.3 ทำสไลด์ถาวรไรศัตรูพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้ชัดเจน โดยจัดท่าทางของไรให้อยู่ในท่าคว่ำและท่าตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะต่างๆที่ใช้ในการจำแนก จากนั้นปิดสไลด์ด้วย cover glass ใช้ปากกาเขียนแก้ววงกลมล้อมรอบตัวไรทันทีหลังจากทำสไลด์เรียบร้อยแล้ว เพื่อสะดวกในการหาตัวไรได้ง่ายขึ้น นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ cover glass ด้วยน้ำยา ทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บและพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

7. หากพบอาการผิดปกติที่อาจเกิดจากเชื้อสาเหตุโรคพืชจะนำมาจำแนกเชื้อสาเหตุจากชิ้นส่วนพืชใต้กล้องจุลทรรศน์ หรือแยกเชื้อบริสุทธิ์โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อจำแนกชนิดต่อไป

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

8. ติดตามตรวจสอบศัตรูพืชจากแหล่งกระจายสินค้า หรือแหล่งจำหน่ายสินค้า อย่างน้อย 10 ครั้ง โดยจัดซื้อผลแอปเปิ้ลมาตรวจสอบตามวิธีการข้อ 3-6

9. เตรียมตัวอย่างศัตรูพืชที่พบ เพื่อส่งจัดจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

10. จัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบ และสรุปผลการศึกษา

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกชนิดและลักษณะของศัตรูพืชที่ตรวจพบ

2. บันทึกภาพของศัตรูพืช และลักษณะอาการพืชที่ถูกทำลาย และเก็บตัวอย่างศัตรูพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

1. ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตรที่มีการนำเข้าผลแอปเปิ้ลสดจากญี่ปุ่น
   - ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ
   - ด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบัง
   - ด่านตรวจพืชลาดกระบัง
   - ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ
2. ห้องปฏิบัติการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
   - กลุ่มวิจัยการกักกันพืช
   - กลุ่มวิจัยโรคพืช
   - กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

การทดลองที่ 2.2 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับกุหลาบตัดดอกนำเข้าจากจีน (2559-2560)

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ วารสาร และ ซีดีรอม CABI
2. อุปกรณ์ในการตรวจศัตรูพืช เช่น แว่นขยาย กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) และcompound microscope
3. อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิม เข็มหมุดหัวกลม ไม้จัดรูปร่างแมลง ปากคีบ โหลชื้น ตู้อบแมลง ฯลฯ
4. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี ชุดตรวจสอบ
5. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่สารเคมีต่างๆ เช่น AGA, sodium hydroxide, potassium hydroxide, alcohol, hydrochloric acid, glacial acetic acid, xylene, carbolic acid, acid fuchsin, N-butyl alcohol, clove oil และ canada balsam บีคเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร แผ่นสไลด์แก้วและแผ่นแก้วปิดสไลด์
6. กล้องถ่ายภาพ
7. กุหลาบตัดดอกนำเข้า

สำนักวิชาการเกษตร

8. คู่มือการจำแนกแมลงศัตรูพืช คู่มือไม้ดอกไม้ประดับ คู่มือการจำแนกโรคพืช

วิธีการปฏิบัติการทดลอง

มีขั้นตอนและวิธีในดำเนินการการวิจัยดังต่อไปนี้

1. สืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย เช่น ชีววิทยา วิธีการตรวจและวิธีการกำจัด

2. สุ่มตัวอย่างไม้ตัดดอกนำเข้าจากจีน

ทำการสุ่มตัวอย่างไม้ตัดดอกนำเข้าจากจีน เพื่อตรวจสอบศัตรูพืชและการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืช โดยใช้เกณฑ์การสุ่มตัวอย่าง ดังนี้

ถ้าไม้ตัดดอกมีจำนวน 1- 5 กล่อง ตรวจทุกดอก

5-10 กล่อง ตรวจ 50% แต่ไม่น้อยกว่า 5 กล่อง ตรวจทุกดอก

11-20 กล่อง ตรวจอย่างน้อย 40% แต่ไม่น้อยกว่า 8 กล่อง ตรวจทุกดอก

มากกว่า 20 กล่อง ตรวจ 30% แต่ไม่น้อยกว่า 8 กล่อง ตรวจทุกดอก (Anonymous, 1968)

3. ตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบไม้ตัดดอกด้วยตาเปล่า แว่นขยาย สังเกตลักษณะ สี ผิว และรูปร่างว่ามีอะไรผิดปกติหรือไม่ มีรอยเจาะ หรือร่องการทำลายของไร และแมลงหรือไม่ มีเมล็ดวัชพืชหรือสิ่งเจือปนอื่นๆ หรือไม่ และจึงนำไม้ตัดดอกที่สุ่มได้นำไปตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4. ตรวจสอบและจำแนกชนิดศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ เช่นเชื้อรา ตรวจด้วยวิธี Moist chamber แยกเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราโดยวิธี tissue transplanting

บันทึกรายละเอียดของโรค แมลงและไรศัตรูพืชที่ตรวจพบภายใต้แว่นขยาย กล้องสเตอริโอ และกล้องจุลทรรศน์ รวมทั้งข้อมูลอื่นๆ ได้แก่ พบบนส่วนใดของพืช ลักษณะการทำลาย วัน เดือน ปี สถานที่เก็บ พร้อมการถ่ายภาพ

5. จำแนกกลุ่มของแมลงโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology)

6. จัดเตรียมตัวอย่างแมลงและไรศัตรูพืช

ทำการจัดเตรียมตัวอย่างแมลงและไรศัตรูพืช โดยขั้นตอนดังต่อไปนี้

6.1 นำตัวอย่างแมลงที่เก็บรวบรวมได้มาจัดรูปร่าง (set) บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) ตัวอย่างแมลงโดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณด้านหน้าตรงมุมของปีกขวา (บริเวณมุมที่ปีกจรดกัน) ใช้ปากคีบจัดขาทั้งสามคู่ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดินโดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด ตัวเต็มวัยขนาด เช่น เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดด และด้วงที่มีขนาดเล็กให้ติดลงบนกระดาษรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 30 – 60 วัน ขึ้นกับขนาดของแมลง

6.2 นำตัวอย่างแมลงในกลุ่มปากดูด เช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอย มาทำสไลด์ถาวรตามวิธีการของแมลงแต่ละชนิดโดยอ้างอิงวิธีการของ ศิริณี และ ลักขณา (2554) แล้วนำสไลด์ที่ได้ไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 - 50 องศาเซลเซียส ประมาณ 1 - 2 เดือน นำตัวอย่างสไลด์ที่ได้ไปตรวจจำแนกชนิด บันทึกรายละเอียดเกี่ยวกับพืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง บนแผ่นสไลด์ที่อบแห้งแล้ว

6.3 ทำสไลด์ถาวรไรศัตรูพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้

ชัดเจน โดยจัดท่าทางของไรให้อยู่ในท่าคว่ำและท่าตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะต่างๆที่ใช้ในการจำแนก จากนั้นปิดสไลด์ด้วย cover glass ใช้ปากกาเขียนแก้ววงกลมล้อมรอบตัวไรทันทีหลังจากทำสไลด์เรียบร้อยแล้ว เพื่อสะดวกในการหาตัวไรได้ง่ายขึ้น นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ cover glass ด้วยน้ำยา ทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บและพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

7. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้าในแหล่งจัดจำหน่าย

8. จัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบและสรุปผลการศึกษา

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกชนิดและลักษณะของศัตรูพืชที่ตรวจพบ

2. บันทึกภาพศัตรูพืช อาการที่พบที่เกิดจากการเข้าทำลายจากเชื้อโรคและศัตรูพืช และเก็บตัวอย่างศัตรูพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

1. ด่านตรวจพืชเชียงของ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

2. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

การทดลองที่ 2.3 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับผลองุ่นสดนำเข้าจากจีน (2561-2562)

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ และวารสาร

2. อุปกรณ์ในการตรวจศัตรูพืช เช่น แว่นขยาย กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope

3. อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิม เข็มหมุดหัวกลม ไม้จัดรูปร่างแมลง ปากคีบ โหลชี้น ตู้อบแมลง ฯลฯ

4. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี ชุดตรวจสอบ

5. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่สารเคมีต่างๆ เช่น AGA, sodium hydroxide, potassium hydroxide, alcohol, hydrochloric acid, glacial acetic acid, xylene, carbolic acid, acid fuchsin, N-butyl alcohol, clove oil และ canada balsam

บีคเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร แผ่นสไลด์แก้วและแผ่นแก้วปิดสไลด์

6. กล้องถ่ายภาพ

7. ผลองุ่นนำเข้า

8. คู่มือการจำแนกศัตรูพืช

วิธีการปฏิบัติการทดลอง

มีขั้นตอนและวิธีในดำเนินการการวิจัยดังต่อไปนี้

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย เช่น ชีววิทยา วิธีการตรวจ และวิธีการกำจัดศัตรูพืช

กรมวิชาการเกษตร

2. สุ่มตัวอย่างผลอุ่นสดจากด่านตรวจพืช โดยทำการสุ่มตัวอย่างพวงอุ่น อย่างน้อย 20 ครั้ง (20 shipments) โดยวิธีการสุ่มตามมาตรฐานของ Whyte (2009) ดังนี้

- นำเข้าจำนวนน้อยกว่า 1,000 พวง สุ่มตัวอย่างจำนวน 450 พวง หรือทั้งหมด
- นำเข้าจำนวน 1,000 พวง หรือมากกว่า สุ่มตัวอย่างจำนวน 600 พวง

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบด้วยตาเปล่า หรือใช้แว่นขยาย สังเกตลักษณะอาการผิดปกติ ที่อาจเกิดจากเชื้อสาเหตุโรค เช่น อาการเน่า แผลจุด รอยเจาะของแมลง ไข่ หรือตัวอ่อนของแมลง ไร และเมล็ดวัชพืชที่ติดมา โดยตรวจสอบภายนอกผลหรือผ่าดูภายในผล

4. หากพบแมลง ไร หอย หรือวัชพืช จะตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) และสูงถ่ายภาพ และบันทึกรายละเอียด ขนาด รูปร่างลักษณะ และสีของศัตรูพืช

5. จำแนกกลุ่มของแมลงโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology)

6. จัดเตรียมตัวอย่างแมลง และไร

6.1 นำตัวอย่างแมลงที่เก็บรวบรวมได้มาจัดรูปร่าง (set) บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) ตัวอย่างแมลงโดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณด้านหน้าตรงมุมของปีกขวา (บริเวณมุมที่ปีกจรดกัน) ใช้ปากคีบจัดขาทั้งสามคู่ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดินโดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด ตัวเต็มวัยขนาด เช่น เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดด และด้วงที่มีขนาดเล็กให้ติดลงบนกระดาษรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 30 – 60 วัน ขึ้นกับขนาดของแมลง

6.2 นำตัวอย่างแมลงในกลุ่มปากดูด เช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอย มาทำสไลด์ถาวรตามวิธีการของแมลงแต่ละชนิดโดยอ้างอิงวิธีการของ ศิริณี และ ลักขณา (2554) แล้วนำสไลด์ที่ได้ไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส ประมาณ 1-2 เดือน นำตัวอย่างสไลด์ที่ได้ไปตรวจจำแนกชนิด บันทึกรายละเอียดเกี่ยวกับพืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง บนแผ่นสไลด์ที่อบแห้งแล้ว

6.3 ทำสไลด์ถาวรไรศัตรูพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้ชัดเจน โดยจัดท่าทางของไรให้อยู่ในท่าคว่ำและท่าตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะต่างๆที่ใช้ในการจำแนก จากนั้นปิดสไลด์ด้วย cover glass ใช้ปากกาเขียนแก้ววงกลมล้อมรอบตัวไรทันทีหลังจากทำสไลด์เรียบร้อยแล้ว เพื่อสะดวกในการหาตัวไรได้ง่ายขึ้น นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ cover glass ด้วยน้ำยาทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บและพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

7. หากพบอาการผิดปกติที่อาจเกิดจากเชื้อสาเหตุโรคพืชจะนำมาจำแนกเชื้อสาเหตุจากชิ้นส่วนพืชใต้กล้องจุลทรรศน์ หรือแยกเชื้อบริสุทธิ์โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อจำแนกชนิดต่อไป

8. ติดตามตรวจสอบศัตรูพืชจากแหล่งกระจายสินค้า หรือแหล่งจำหน่ายสินค้า อย่างน้อย 10 ครั้ง โดยจัดซื้อผลอุ่นมาตรวจสอบตามวิธีการข้อ 3-6

9. เตรียมตัวอย่างศัตรูพืชที่พบ เพื่อส่งจัดจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

10. จัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบ และสรุปผลการศึกษา

กรมวิชาการเกษตร

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกชนิดและลักษณะของศัตรูพืชที่ตรวจพบ

2. บันทึกภาพของศัตรูพืช ลักษณะอาการพืชที่ถูกทำลายและเก็บตัวอย่างศัตรูพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

สถานที่ทำการทดลอง/ เก็บข้อมูล

1. ด่านตรวจพืชเชียงของ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตรที่มีการนำเข้าผลอ่นสดจากจีน

2. ห้องปฏิบัติการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

- กลุ่มวิจัยการกักกันพืช
- กลุ่มวิจัยโรคพืช
- กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

การทดลองที่ 2.4 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับกุหลาบตัดดอกนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ (2563-2564)

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ วารสาร และ ซีดีรอม CABI

2. อุปกรณ์ในการตรวจศัตรูพืช เช่น แว่นขยาย กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope

3. อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิม เข็มหมุดหัวกลม ไม้จัดรูปร่างแมลง ปากคีบ โหลชื้น ตู้อบแมลง ฯลฯ

4. สารเคมีและวัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ ชุดตรวจสอบ

5. กุหลาบตัดดอกนำเข้า

วิธีปฏิบัติการทดลอง

มีขั้นตอนและวิธีในดำเนินการการวิจัยดังต่อไปนี้

1. สืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย เช่น ชีววิทยา วิธีการตรวจและวิธีการกำจัด (2563)

2. สุ่มตัวอย่างกุหลาบตัดดอกนำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ (2563-2564)

สุ่มตัวอย่างกุหลาบตัดดอกนำเข้าจากจีน เพื่อตรวจสอบศัตรูพืช โดยใช้มาตรฐาน ISPM No.31 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังนี้

จำนวนดอกที่นำเข้า	จำนวนดอกที่สุ่ม
100	45
200	51
300	54
400	55
500 –600	56
700 – 1,000	57

กรมวิชาการเกษตร

2,000 – 4,000	58
มากกว่า 5,000	59

3. ตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบกุหลาบตัดดอกด้วยตาเปล่า แว่นขยาย สังเกตลักษณะ สี ผิว และรูปร่างว่ามีอะไรผิดปกติหรือไม่ มีรอยเจาะ หรือร่องการทำลายของไร และแมลงหรือไม่ มีเมล็ดวัชพืชหรือสิ่งเจือปนอื่นๆหรือไม่ และจึงนำไม้ตัดดอกที่สุ่มได้นำไปตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ
4. ตรวจสอบและจำแนกชนิดศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ เช่นเชื้อรา *Leveillula taurica, Phytophthora cryptogea* ตรวจด้วยวิธี Moist chamber แบคทีเรีย Pseudomonas cichorii และแยกเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราโดยวิธี tissue transplanting บันทึกรายละเอียดของโรค แมลงและไรศัตรูพืชที่ตรวจพบภายใต้แว่นขยาย กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์ รวมทั้งข้อมูลอื่นๆ ได้แก่ พบบนส่วนใดของพืช ลักษณะการทำลาย วัน เดือน ปี สถานที่เก็บ พร้อมการถ่ายภาพ
5. จำแนกกลุ่มของแมลงโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology)
6. จัดเตรียมตัวอย่างแมลงและไรศัตรูพืช ทำการจัดเตรียมตัวอย่างแมลงและไรศัตรูพืช โดยขั้นตอนดังต่อไปนี้

6.1 นำตัวอย่างแมลงที่เก็บรวบรวมได้มาจัดรูปร่าง (set) บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) ตัวอย่างแมลงโดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณด้านหน้าตรงมุมของปีกขวา (บริเวณมุมที่ปีกจรดกัน) ใช้ปากคีบจัดขาทั้งสามคู่ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดินโดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด ตัวเต็มวัยขนาด เช่น เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดด และด้วงที่มีขนาดเล็กให้ติดลงบนกระดาษรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 30 – 60 วัน ขึ้นกับขนาดของแมลง

6.2 นำตัวอย่างแมลงในกลุ่มปากดูด เช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอย มาทำสไลด์ถาวรตามวิธีการของแมลงแต่ละชนิดโดยอ้างอิงวิธีการของ ศิริณี และ ลักขณา (2554) แล้วนำสไลด์ที่ได้ไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส ประมาณ 1-2 เดือน นำตัวอย่างสไลด์ที่ได้ไปตรวจจำแนกชนิด บันทึกรายละเอียดเกี่ยวกับพืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง บนแผ่นสไลด์ที่อบแห้งแล้ว

6.3 ทำสไลด์ถาวรไรศัตรูพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้ชัดเจน โดยจัดท่าทางของไรให้อยู่ในท่าคว่ำและท่าตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะต่างๆที่ใช้ในการจำแนก จากนั้นปิดสไลด์ด้วย cover glass ใช้ปากกาเขียนแก้ววงกลมล้อมรอบตัวไรทันทีหลังจากทำสไลด์เรียบร้อยแล้ว เพื่อสะดวกในการหาตัวไรได้ง่ายขึ้น นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ cover glass ด้วยน้ำยา ทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บและพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

7. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้าในแหล่งจัดจำหน่าย
8. จัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบและสรุปผลการศึกษา

การบันทึกข้อมูล

1. ชนิดและลักษณะของศัตรูพืชที่ตรวจพบ

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

2. ภาพศัตรูพืช อาการที่พบที่เกิดจากการเข้าทำลายจากเชื้อโรคและศัตรูพืช และเก็บตัวอย่างศัตรูพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

ระยะเวลาดำเนินการ

เริ่มงานวิจัย ตุลาคม 2562 ถึง กันยายน 2564

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

1. ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

- ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานภูเก็ต

2. ห้องปฏิบัติการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

- กลุ่มวิจัยการกักกันพืช
- กลุ่มวิจัยโรคพืช
- กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

3. แหล่งจำหน่าย จังหวัดภูเก็ต

การทดลองที่ 2.5 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับผลมังคุดสดจากสาธารณรัฐอินโดนีเซีย (2561-2562)

(ยกเลิกงานวิจัย เนื่องจากไทยยกเลิกการนำเข้าผลมังคุดสด)

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ และวารสาร
2. อุปกรณ์ในการตรวจศัตรูพืช เช่น แว่นขยาย กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope
3. อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิม เข็มหมุดหัวกลม ไม้จัดรูปร่างแมลง ปากคีบโหลชั้น ตู้อบแมลง ฯลฯ
4. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี ชุดตรวจสอบ
5. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่สารเคมีต่างๆ เช่น AGA, sodium hydroxide, potassium hydroxide, alcohol, hydrochloric acid, glacial acetic acid, xylene, carbolic acid, acid fuchsin, N-butyl alcohol, clove oil และ canada balsam บีคเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร แผ่นสไลด์แก้วและแผ่นแก้วปิดสไลด์
6. กล้องถ่ายภาพ
7. ผลมังคุดนำเข้า
8. คู่มือการจำแนกศัตรูพืช

วิธีการปฏิบัติการทดลอง

มีขั้นตอนและวิธีในดำเนินการการวิจัยดังต่อไปนี้

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย เช่น ชีววิทยา วิธีการตรวจ และวิธีการกำจัดศัตรูพืช

ศรีวิชาการเกษตร

2. สุ่มตัวอย่างผลมังคุดสดจากด่านตรวจพืช โดยทำการสุ่มตัวอย่างผลมังคุดสด อย่างน้อย 20 ครั้ง (20 shipments) โดยวิธีการสุ่มตามมาตรฐานของ Whyte (2009) ดังนี้

- นำเข้าจำนวนน้อยกว่า 1,000 ผล สุ่มตัวอย่างจำนวน 450 ผล หรือทั้งหมด
- นำเข้าจำนวน 1,000 ผล หรือมากกว่า สุ่มตัวอย่างจำนวน 600 ผล

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบด้วยตาเปล่า หรือใช้แว่นขยาย สังเกตลักษณะอาการผิดปกติ ที่อาจเกิดจากเชื้อสาเหตุโรค เช่น อาการเน่า แผลจุด รอยเจาะของแมลง ไข่ หรือตัวอ่อนของแมลง ไร และเมล็ดวัชพืชที่ติดมา โดยตรวจสอบภายนอกผลหรือผ่าดูภายในผล

4. หากพบแมลง ไร หอย หรือวัชพืช จะตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและสูงถ่ายภาพ และบันทึกรายละเอียด ขนาด รูปร่างลักษณะ และสีของศัตรูพืช

5. จำแนกกลุ่มของแมลงโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology)

6. จัดเตรียมตัวอย่างแมลงและไรโดย

6.1 นำตัวอย่างแมลงที่เก็บรวบรวมได้มาจัดรูปร่าง (set) บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) ตัวอย่างแมลงโดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณด้านหน้าตรงมุมของปีกขวา (บริเวณมุมที่ปีกจรดกัน) ใช้ปากคีบจัดขาทั้งสามคู่ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดินโดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด ตัวเต็มวัยขนาด เช่น เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดด และด้วงที่มีขนาดเล็กให้ติดลงบนกระดาษรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 30 – 60 วัน ขึ้นกับขนาดของแมลง

6.2 นำตัวอย่างแมลงในกลุ่มปากดูด เช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอย มาทำสไลด์ถาวรตามวิธีการของแมลงแต่ละชนิดโดยอ้างอิงวิธีการของ ศิริณี และ ลักขณา (2554) แล้วนำสไลด์ที่ได้ไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส ประมาณ 1-2 เดือน นำตัวอย่างสไลด์ที่ได้ไปตรวจจำแนกชนิด บันทึกรายละเอียดเกี่ยวกับพืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง บนแผ่นสไลด์ที่อบแห้งแล้ว

6.3 ทำสไลด์ถาวรไรศัตรูพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereo microscope หยด Hoyer’s solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้ชัดเจน โดยจัดท่าทางของไรให้อยู่ในท่าคว่ำและท่าตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะต่างๆที่ใช้ในการจำแนก จากนั้นปิดสไลด์ด้วย cover glass ใช้ปากกาเขียวแก้ววงกลมล้อมรอบตัวไรทันทีหลังจากทำสไลด์เรียบร้อยแล้ว เพื่อสะดวกในการหาตัวไรได้ง่ายขึ้น นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ cover glass ด้วยน้ำยาทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บและพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

7. หากพบอาการผิดปกติที่อาจเกิดจากเชื้อสาเหตุโรคพืชจะนำมาจำแนกเชื้อสาเหตุจากชิ้นส่วนพืชใต้กล้องจุลทรรศน์ หรือแยกเชื้อบริสุทธิ์โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อจำแนกชนิดต่อไป

7.1 การตรวจตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา

7.1.1 ตรวจดูลักษณะอาการของโรค

เมื่อเชื้อราเข้าทำลายพืช ก็จะมีการสร้างส่วนเจริญ และส่วนขยายพันธุ์บนพืช ซึ่งสามารถตรวจดูได้ด้วยตาเปล่า หรือใช้แว่นขยาย และตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope

7.1.2 การตรวจหาสาเหตุของโรค

ใช้เข็มเขี่ยส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อ ส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ได้เลย หรือตัดชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคให้บาง ๆ (section) และตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope

7.1.3 การบ่มส่วนที่เป็นโรค (incubation)

นำใบพืชที่เป็นโรควางบนกระดาษกรองและเติมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ลงบนกระดาษ เพื่อให้ความชื้น บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส นาน 1-3 วัน และตรวจดูลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนแผลภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ และนำไปเตรียมสไลด์เพื่อศึกษาลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound

7.1.4 การเตรียมสไลด์ เพื่อตรวจดูเชื้อรา

- การเตรียมสไลด์ชั่วคราว เตรียมโดยวางชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคจากการ section หรือส่วนของเชื้อราที่เขี่ยออกมา ลงบน mounting medium หรือหยดน้ำบนสไลด์ แล้วปิดทับด้วย cover slips นำไปตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์

- การเตรียมสไลด์ถาวร ปฏิบัติเช่นเดียวกันแต่ใช้ lactophenol หรือ Shear's solution หรือย้อมสีด้วย cotton blue, acid fushcin และ seal cover slip ด้วยยาทาเล็บ จะสามารถเก็บไว้ศึกษาได้นานหลายเดือน

7.1.5 การแยกเชื้อราจากชิ้นส่วนผลมังคุด (Tissue transplanting)

ตัดชิ้นส่วนผลมังคุดที่คาบเกี่ยวกันระหว่างส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติขนาด 3x3 มิลลิเมตร แช่ลงใน clorox 10% นาน 3-5 นาที เพื่อฆ่าเชื้อที่ผิวรอบนอก และนำมาซับด้วยกระดาษทิชชูที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วให้แห้งสนิท และวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ และจะต้องผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ด้วยอุณหภูมิและความดันไอน้ำที่แน่นอน อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ได้แก่ potato dextrose agar (PDA), ½ potato dextrose agar, corn meal agar (CMA), malt extract agar (MEA), carrot agar (CA), V-8 juice agar (V-8), water agar (WA) และ selective media ได้แก่ RNV, BNPRV และบางชนิดอาจจะเติมสารปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย หลังจากวางชิ้นส่วนพืชลงบนอาหารแล้ว บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส นาน 1-5 วัน แล้วแต่ชนิดของเชื้อ เมื่อเส้นใยเจริญออกมา ให้ตัดปลายเส้นใยของเชื้อราเจริญออกมาจากชิ้นส่วนพืช และเลี้ยงบนอาหาร แยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และนำไปจำแนกชนิดของเชื้อราต่อไป โดยเขี่ยเส้นใยลงบน mounting medium หรือหยดน้ำบนสไลด์ แล้วปิดทับด้วย cover slips นำไปตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์

7.1.6 การชักนำให้เชื้อราสร้างสปอร์

เชื้อราบางชนิดสร้างแต่เส้นใย ทำให้ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ ดังนั้นจะต้องชักนำให้เชื้อราสร้างสปอร์ โดยวางไว้ภายใต้แสง ultraviolet หรือเลี้ยงบนอาหาร CMA หรือ WA เป็นต้น

7.1.7 การจำแนกชนิดของเชื้อรา

โดยศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา ได้แก่ลักษณะโคโลนีบนอาหาร ลักษณะเส้นใยเป็น non septate หรือ septate ลักษณะของส่วนขยายพันธุ์ สีเส้นใย สีสปอร์ และจำแนกชนิดโดยใช้คู่มือ (Barnett and Hunter, 1998; Ellis, 1971;1993 ; Hanlin, 1990; 1998)

ศูนย์วิทยทรัพยากร

7.2 การตรวจตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

แยกจากส่วนของพืชที่มีอาการของโรค ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 4 ตร.มม. ระหว่างรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แต่ละชิ้นตัวอย่างนำมาล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70% นาน 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งแล้ว 3 ครั้ง หลังจาก surface sterilize แล้วนำมาบดในน้ำกลั่น ใช้ loop จุ่มในพืชที่บด นำมา streak บนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PSA (Potato Semisynthetic Agar) หลังจากนั้นเก็บจานเลี้ยงเชื้อในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง แล้วเก็บโคโลนี ทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธี streak plate หลาย ๆ ครั้ง เก็บ single colony เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และจำแนกลักษณะสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชตามคุณสมบัติทางชีวเคมีและฟิสิกส์โดย

1) ศึกษาข้อมูลพื้นฐานของเชื้อ ศึกษาคุณสมบัติต่างๆทางชีวเคมีและฟิสิกส์ของเชื้อแบคทีเรีย (Schaad *et al*., 2001)

2) ทำการวิเคราะห์ด้วยระบบ Biolog system (Biolog, Itayward, Calif.) เพื่อจัดจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้คุณสมบัติการใช้ organic test substrates 95 ชนิด ของแต่ละชนิดเชื้อ เทียบกับฐานข้อมูลที่ได้มีการจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียไว้เรียบร้อยแล้ว

8. ติดตามตรวจสอบศัตรูพืชจากแหล่งกระจายสินค้า หรือแหล่งจำหน่ายสินค้า โดยจัดซื้อผลมังคุดมาตรวจสอบตามวิธีการข้อ 3-6

9. เตรียมตัวอย่างศัตรูพืชที่พบ เพื่อส่งจัดจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

10. จัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบ และสรุปผลการศึกษา

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกชนิดและลักษณะของศัตรูพืชที่ตรวจพบ

2. บันทึกภาพของศัตรูพืช และลักษณะอาการพืชที่ถูกทำลาย และเก็บตัวอย่างศัตรูพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

ระยะเวลาดำเนินการ

เริ่มงานวิจัย ตุลาคม 2560 ถึง กันยายน 2562

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

1. ห้องปฏิบัติการของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. ด่านตรวจพืช เช่น ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานดอนเมือง ด่านตรวจพืชแหลมฉบัง ด่านตรวจพืชสะเดาสำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 2.6 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับผลแอปเปิลสดนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน (2564)

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ และวารสาร

กรมวิชาการเกษตร

2. อุปกรณ์ในการตรวจศัตรูพืช เช่น แว่นขยาย กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope

3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เตาไฟฟ้า บีคเกอร์ หลอดทดลอง กล่องพลาสติก ตะเกียงแอลกอฮอล์ ใบมีดโกน แผ่นสไลด์ แผ่นปิดสไลด์ สำลี เป็นต้น

4. อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิม เข็มหมุดหัวกลม ไม้จัดรูปร่างแมลง ปากคีบ ตู้อบแมลง

5. อุปกรณ์และสารเคมีใช้ในการทำสไลด์ถาวร เช่น sodium hydroxide, potassium hydroxide 10%, alcohol hydrochloric acid, glacial acetic acid, xylene, carbolic acid, acid fuchsin, N-butyl alcohol, clove oil, canada balsam, Hoyer's solution ตู้อบสไลด์ถาวร และกล่องใส่สไลด์ถาวร เป็นต้น

6. กล้องถ่ายภาพ

7. ผลแอปเปิลสดจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ที่นำเข้า ณ ด่านตรวจพืชเชียงของ

วิธีการปฏิบัติการทดลอง

มีขั้นตอนและวิธีในดำเนินการการวิจัยดังต่อไปนี้

1. สืบค้นข้อมูลศัตรูพืชของแอปเปิล โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแอปเปิลที่มีแหล่งกำเนิดจากสาธารณรัฐประชาชนจีน เช่น ลักษณะทางชีววิทยา พืชอาศัย และการควบคุมศัตรูพืชจากฐานข้อมูล ตำราวิชาการ วารสารทางวิชาการทั้งในประเทศและต่างประเทศ

2. สุ่มตัวอย่างผลแอปเปิลสดนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ณ ด่านตรวจพืชเชียงของ

สุ่มตัวอย่างผลแอปเปิล อย่างน้อย 20 ครั้ง (20 shipments) โดยมีวิธีการสุ่มตัวอย่างตาม Whyte (2009) ดังนี้

- นำเข้าจำนวนน้อยกว่า 1,000 ผล สุ่มตัวอย่างจำนวน 450 ผล หรือทั้งหมด
- นำเข้าจำนวน 1,000 ผล หรือมากกว่า สุ่มตัวอย่างจำนวน 600 ผล

3. ตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยมองด้วยตาเปล่า ใช้แว่นขยาย หรือกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เพื่อสังเกตลักษณะ สี ผิว และรูปร่าง รวมทั้งความผิดปกติ หรือร่องรอยการเข้าทำลายของโรคและแมลงศัตรูพืช แล้วจึงนำผลแอปเปิลสดที่สุ่มได้ไปตรวจสอบในขั้นตอนต่อไป

4. ตรวจสอบและจำแนกศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการ

4.1 ตรวจสอบและจำแนกโรคพืชที่มีสาเหตุจากเชื้อรา

4.1.1 ตรวจสอบและจำแนกโรคพืชด้วยวิธี Moist chamber จากนั้นใช้เข็มเขี่ย เขี่ยส่วนของเชื้อมาวางในน้ำกลั่นที่หยดไว้บนแผ่นสไลด์ ปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope และบันทึกลักษณะของเชื้อที่พบ หรือ ใช้วิธีการตัดขวางส่วนที่เป็นโรค (Cross-section, X-section, Freehand section) โดยนำส่วนของพืชที่เป็นโรคตัดเป็นชิ้นสี่ให้มีขนาดเล็กกว่าแผ่นกระจกสไลด์แล้วนำมาวางบนแผ่นสไลด์ จากนั้นนำแผ่นสไลด์อีกแผ่นมาวางทับลงบนชิ้นพืช โดยให้ขอบของแผ่นสไลด์และขอบของชิ้นพืชเหลื่อมกันเล็กน้อย ใช้ใบมีดโกนตัดสไลด์ชิ้นพืชให้บางที่สุด แล้วนำชิ้นพืชที่ได้มาวางบนน้ำกลั่น ที่หยดไว้บน

ศรีวิชาการเกษตร

กระจกสไลด์ ปิดด้วย Cover glass ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope และบันทึกลักษณะของเชื้อที่พบ

4.1.2 ทำการจัดจำแนกชนิดของศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการ หรือส่งตัวอย่างศัตรูพืชให้สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เพื่อระบุชนิด จากนั้นบันทึกรายละเอียดของโรคที่ตรวจพบ รวมทั้งข้อมูลอื่น ๆ ได้แก่ ส่วนของพืชที่พบ ลักษณะการทำลาย วัน เดือน ปี และสถานที่ที่ตรวจพบ รวมทั้งชื่อผู้เก็บตัวอย่างและชื่อผู้ระบุชนิดศัตรูพืช พร้อมบันทึกภาพ

4.2 ตรวจสอบและจำแนกแมลงและไรศัตรูพืช

4.2.1 ทำการจัดเตรียมตัวอย่างแมลงและไรศัตรูพืช โดยขั้นตอนดังต่อไปนี้

1) เก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงที่ตรวจพบ แล้วนำมามาจัดรูปร่างบนไม้จัดรูปร่าง โดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณด้านหน้าตรงมุมของปีกขวา ตัวเต็มวัยและด้วงที่มีขนาดเล็กให้ติดลงบนกระดาษรูปสามเหลี่ยม จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง แล้วนำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง ที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลา 30 – 60 วัน ทั้งนี้ เวลาในการอบขึ้นอยู่กับขนาดของแมลง

2) นำตัวอย่างแมลงในกลุ่มแมลงปากดูดมาทำสไลด์ถาวร โดยอ้างอิงวิธีการของ ศิริณี และลักขณา (2554) แล้วนำสไลด์ที่ได้ไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลา 1-2 เดือน จากนั้นจึงนำตัวอย่างสไลด์ที่ได้ไปตรวจเพื่อจำแนกชนิด บันทึกรายละเอียดที่เกี่ยวกับพืชอาศัย วัน เดือน ปี และสถานที่ที่ตรวจพบ รวมทั้งชื่อผู้เก็บตัวอย่าง บนแผ่นสไลด์ที่อบแห้งแล้ว

3) ทำสไลด์ถาวรไรศัตรูพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด แล้วใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยา จากนั้นจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่สามารถมองเห็นส่วนต่าง ๆ ได้อย่างชัดเจน ในการตรวจดูลักษณะต่าง ๆ เพื่อจำแนกชนิด ให้จัดท่าทางของไรให้อยู่ในลักษณะคว่ำและตะแคงข้าง จากนั้นปิดสไลด์ด้วยแผ่นปิดสไลด์ และนำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาประมาณ 1 สัปดาห์ เมื่อสไลด์แห้งแล้ว จึงผนึกขอบแผ่นปิดสไลด์ด้วยน้ำยาทาเล็บ และบันทึกรายละเอียดที่เกี่ยวกับพืชอาศัย วัน เดือน ปี และสถานที่ที่ตรวจพบ รวมทั้งชื่อผู้เก็บตัวอย่าง บนแผ่นสไลด์ที่อบแห้งแล้วบริเวณมุมขวา

4.2.2 ทำการจัดจำแนกชนิดของแมลงและไรศัตรูพืช หรือส่งตัวอย่างศัตรูพืชให้สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เพื่อระบุชนิด จากนั้นบันทึกรายละเอียดของแมลงและไรศัตรูพืชที่ตรวจพบ รวมทั้งข้อมูลอื่น ๆ ได้แก่ ส่วนของพืชที่พบ ลักษณะการทำลาย วัน เดือน ปี และสถานที่ที่ตรวจพบ รวมทั้งชื่อผู้เก็บตัวอย่างและชื่อผู้ระบุชนิดศัตรูพืช พร้อมบันทึกภาพ

5. จัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบและสรุปผลการศึกษา

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกชนิดและลักษณะของศัตรูพืชที่ตรวจพบ

2. บันทึกภาพศัตรูพืช อาการที่พบที่เกิดจากการเข้าทำลายจากเชื้อโรคและศัตรูพืช และเก็บตัวอย่างศัตรูพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

ระยะเวลาดำเนินการ

กรมวิชาการเกษตร

เริ่มต้น ตุลาคม 2563 สิ้นสุด กันยายน 2564

สถานที่ดำเนินการ

1. สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

- ลานตรวจสินค้าขาเข้า และห้องปฏิบัติการ ด่านตรวจพืชเชียงของ

2. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

- ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยโรคพืช

- ห้องปฏิบัติการ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

ผลการวิจัย (Results)

การทดลองที่ 2.1 ชนิดของศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับผลแอปเปิ้ลสดนำเข้าจากญี่ปุ่น (2559–2560)

สถิติการนำเข้าแอปเปิ้ลจากญี่ปุ่น ปี 2559-2560

No.	ด่านตรวจพืชที่นำเข้า	จำนวน shipment	ปริมาณ (กก.)	มูลค่า (บาท)
1	ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ	22	18,430.00	2,438,872.50
2	ด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบัง	104	185,795.50	41,024,142.77
3	ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ	122	7,735.50	3,230,684.87
4	ด่านตรวจพืชลาดกระบัง	125	54,255.00	9,897,993.22
รวม		**373**	**266,216.00**	56,591,693.36

ศัตรูพืชที่ตรวจพบ ปี 2559-2560

No.	ด่านตรวจพืชที่นำเข้า	การตรวจพบศัตรูพืช (ครั้ง)			
		ไร	เพลี้ยอ่อน	ไข่ไร	ดักแด้แมลง
1	ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ	1	-	-	-
2	ด่านตรวจพืชท่าเรือแหลมฉบัง	-	-	-	-
3	ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ	-	-	-	-
4	ด่านตรวจพืชลาดกระบัง	-	-	-	-
5	**จากแหล่งกระจายสินค้า**	**4**	**-**	**-**	**-**
รวม		**5**	**0**	**0**	**0**

กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 2.1.1 ตรวจสอบศัตรูพืชที่ติดมากับแอปเปิ้ลนำเข้าจากญี่ปุ่น

ภาพที่ 2.1.2 ลักษณะของผลแอปเปิ้ลที่นำเข้าจากญี่ปุ่น

ภาพที่ 2.1.3 แมลงและไรที่ติดมากับแอปเปิ้ลนำเข้าจากญี่ปุ่น

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 2.2 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับกุหลาบตัดดอกนำเข้าจากจีน (2559–2560)

การนำเข้ากุหลาบตัดดอกจากสาธารณรัฐประชาชนจีนผ่านด่านตรวจพืชเชียงของระหว่างปี 2559-2560 รวมจำนวน 535 shipment ตรวจพบศัตรูพืชทั้งหมด 1,288 ครั้ง แบ่งศัตรูพืชเป็น 3 กลุ่ม คือแมลงศัตรูพืช โรคพืช และไรศัตรูพืช โดยศัตรูพืชทั้งหมดพบ 8 ชนิด แบ่งเป็นแมลงศัตรูพืช 4 ชนิดคือเพลี้ยไฟ (Thrip : Thripidae) เพลี้ยอ่อน (Aphids : Aphididae) แมลงหวี่ขาว (White fly: *Bemisia tabaci* Gennadius) และหนอนเจาะดอก (: Pyralidae) โรคพืช 4 ชนิดคือ โรคราน้ำค้าง (*Peronospora* sp.) โรคดอกเน่าหรือโรคราสีเทา (Botrytis Blight) : *Botrytis* sp.) โรคราแป้ง (*Oidium* sp.) และราดำ ส่วนไร พบ 1 ชนิด คือไรสองจุด (Tetranychidae : *Tetranychus urticae* Kock) การตรวจพบศัตรูพืชทั้งหมด 535 ครั้ง และเมื่อเปรียบเทียบจากศัตรูพืช 3 กลุ่มข้างต้น พบไรศัตรูพืชและไข่ไรรวม 903 ครั้ง รองลงมาโรคพืชมากที่สุดคือ 328 ครั้ง และแมลงศัตรูพืช จำนวน 57 ครั้ง

เมื่อเปรียบเทียบศัตรูพืชทั้งหมด 8 ชนิด พบว่าไรสองจุด (Tetranychidae) ตรวจพบมากที่สุดคือ 903 ครั้ง รองลงมาคือโรคราน้ำค้าง (Peronospora sp.) 205 โรคดอกเน่าหรือโรคราสีเทา (Botrytis Blight): *Botrytis* sp.) 85 ครั้ง เพลี้ยไฟ (Thrip : Thripidae) 32 ครั้ง ดักแด้แมลงหวี่ขาว (White fly : *Bemisia tabaci* Gennadius) พบ 24 ครั้ง โรคราแป้ง (*Oidium* sp.) และโรคใบจุดดำ โรคแอนแทรกโนส (Anthracnose) พบ 23 ครั้ง หนอนเจาะดอก (Pyralidae) 1 ครั้ง (ตารางที่ 2.2.1)

ตารางที่ 2.2.1 ชนิดและปริมาณศัตรูพืชที่ตรวจพบในกุหลาบตัดดอกจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ณ ด่านตรวจพืชเชียงของระหว่างวันที่ 1 เดือนตุลาคม 2559 2559-31 มีนาคม 2560

ลำดับ	ศัตรูพืช	จำนวน
1	เพลี้ยไฟ (Thrip : Thripidae)	32
2	ไรสองจุด (Tetranychidae)	903
3	ไข่ไรสองจุด (Tetranychidae)	155
4	หนอนเจาะดอก (Pyralidae)	1
5	ดักแด้แมลงหวี่ขาว (White fly : *Bemisia tabaci* Gennadius)	24
6	โรคราน้ำค้าง (*Peronospora* sp.)	205
7	โรคราแป้ง (*Oidium* sp.)	23
8	โรคดอกเน่าหรือโรคราสีเทา (Botrytis Blight) : *Botrytis* sp.)	85
9	โรคใบจุดดำ โรคแอนแทรกโนส (Anthracnose)	15
	รวมการตรวจพบศัตรูพืช	1,288

กรมวิชาการเกษตร

ภาพการสุ่มกุหลาบตัดดอกเพื่อตรวจศัตรูพืช

ภาพที่ 2.2.1 การขนส่งและบรรจุภัณฑ์ไม้ตัดดอก

ภาพที่ 2.2.2 การสุ่มตัวอย่างไม้ตัดดอกเพื่อตรวจศัตรูพืช

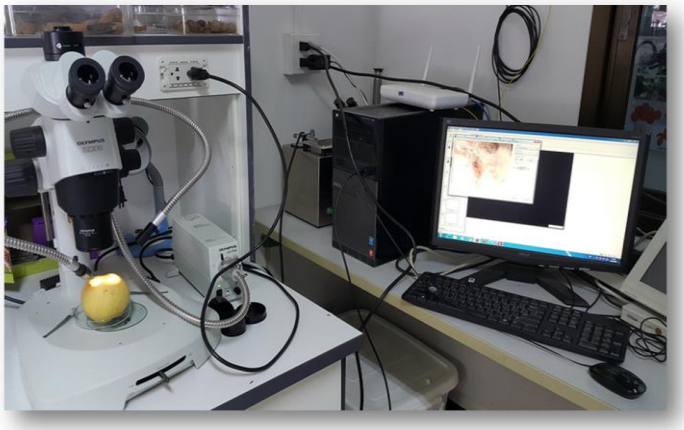
ภาพที่ 2.2.3 บรรจุภัณฑ์ไม้ตัดดอกนำเข้าผ่านด่านตรวจพืชเชียงของ

กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 2.2.4 ไม้ตัดดอกนำเข้าผ่านด่านตรวจพืชเชียงของ

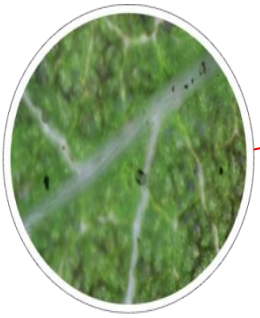
กรมวิชาการเกษตร

การตรวจศัตรูพืช



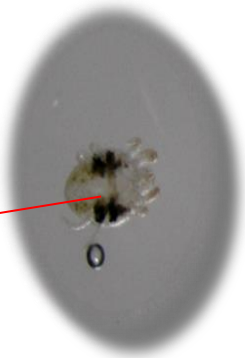
กรมวิชาการเกษตร

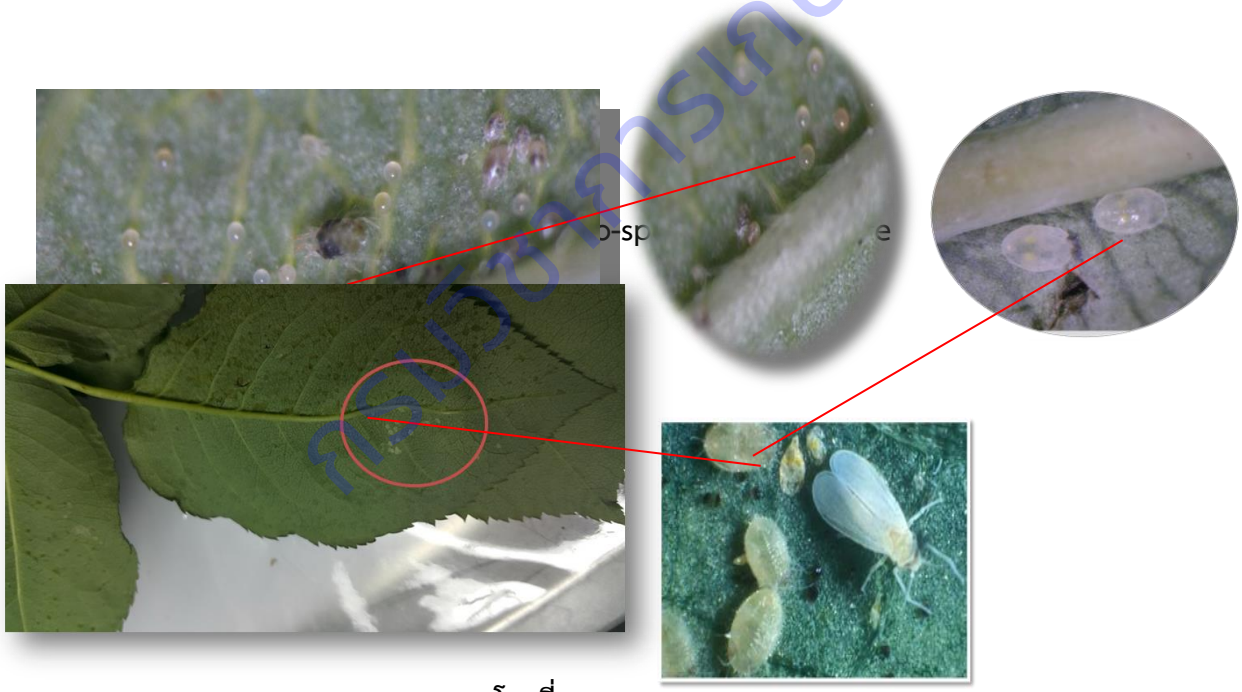
ดอกกุหลาบ



ตัวอย่างการเกษตร

:ไรสองจุด (Two-spotted spider mite)





โรคที่ตรวจพบ

แมลงหวี่ขาว (White fly : *Bemisia tabaci* Gennadius)

โรคราแป้ง (Powdery mildew)

โรคราน้ำค้าง (Powdery mildew)

โรคไหม้จากเชื้อราโบไทรทิส(Botrytis Blight)

โรคแอนแทรกโนส (Anthracnose)

Thripidae

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 2.3 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับผลอุ่นนำเข้าจากจีน (2561–2562)

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย

จากการสืบค้นข้อมูล พบว่าผลอุ่นที่นาเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนมีศัตรูพืชกักกัน 5 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยหอย *Aspidiotus nerii*, วัชพืช *Chenopodium album* เชื้อรา *Botryotinia fuckeliana*, *Guignardia bidwellii* และ *Elsinoë ampelina* (CABI, 2016)

2. สุ่มตัวอย่างผลผลอุ่น ตามวิธีการของ Whyte, 2009 มีวิธีการสุ่มดังนี้

จากการสุ่มตัวอย่างผลอุ่นสดนาเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ระหว่าง เดือนตุลาคม 2560-กันยายน 2562 จานวน 7,899 ตัวอย่าง ปริมาณรวม 131,880,396 กิโลกรัม มูลค่ารวม 3,635,584,334 ล้านบาท โดยนาเข้าปี 2561 จานวน 3,814 ตัวอย่าง ปริมาณ 69,319,920 กิโลกรัม มูลค่า 2,226,646,939 ล้านบาท คิดเป็น 47 เปอร์เซ็นต์การนาเข้า เปรียบเทียบในปี 2562 ซึ่งมีปริมาณการนาเข้ามากกว่า โดยมีจานวน 4,085 ตัวอย่าง ปริมาณ 62,560,475 กิโลกรัม มูลค่า 1,408,937,394 ล้านบาท คิดเป็น 53 เปอร์เซ็นต์ โดยนาเข้าเพิ่มขึ้น 6 เปอร์เซ็นต์ **(Table 2.3.1)**

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตริโอ ณ จุดนาเข้า

จากการศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับผลอุ่นนาเข้าจากจีน ณ จุดนาเข้า ระหว่างเดือนตุลาคม 2560 – เดือนกันยายน พ.ศ. 2562 ปริมาณทั้งสิ้น นาเข้าทั้งหมด 7,899 shipment ปริมาณ 131,880,396 กิโลกรัม มูลค่า 1,408,937,394 ล้านบาท นามาตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยสายตา (visual inspection) และภายใต้กล้องจุลทรรศน์กาลังขยายต่า (stereo microscope) ตรวจพบ หนอนแมลงวันผลไม้; *Bactocera dorsalis* 3 ครั้ง และเพลี้ยแป้ง 18 ครั้ง **(Table 2.3.2)** ระหว่างทาการศึกษาไม่พบศัตรูพืชกักกัน

4. การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดกับผลอุ่นนาเข้าจากจีนในห้องปฏิบัติการ

จากการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดกับผลอุ่นนาเข้าจากจีน ระหว่างเดือนตุลาคม 2560 –เดือนกันยายน พ.ศ. 2562 ปริมาณทั้งสิ้น นาเข้าทั้งหมด 7,899 shipment ปริมาณ 131,880,396 กิโลกรัม มูลค่า 1,408,937,394 ล้านบาท นามาตรวจสอบศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการ ตรวจพบเชื้อรา 6 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Alternaria alternata* 87 ครั้ง *Penicilium* sp. 51 ครั้ง *Cladosporium* sp. 54 ครั้ง ราแป้ง; *Oidium* sp.11 ครั้ง แอนแทรกโนส; *Collectotrichum gloeosporioides* 9 ครั้ง และเชื้อรา *Nigrospora* sp. 1 ครั้ง **(Table 2.3.2)** ระหว่างทาการศึกษาไม่พบศัตรูพืชกักกัน ซึ่งศัตรูพืชแต่ละชนิดมีรายละเอียดเบื้องต้นดังนี้

1. เชื้อรา *Alternaria alternata* เป็นเชื้อสาเหตุของโรคพืชที่ทาให้อุ่นเป็นจุดสีน้าตาลเล็กๆ เกิดกระจัดกระจายทั่วไป เชื้อราเจริญ บนผลอุ่นที่เริ่มแก่แสดงอาการเป็นจุดนูนเล็ก ๆ สีดา (fly speck) เมื่อแตะดูมีความรู้สึกสากมือและทาให้ผิวไม่สวย เมื่อเจริญบนอาหารมีเส้นใยสีน้าตาล **(Figure 2.3.4)**

2. เชื้อรา *Penicilium* sp. เป็นกลุ่มเส้นใยสีเขียวที่เจริญบนผิวผลอุ่นที่แตกหรือมีบาดแผลและเป็นเชื้อราภายหลังเก็บเกี่ยวที่มีโอกาสปนเปื้อนกับผลอุ่นนาเข้า นอกจากนี้อาการเริ่มแรกจะเกิดรอยช้าใสๆ เป็นวง ต่อมาจะ

สำนักวิชาการ

เพิ่มขนาดขยายขึ้นเรื่อยๆ พบการสร้างเส้นใยสีขาวบริเวณกลางรอยช้ำ และสปอร์สีเขียวจานวนมากทาให้เกิดการแพร่กระจายของโรคอย่างรวดเร็ว บางครั้งพบร่วมกับอาการผลแตก **(Figure 2.3.5)**

3. เชื้อรา *Cladosporium* sp. เป็นกลุ่มเส้นใยสีเทาที่เจริญบนผิวผลอ่อนที่แตกหรือมีบาดแผลและเป็นเชื้อราภายหลังเก็บเกี่ยวที่มีโอกาสปนเปื้อนกับผลอ่อนนาเข้า **(Figure 2.3.6)**

4. เชื้อรา *Oidium* sp. เป็นเชื้อราสาเหตุของโรคราแป้ง (Powdery mildew) เป็นโรคที่ระบาดรุนแรงอีกโรคหนึ่งหรือเรียกว่า “ โรคขี้เถ้า” มักระบาดมากในช่วงอากาศค่อนข้างแห้งแล้ง คือ หลังฤดูฝน และในฤดูหนาวเท่านั้น จะเข้าทาลายทุกส่วนของต้นอ่อนที่เห็นได้ชัดคือ อาการบนผล พบว่าเป็นทั้งผลอ่อนจนถึงผลแก่ จะเห็นผลขาวบนผลต่อมาเนื้อผิวของผลที่ถูกทาลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้าตาลบางครั้งผลจะแตกจนเห็นเมล็ด

5. เชื้อรา *Collectotrichum gloeosporioides* เป็นเชื้อราสาเหตุของโรคแอนแทรคโนส (Anthracnose เป็นกลุ่มเส้นใยสีน้าตาลถึงส้ม ที่เจริญบนผิวผลอ่อนที่แตกหรือมีบาดแผลและเป็นเชื้อราภายหลังเก็บเกี่ยวที่มีโอกาสปนเปื้อนกับผลอ่อนนาเข้า นอกจากนี้เชื้อรายังทาให้อ่อนมีลักษณะอาการของโรคผลเน่าหรือโรคแอนแทรคโนสนี้ชาวบ้านมักเรียกว่า “ โรคอีบุบ หรือ โรคลุกบุบ” เพราะอาการที่เกิดกับผลนั้นจะเป็นแผลลึกลงไปในเนื้อ โรคนี้เป็นโรคที่ระบาดอย่างช้าๆ แต่ก็รุนแรงและรักษายาก บางท้องที่บางฤดูก็เป็นปัญหาสาหรับการปลูกอ่อนมากเช่นกัน โรคนี้นอกจากจะเป็นที่ผลซึ่งพบได้ทั่วๆ ไปแล้วยังเป็นกับเถาและใบอีกด้วย โดยเชื้อราสามารถแพร่ระบาดไปกับลมและน้าปกติแล้ว โรคแอนแทรคโนสนี้จะระบาดทาความเสียหายกับทุกส่วนของอ่อน โดยเฉพาะส่วนที่ยังอ่อนอยู่ เช่น ยอดอ่อน กิ่งอ่อน ใบอ่อน ส่วนที่ผลก็เป็นโรคได้ทั้งในระยะผลอ่อนจนถึงระยะผลโต อาการที่ผล โรคนี้สามารถเข้าทาลายผลอ่อนได้ทุกขนาด ตั้งแต่เล็กจนโต ในผลอ่อนที่เป็นโรคจะเห็นจุดสีน้าตาลอ่อนถึงสีน้าตาลเข้ม และบุ๋มลงไปเล็กน้อย ขอบแผลสีเข้ม ถ้าอากาศชื้น

6. เชื้อรา *Nigrospora* sp. เป็นกลุ่มเส้นใยสีดาที่เจริญบนผิวผลอ่อนที่แตกหรือมีบาดแผลและเป็นเชื้อราภายหลังเก็บเกี่ยวที่มีโอกาสปนเปื้อนกับผลอ่อนนาเข้า **(Figure 2.3.7)**

กรมวิชาการเกษตร

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่าผลองุ่นที่นาเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนมีศัตรูพืชกักกัน 5 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยหอย *Aspidiotus nerii*, วัชพืช *Chenopodium album* เชื้อรา *Botryotinia fuckeliana*, *Guignardia bidwellii* และ *Elsinoë ampelina* และจากการศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับผลองุ่นนาเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน โดยสุ่มตัวอย่างผลองุ่นที่นาเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ระหว่างเดือนตุลาคม 2560 –เดือนกันยายน พ.ศ. 2562 ปริมาณทั้งสิ้น นาเข้าทั้งหมด 7,899 shipment ปริมาณ 131,880,396 กิโลกรัม มูลค่า 1,408,937,394 ล้านบาท นามาตรวจสอบศัตรูพืชพบ หนอนแมลงวันผลไม้; *Bactocera dorsalis* 3 ครั้ง เพลี้ยแป้ง 18 ส่วนการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ตรวจพบเชื้อรา 5 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Alternaria alternata* 87 ครั้ง *Penicilium* sp. 51 ครั้ง *Cladosporium* sp. 54 ครั้ง ราแป้ง; *Oidium* sp.11 ครั้ง แอนแทรกโนส; *Collectotrichum* gloeosporioides 9 ครั้ง ระหว่างทาการศึกษาไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย

Table 2.3.1 Imported grape fruits from People's Republic of China from Chiang Khong Plant Quarantine Station, Chiang Rai Province. (2018 to 2019)

Grape fruits (2017-2018)				Grape fruits (2018-2019)		
Month	Sample	Qualitative (Kgs)	Values (Million Bath)	Sample	Qualitative (Kgs)	Values (Million Bath)
October	761	16,022,304	386,440,007	580	11,967,566	333,969,531
November	192	3,956,210	107,918,171	229	4,656,840	157,099,541
December	222	4,348,719	122,150,762	115	2,480,047	53,841,653
January	106	1,907,715	38,518,307	183	3,785,324	87,777,389
February	57	1,176,690	21,365,848	40	860,905	17,104,148
March	10	200,336	3,521,427	11	214,804	4,528,503
April	2	33,383	554,479	7	64,918	4,685,427
May	3	45,852.00	719,807.16	2	25,276	448,601
June	265	2,950,603	74,336,187	180	2,066,086	64,640,833
July	757	8,734,794	216,020,156	679	479,794	8,440,340
August	794	15,906,409	863,453,167	1,028	17,955,476	337,748,715
September	645	14,036,906	391,648,620	1,031	18,003,440	338,652,715
Total	**3,814**	**69,319,920**	**2,226,646,939**	**4,085.00**	**62,560,475**	**1,408,937,394**

กรมวิชาการเกษตร

Table 2.3.2 Pest associated with imported grape fruits in laboratories. (2018 to 2019)

Pest list	2018	2019	Times
Alternaria alternata	51	36	**87**
Cladosporium sp.	9	45	**54**
Penicilium sp.	12	39	**51**
Powdery mildew; *Oidium* sp.	7	4	**11**
Anthracnose; *Collectotrichum gloeosporioides*	6	3	**9**
Nigrospora sp.	0	1	**1**
Mealy bugs	11	7	**18**
Fruit fly; *Bactrocera dorsalis*	3	0	**3**
Total	**99**	**135**	**234**

กรมวิชาการเกษตร

Figure 2.3.1 The sampling grape fruits at the point of entry.

Figure 2.3.2 The grape fruit samples

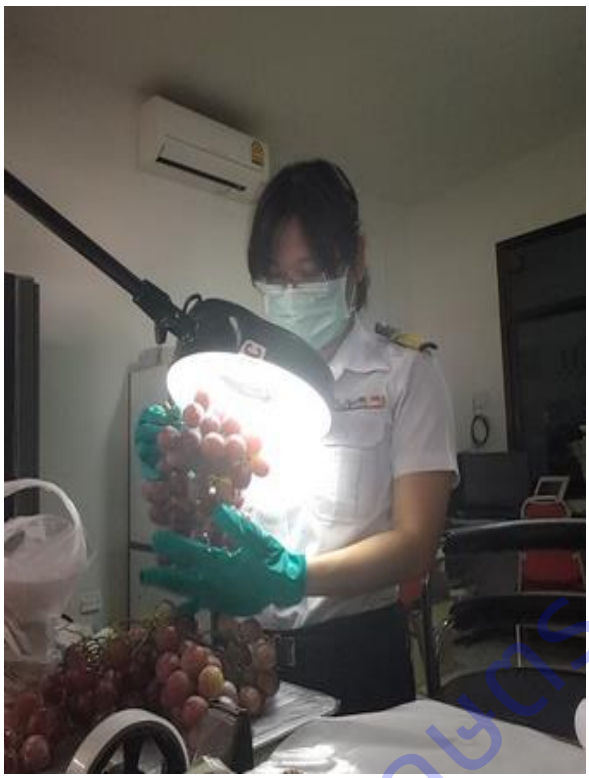


Figure 2.3.3 Visual inspection under Magnifier

กรมวิชาการเกษตร

Figure 2.3.4 *Alternaria alternata* on grape fruits and growing on PDA, including *A. alternata* under microscope.

กรมวิชาการเกษตร

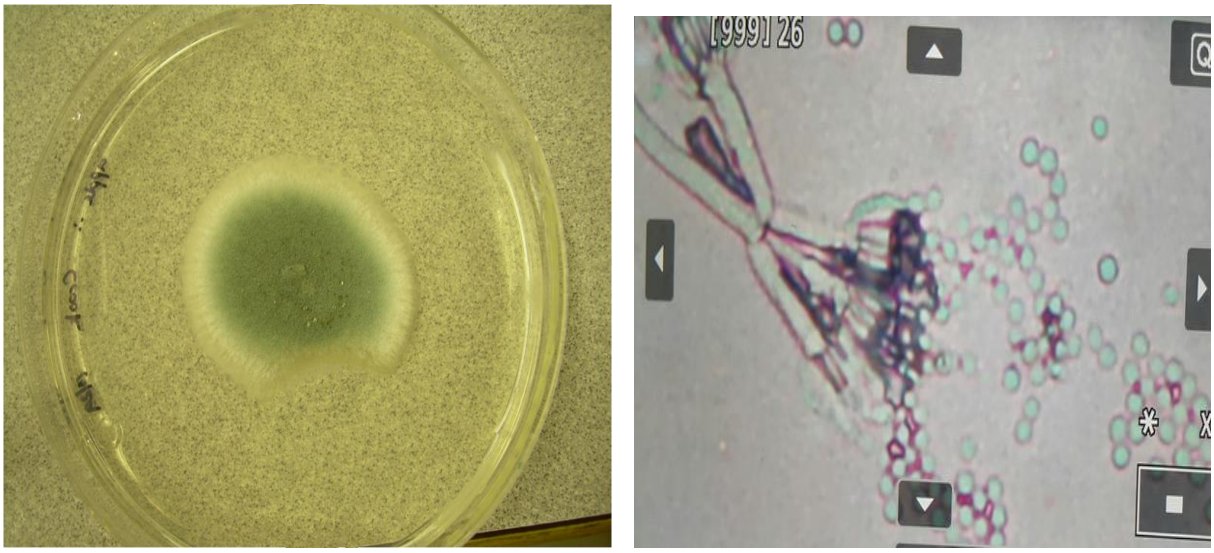


Figure 2.3.5 *Penicillium* sp. on PDA and *Penicillium* sp. under microscope.

Figure 2.3.6 *Cladosporium* sp. on PDA and *Cladosporium* sp. under microscope.

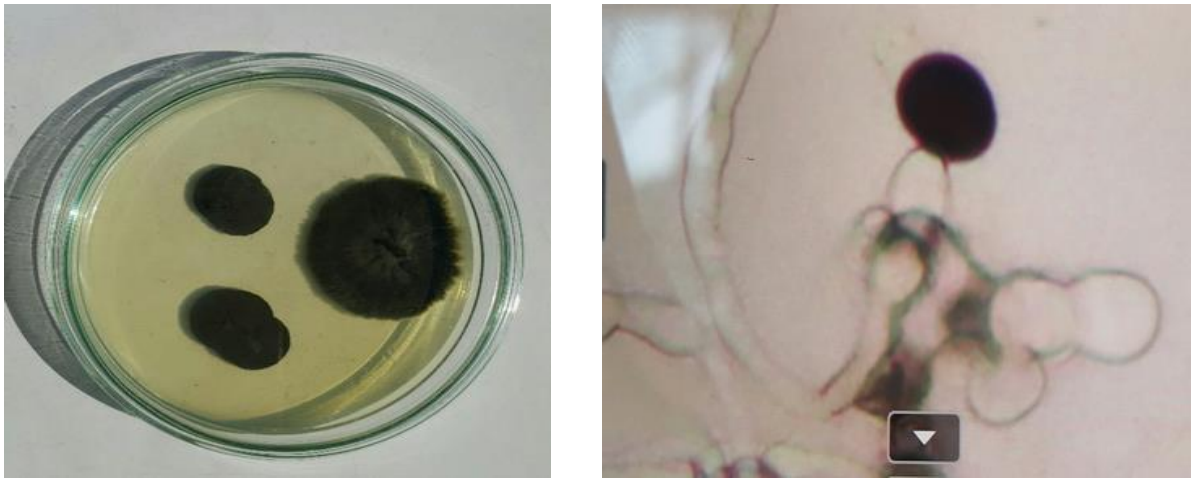


Figure 2.3.7 *Nigrospora* sp. on PDA and *Nigrospora* sp. under microscope.

ศูนย์วิทยทรัพยากร

การทดลองที่ 2.4 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับกุหลาบตัดดอกนำเข้าจากเนเธอแลนด์ (2563–2564)

ผลการทดลองและวิจารณ์

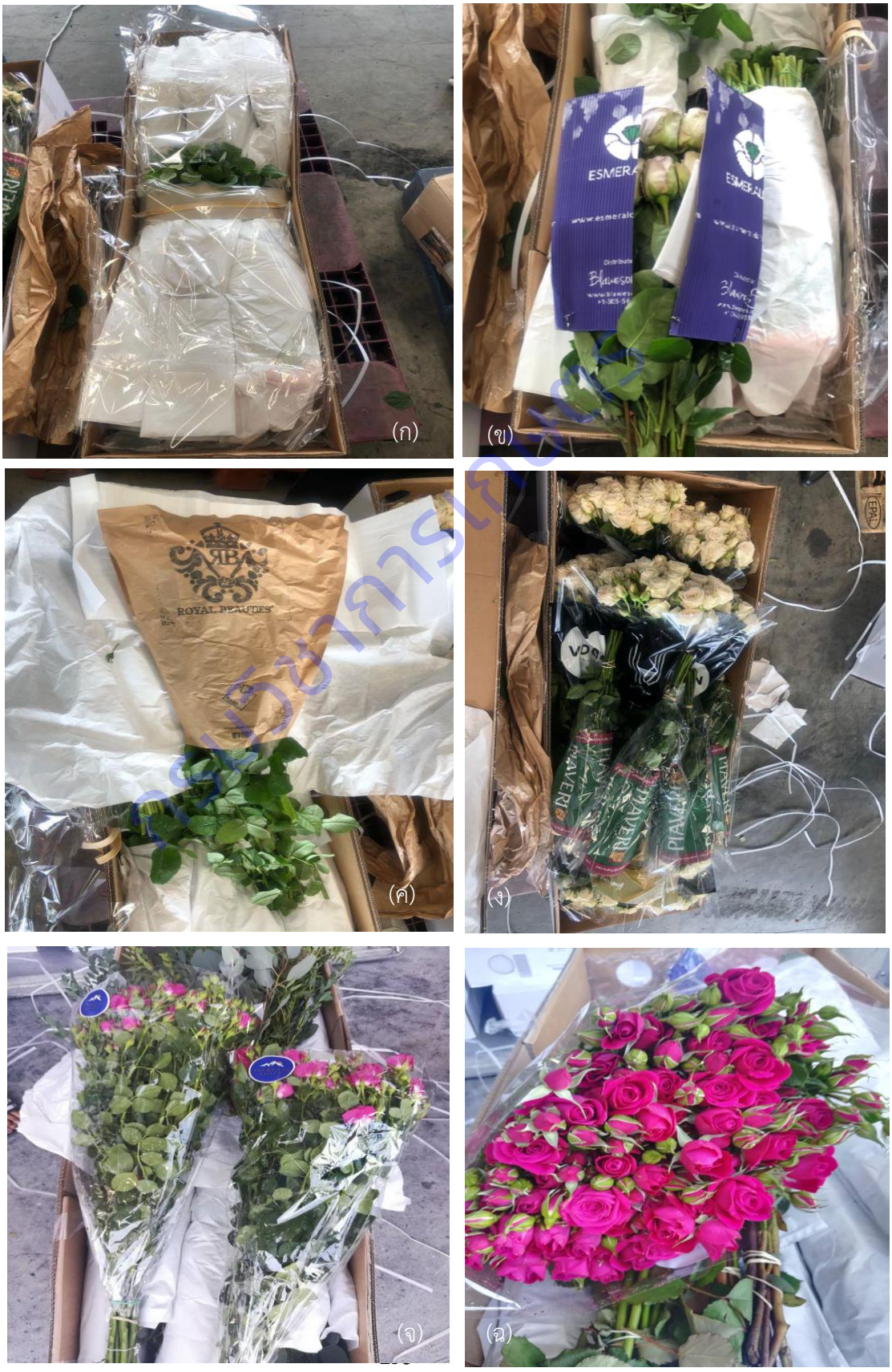
การศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับกุหลาบตัดดอกนำเข้าจากประเทศเนเธอแลนด์ ปีงบประมาณ 2563-2564 ระหว่าง ตุลาคม 2562-กันยายน 2564 วัตถุประสงค์เพื่อให้ทราบชนิดของศัตรูพืช แหล่งที่มาและเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า ซึ่งในปัจจุบันข้อมูลด้านศัตรูพืชเป็นสิ่งสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่ง โดยนำตัวอย่างที่สุ่มได้ตรวจเบื้องต้นจากการสังเกตลักษณะดอก ผิวใบและร่องรอยการทำลายภายใต้แว่นขยายตั้งโต๊ะ (Magnifying Lamp) กล้องสเตอริโอ (Stereo Microscopes) หรือกล้องจุลทรรศน์ (Microscopes) และการเตรียมตัวอย่างการเม้าท์สไลดด้วยน้ำยา Hoyer's solution ส่งจำแนกชนิดศัตรูพืชที่กลุ่มอนุกรมวิธาน กีฏและสัตววิทยา ผลการศึกษาการนำเข้ากุหลาบจากประเทศเธอร์แลนด์ พบว่า ปริมาณ มูลค่าการนำเข้ากุหลาบปีงบประมาณ 2563-2564 (ระหว่างตุลาคม 2562-กันยายน 2564) จำนวนรวม 356 shipment ปริมาณ 19,285 กิโลกรัม มูลค่า 1,924,703 บาท โดยนำเข้าปีงบประมาณ 2563 จำนวน 200 shipment ปริมาณ 13,137 กิโลกรัม มูลค่า 1,147,257 บาท ในขณะที่ปีงบประมาณ 2564 ระหว่างตุลาคม 2562-กันยายน 2563 นำเข้าลดลงคิดเป็นร้อยละ 78 ดังนี้คือ 156 shipment การลดลงของปริมาณ คิดเป็นร้อยละ 47 คือ 6,148 กิโลกรัม การลดลงของมูลค่าการนำเข้าคิดเป็นร้อยละ 68 คือ 777,446 บาท เนื่องมาจากผลกระทบจากโรคระบาด COVID-19 ซึ่งส่งผลให้สายการบินพาณิชย์ชะงักการขนส่งและภายในประเทศเนเธอแลนด์ได้ทำลายสินค้าเกษตรรวมทั้งกุหลาบตัดดอก (ภาพที่ 2.4.1)

ภาพที่ 2.4.1 การทำลายสินค้าสินค้าพืช (ข) กุหลาบตัดดอก ในประเทศเนเธอแลนด์

การตรวจศัตรูพืช แบ่งออก 2 ส่วน คือ

1.) การสุ่มตรวจจากกองสินค้า เริ่มจากการสุ่มตามมาตรฐาน ISPM No.31 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยสุ่มกุหลาบตัดดอก และตรวจสอบไม้ตัดดอกด้วยตาเปล่า (Inspected) แว่นขยาย (Field lens) แว่นขยายขนาดเล็ก (hand lens) สังเกตลักษณะ สี ผิว และรูปร่างว่ามีอะไรผิดปกติหรือไม่ มีรอยเจาะ หรือร่องรอยการทำลายของไร และแมลงหรือมีเมล็ดวัชพืชหรือสิ่งเจือปนอื่นๆ และนำไม้ตัดดอกที่สุ่มได้ไปตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ (ภาพที่ 2.4.6)

ภาพที่ 2.4.3 (ก-จ) ตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น ด้วยตาเปล่า (Inspected) (ฉ) แว่นขยาย (Field lens) แว่นขยายขนาดเล็กหรือ



ภาพที่ 2.4.4 ลักษณะบรรจุภัณฑ์

ภาพที่ 2.4.5 ลักษณะช่อกุหลาบตัดดอกนำเข้าจากประเทศเนเธอแลนด์

2.) ตรวจขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ (ภาพที่ 2.4.6)

ภาพที่ 2.4.6 การตรวจหาศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

(ก) และ (ข) การตรวจหาศัตรูพืชภายใต้แว่นขยายตั้งโต๊ะ (Magnifying Lamp)

(ค) เคาะช่อกุหลาบตัดดอกและแยกชิ้นส่วนเพื่อการตรวจหาศัตรูพืชละเอียดขึ้น

(ง) ตรวจเพื่อระบุชนิดใต้กล้องสเตอริโอ (Stereo Microscopes) หรือกล้องจุลทรรศน์

กรมวิชาการเกษตร

ผลการศึกษาการนำเข้ากุหลาบจากประเทศเธอร์แลนด์ 356 shipment ปริมาณ 19,285 กิโลกรัม มูลค่า 1,924,703 บาท พบศัตรูพืชจำนวน 10 ครั้ง แบ่งเป็น 5 ชนิด 3 กลุ่ม คือ โรคพืช แมลงศัตรูพืช และไรศัตรูพืช โดยพบโรคพืช 3 ชนิด จำนวนที่พบ 6 ครั้ง ดังนี้คือ คือโรคราน้ำค้าง (downy mildew : *Peronospora* sp.) โรคราแป้ง (downy mildew :*Oidium* sp.) และโรคดอกเน่าหรือโรคราสีเทา (Botrytis Blight : *Botrytis* sp.) โดยทั้ง 3 โรค พบชนิดละ 2 ครั้ง ส่วนแมลงศัตรูพืช 1 ครั้ง คือเพลี้ยไฟ (Thrip : *Frankliniella occidentalis*) และไรศัตรูพืช 1 ครั้ง คือไรสองจุด (Two spotted spider mite : *Tetranychus urticae* Koch)

ตารางที่ 2.4.2 จำนวนแมลงที่ตรวจพบในกุหลาบตัดดอกนำเข้าจากประเทศเนเธอแลนด์ ปีงบประมาณ 2563-2564

ลำดับ	ศัตรูพืช	จำนวน
1	เพลี้ยไฟ (Thrip : Thripidae : *Frankliniella occidentalis*.)	2
2	ไรสองจุด (Two spotted spider mite : *Tetranychus urticae* Koch	2
3	โรคราน้ำค้าง (downy mildew : *Peronospora* sp.)	2
4	โรคราแป้ง (downy mildew :*Oidium* sp.)	2
5	โรคดอกเน่าหรือโรคราสีเทา (Botrytis Blight) : *Botrytis* sp.)	2
	รวมการตรวจพบศัตรูพืช	10

1. โรคพืช (Plant disease) พบร่องรอยการทำลาย 3 โรค ดังนี้

1.1 โรคราน้ำค้าง (downy mildew : *Peronospora* sp.) อาการจะแสดงบน ใบ กิ่ง คอดอก กลีบเลี้ยง และกลีบดอก การเข้าทำลายจำกัดที่ส่วนอ่อน หรือส่วนยอด อาการที่ใบจะมีสีอ่อนกว่าธรรมดาและกระด้าง ส่วนใบอ่อน ใต้ใบแห้งเป็นเกิดจุดสีม่วงแดง หรือ น้ำตาล สีม่วงแดง ต่อมาขยายวงกว้างออกไปและเส้นใบเป็นรูปสี่เหลี่ยม ใบจะเหลืองและร่วงหล่นอย่างรวดเร็ว เมื่อสภาพอากาศมีความชื้น และเย็น ด้านหลังใบบนแผลสีน้ำตาลจะเห็นเส้นใยหยาบๆ สีขาวอมเทา เจริญเป็นกระจุกอยู่ด้านหลังของใบ เมื่อเขี่ยดูจะพบสปอร์สีขาว หากสภาพอากาศไม่เหมาะสมมักจะสังเกตเห็นสปอร์ได้ยาก โรคราน้ำค้าง อาการคือ ถ้าเป็นมากจะเหี่ยวและแห้งไป ส่วนใบแก่ ก้านดอกและกลีบเลี้ยงจะเป็นแผลรูปริ้วสีน้ำตาลคล้ายสนิม สังเกตได้ง่ายเพราะจะเป็นสาเหตุที่ทำให้ใบร่วงในเวลารวดเร็ว ซึ่งหากเชื้อแพร่ไปทั่วลำต้นก็จะโทรมและตายในที่สุด พบได้ทั้งในฤดูฝนและฤดูหนาว
(วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, 2558 (ก)) (ภาพที่ 7 ก)

1.2 โรคราแป้ง (downy mildew) เกิดจากเชื้อรา *Oidium* sp. โดยระยะแรกผิวด้านบนของใบเป็นจุดสีแดง ต่อมาพบเส้นใยและสปอร์เป็นผงสีขาวคล้ายแป้งเกิดเป็นหย่อมๆ และขยายวงออกไป อาการรุนแรงจะพบบนก้านใบ กิ่ง ดอก ก้านดอก ใบอ่อน กลีบดอก และลำต้นทำให้ใบบิดเบี้ยวใบเหลืองและร่วง (ยุทธศักดิ์และคณะ,2553) (ภาพที่ 7 ข)

ศรีวิชัยการเกษตร

ภาพที่ 2.4.7 (ก) โรคราน้ำค้าง (downy mildew : *Peronospora* sp.)
(ข) โรคราแป้ง (downy mildew : *Oidium* sp.)

กรมวิชาการเกษตร

1.3.โรคราสีเทา (botrytis: *Botryotinia fuckeliana* syn. *Botrytis cinerea*) พบการทำลายบริเวณก้านดอกมีลักษณะเส้นใยสีขาวเทา มักพบในสภาพอุณหภูมิต่ำ ความชื้นสัมพัทธ์สูง และการระบายอากาศไม่ดีพอ ดอกตูมจะเป็นจุดสีน้ำตาล และลุกลามขยายใหญ่และเน่าแห้ง (วุฒิศักดิ์และคณะ, 2558) (ภาพที่ 8 (ก)-(ง)

ภาพที่ 2.4.8 (ก). โรคราสีเทาหรือโรคไหม้จากเชื้อราโบไทรทิส (Botrytis Blight*: Botrytis* sp)
(ข).และ (ค) การทำ Moist chamber
(ง). เชื้อสาเหตุโรคโรคราสีเทาหรือโรคไหม้จาก เชื้อราโบไทรทิส (Botrytis Blight*: Botrytis* sp)

สำนักวิทยบริการฯ

2. **ไร (Mite)** เป็นสัตว์มีขนาดลำตัวเล็กมาก อาจมองไม่เห็นด้วยตาเปล่า ทำลายพืชโดยดูดน้ำเลี้ยงบนส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ใบ ดอก ลำต้น ผล และราก ก่อให้เกิดความเสียหายต่อพืชและผลผลิต ไร เห็บและแมงมุมเป็นสัตว์ที่ถูกจำแนกอยู่ใน Phylum เดียวกันกับแมลง เนื่องจากมีขาเป็นปล้องๆ เรียงติดต่อกัน และมีผนังลำตัวแข็งห่อหุ้มร่างกาย แต่มีอวัยวะซึ่งทำหน้าที่เสมือนปาก ประกอบด้วย chelicera แทนที่จะเป็นฟันกราม (mandible) เช่นในแมลง และไรเป็นสัตว์ที่ไม่มีหนวด

จากการศึกษาชนิดของศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับกุหลาบตัดดอกนำเข้าจากประเทศเนเธอแลนด์ โดยมีลักษณะการเข้าทำลายบริเวณเส้นกลางใบมีสีน้ำตาลอ่อนยาวไปตามเส้นกลางใบ (ภาพที่ 9) พบไร 1 ชนิด คือ ไรสองจุด (Two spotted spider mite :*Tetranychus urticae* Koch) เมื่อตรวจภายใต้แว่นขยายตั้งโต๊ะ (Magnifying Lamp) กล้องสเตอร์ริโอ (Stereo Microscopes) หรือกล้องจุลทรรศน์ (Compound Microscopes) สามารถเห็นตัวไรและไข่ไร โดยไรสองจุด ลำตัวมีสีเหลืองอ่อนหรือเหลืองอมเขียว สองข้างลำตัวมีแถบสีดำ ขาทั้ง ๔ คู่มีสีเข้มกว่าลำตัวเล็กน้อย ตาเป็นจุดสีแดงอยู่ที่บ่าทั้งสองข้าง ขนบนหลังเป็นเส้นยาวปลายเรียวแหลม ลาย (striae) ตรวจพบในสภาพมีชีวิตทั้ง ระยะไข่ ตัวอ่อน และตัวเต็มวัย พบในใต้ใบกุหลาบมากกว่าในดอก ลักษณะไข่ กลม ตัวอ่อน และตัวเต็มวัย ลักษณะเหมือนกันอยู่ที่ขนาด ตัวเมีย: มีลักษณะเป็นรูปไข่ ลำตัวมีสีเหลืองอ่อน หรือ เหลืองอมเขียว สองข้างลำตัวมีแถบสีดำ มีขนบริเวณขาทั้งสี่คู่ มีสีเข้มกว่าสีของลำตัวเล็กน้อย ตาเป็นจุดสีแดงอยู่ที่บ่าทั้งสองข้าง ตัวผู้: มีขนาดเล็กกว่าตัวเมีย ลำตัวผอมเรียวก้นแหลม ตาเป็นจุดสีแดงสองข้างลำตัว
(ภาพที่ 10)

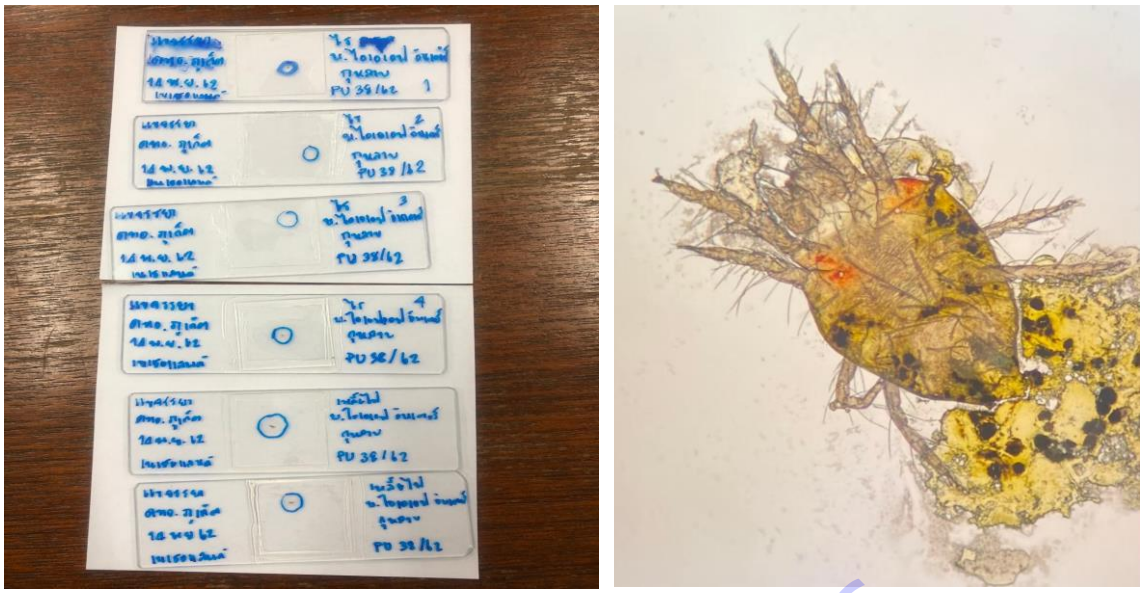
กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 2.4.9 ใบกุหลาบที่ถูกไรสองจุดเข้าทำลาย สังเกตุจากรอยสีน้ำตาลใกล้เส้นกลางใบ

ภาพที่ 2.4.10 ไรสองจุด (Two-spotted spider mite) *Tetranychus urticae* Koch.

(ก) ไรสองจุด และ (ข) และไข่สามารถสังเกตได้ง่ายโดยจะอยู่ที่อาศัยใกล้เส้นกลางใบ

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 2.4.11 (ก.) การทำสไลด์ถาวรเพื่อส่งกลุ่มไรเพื่อตรวจวินิจฉัย
(ข.) ภาพไรสองจุด (Two-spotted spider mite) *Tetranychus urticae* Koch.จุดที่ถ่ายกับกล้องจุลทรรศน์ (Compound Microscopes)

ไรสองจุด (two-spotted spider mite : *T urticae* Koch) ตรวจพบบริเวณใต้ใบเนื่องจากตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณใต้ใบทำให้ใบกร้านและเลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เป็นศัตรูสำคัญของพืชเศรษฐกิจหลายชนิดในอเมริกา ยุโรป และแถบที่มีอากาศอบอุ่น (temperate) สำหรับประเทศที่มีอากาศร้อน (tropical) เช่น ประเทศไทย สามารถพบไรสองจุดในแถบที่ราบเชิงเขาหรือเทือกเขาที่มีภูมิอากาศหนาวเย็น เช่น ดอยอินทนนท์ อ่างขาง โดยจะพบการระบาดอย่างรุนแรงในแปลงสตรอเบอรี่ ท้อ และไม้ดอกไม้ประดับต่างๆ ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของไรชนิดนี้จะดูดกินน้ำเลี้ยงอยู่บริเวณใต้ใบทำให้ผิวใบบริเวณที่ไรดูดทำลายอยู่มีลักษณะกร้าน ใต้ใบเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง ผิวใบด้านบนเหนือบริเวณใบที่ถูกทำลายจะเห็นเป็นจุดด่างขาวเล็กๆ กระจายทั่วไป เมื่อการทำลายรุนแรงขึ้น จุดด่างขาวเล็กๆ เหล่านี้จะค่อยๆ แผ่ขยายติดต่อกันเป็นบริเวณกว้าง จนทำให้ทั่วทั้งใบมีลักษณะสีเหลืองซีด ใบร่วง และเป็นผลทำให้ชะงักการเจริญเติบโตและผลผลิตลดลงได้ ไรที่ทำลายอยู่บริเวณใต้ใบนี้ เมื่อมีประชากรหนาแน่นมากจะสร้างเส้นใยโยงไปมาระหว่างใบและยอดของต้นพืชที่อาศัยอยู่เพื่อรอจังหวะให้ลมพัดพาตัวไรที่เกาะอยู่ตามเส้นใย ลอยไปตกยังใบหรือยอดพืชต้นอื่นๆ ที่มีอาหารอุดมสมบูรณ์กว่าต่อไป

จากการสืบค้นข้อมูลและตรวจเอกสารศัตรูพืชในกุหลาบจากประเทศเนเธอร์แลนด์ พบการเข้าทำลายของไรสองจุด (two-spotted spider mite : *Tetranychus urticae* Koch) เพลี้ยไฟตะวันตก (western flower thrips : *Frankliniella occidentalis* Pergande) แมลงหวี่ขาว (whitefly : *Trialeurodes vaporariorum* Westwood) หนอนผีเสื้อ (caterpillars) เพลี้ยแป้ง (mealybugs) และ เพลี้ยหอย (scales) ซึ่งพบเข้าทำลายในเรือนกระจก (Juliette *et al.*,2009)

กรมวิชาการเกษตร

3.**แมลงศัตรูพืช (Insect Pest) พบ 1 ชนิด ดังนี้**

เพลี้ยไฟตะวันตก (western flower thrip : Thysanoptera : *Frankliniella occidentalis*) เป็นเพลี้ยไฟที่มีขนาดลำตัวยาว 0.08-1.เซนติเมตร สีเหลืองหรือน้ำตาลปนเหลือง อกปล้องแรกมีขนขนาดใหญ่จำนวน 5 คู่ บริเวณด้านบนของส่วนท้องมีรอยปื้นสีดำ ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยสามารถทำลายพืชได้ โดยใช้กรามเขี่ยดูดน้ำเลี้ยงจากเซลล์พืชในส่วนยอดอ่อน ตาอ่อน ใบ ดอกและผล ทำให้ใบเกิดรอยด่าง สีซีด หรือทำให้ขอบใบแห้ง ตาอ่อนชะงักการเจริญเติบโต กลีบดอกมีสีซีด มีรายงานว่าพบเพลี้ยไฟชนิดนี้ในไม้ดอกเมืองหนาวและถั่วลันเตา (ศิริณี , 2544) (ภาพที่ 2.4.12)

ภาพที่ 2.4.12 เพลี้ยไฟตะวันตก (western flower thrip : Thysanoptera : *Frankliniella*

เพลี้ยไฟตะวันตกดอกไม้ *Frankliniella occidentalis* พบในไม้ล้มลุกหลายชนิด ดอกกุหลาบ พิทูเนีย แตงกวา พริกไทย องุ่น สตรอเบอร์รี่ ลักษณะการทำลายให้เกิดร่องรอยโดยทำให้กลีบดอกมีริ้วสีน้ำตาลหรือบิดเบี้ยว ความเสียหายอาจรุนแรงหากดอกไม้ถูกทำลายตั้งแต่ระยะเริ่มต้น (Marry *et al.*,2019)

จากการศึกษาข้อมูล พบว่าการตรวจพบศัตรูพืชดังกล่าวสามารถใช้สำหรับอ้างอิงทางวิชาการ เพื่อกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสมกับชนิดสินค้าพืช และป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศ และเผยแพร่ให้ผู้ที่เกี่ยวข้องนำไปปฏิบัติให้เกิดประโยชน์ เช่น นายตรวจพืช พนักงานเจ้าหน้าที่ที่ปฏิบัติงานเกี่ยวข้องด้านสุขอนามัยเพื่อเป็นแนวทางการปฏิบัติงานที่ตั้งอยู่บนพื้นฐานเดียวกันของด่านที่มีการนำเข้าไม้ตัดดอก และเนื่องจากผลกระทบจากสถานการณ์ โรคระบาด COVID 19 ส่งผลกระทบให้งดเที่ยวบินระหว่างประเทศที่เข้ามาในราชอาณาจักรไทย ยกเว้นเที่ยวบินนำเข้าที่มีการขนส่งสินค้าอุปโภค ดังนั้น ข้อมูลการนำเข้าในปีงบประมาณ 2564 จึงลดลงจากปีงบประมาณที่ผ่านมา

กรมวิชาการเกษตร

การสำรวจตลาด เพื่อการติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้าในแหล่งจัดจำหน่าย จากข้อมูลการสอบถามจากผู้นำเข้าจำนวน 3 แหล่งคือ ปากคลองตลาดในกรุงเทพ ตลาดต้นลำไย (กาดหลวงในจังหวัดเชียงใหม่) และจังหวัดภูเก็ต

พบว่าปากคลองตลาดในกรุงเทพ มีการนำเข้าไม้ตัดดอกจากประเทศเนเธอแลนด์ ส่วนตลาดต้นลำไย (กาดหลวงในจังหวัดเชียงใหม่) และจะนำเข้าในช่วงเทศกาล เช่น เทศกาลวาเลนไทม์ แต่ในปี 2563-2564 ไม่มีออเดอร์สั่งมาขาย ส่วนภายในตัวจังหวัดภูเก็ตมีการสั่งนำเข้าโดยพิเศษเฉพาะเมื่อมีงาน เช่น งานแต่งงาน เทศกาลวาเลนไทม์ การตกแต่งกรณีประชุมสัมมนาสำคัญ การตกแต่งภายในโรงแรม หรือ เทศกาลต่างๆ และเมื่อมีการสุ่มตรวจศัตรูพืชพบว่ามีไรสองจุด ไข่ไร โรคดอกเน่าหรือโรคราสีเทา

กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 2.4.13 กุหลาบตัดดอกนำเข้าจากประเทศเนเธอแลนด์ ส่งขายปากคลองตลาด (ขายส่งไม้ดอก)

สรุปผลการศึกษา

การศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับกุหลาบตัดดอกนำเข้าจากประเทศเนเธอแลนด์ ณ ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานภูเก็ต ปีงบประมาณ 2563-2564 (ระหว่าง ตุลาคม 2562-กันยายน 2564) วัตถุประสงค์เพื่อให้ทราบชนิดของศัตรูพืช แหล่งที่มาและเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า ซึ่งในปัจจุบันข้อมูลด้านศัตรูพืชเป็นสิ่งสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่ง โดยนำตัวอย่างที่สุ่มได้ ตรวจเบื้องต้นจากการสังเกตลักษณะดอก ผิวใบและร่องรอยการทำลายภายใต้แว่นขยายตั้งโต๊ะ (Magnifying Lamp) กล้องสเตอริโอ (Stereo Microscopes) หรือกล้องจุลทรรศน์ (Microscopes) การเตรียมตัวอย่างการเม้าท์สไลด์ ส่งตัวอย่างที่เตรียมไว้หรือการจำแนกชนิดศัตรูพืชโดยการใช้ Application การส่งรูปถ่าย ภาพเคลื่อนไหว ให้ผู้เชี่ยวชาญด้านอนุกรมวิธาน กลุ่มอนุกรมวิธาน กีฏและสัตววิทยา กรณีใช้ Application ใช้วิธีการส่งตัวอย่างจริงยืนยันการจำแนกชนิดอีกครั้ง ผลการศึกษาพบ การนำเข้ากุหลาบจากประเทศเนเธอร์แลนด์จำนวน 356 shipment ปริมาณ 19,285 กิโลกรัม มูลค่า 1,924,703 บาท พบศัตรูพืชในจำนวน 10 ครั้ง เมื่อเปรียบเทียบศัตรูพืชทั้งหมดแบ่งเป็น 5 ชนิด 3 กลุ่ม คือ โรคพืช แมลงศัตรูพืช และไรศัตรูพืช โดยพบโรคพืช 3 ชนิด จำนวนที่พบ 6 ครั้ง ดังนี้คือ คือโรคราน้ำค้าง (downy mildew : *Peronospora* sp.) โรคราแป้ง (downy mildew :*Oidium* sp.) และโรคดอกเน่าหรือโรคราสีเทา (Botrytis Blight : *Botrytis* sp.) โดยทั้ง 3 โรค พบชนิดละ 2 ครั้ง ส่วนแมลงศัตรูพืช 1 ครั้ง คือเพลี้ยไฟ (Thrip : *Frankliniella occidentalis*) และไรศัตรูพืช 1 ครั้ง คือไรสองจุด (Two spotted spider mite : *Tetranychus urticae* Kock)

ผลการศึกษาชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับกุหลาบตัดดอกจากประเทศเนเธอแลนด์ พบว่าการตรวจพบศัตรูพืชดังกล่าวสามารถใช้สำหรับอ้างอิงทางวิชาการ เพื่อกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสมกับชนิดสินค้าพืช และสามารถนำเข้ามูลมาวิเคราะห์ความเสี่ยงศักยภาพการทำลายและการพัฒนาการทำลายพืชของศัตรูพืชที่พบ เจ้าหน้าที่ต้องเพิ่มความเข้มงวดโดยการเพิ่มปริมาณการสุ่มตรวจในปริมาณเพิ่มขึ้นจากเดิม และการใช้ดุลพินิจในการกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีที่เหมาะสม พนักงานเจ้าหน้าที่ควรให้ความสำคัญในการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืช โดยตรวจเอกสารหรืองานวิจัยเกี่ยวกับศัตรูพืชกุหลาบเพื่อให้ทราบถึงศัตรูสำคัญของกุหลาบและช่วงเวลาการแพร่ระบาดซึ่งอาจติดเข้ามากับกุหลาบตัดดอกนำเข้าจากประเทศเนเธอแลนด์ โดยจากการวิจัยควรเฝ้าระวังศัตรูพืช ๑๐ ชนิดข้างต้นที่ได้รายงานไปแล้วนั้น โดยการเฝ้าระวังระหว่างช่วงเวลาการระบาดของศัตรูพืช ช่วงระยะเวลาที่มีการนำเข้ามากซึ่งจะส่งผลถึงแมลงศัตรูพืชที่อาจปนเปื้อนเข้ามา จึงควรมีการตรวจศัตรูพืชเพื่อนำเข้าส่งออกเข้มงวดยิ่งขึ้น เพื่อป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในราชอาณาจักร และเผยแพร่ให้ผู้ที่เกี่ยวข้องนำไปปฏิบัติให้เกิดประโยชน์ เช่น นายตรวจพืช พนักงานเจ้าหน้าที่ที่ปฏิบัติงานเกี่ยวข้องด้านสุขอนามัยเพื่อเป็นแนวทางการปฏิบัติงานที่ตั้งอยู่บนพื้นฐานเดียวกันของด่านที่มีการนำเข้าไม้ตัดดอก หรือนำไปปรับใช้กับการตรวจศัตรูพืชในสินค้าพืชชนิดอื่นต่อไป

ลิขสิทธิ์การเกษตร

การทดลองที่ 2.5 ชนิดของศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับผลมังคุดสดจากสาธารณรัฐอินโดนีเซีย (ยกเลิก เพราะงดนำเข้า)

การทดลองที่ 2.6 ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับผลแอปเปิลสดนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน (2564)

การศึกษาชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับผลแอปเปิลสดนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ณ ด่านตรวจพืชเชียงของ ที่ดำเนินการในปีงบประมาณ 2564 (ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2563 ถึง 30 กันยายน 2564) มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ทราบรายชื่อและข้อมูลศัตรูพืชที่ติดมากับผลแอปเปิลสดนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน โดยเฉพาะศัตรูพืชกักกัน เพื่อนำไปใช้เป็นข้อมูลประกอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ทำให้สามารถกำหนดมาตรการกักกันพืชได้อย่างรัดกุมและมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ซึ่งจากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชของแอปเปิล พบว่าไร *Amphitetranychus viennensis* เป็นศัตรูพืชกักกันที่สำคัญ ซึ่งมีความเสี่ยงที่จะติดเข้ามาและสามารถแพร่กระจายในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย ซึ่งอาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อการเกษตรในประเทศ และจากผลการศึกษาการนำเข้าผลแอปเปิลสดจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ณ ด่านตรวจพืชเชียงของ พบว่าในปีงบประมาณ 2564 มีการนำเข้าผลแอปเปิลสด จำนวน 599 shipments ปริมาณ 10,199.52 ตัน มูลค่า 236.68 ล้านบาท (ตาราง 2.6.2)

ตารางที่ 2.6.2 ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าผลแอปเปิลสดจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ณ ด่านตรวจพืชเชียงของ (ผ่านเส้นทาง R3A) ปีงบประมาณ 2564 (แยกตามเดือน)

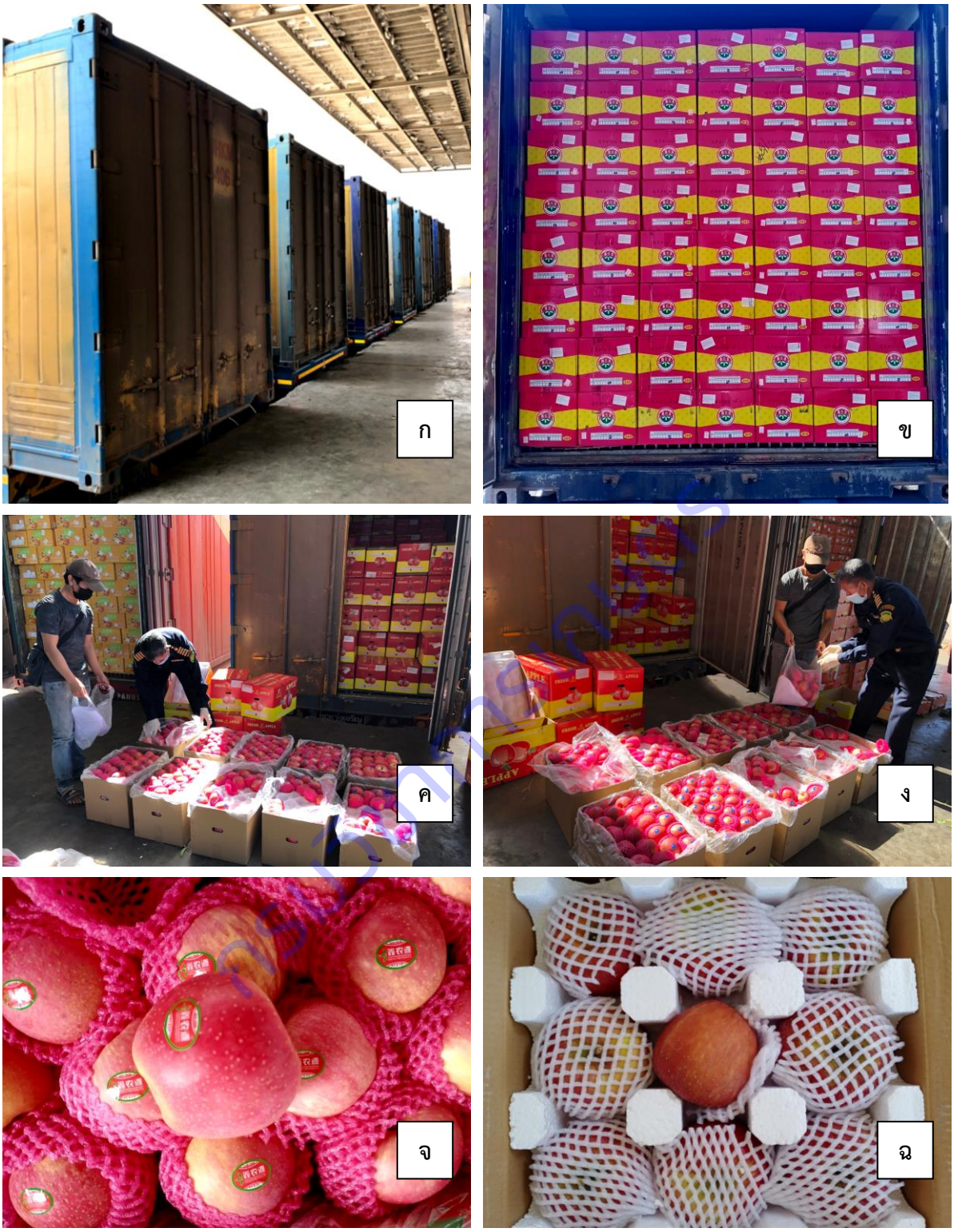
เดือน	จำนวนที่นำเข้า (shipments)	น้ำหนัก (ตัน)	มูลค่า (ล้านบาท)
ตุลาคม 2563	68	903.77	25.01
พฤศจิกายน 2563	28	389.59	8.14
ธันวาคม 2563	22	278.55	6.10
มกราคม 2564	55	938.96	15.65
กุมภาพันธ์ 2564	46	598.85	11.30
มีนาคม 2564	18	364.98	6.34
เมษายน 2564	6	90.76	1.45
พฤษภาคม 2564	-	-	-
มิถุนายน 2564	4	15.35	0.51
กรกฎาคม 2564	44	917.04	22.19
สิงหาคม 2564	107	1,951.27	45.79
กันยายน 2564	201	3,750.38	94.19
รวม	599	10,199.52	236.68

กรมวิชาการเกษตร

พนักงานเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชเชียงของ ดำเนินการตรวจสินค้าและสุ่มเก็บตัวอย่างผลแอปเปิลสด โดยใช้หลักเณฑ์การสุ่มตาม Whyte (2009) ดังนี้

- กรณีนำเข้าผลแอปเปิลสด จำนวนน้อยกว่า 1,000 ผล สุ่มตัวอย่าง จำนวน 450 ผล หรือทั้งหมด
- กรณีนำเข้าผลแอปเปิลสด จำนวน 1,000 ผล หรือมากกว่า สุ่มตัวอย่าง จำนวน 600 ผล

กรมวิชาการเกษตร



ภาพ 2.6.1 การตรวจและสุ่มเก็บตัวอย่างผลแอปเปิลสดนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ณ ด่านตรวจพืชเชียงของ

(ก) การขนส่งผลแอปเปิลสดต้องใช้ตู้คอนเทนเนอร์ที่ควบคุมอุณหภูมิตลอดการขนส่ง

(ข) ผลแอปเปิลสดที่นำเข้าต้องอยู่ในภาชนะบรรจุที่ใหม่ สะอาด และเหมาะสม

(ค-ง) พนักงานเจ้าหน้าที่ตรวจและสุ่มเก็บตัวอย่างผลแอปเปิลสด (จ-ฉ) ตัวอย่างผลแอปเปิลสดนำเข้า

เมื่อนำตัวอย่างผลแอปเปิลสดที่สุ่มตาม Whyte (2009) มาตรวจศัตรูพืชเบื้องต้น โดยมองด้วยตาเปล่า ใช้แว่นขยาย และกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เพื่อสังเกตลักษณะ สี ผิว และรูปร่าง รวมทั้งความผิดปกติ หรือร่องรอยการเข้าทำลายของโรคและแมลงศัตรูพืช ซึ่งจากการตรวจศัตรูพืชเบื้องต้น ไม่พบความผิดปกติที่เกิดจากโรคและแมลงศัตรูพืชชนิดอื่น นอกจากไร ซึ่งยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้ จำนวน 16 shipments จากนั้นนำไรที่พบมาตรวจอย่างละเอียด จำแนกชนิดโดยการทำสไลด์ถาวร และส่งตัวอย่างมาที่กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุมเพื่อจำแนกชนิด

ภาพ 2.6.2 การตรวจศัตรูพืชในผลแอปเปิลสดและจำแนกชนิดโดยการทำสไลด์ถาวร

(ก) ตรวจศัตรูพืชเบื้องต้นโดยใช้แว่นขยาย

(ข) ตรวจศัตรูพืชเบื้องต้น โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope

(ค) นำไรที่ตรวจพบมาทำสไลด์ถาวรเพื่อจำแนกชนิด

(ง) ตัวอย่างสไลด์ถาวร

ผลการจำแนกพบไรรวมทั้งสิ้น 6 วงศ์ 7 ชนิด เป็นไรศัตรูพืชในวงค์ Tetranychidae 2 สกุล ได้แก่ ไรแดง *Tetranychus* sp. และ *Amphitetranychus* sp. แต่เนื่องจากไม่พบเพศผู้ในการจำแนก จึงจำแนกได้เพียงระดับสกุล เป็นไรขาวในวงค์ Tarsonemidae 2 สกุล ได้แก่ *Tarsonemus* sp. และ *Steneotarsonemus* sp. และวงศ์ Tydeidae แต่เนื่องจากไม่พบไรขาวเพศผู้ จึงไม่สามารถจำแนกถึงระดับชนิด (Species) ได้ เป็นไรตัวห้ำ 2 ชนิด ได้แก่ *Amblyseius adjaricus* (Wainstein & Vartapetov) และ *Amblyseius californicus* (McGregor) และไรกินเชื้อรา (Oribatid mite) โดยมีรายละเอียด ดังนี้

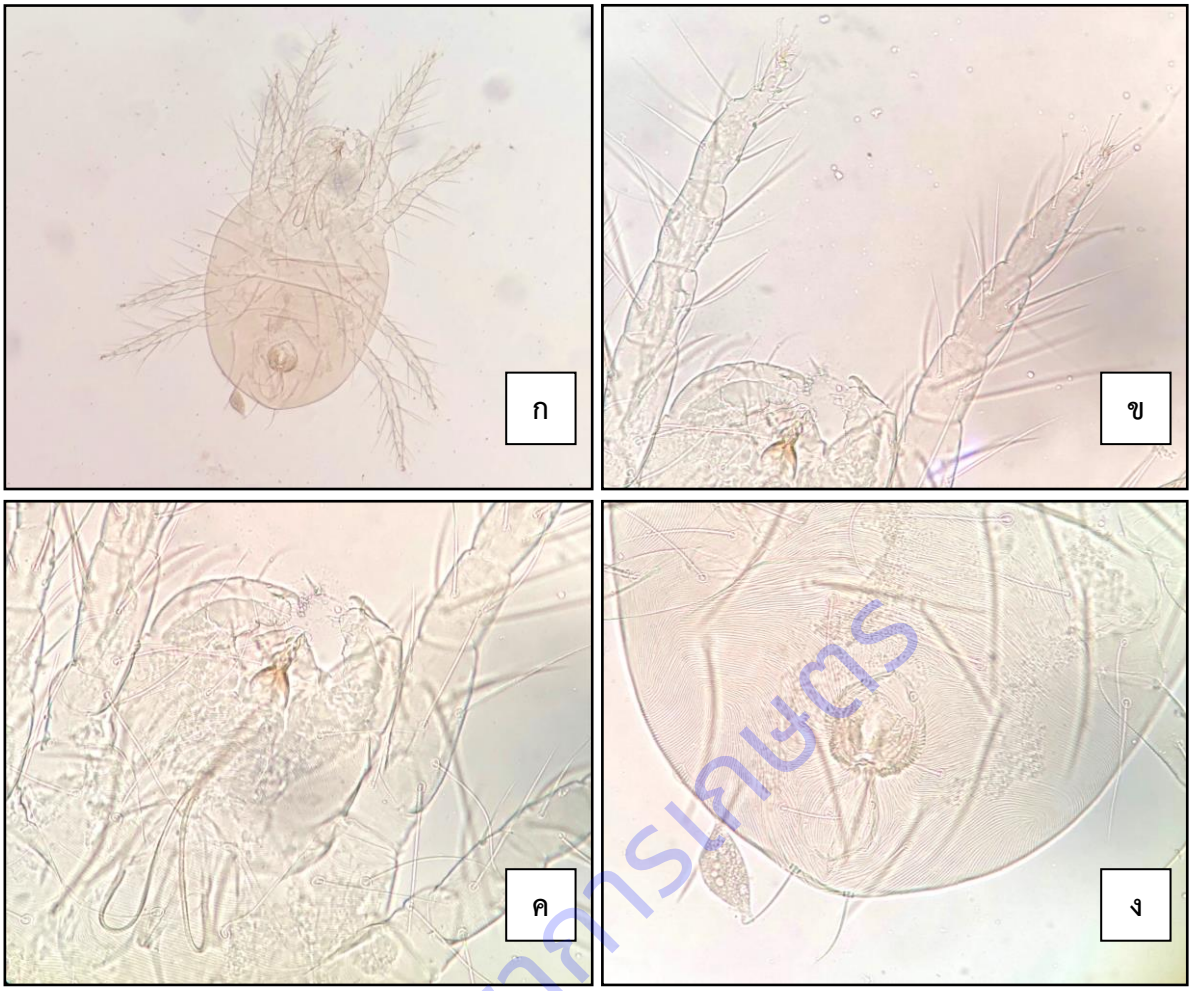
ตารางที่ 2.6.3 ไรศัตรูพืชที่ตรวจพบในผลแอปเปิลสดนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ณ ด่านตรวจพืชเชียงของ ปีงบประมาณ 2564

ลำดับ	วงศ์	ชื่อวิทยาศาสตร์	จำนวนครั้งที่ตรวจพบ (ครั้ง)	หมายเหตุ
1	Tetranychidae	*Tetranychus* sp.	5	เนื่องจากไม่พบ
2	Tetranychidae	*Amphitetranychus* sp.	2	เพศผู้ จึงไม่
3	Tarsonemidae	*Tarsonemus* sp.	1	สามารถจำแนก
4	Tarsonemidae	*Steneotarsonemus* sp.	4	ถึงระดับชนิด
5	Tydeidae	-	3	(Species) ได้
		รวม	**15**	

ตารางที่ 2.6.4 ไรตัวห้ำที่ตรวจพบในผลแอปเปิลสดนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ณ ด่านตรวจพืชเชียงของ ปีงบประมาณ 2564

ลำดับ	วงศ์	ชื่อวิทยาศาสตร์	จำนวนครั้งที่ตรวจพบ (ครั้ง)
1	Phytoseiidae	*Amblyseius adjaricus* (Wainstein & Vartapetov)	1
2	Phytoseiidae	*Amblyseius californicus* (McGregor)	1
		รวม	**2**

กรมวิชาการเกษตร

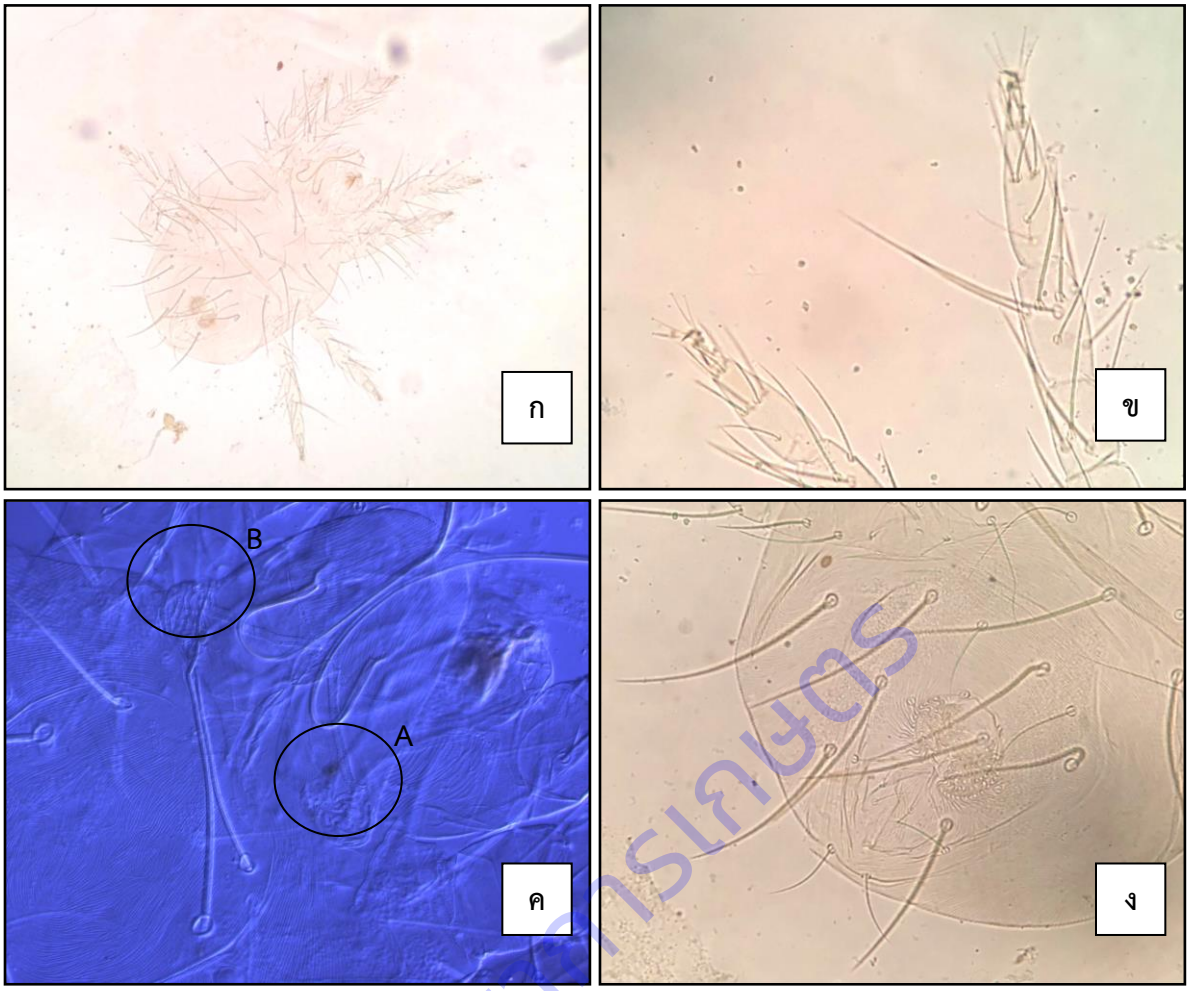


ภาพ 2.6.3 ไรแดง วงศ์ Tetranychidae : *Tetranychus* sp.

(ก) ตัวเต็มวัยเพศเมีย (ข) ลักษณะขาคู่หน้า

(ค) ส่วนปาก (ง) ด้านสันหลัง ส่วนท้อง

กรมวิชาการเกษตร

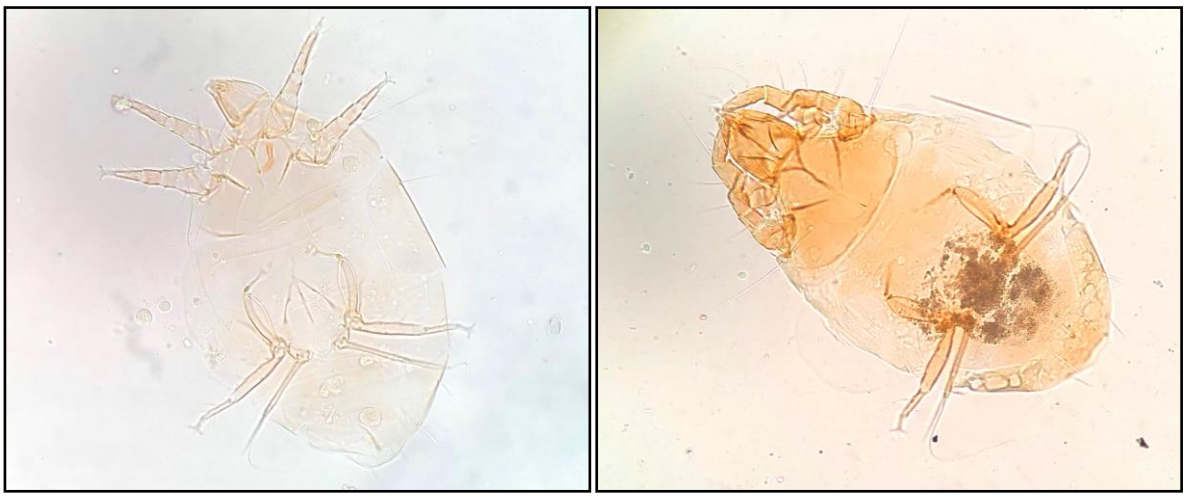


ภาพ 2.6.4 ไรแดง *Amphitetranychus* sp. เพศเมีย

(ก) ด้านสันหลัง ตัวเต็มวัย (ข) ส่วนปลายขา

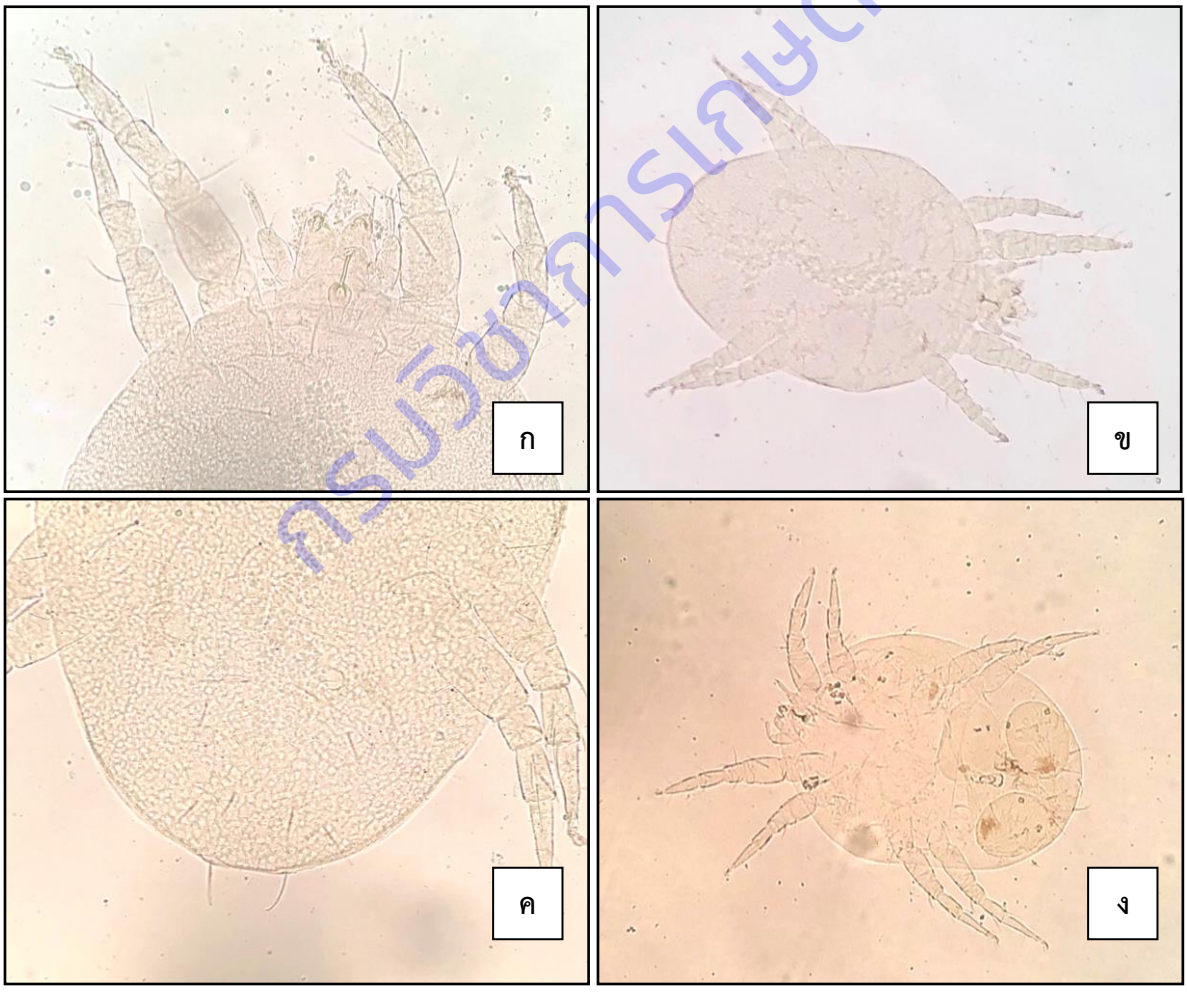
(ค) รูหายใจ (Peritreme) ลักษณะคล้ายลำไส้ขด (ง) ด้านสันหลัง ปลายท้อง

กรมวิชาการเกษตร



ภาพ 2.6.5 ไรขาว วงศ์ Tarsonemidae

(ก) *Tarsonemus* sp. (ข) *Steneotarsonemus* sp.

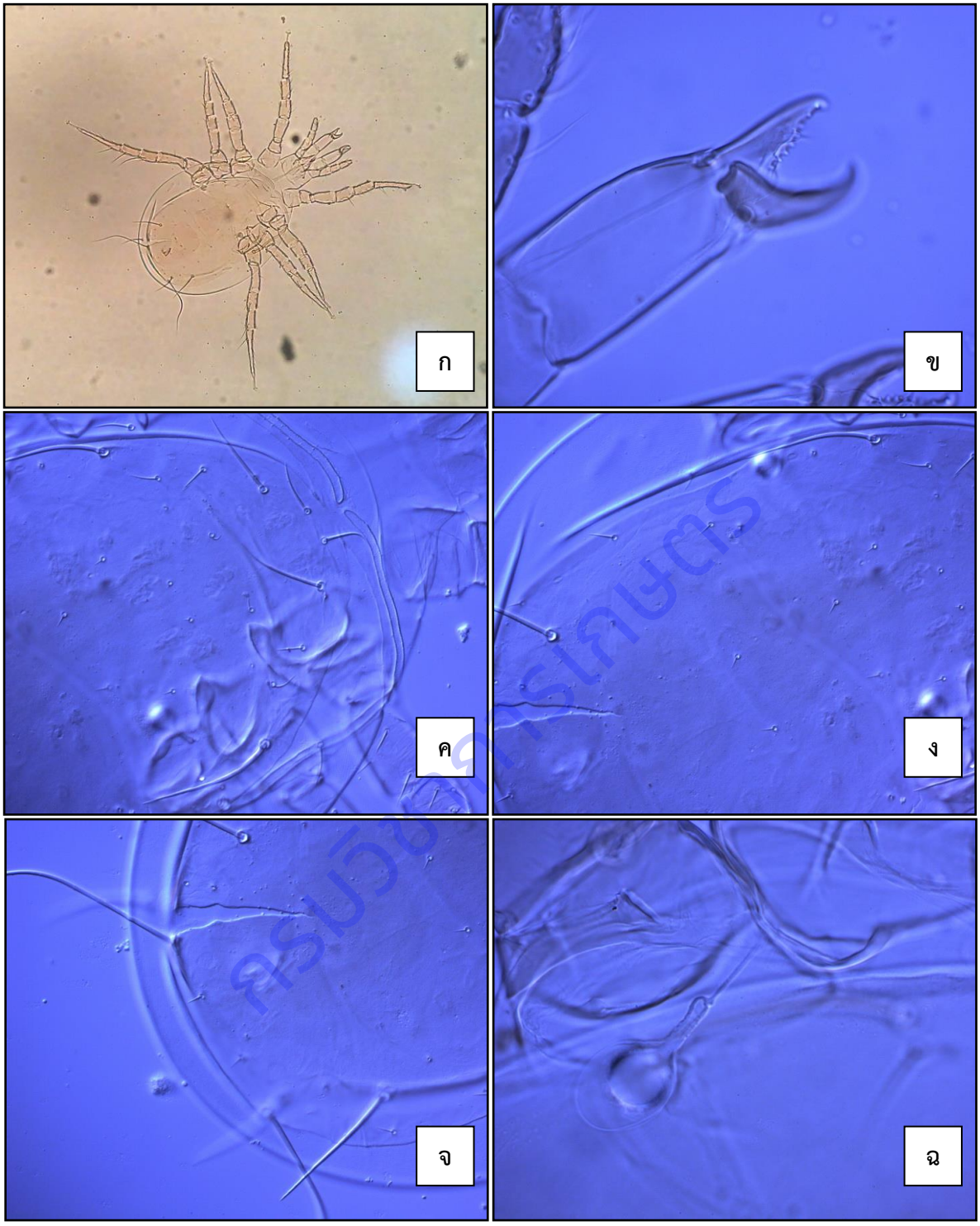


กรมวิชาการเกษตร

ภาพ 2.6.6 ไรขาว วงศ์ Tydeidae

(ก) ส่วนบน ด้านสันหลัง (ข) ด้านท้อง (ภาพถ่ายเต็มตัว)

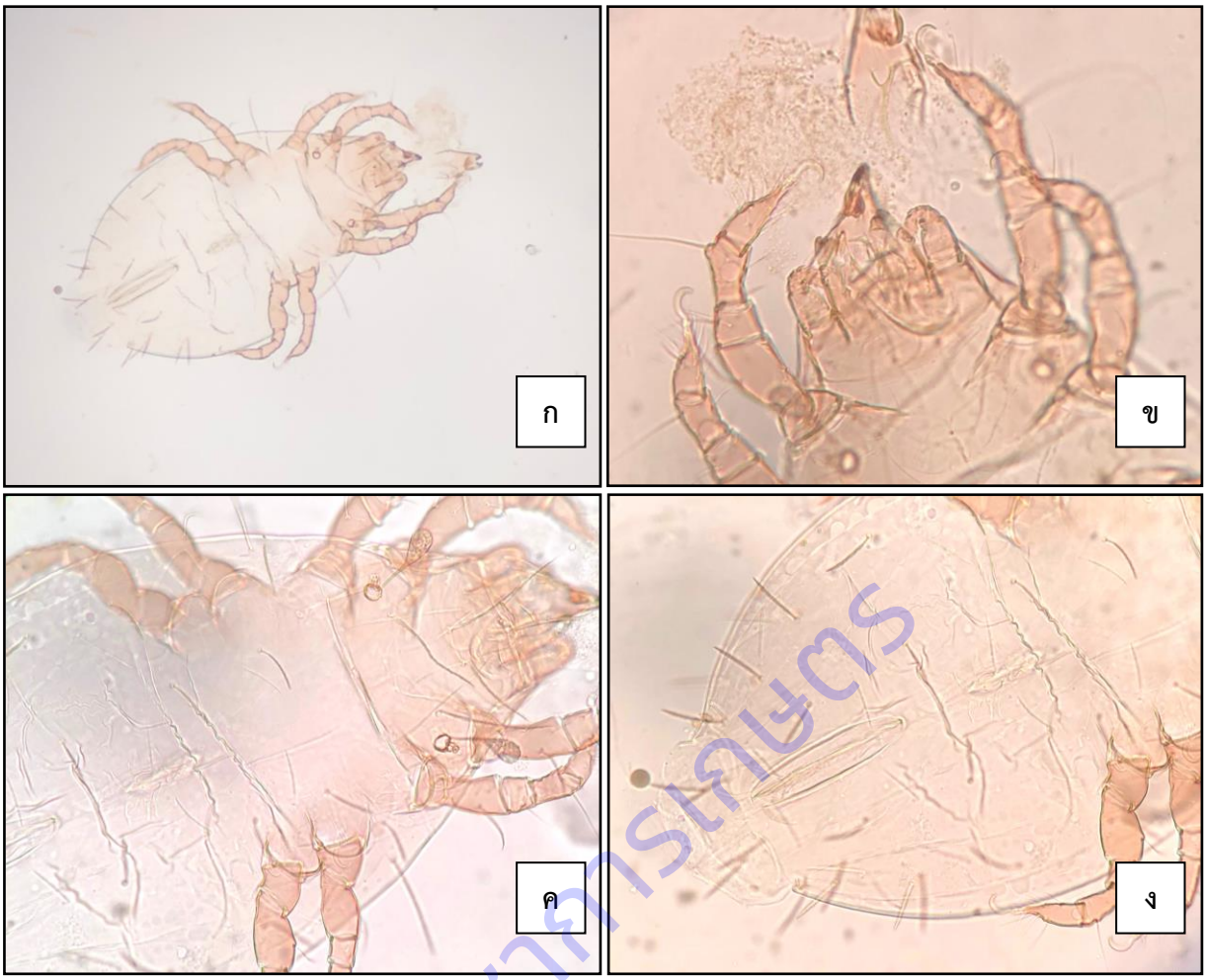
(ค) ด้านสันหลัง ส่วนท้อง (ง) ด้านสันหลัง (ภาพถ่ายเต็มตัว)



ภาพ 2.6.6 ไรตัวห้ำ *Amblyseius adjaricus* (Wainstein & Vartapetov)
(ก) ตัวเต็มวัยเพศเมีย (ข) ส่วนปาก Chelicerae เป็นแบบคีม (ค) รูหายใจ Stigmata
(ง) ขนด้านสันหลัง (จ) ด้านสันหลัง ส่วนท้อง (ฉ) ถุงเก็บสเปิร์ม Spermatheca

ภาพ 2.6.7 ไรตัวห้ำ *Amblyseius californicus* (McGregor)
(ก) ตัวเต็มวัยเพศเมีย (ข) ส่วนปาก
(ค) ด้านท้อง ส่วนบน (ง) ด้านสันหลัง ส่วนท้อง

กรมวิชาการเกษตร



ภาพ 2.6.8 ไรกินเชื้อรา (Oribatid mite)

(ก) ตัวเต็มวัย (ข) ขาคู่ที่ 1 และ 2

(ค) ด้านท้อง ส่วนบน (ง) ด้านสันหลัง ส่วนท้อง

กรมวิชาการเกษตร

สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับผลแอปเปิลสดนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ณ ด่านตรวจพืชเชียงของ ปีงบประมาณ 2564 (ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2563 ถึง 30 กันยายน 2564) จำนวน 599 shipments ปริมาณและมูลค่าการนำเข้า 10,199.52 ตัน และ 236.68 ล้านบาท ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่าศัตรูพืชเป้าหมายที่สำคัญของผลแอปเปิลสดเป็นไรศัตรูพืช โดยเฉพาะไรแดง *Amphitetranychus viennensis* (Zacher) ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย และจากการสุ่มตรวจผลแอปเปิลสดที่นำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน พบไรรวมทั้งสิ้น 7 ชนิด 6 วงศ์ เป็นไรศัตรูพืช 4 ชนิด 3 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Tetranychidae 2 ชนิด คือ *Tetranychus* sp. และ *Amphitetranychus* sp. วงศ์ Tarsonemidae 2 ชนิด คือ *Tarsonemus* sp. และ *Steneotarsonemus* sp. และวงศ์ Tydeidae แต่เนื่องจากไม่พบไรเพศผู้ จึงไม่สามารถจำแนกถึงระดับชนิด (Species) ได้ นอกจากนั้น ยังพบไรศัตรูธรรมชาติ ได้แก่ ไรตัวห้ำ 2 ชนิด คือ *Amblyseius adjaricus* (Wainstein & Vartapetov) และ *Amblyseius californicus* (McGregor) และไรกินเชื้อรา (Oribatid mite) ซึ่งไรศัตรูพืชที่ตรวจพบทั้งหมดเป็นศัตรูพืชทั่วไป (Common Pest) ไม่ใช่ศัตรูพืชกักกัน (Quarantine Pest) ยกเว้น *Amphitetranychus* sp. ที่ไม่สามารถระบุได้ แต่มีโอกาสสูงมากว่าไรที่ตรวจพบอาจเป็นชนิดที่เป็นศัตรูพืชกักกัน เนื่องจาก A. *veinnensis* มีรายงานในต่างประเทศว่าพบการเข้าทำลายในผลแอปเปิลสด และในปี 2550 พลอยชมพูและคณะ ตรวจพบไรแดง A. *veinnensis* บนผลแอปเปิลสดจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ส่วนไรชนิดอื่นในสกุล Amphitetranychus มีรายงานการตรวจพบในพืชชนิดอื่น ดังนั้น พนักงานเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชจึงจะต้องเพิ่มความเข้มงวดในการตรวจสอบศัตรูพืชและเฝ้าระวังไม่ให้ศัตรูพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในราชอาณาจักร โดยก่อนการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืช จะต้องดำเนินการสืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับศัตรูแอปเปิลในสาธารณรัฐประชาชนจีน เพื่อให้ทราบถึงศัตรูพืชที่สำคัญที่อาจติดเข้ามากับผลแอปเปิลสดนำเข้า และเมื่อตรวจพบไรศัตรูพืชในสกุล Amphitetranychus ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นไรเพศเมีย จะต้องนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเพื่อให้ขยายพันธุ์จนได้ไรศัตรูพืชเพศผู้ จากนั้นจึงนำไปจำแนกชนิด เพื่อวินิจฉัยว่าเป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ ซึ่งหากตรวจพบว่าเป็นศัตรูพืชกักกัน นอกจากจะต้องดำเนินการตามมาตรการกักกันพืชเหมือนการตรวจพบศัตรูพืชทั่วไปแล้ว ยังจะต้องแจ้งเตือนไปยังประเทศต้นทางตามหลักการของอนุสัญญาเครือข่ายข้อมูลด้านสุขอนามัยพืช หรือ IPPC (International Plant Protection Convention) ด้วย นอกจากนั้น ผลการศึกษาชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับผลแอปเปิลสดนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนในครั้งนี้ ยังสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงทางวิชาการ สามารถนำข้อมูลมาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อกำหนดมาตรการทางสุขอนามัยพืชให้มีประสิทธิภาพ รัดกุม และเหมาะสมกับสถานการณ์การนำเข้าผลแอปเปิลสดในปัจจุบัน

กรมวิชาการเกษตร

อภิปรายผล (Discussion)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่าผลอุ่นที่นาเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนมีศัตรูพืชกักกัน 5 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยหอย *Aspidiotus nerii*, วัชพืช *Chenopodium album* เชื้อรา *Botryotinia fuckeliana*, *Guignardia bidwellii* และ *Elsinoë ampelina* และจากการศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับผลอุ่นนาเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน โดยสุ่มตัวอย่างผลอุ่นที่นาเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ระหว่างเดือนตุลาคม 2560 –เดือนกันยายน พ.ศ. 2562 ปริมาณทั้งสิ้น นาเข้าทั้งหมด 7,899 shipment ปริมาณ 131,880,396 กิโลกรัม มูลค่า 1,408,937,394 ล้านบาท นำมาตรวจสอบศัตรูพืชพบ หนอนแมลงวันผลไม้; *Bactocera dorsalis* 3 ครั้ง เพลี้ยแป้ง 18 ส่วนการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ตรวจพบเชื้อรา 5 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Alternaria alternata* 87 ครั้ง *Penicilium* sp. 51 ครั้ง *Cladosporium* sp. 54 ครั้ง ราแป้ง; *Oidium* sp.11 ครั้ง แอนแทรกโนส; *Collectotrichum* gloeosporioides 9 ครั้ง ระหว่างทาการศึกษาไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย

ผลการศึกษาชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับกุหลาบตัดดอกจากประเทศเนเธอแลนด์ พบว่าการตรวจพบศัตรูพืชดังกล่าวสามารถใช้สำหรับอ้างอิงทางวิชาการ เพื่อกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสมกับชนิดสินค้าพืช และสามารถนำเข้ามูลมาวิเคราะห์ความเสี่ยงศักยภาพการทำลายและการพัฒนาการทำลายพืชของศัตรูพืชที่พบ เจ้าหน้าที่ต้องเพิ่มความเข้มงวดโดยการเพิ่มปริมาณการสุ่มตรวจในปริมาณเพิ่มขึ้นจากเดิม และการใช้ดุลพินิจในการกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีที่เหมาะสม พนักงานเจ้าหน้าที่ควรให้ความสำคัญในการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืช โดยตรวจเอกสารหรืองานวิจัยเกี่ยวกับศัตรูพืชกุหลาบเพื่อให้ทราบถึงศัตรูสำคัญของกุหลาบและช่วงเวลาการแพร่ระบาดซึ่งอาจติดเข้ามากับกุหลาบตัดดอกนำเข้าจากประเทศเนเธอแลนด์ โดยจากการวิจัยควรเฝ้าระวังศัตรูพืช ๑๐ ชนิด ข้างต้นที่ได้รายงานไปแล้วนั้น โดยการเฝ้าระวังระหว่างช่วงเวลาการระบาดของศัตรูพืช ช่วงระยะเวลาที่มีการนำเข้ามากซึ่งจะส่งผลถึงแมลงศัตรูพืชที่อาจปนเปื้อนเข้ามา จึงควรมีการตรวจศัตรูพืชเพื่อนำเข้าส่งออกเข้มงวดยิ่งขึ้น เพื่อป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในราชอาณาจักร และเผยแพร่ให้ผู้ที่เกี่ยวข้องนำไปปฏิบัติให้เกิดประโยชน์ เช่น นายตรวจพืช พนักงานเจ้าหน้าที่ที่ปฏิบัติงานเกี่ยวข้องด้านสุขอนามัยเพื่อเป็นแนวทางการปฏิบัติงานที่ตั้งอยู่บนพื้นฐานเดียวกันของด่านที่มีการนำเข้าไม้ตัดดอก หรือนำไปปรับใช้กับการตรวจศัตรูพืชในสินค้าพืชชนิดอื่นต่อไป

จากการศึกษาชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับผลแอปเปิลสดนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ณ ด่านตรวจพืชเชียงของ ปีงบประมาณ 2564 (ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2563 ถึง 30 กันยายน 2564) จำนวน 599 shipments ปริมาณและมูลค่าการนำเข้า 10,199.52 ตัน และ 236.68 ล้านบาท ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่าศัตรูพืชเป้าหมายที่สำคัญของผลแอปเปิลสดเป็นไรศัตรูพืช โดยเฉพาะไรแดง *Amphitetranychus viennensis* (Zacher) ซึ่งเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย และจากการสุ่มตรวจผลแอปเปิลสดที่นำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน พบไรรวมทั้งสิ้น 7 ชนิด 6 วงศ์ เป็นไรศัตรูพืช 4 ชนิด 3 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Tetranychidae 2 ชนิด คือ *Tetranychus* sp. และ *Amphitetranychus* sp. วงศ์ Tarsonemidae 2 ชนิด คือ *Tarsonemus* sp. และ *Steneotarsonemus* sp. และวงศ์ Tydeidae แต่เนื่องจากไม่พบไรเพศผู้จึงไม่สามารถจำแนกถึงระดับชนิด (Species) ได้ นอกจากนั้น ยังพบไรศัตรูธรรมชาติ ได้แก่ ไรตัวห้ำ 2 ชนิด คือ

ศรีบัณฑิตรินทร์

Amblyseius adjaricus (Wainstein & Vartapetov) และ *Amblyseius californicus* (McGregor) และไรกินเชื้อรา (Oribatid mite) ซึ่งไรศัตรูพืชที่ตรวจพบทั้งหมดเป็นศัตรูพืชทั่วไป (Common Pest) ไม่ใช่ศัตรูพืชกักกัน (Quarantine Pest) ยกเว้น *Amphitetranychus* sp. ที่ไม่สามารถระบุได้ แต่มีโอกาสสูงมากว่าไรที่ตรวจพบอาจเป็นชนิดที่เป็นศัตรูพืชกักกัน เนื่องจาก A. *veinnensis* มีรายงานในต่างประเทศว่าพบการเข้าทำลายในผลแอปเปิลสด และในปี 2550 พลอยชมพูและคณะ ตรวจพบไรแดง A. *veinnensis* บนผลแอปเปิลสดจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ส่วนไรชนิดอื่นในสกุล Amphitetranychus มีรายงานการตรวจพบในพืชชนิดอื่น ดังนั้น พนักงานเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชจึงจะต้องเพิ่มความเข้มงวดในการตรวจสอบศัตรูพืชและเฝ้าระวังไม่ให้ศัตรูพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในราชอาณาจักร โดยก่อนการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืช จะต้องดำเนินการสืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับศัตรูแอปเปิลในสาธารณรัฐประชาชนจีน เพื่อให้ทราบถึงศัตรูพืชที่สำคัญที่อาจติดเข้ามากับผลแอปเปิลสดนำเข้า และเมื่อตรวจพบไรศัตรูพืชในสกุล Amphitetranychus ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นไรเพศเมีย จะต้องนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเพื่อให้ขยายพันธุ์จนได้ไรศัตรูพืชเพศผู้ จากนั้นจึงนำไปจำแนกชนิด เพื่อวินิจฉัยว่าเป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ ซึ่งหากตรวจพบว่าเป็นศัตรูพืชกักกัน นอกจากจะต้องดำเนินการตามมาตรการกักกันพืชเหมือนการตรวจพบศัตรูพืชทั่วไปแล้ว ยังจะต้องแจ้งเตือนไปยังประเทศต้นทางตามหลักการของอนุสัญญาเครือข่ายข้อมูลด้านสุขอนามัยพืช หรือ IPPC (International Plant Protection Convention) ด้วย นอกจากนั้น ผลการศึกษาชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับผลแอปเปิลสดนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีนในครั้งนี้ ยังสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงทางวิชาการ สามารถนำข้อมูลมาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อกำหนดมาตรการทางสุขอนามัยพืชให้มีประสิทธิภาพ รัดกุม และเหมาะสมกับสถานการณ์การนำเข้าผลแอปเปิลสดในปัจจุบัน

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

ผลจากการสุ่มตัวอย่างตาม ISPM no. 31 และนำมาตรวจสอบชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับผลแอปเปิลสดนำเข้าจากจีน ญี่ปุ่น กุหลาบตัดดอกจากจีน และเนเธอร์แลนด์ และผลองุ่นสดนำเข้าจากจีน ด้วยวิธีการเบื้องต้นและขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ตรวจแล้วไม่พบศัตรูพืชกักกัน

จากการศึกษานี้สามารถนำข้อมูลของศัตรูพืชที่ตรวจพบกับผลไม้และไม้ตัดดอกที่นำเข้าจากต่างประเทศไปใช้ประโยชน์ในการจัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบประกอบการนำไปใช้วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อปรับปรุงกฎหมาย และเงื่อนไขการนำเข้า กำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช และจัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืชที่ตรวจพบของกับผลไม้และไม้ตัดดอกรวมทั้งเก็บตัวอย่างที่ตรวจพบเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์กลุ่มวิจัยการกักกันพืชเพื่อใช้ประโยชน์ในการสืบค้นต่อไป

ราชการ

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

ผลจากการสุ่มตัวอย่างและตรวจสอบชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากอินเดีย จีน สหรัฐอเมริกา และเนเธอร์แลนด์ เมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา อินเดีย ญี่ปุ่น อิสราเอล ชิลี และฟิลิปปินส์ เมลอนนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา อินเดีย ญี่ปุ่น อิสราเอล ชิลี และเนเธอร์แลนด์ เมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากอินเดีย จีน เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกา เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากจีนและสหรัฐอเมริกา เมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ เมล็ดพันธุ์คะน้านำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน และประเทศนิวซีแลนด์ ด้วยวิธีการเบื้องต้น และขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ตรวจแล้วไม่พบศัตรูพืชกักกัน

จากการสุ่มตัวอย่างและตรวจสอบชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสกอตแลนด์ ออสเตรเลีย เนเธอร์แลนด์ และแคนาดา ด้วยวิธีการเบื้องต้น และขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ตรวจพบศัตรูพืชกักกัน 1 ชนิด คือ *Spongospora subterranea* ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสกอตแลนด์ ออสเตรเลีย และเนเธอร์แลนด์ โดยได้ดำเนินมาตรการทางด้านกักกันพืช

จากการตรวจติดตามเชื้อ *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากต่างประเทศ ด้วยวิธีการเบื้องต้น และขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ไม่พบศัตรูพืชกักกัน

ผลจากการสุ่มตัวอย่างและตรวจสอบชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนำเข้าจากอินเดียและสหรัฐอเมริกาด้วยวิธีการเบื้องต้น ตรวจพบร่องรอยการทำแมลง เมื่อนำไปจัดจำแนกชนิดพบว่า เป็นแมลงสกุล *Trogoderma* 2 ชนิด คือ *Trogoderma granarium* และ *T. variabile* และเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่ตรวจพบ T. *granarium* และ *T. variabile* ได้รับการกำจัดศัตรูพืชโดยการรมด้วยเมทิลโบรไมด์อัตรา 80 กรัม/ลูกบาศก์เมตร นาน 48 ชั่วโมงก่อนส่งกลับประเทศต้นทางและขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติ และในแปลงปลูกพืช การระบาดของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (Fall army worm, *Spodoptera frujiperda*) ในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดภายหลังการนำเข้าในพื้นที่ผลิต 17 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดขอนแก่น ชัยภูมิ นครราชสีมา อุบลราชธานี กาญจนบุรี สระบุรี ลพบุรี นครสวรรค์ พิษณุโลก กำแพงเพชร ตาก แม่ฮ่องสอน แพร่ ลำพูน ลำปาง เชียงใหม่ และเชียงราย และได้ดำเนินการด้านมาตรการสุขอนามัยพืช เช่นการเฝ้าระวังศัตรูพืช และการสำรวจติดตามอย่างต่อเนื่อง โดยใช้กับดักฟีโรโมนล่อแมลง และสังเกตด้วยตาเปล่าอย่างเข้มงวดในทุกพื้นที่ที่มีการผลิตข้าวโพด

ผลจากการสุ่มตัวอย่างและตรวจสอบชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากนิวซีแลนด์ และญี่ปุ่น ด้วยวิธีการเบื้องต้น และขั้นละเอียด ในห้องปฏิบัติการ ตรวจพบเมล็ดวัชพืชกักกัน 1 ชนิด ได้แก่ *Polygonum convolvulus* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีนำเข้าจากญี่ปุ่น โดยได้ดำเนินการตามมาตรการในการจัดการศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย โดยให้ผู้ประกอบการที่นำเข้ามา ทำลายหรือส่งเมล็ดพันธุ์กลับโดยได้ดำเนินมาตรการทางด้านกักกันพืช

ผลจากการสุ่มตัวอย่างและตรวจสอบชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งนำเข้าจากนิวซีแลนด์และจีน ด้วยวิธีการเบื้องต้น และขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ตรวจพบ *Polygonum aviculare, Chenopodium album* ได้ควบคุมโดยอาศัยพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม เพื่อป้องกันมิให้วัชพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดภายในประเทศไทย เช่น ฝังกลบ เผาทำลาย หรือส่งกลับประเทศต้นทาง

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

ส่วนผลการตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาในเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้า ด้วยวิธีการขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ จาก 9 ประเทศ ไม่พบไฟโตพลาสมาติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ

จากการศึกษานี้สามารถนำข้อมูลของศัตรูพืชที่ตรวจพบกับเมล็ดพืช หัวพันธุ์พืชที่นำเข้าจากต่างประเทศไปใช้ประโยชน์ในการจัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบประกอบการนำไปใช้วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อปรับปรุงกฎหมาย และเงื่อนไขการนำเข้า กำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช และจัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืชที่ตรวจพบของกับเมล็ดพืช หัวพันธุ์พืชรวมทั้งเก็บตัวอย่างที่ตรวจพบเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์กลุ่มวิจัยการกักกันพืชเพื่อใช้ประโยชน์ในการสืบค้นต่อไป

ผลจากการสุ่มตัวอย่างตาม ISPM no. 31 และนำมาตรวจสอบชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับผลแอปเปิลสดนำเข้าจากจีน ญี่ปุ่น กุหลาบตัดดอกจากจีน และเนเธอร์แลนด์ และผลองุ่นสดนำเข้าจากจีน ด้วยวิธีการเบื้องต้นและขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ตรวจแล้วไม่พบศัตรูพืชกักกัน

จากการศึกษานี้สามารถนำข้อมูลของศัตรูพืชที่ตรวจพบกับผลไม้และไม้ตัดดอกที่นำเข้าจากต่างประเทศไปใช้ประโยชน์ในการจัดทำรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบประกอบการนำไปใช้วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อปรับปรุงกฎหมาย และเงื่อนไขการนำเข้า กำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช และจัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืชที่ตรวจพบของกับผลไม้และไม้ตัดดอกรวมทั้งเก็บตัวอย่างที่ตรวจพบเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์กลุ่มวิจัยการกักกันพืชเพื่อใช้ประโยชน์ในการสืบค้นต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

บรรณานุกรม

กรมวิชาการเกษตร. 2552. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวมันฝรั่งจากแคนาดา พ.ศ. 2552. ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 126 ตอนพิเศษ 114 ง. หน้า 72-80.

กรมวิชาการเกษตร. 2552. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวมันฝรั่งจากสหรัฐอเมริกา พ.ศ. 2552. ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 126 ตอนพิเศษ 170 ง. หน้า 46-54.

กรมวิชาการเกษตร. 2552. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง เงื่อนไขการนำเข้าหัวมันฝรั่งจากเครือรัฐออสเตรเลีย พ.ศ. 2552. ราชกิจจานุเบกษา. 2552. เล่ม 126 ตอนพิเศษ 114 ง.

กรมวิชาการเกษตร. 2551. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง หลักเกณฑ์ วิธีการ และ เงื่อนไข การนำเข้าหรือนำผ่านซึ่งสิ่งต้องห้าม สิ่งกำกัด และสิ่งไม่ต้องห้าม พ.ศ. 2551. ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 125 ตอน พิเศษ 165 ง. หน้า 23-29.

กรมวิชาการเกษตร. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และ เงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 (2550, 1 มิถุนายน). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 124 ตอนพิเศษ 66 ง. หน้า 1-3.

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2551. พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พระราชบัญญัตกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551. ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 125 ตอนที่ 40 ก. หน้า 28-37.

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2542. พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 116 ตอนที่ 39 ก. หน้า 1-9.

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2507. พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507. ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 81 ตอนที27 ฉบับพิเศษ หน้า 1-12.

กลุ่มวิจัยการกักกันพืช. 2557. ข้อมูลการนำเข้าพืช ปี 2554-2557.กลุ่มวิจัยการกักกันพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

จุมพล สาระนาค อรพรรณ วิเศษสังข์ และจักรพงษ์ เจิมศิริ. 2540. โรคผัก. คู่มือนักวิชาการภาคสนาม ฝ่ายวิเคราะห์และบริการ. สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6, กรมวิชาการเกษตร. 113 หน้า.

ชลธิชา รักใคร่ ศรีวิเศษ เกษสังข์ นงพร มาอยู่ดี ปรียพรรณ พงศาพิชญ์ วันเพ็ญ ศรีชาติ วานิช คำพานิช และโสภา พิศวงปราการ. 2556. การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากต่างประเทศ. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2556. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

นงพร มาอยู่ดี ชลธิชา รักใคร่ จรรยา มณีโชติ และชาญชัย แสงหิรัญ. 2556. การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักชีนำเข้าจากต่างประเทศ. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2556. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

นวลศรี โชตินันท์. 2554. ศัตรูมะพร้าวต่างถิ่น...สาเหตุมะพร้าวตายนับหมื่น. ผลิใบ. 14 (6): 9-12.

นวลศรี โชตินันท์. 2555. หนอนหัวดำ ศัตรูตัวร้ายทำลายมะพร้าว. ผลิใบ. 15 (6): 9-12.

กรมวิชาการเกษตร

ประเทือง ศรีสุข ดรุณี วงศ์ศศิธร วิชา ธิติประเสริฐ อุดร อุณหวุฒิ สุวนิตย์ จีรวงส์ ศรีวิเศษ เกษสังข์ และคมสัน จำรูญพงษ์. 2533. การกักกันพืชในประเทศไทย. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว. กรุงเทพ. 83 หน้า.

ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์ ปรียพรรณ พงศาพิชณ์ วันเพ็ญ ศรีชาติ และวานิช คำพานิช. 2549. การพัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อไวรอยดกับเมล็ดมะเขือเทศที่เหมาะสมในงานกักกันพืช. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2549. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

ปรียพรรณ พงศาพิชณ์ วันเพ็ญ ศรีชาติ และวานิช คำพานิช. 2555. การศึกษาชนิดของศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากต่างประเทศ. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2555. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

พัฒนา สนธิรัตน ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร สหมิตรพริ้นติ้ง จ.นนทบุรี. 285 น.

ศศิวิมล แสวงผล เชฏฐ์ สาทรกิจ และทยา เจนจิตติกุล. 2546. สารานุกรมผลิตผลและผลิตภัณฑ์จากพืชในซุปเปอร์มาร์เก็ต ฉบับคอมพิวเตอร์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. กรุงเทพฯ.

ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ พรรณเพ็ญ ชโยภาส รัตนา นชะพงษ์ ลักขณา บำรุงศรี สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี ยุวรินทร์ บุญทบ และณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม. 2548. แมลง การจำแนกและการเก็บตัวอย่าง. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 100 หน้า.

ศิริณี พูนไชยศรี และ ลักขณา บำรุงศรี. 2554. แมลงปากดูดชนิดที่สำคัญของประเทศไทย. กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง, กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. โรงพิมพ์สหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. 142 น

ศักดิ์ สุนทรสิงห์. 2537 โรคของผักและการป้องกันกำจัด ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 198 หน้า.

สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ อลงกต โพธิ์ดี วาสนา ฤทธิ์ไธสง และคมศร แสงจินดา. 2554. การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2554. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ และ Kai-Shu Ling. 2556. การจัดการความเสี่ยงสำหรับไวรอยด์ในพืชวงศ์โซลานาซีอี้และเมล็ดพันธุ์. หน้า 837 - 846. *ใน* การประชุมอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 11. ขอนแก่น

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2557. ข้อมูลการนำเข้าพืช ปี 2554-2556 *ณ* ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร . 2556. สถิติการนำเข้าข้าวโพดปี 2556. กลุ่มบริการวิชาการ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร.

กรมวิชาการเกษตร

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2556. สถิติการนำเข้า-ส่งออกสินค้าเกษตรที่สำคัญ. สถิติการนำเข้าองุ่นสดปริมาณและมูลค่าการนำเข้ารายเดือน ปี 2550-2555. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2547. เอกสารวิชาการ ศัตรูพืชกักกันที่สำคัญของ แอปเปิ้ล. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 40 หน้า.สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2557. ข้อมูลทางสถิติ นำเข้า- ส่งออกสินค้าที่สำคัญ http://www.oae.go.th/oae. สืบค้นเมื่อ 10 มิถุนายน 2557.

Adkins, S., Webb, S.E., Achor, D., Roberts, P.D. and Baker, C.A. 2007. Identification and characterization of a novel whitefly-transmitted member of the Family Potyviridae solated from cucurbits in Florida. Phytopathology 97: 145-154.

Adkins, S., Webb, S.E., Baker, C.A., and Kousik, C.S. 2008. *Squash vein yellowing virus* detection using nested polymerase chain reaction demonstrates that the cucurbit weed *Momordica charantia* is a reservoir hosts. Plant Dis. 92: 1119-1123.

Ali, A., Abdalla, O., Bruton, B., Fish, W., Sikora, E., Zhang, S., and Taylor, M. 2012. occurrence of viruses infecting watermelon, other cucurbits, and weeds in the parts of Southern United States. Online. Plant Health Progress doi: 10.1094/PHP-2012-0824-01-RS.

Ali, A., Mohammad, O., and Khattab, A. 2012. Distribution of viruses infecting cucurbit crops and isolation of potential new virus-like sequences from weeds in Oklahoma. Plant Dis. 96 : 243-248.

Anonymous. 1968. A Practical Short Term Course in Plant Quarantine for international Fellows Studying in Australia. Department of External Affairs and Department of Health, Australia. 236 pp.

Ark, P.A. and M.W. Gardner. 1944. Carrot bacterial blight as it affects the roots. Phytopathology, 34: 415-420.

Australian Quarantine & Inspection Service. 1998. Final import risk analysis of the importation of fruit of Fuji Apple *Malus pumila* Miller var. *domestica* Schneider) from Aomori prefecture in Japan. Australian Quarantine & Inspection Service. GPO Box 858. Canberra ACT 2601. AUSTRALIA . 61 pp.

Babadoost, M. and Ravanlou A. 2012. Outbreak of bacterial spot (*Xanthomonas cucurbitae*) in pumpkin fields in Illinois. Plant Dis. 96 (8) pp. 1222.

Bailiss, K.W. and S.K. Offei. 1990. *Alfalfa mosaic virus* in lucerne seed during seed maturation and storage, and in seedlings. Plant Pathology, 39 (3): 539-547.

กรมวิชาการเกษตร

Barbe, L. 1984. Black rot of grapevines. Arboriculture Fruitiere, 31 (359): 29-30.

Bedi, P.S., G. Singh and D. Suryanaryana, 1 9 6 9 . Field evaluation of Aureofungin and other chemicals to control anthracnose disease of grapes in Punjab. Hindustan Antibiotic Bulletin, 11: 251-253.

Block, C.C., J.H. Hill and D.C. McGee, 1 9 9 9 . Relationship between late-season severity of Stewart's bacterial wilt and seed infection in maize. Plant Disease, 83(6): 527-530.

Blancard, D., H. Lot. and B. Maisonneuve. 2006. A Color Atlas of Disease of Lettuce and Related Salad Crops Observation, Biology and Control. Academic Press, San Diego. 375 pp.

Borror, D.J., 1981. An Introduction to the Study of Insects. 827 pages with 672 figures and 12 tables. 827 p.

Bradbury, J.F. 1981. *Pseudomonas cichorii*. CMI Description of Pathogenic Fungi and Bacteria, No. 695. Wallingford, UK: CAB International.

Bradbury, J.F. 1986. Guide to Plant Pathogenic Bacteria. Wallingford, UK: CAB International.

CABI. 2014. Crop Protection Compendium (2014 edition). Copyright © 2014 CABI. CAB International is a registered EUtrademark Available source: http://www.cabi.org/CABI/ (site date: April 20, 2014).

CABI. 2007. Crop Protection Compendium, 2007 ed. Wallingford, U.K.: CAB International [CD-ROM].

Chang, R.J., Ries, S.M. and Pataky, J.K. 1991. Dissemination of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* by practices used to produce tomato transplants. Phytopathology, 81(10): 1276-1281.

Cuppels, D.A. and A. Kelman. 1980. Isolation of pectolytic fluorescent psuedomonads from soil and potatoes. Phytopathology, 70(11): 1110-1115.

Córdoba-Sellés Mdel, C., García-Rández, A., Alfaro-Fernández, A., Jordá-Gutiérrez, C. 2007. Seed transmission of *Pepino mosaic virus* and efficacy of tomato seed disinfection treatments. Plant Disease, 91(10): 1250-1254.

Dhanvantari, B.N. 1989. Effect of seed extraction methods and seed treatments on control of tomato bacterial canker. Canadian Journal of Plant Pathology, 11(4): 400-408.

Dhanvantari, B.N. 1994. Further studies on seed treatment for tomato bacterial canker. Proceedings of the 10th Annual Tomato Disease Workshop. 49-51.

Dhanvantari, B.N., Brown, R.J. 1993. Improved seed treatments for control of bacterial canker of tomato. Canadian Journal of Plant Pathology, 15(3): 201-205.

ศูนย์วิทยทรัพยากร

Dreier, J., Bermpohl, A., Eichenlaub, R. 1995. Southern hybridization and PCR for specific detection of phytopathogenic *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Phytopathology, 85(4): 462-468.

Douhan, L.I. and D.A. Johnson. 2001. Vegetative compatibility and pathogenicity of *Verticillium dahliae* from spearmint and peppermint. Plant Disease, 85(3) : 297-302; 38 ref.

Edwardson, J.R. and R.G. Christie. 1997. Viruses infecting peppers and other solanaceous crops. Vol.1. Viruses infecting peppers and other solanaceous crops. Vol. 1. 336 pp.

EFSA Panel on Plant Health (PLH). 2011. Scientific Opinion on the assessment of the risk of solanaceous pospiviroids for the EU territory and the identification and evaluation of risk management options. EFSA Journal 9 (8): 2330. 133 pp.

Erwin D.C. and O.K. Ribeiro, 1996. Phytophthora Diseases Worldwide. American Phytopathological Society Press. St Paul, Minnesota, USA.

Fatmi, M., Schaad, N.W. and Bolkan, H.A. 1991. Seed treatments for eradicating Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis from naturally infected tomato seeds. Plant Disease, 75(4): 383-385.

Gitaitis, R., D. Sumner, D. Gay, D. Smittle, G. McDonald, B. Maw, W.C.III. Johnson, B. Tollner, and Y. Hung. 1997. Bacterial streak and bulb rot of onion: I. A diagnostic medium for the semi selective isolation and enumeration of *Pseudomonas viridiflava*. Plant Disease, 81 (8): 897-900; 24 ref.

Gupta, G.K. and Singh, D. 1996. Resistance to downy mildew in pearl millet hybrid NHB-3. Indian Phytopathology, 40(2): 178-180.

Hancock, D.L., E.L. Hamacek, A.C. Lloyd and M.M. Elson-Harris. 2000. The distribution and host plants of fruit flies (Diptera: Tephritidae) in Australia. Department of Primary Industries, Queensland, Information Series Q199067: 1-75.

Hardwick, D.F. 1965. The corn earworm complex. Memoirs of the Entomological Society of Canada. 40: 1-247.

Hayward A.C., and Waterston J.M. 1964. *Corynebacterium sepedonicum*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 14. Wallingford, UK: CAB International.

Lee, I.M., Bartoszyk, I.M., Gundersen, D.E., Mogen, B., Davis, R.E. 1997. Nested PCR for ultrasensitive detection of the potato ring rot bacterium, *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. Applied and Environmental Microbiology, 63(7): 2625-2630.

Hughes, A.M. 1976. The mites of stored food and houses. Technical Bulletin, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, No. 9, Ed. 2: (4) 400 pp.

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

International Seed Federation. 2011. Method for the Detection of *Lettuce mosaic virus* on Lettuce seed and Seedlings. http://www.worldseed.org/isf/ishi-vegetable.html. (site date: Sep. 23, 2014).

International Seed Federation. 2011. Method for the Detection of *Pepino mosaic virus* on Tomato seed. http://www.worldseed.org/isf/ishi-vegetable.html. (site date: Sep. 23, 2014).

International Seed Federation. 2015. Method for the Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on Tomato seed. http://www.worldseed.org/isf/ishi-vegetable.html. (site date: May 28, 2016).

International Seed Testing Association. 2016a. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association (ISTA). Bassersdort, Switzerland. (site date: Sep. 20, 2013).

International Seed Testing Association. 2016b. Detection of *Squash mosaic virus, Cucumber green mottle mosaic virus* and *Melon necrotic virus* in cucurbit seed. International Rules for Seed Testing 2016. 11 pp.

International Seed Testing Association. 2018. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association (ISTA). Bassersdort, Switzerland

Jarvis, W. R. 1992**.** Cucumber diseases**.** Agriculture Canada. Communications Branch. Canada. 49 p.

Jeppson, L.R., H.H. Keifer and E.W. Baker. 1975. Mites Injurious to Economic Plants. Berkeley, USA: University of California Press.

Jones, J.B., Jones J.P., Stall and Zitter R.E. 1991. Compendium of Tomato Diseases. The American Phytopathologal Society. St.Paul, USA. 73 pp.

Kao, J., Jia, L., Tian, T., Rubio, L. and Falk, B.W. 2000. First report of *Cucurbit yellow stunting disorder virus* (genus *Crinivirus*) in North America. Plant Disease, 84(1): 101.

Kato, K., Hanada, K., and Kameya-Iwaki, M. 2000. *Melon yellow spot virus*: A Distinct Species of the Genus *Tospovirus* Isolated from Melon. Phytopathology 90: 422-426.

Kimble, K.A., R.G. Grogan., A.S. Greathead, A.O. Paulus and J.K. House. 1975. Development, application and comparison of methods for indexing lettuce seed for mosaic virus in California. Plant Disease Reporter: 59(6): 461-464.

Komuro, Y., A. Tochichara, R. Fukatsu, Y. Nagai and S. Yoneyama. 1971. *Cucumber green mottle mosaic virus* (Watermelon strain) in watermelon and its bearing on deterioration of watermelon fruit known as “Konnyaku”. Ann. Phytopathol. Soc. Jap. 37: 34–42.

ศรีบัวทรินนัส

Kuan, T.L., G.V. Minsavage and R.L. Gabrielson. 1985. Detection of *Xanthomonas campestris* pv. *carotae* in carrot seed. Plant Disease. 69 pp. 758-760.

Linda, W. Davis. 1993. Weed Seeds of the Great Plains A Handbook for Indentification. 208 p.

Ling, K.S. 2008. *Pepino mosaic virus* on tomato seed: virus location and mechanical transmission. Plant Disease, 92(12): 1701-1705.

Ling, K.S. *2010. E*ffectiveness of chemo- and thermo-therapeutic treatments on *Pepino mosaic virus* in tomato seed. Plant Disease, 94(3): 325-328.

Liquido, N.J., L.A. Shinoda and R.T. Cunningham. 1991. Host plants of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae): an annotated world review. Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America, 77: 1-52.

Liu, H. W., Luo, L. X., Li, J. Q., Liu, P. F., Chen, X. Y., Hao and J. J. 2014. Pollen and seed transmission of *Cucumber green mottle mosaic virus* in Cucumber. Plant Pathology, 63: (1) pp. 72-77.

Mansfeld-Giese, K. 1997. Plant-to-plant transmission of the bacterial ring rot pathogen *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. Potato Research, 40 (2): 229-235.

Mariano, R.L.R. and S.M. McCarter. 1993. Epiphytic survival of *Pseudomonas viridiflava* on tomato and selected weed species. Microbial Ecology, 26 (1): 47-58.

Martyn, R. D., Miller, M. E. and Bruton, B. D. 1993. Diseases of Cucurbits (*Citrullus* spp., *Cucumis* spp., *Cucurbita* spp., and others). Common Names of Plant Diseases. The American phytopathological Society. APS net Plant pathology Online. (http://www.apsnet.org/online/common/names/ cucurbit.asp) (site date: April 20, 2014).

Mathur, S.B. and O. Kongdal. 2003. Common Laboratory Seed Health Testing Method for Detecting Fungi. Copehagen. Denmark. 425 pp.

Murant, A.F. 1970. *Tomato black ring virus*. Commonwealth Mycological Institute / Association of Applied Biologists Descriptions of Plant Viruses No. 38. Wallingford, UK: CAB International, 4 pp.

Nelson, G.A., 1984. Survival of *Corynebacterium sepedonicum* in potato stems and on surfaces held at freezing and above-freezing temperatures. American Potato Journal, 62(1): 23-28; [2 tab.].

OEPP/ EPPO, 2013a. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Diagnostic protocols for regulated pests, PM7/42(2). EPPO Bulletin, 43(1): 46-67.

กรมวิชาการเกษตร

OEPP/ EPPO, 2013b. *Pepino masaic virus*. Diagnostic protocols for regulated pests, PM7/113(1). EPPO Bulletin, 43(1): 94-104.

Ogiso, H., T. Shimuzu, T. Kawano and Y. Takahashi. 1997. Detection of *Pseudomonas chichorii*, one of the Pathogens of lettuce bacterial rot, from lettuce leaves with ELISA procedure. Proceedings of the Kanto Tosan Plant Protection Society, 44: 57- 61.

Ohki, T., Sako, I., Kanda, A., Mochizuki, T., Honda, Y., and Tsuda, S. 2008. A New Strain of *Molon necrotic spot virus* that is Unable to Systemically Infect *Cucurmis melo*. Phytopathology 98: 1165-1170.

Onuki, M., Kubota, K., and Okuda, M. 2014. Development of RT-PCR Assay Using a Primer Cocktail for eight Virus Species Infecting Melon (*Cucumis melo*) and Cucumber (*Cucumis sativus*).(http://www.agris.fao.org/agris-search/search.do? recordID= JP2008002749) (site date: April 20, 2014).

Ok-Kyung K., Key-Woon L., and Natsuaki, K.T. 2009. Occurrence and Molecular Characterization of *Kyuri green mottle mosaic virus* Isolated from Oriental Melon in Korea. J. Agric. Sci., Tokyo Univ. Agric., 54 (2). 71-78 pp.

Özdemir, Z. and Zitter, T. A. 2006. Bacterial leaf spot (*Xanthomonas campestris* pv. *cucurbitae*) as a factor in cucurbit production and evaluation of seed treatments for control in naturally infested seeds. Cucurbitaceae, 17-21 September 2006, pp. 498-506.

Ozgonen, H. and M. Gulcu, 2011. Determination of mycoflora of pea (*Pisum sativum*) seeds and the effects of *Rhizobium leguminosorum* on fungal pathogens of peas. African Journal of Biotechnology, 10(33): 6235-6240.

Pastrik, K.H. and Rainey, F.A. 1999. Identification and differentiation of *Clavibacter michiganensis* subspecies by polymerase chain reaction-based techniques. Journal of Phytopathology, 147(11-12): 687-693.

Palti, J. 1974. Striking divergences in the distribution of *Leveillula taurica* (Lev.) Arn. on some major crop hosts. Phytopathologia Mediterranea, 13(1/2): 17-22.

Rich, A.E. 1983. *Potato Diseases*. Academic Press, New York, 238 pp.

Richardson M.J. 1990. An Annotated List of Seed-Borne Diseases. 4 th Ed. International Seed Testing Association, Zurich.

Rubio, L. Ab;ou-Jawsah, Y., Lin, H., and Falk W.B. 2001. Geographically distant isolates of the *Crinivirus Cucurbit yellow stunting disorder virus* show very low genetic diversity in the coat protein gene. Journal of General Virology. 82: 929-933.

ศูนย์วิทยทรัพยากร

Salomone, A. and Roggero, P. 2002. Host range, seed transmission and detection by ELISA and lateral flow of an Italian isolate of *Pepino mosaic virus*. Journal of Plant Pathology. 84(1): 65-68.

Sands, D.C., L. Hankin and M. Zucker. 1972. A selective medium for pectolytic fluorescent Pseudomonads. Phytopathology. 62: 998-1000.

Schuster, M.L., C.C. Smith and M. Ziegelbein. 1985. Inheritance of expression of specific symptoms associated with leaf freckles of maize incited by Corynebacterium nebraskense.. Fitopatologia Brasileira. 10(1) : 159-162.

Shahriari, D. and H. Rahimian. 2002. Occurrence of bacterial leaf spot and blight of cucurbits in Varamin and evaluation of the resistance of some cultivars and lines of cucumber to the disease. Iranian Journal of Plant Pathology. 38: 1-2.

Smith, I.M., D.G. McNamara, P.R. Scott and K.M. Harris. 1992. Quarantine pests for Europe: data sheets on quarantine pests for the European Communities and for the European and Mediterranean Plant Protection Organization. Wallingford, UK.

Sousa Santos, M., Cruz L., Norskov P., Rasmussen O.F. 1997. A rapid and sensitive detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato seeds by polymerase chain reaction. Seed Science and Technology. 25(3): 581-584.

Stevenson, W.R., Loria, R., Franc, G.D. and Weingartner, D.P. 2004. Compendium of Potato Diseases. The American Phytopathologal Society. St.Paul, USA. 106 pp.

Thyr, B.D., Webb, R.E., Jaworski, C.A., and Ratcliffe, T.J. 1973. Tomato bacterial canker: control by seed treatment. Plant Disease Reporter. 57: 974-977.

Tomlinson, J.A., Faithfull, E.M. 1984. Studies on the occurrence of *Tomato bushy stunt virus* in English rivers. Annals of Applied Biology, 104 (3): 485-495.

Tzanetakis, I.E., A.B., Halgren, W.M., Wintermantel, K.E., Keller and R.R., Martin. 2004. Two *criniviruses* are associated with the strawberry pallidosis disease. Acta Horticulturae. 656: 21-26.

Varveri, C., N. Vassilokos and F. Bem. 2002. Characterization and detection of *Cucumber green mottle mosaic virus* in Greece. Phytoparasitica. 30: 493-501.

Vannacci, G. and S. Pecchia. 1988. Location and transmission of seed-borne *Alternaria raphani* Groves and Skolko in *Raphanus sativus* L.: a case study. Archiv fur Phytopathologie and Pflanzenschutz, 24(4): 305-315.

Williford, R.E. and N.W. Schaad. 1984. Agar medium for selective isolation of

ศรีบูรพา

Xanthomonas campestris pv. *carotae* from carrot seeds. Phytopathology. 74, 1142

Whyte, C.F. 2009. Explanatory Document on International Standard for Phytosanitary Measures No.31 (Methodologies for Sampling of Consignments Available. http://www.ippc.int/file_uploaded/1252507962732_ISPM31ED_in format.pdf. (1 September 2010).). (Online).

Xu, Z.G., A.J. Cockbain, R.D. Woods and D.A. Govier. 1988. The selogical relationships are some other properties of isolates of *Broad bean wilt virus* from faba bean and pea in China. Annals of Applied Biology. 113(2): 287-296.

Zitter T.A., Hopkins D.L. and Thomas C.E. 1996. Compendium of cucurbit diseases. APS Press St. Paul, USA.

กรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวก

ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง (Output) (พร้อมแนบหลักฐาน)

ปีดำเนินงานวิจัย	ชนิดพืช	ประเทศนำเข้า	ปริมาณนำเข้า (กิโลกรัม)	จำนวนครั้งนำเข้า	ชนิดศัตรูพืช	ความถี่การตรวจพบ	สถานภาพ
2559-2560	มะเขือเทศ	อินเดีย	3, 785.60	67	Fungi		
					Curvularia lunata	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Fusarium monoliforme	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Fusarium oxysporum	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Phoma sp.	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Virus		
					Tobacco mosaic virus (TMV)	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Tomato mosaic virus (ToMV)	1	ศัตรูพืชในประเทศ
		จีน	54	10	ไม่พบศัตรูพืช	-	-
2559-2560	แตงโม	สหรัฐอเมริกา		60	Fungi		
					Fusarium oxysporum	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Fuarium solani	1	ศัตรูพืชในประเทศ
		อินเดีย		36	Fungi		
					Drechslera halodes	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Curvularia pallescens	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Cladosporium sp.	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Phoma cucurbitacearum	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Fusarium oxysporum	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					F. Solani	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Macrophomina phaseolina	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Drechslera hawaiiensis	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Acidovorax avenae subsp. *citrulli*	2	ศัตรูพืชในประเทศ
2559-2560	เมลอน	สหรัฐอเมริกา		30	Fungi		
					Fusarium oxysporum	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					F. solani	1	ศัตรูพืชในประเทศ
		อินเดีย		19	Fungi		
					Drechslera halodes	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Macrophomina phaseolina	1	ศัตรูพืชในประเทศ
2559-2560	พริก	อินเดีย	7,183.66	67	Fungi		
					Alternaria tenuis	12	ศัตรูพืชในประเทศ
					Alternaria raphani	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Cercospora capsica	2	ศัตรูพืชในประเทศ
					Curvularia lunata	2	ศัตรูพืชในประเทศ
					Curvularia pallescens	6	ศัตรูพืชในประเทศ
					Drechslera halodes	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Drechslera haweiensis	2	ศัตรูพืชในประเทศ
					Drechslera tetramera	2	ศัตรูพืชในประเทศ
					Fusarium oxysporum	10	ศัตรูพืชในประเทศ
					Fusarium semitectum	2	ศัตรูพืชในประเทศ

กรมวิชาการเกษตร

ปีดำเนินงานวิจัย	ชนิดพืช	ประเทศนำเข้า	ปริมาณนำเข้า (กิโลกรัม)	จำนวนครั้งนำเข้า	ชนิดศัตรูพืช	ความถี่การตรวจพบ	สถานภาพ
					Fusarium solani	5	ศัตรูพืชในประเทศ
					Bacteria		ศัตรูพืชในประเทศ
					Xanthomonas campestris pv. *vesicatoria*	2	ศัตรูพืชในประเทศ
					Virus	6	ศัตรูพืชในประเทศ
					Cucumber mosaic virus	8	ศัตรูพืชในประเทศ
					Tobacco mosaic virus	5	ศัตรูพืชในประเทศ
					Tomato mosaic virus		
		จีน	1,781.34	51	Fungi		
					Alternaria alternata	6	ศัตรูพืชในประเทศ
					Curvularia pallescens	8	ศัตรูพืชในประเทศ
					Drechslera cynodontis	2	ศัตรูพืชในประเทศ
					Virus		
					Cucumber mosaic virus	4	ศัตรูพืชในประเทศ
					Pepper mild mottle mosaic virus	2	ศัตรูพืชในประเทศ
					Tobacco mosaic virus	8	ศัตรูพืชในประเทศ
					Tomato mosaic virus	6	ศัตรูพืชในประเทศ
2559-2560	ผักกาดหอม	จีน	33,252.4	11	Fungi		
					Alternaria raphani	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Alternaria tenuis	8	ศัตรูพืชในประเทศ
					Cladosporium sp.	2	ศัตรูพืชในประเทศ
					Curvularia lunata	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Drechslera halodes	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Fusarium semitectum	2	ศัตรูพืชในประเทศ
					Fusarium oxysporum	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Ulocladium sp.	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Virus		
					Lettuce mosaic virus	1	ศัตรูพืชกักกัน
					Weed		
					Ageratina adephora	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Amaranthus retroflexus	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Amaranthus viridis	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Cleome vicosa	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Eleusine indica	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Setaria viridis	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Sonchus arvensis	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Oxalis corniculata	1	ศัตรูพืชในประเทศ
		สหรัฐอเมริกา	6,685.69	14	*Alternaria tenuis*	1	ศัตรูพืชในประเทศ
2559-2560	มันฝรั่ง	สก๊อตแลนด์	1,885,850	8	*Spongospora subterranea*	8	อยู่ในระดับที่ยอมรับได้
		ออสเตรเลีย	650,600	1	*Spongospora subterranea*	1	อยู่ในระดับที่ยอมรับได้

กรมวิชาการเกษตร

ปีดำเนินงานวิจัย	ชนิดพืช	ประเทศนำเข้า	ปริมาณนำเข้า (กิโลกรัม)	จำนวนครั้งนำเข้า	ชนิดศัตรูพืช	ความถี่การตรวจพบ	สถานภาพ
2559-2560	มันฝรั่ง	สก็อตแลนด์	2,920,300	22	ไม่พบ *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*	-	ไม่พบ
		เนเธอร์แลนด์	1,040,850	10	ไม่พบ *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*	-	ไม่พบ
		ออสเตรเลีย	705,200	3	ไม่พบ *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*	-	ไม่พบ
		สหรัฐอเมริกา	1,205	1	ไม่พบ *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*	-	ไม่พบ
		เปรู	36	1	ไม่พบ *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*	-	ไม่พบ
		เกาหลี	0.78	1	ไม่พบ *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*	-	ไม่พบ
2559-2560	ผลแอปเปิ้ล	ญี่ปุ่น	337,480	655	ไร	5	ศัตรูพืชในประเทศ
2559-2560	กุหลาบตัดดอก	จีน	1,804,581	1,130	เพลี้ยไฟ (*Frankliniella occidentalis*) ไรสองจุด (*Tetranychidae*) ไข่ไรสองจุด (*Tetranychidae*) หนอนเจาะดอก (Pyralidae) ดักแด้แมลงหวี่ขาว (*Bemisia tabaci*) โรคราน้ำค้าง (*Peronospora* sp.) โรคราแป้ง (*Oidium* sp.) โรคราสีเทา (*Botrytis* sp.) โรคแอนแทรกโนส (Anthracnose)	32 903 155 1 24 205 23 85 15	ศัตรูพืชในประเทศ ศัตรูพืชในประเทศ ศัตรูพืชในประเทศ ศัตรูพืชในประเทศ ศัตรูพืชในประเทศ ศัตรูพืชในประเทศ ศัตรูพืชในประเทศ ศัตรูพืชในประเทศ ศัตรูพืชในประเทศ
2561-2562	มะเขือเทศ	สหรัฐอเมริกา	54.50	98	Fungi *Fusrium oxysporum* virus ToMV	 2 2	 ศัตรูพืชในประเทศ ศัตรูพืชในประเทศ
		เนเธอแลนด์	145.33	127	TMV	1	ศัตรูพืชในประเทศ
2561-2562	แตงโม	ญี่ปุ่น		16	Fungi *Cladosporium* sp.	 1	
		อิสราเอล		8	ไม่พบศัตรูพืช	-	
	เมเลอน	ญี่ปุ่น		50	ไม่พบศัตรูพืช	-	
		อิสราเอล		9	ไม่พบศัตรูพืช	-	
2561-2562	พริก	เนเธอแลนด์	42.183	47	Fungi *Fusarium oxysporum* Virus *Tomato mosaic virus*	 4 2	 ศัตรูพืชในประเทศ ศัตรูพืชในประเทศ
		สหรัฐอเมริกา	115.40	88	Fungi *Fusarium oxysporum* Virus *Tomato mosaic virus*	 6 2	 ศัตรูพืชในประเทศ ศัตรูพืชในประเทศ
2561-2562	มันฝรั่ง	เนเธอแลนด์	780,620	12	*Spongospora subterranea*	7	อยู่ในระดับที่

กรมวิชาการเกษตร

ปีดำเนินงานวิจัย	ชนิดพืช	ประเทศนำเข้า	ปริมาณนำเข้า (กิโลกรัม)	จำนวนครั้งนำเข้า	ชนิดศัตรูพืช	ความถี่การตรวจพบ	สถานภาพ
							ยอมรับได้ทั้งหมด
		แคนาดา	432,000	1	ไม่พบศัตรูพืช	-	-
2561-2562	ผักกาดหัว	นิวซีแลนด์	93,802.9	14	Fungi		
					Alternaria raphani	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Alternaria brassicicola	2	ศัตรูพืชในประเทศ
					Alternaria alternata	2	ศัตรูพืชในประเทศ
					Cladosporium sp.	3	ศัตรูพืชในประเทศ
					weed		
					Linum usitatissmum	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Galium spp.	1	ศัตรูพืชในประเทศ
		ญี่ปุ่น	10,760.46	12	Fungi		
					Alternaria raphani	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Alternaria brassicicola	2	ศัตรูพืชในประเทศ
					Alternaria alternata	2	ศัตรูพืชในประเทศ
					Cladosporium sp.	3	ศัตรูพืชในประเทศ
2561-2562	ข้าวโพด	อินเดีย	1,032,340	52	Fungi		
					Cephalosporium acremonium	3	ศัตรูพืชในประเทศ
					Fusarium moniliforme	18	ศัตรูพืชในประเทศ
		สหรัฐอเมริกา	10,040	18	Fungi		
					Fusarium moniliforme	5	ศัตรูพืชในประเทศ
					Insect		
					Trogoderma granarium	1	ศัตรูพืชกักกัน
					Trogoderma variabile	1	ศัตรูพืชกักกัน
2561-2562	ผลอุ่น	จีน	131,880,396	7,899	หนอนแมลงวันผลไม้; *Bactocera*	3	ศัตรูพืชในประเทศ
					dorsalis	18	ศัตรูพืชในประเทศ
					เพลี้ยแป้ง (Mealy bugs)	87	ศัตรูพืชในประเทศ
					Alternaria alternata	51	ศัตรูพืชในประเทศ
					Penicilium sp	54	ศัตรูพืชในประเทศ
					Cladosporium sp.	11	ศัตรูพืชในประเทศ
					Oidium sp.	9	ศัตรูพืชในประเทศ
					Collectotrichum gloeosporioides	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Nigrospora sp.		
2561-2562	ผลมังคุด	อินโดนีเซีย	ยกเลิกการนำเข้า				
2562-2563	กวางตุ้ง	นิวซีแลนด์	339,197.27	31	Fungi		
					Alternaria raphani	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Cladosporium sp.	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Weed		
					Polygonum aviculare	1	ศัตรูพืชกักกัน
					Chenopodium album	2	ศัตรูพืชกักกัน
					Persicaria lapathifolia	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Galium spp.	4	-
		จีน	31,475.92	24	Fungi		

กรมวิชาการเกษตร

ปีดำเนินงานวิจัย	ชนิดพืช	ประเทศนำเข้า	ปริมาณนำเข้า (กิโลกรัม)	จำนวนครั้งนำเข้า	ชนิดศัตรูพืช	ความถี่การตรวจพบ	สถานภาพ
					Alternaria raphani	4	ศัตรูพืชในประเทศ
					Alternaria brassicicola	4	-
					Alternaria tenuis	1	-
					Cladosporium sp.	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Ulocladium sp	1	
					Weed		-
					Galium spp.	2	-
					Chenopodium sp.	1	
2562-2563	มะเขือเทศ	อินเดีย			ไม่พบเชื้อไฟโตพลาสมา	-	-
		สหรัฐอเมริกา			ไม่พบเชื้อไฟโตพลาสมา	-	-
		เนเธอแลนด์			ไม่พบเชื้อไฟโตพลาสมา	-	-
		ฟิลิปปินส์			ไม่พบเชื้อไฟโตพลาสมา	-	-
		จีน			ไม่พบเชื้อไฟโตพลาสมา	-	-
		ฮองกง			ไม่พบเชื้อไฟโตพลาสมา	-	-
2563-2564	แตงโม	ชิลี		3	ไม่พบศัตรูพืช	-	-
		ฟิลิปปินส์		3	ไม่พบศัตรูพืช	-	-
2563-2564	เมลอน	ชิลี		1	ไม่พบศัตรูพืช	-	-
		เนเธอแลนด์		1	ไม่พบศัตรูพืช	-	-
2563-2564	กะหล่ำปลี	ญี่ปุ่น	5,780.16	16	Fungi		
					Alternaria brassicicola	4	ศัตรูพืชในประเทศ
					Alternaria raphani	2	ศัตรูพืชในประเทศ
					Cladosporium sp.	3	ศัตรูพืชในประเทศ
					Ulocladium sp	1	ศัตรูพืชในประเทศ
		นิวซีแลนด์	0	-	-	-	
2563-2564	ผักชี	อิตาลี	360,500	20	Fungi		
					Alternaria alternata	3	ศัตรูพืชในประเทศ
					Alternaria raphani	7	ศัตรูพืชในประเทศ
					Weed		
					Convolvulus arvensis	3	ศัตรูพืชในประเทศ
					Carthamus lanatus	1	ศัตรูพืชในประเทศ
		สหรัฐอเมริกา	392,005	19	Fungi		
					Alternaria alternata	4	ศัตรูพืชในประเทศ
					Alternaria raphani	3	ศัตรูพืชในประเทศ
					Weed		
					Convolvulus arvensis	1	ศัตรูพืชในประเทศ
2563-2564	คะน้า	จีน	14,242.31	9	Fungi		
					Alternaria alternata	1	ศัตรูพืชในประเทศ
					Alternaria brassicicola	1	ศัตรูพืชในประเทศ
		นิวซีแลนด์	127,774	8	Fungi		
					Alternaria alternata	3	ศัตรูพืชในประเทศ
					Alternaria brassicicola	1	ศัตรูพืชในประเทศ

กรมวิชาการเกษตร

ปีดำเนินงานวิจัย	ชนิดพืช	ประเทศนำเข้า	ปริมาณนำเข้า (กิโลกรัม)	จำนวนครั้งนำเข้า	ชนิดศัตรูพืช	ความถี่การตรวจพบ	สถานภาพ
2563-2564	กุหลาบ	เนเธอแลนด์			เพลี้ยไฟ (*Frankliniella occidentalis*.) ไรสองจุด (*Tetranychus urticae*) โรคราน้ำค้าง (*Peronospora* sp.) โรคดอกเน่าหรือโรคราสีเทา (*Botrytis* sp.) โรคราแป้ง (*Oidium* sp.)	2 2 2 2 2	ศัตรูพืชในประเทศ ศัตรูพืชในประเทศ ศัตรูพืชในประเทศ ศัตรูพืชในประเทศ
2564	แอปเปิล	จีน	10,199.52	599	*Tetranychus* sp. *Amphitetranychus* sp. *Tarsonemus* sp. *Steneotarsonemus* sp.	5 2 1 4	เนื่องจากไม่พบเพศผู้ จึงไม่สามารถจำแนกถึงระดับชนิด (Species) ได้

กรมวิชาการเกษตร

แบบ พ.ก. ๗/๗
Form: P.Q. 7/1

Department of Agriculture
Ministry of Agriculture and Cooperatives
Bangkok, Thailand

NOTIFICATION OF NON-COMPLIANCE

To Plant Protection Service of Republic of India

1. This is to declare that the plant or plant products described below have been intercepted for the Following reasons:
   - ☐ 1.1 No permit
   - ☐ 1.2 No phytosanitary certificate
   - ☐ 1.3 The phytosanitary certificate was unacceptable for the follow reason:
   - ☑ 1.4 The plant or plant products were infected/infested by: *Tobacco mosaic virus* (TMV)
   - ☐ 1.5 Importation of the plant and plant products in question prohibited.
   - ☐ 1.6 Others:

2. The following measures have been taken
   - ☐ 2.1 Destruction
   - ☐ 2.2 Return
   - ☑ 2.3 Treatment (Trisodium phosphate)
   - ☐ 2.4 Remove infected/ infested produce from consignment
   - ☐ 2.5 Quarantine period imposed
   - ☐ 2.6 Others

3. Description of the intercepted part of consignment
   - 3.1 Botanical name: *Capsicum annuum*
   - 3.2 Quantity: 31.590 Kgs

4. Information on the interception
   - 4.1 Import inspection at Suvarnabhumi Airport Plant Quarantine Station 4.2 On (date) March 29th, 2019

5. Detail of consignment
   - 5.1 Name and address of exporter: MONSANTO HOLDINGS PRIVATE LIMITED AHURA CENTRE,5th FLOOR, 96 MAHAKALI CAVES RD,ANDHERI (E) MUMBAI,MAHARASHTRA 400093 INDIA
   - 5.2 Name and address of consignee: MONSANTO THAILAND LIMITED 22nd FLOOR ,RASA TOWER I ,555 PHAHOLOYOTHIN ROAD,CHATUCHAK BANGKOK 10900 THAILAND
   - 5.3 Distinguishing marks: Batch 0190586086
   - 5.4 Means of conveyance: Airfreight
   - 5.5 Phytosanitary certificate No.PSC10Mum2019023369
   - 5.6 Issued at MUMBAI
   - 5.7 On (date) March 07th, 2019

6. Sender of message: Technical Group,
   Office of Agricultural Regulation
   Contact: arig@doa.in.th

7. Interception file
   - 7.1 Reference No. 67/2019
   - 7.2 Date August 01st, 2019

Signature of authorized officer
Phatchayaphon M.
(Dr. Phatchayaphon Meunchang)
Director, Office of Agricultural Regulation

กองพืชการเกษตร

Form P.Q. 7/4

Department of Agriculture
Ministry of Agriculture and Cooperatives
Bangkok, Thailand

NOTIFICATION OF NON-COMPLIANCE

To Plant Protection Service of Republic of India

1. This is to declare that the plant or plant products described below have been intercepted for the Following reasons:
   - ☐ 1.1 No permit
   - ☐ 1.2 No phytosanitary certificate
   - ☐ 1.3 The phytosanitary certificate was unacceptable for the follow reason:
   - ☑ 1.4 The plant or plant products were infected/infested by: *Tobacco mosaic virus* (TMV)
   - ☐ 1.5 Importation of the plant and plant products in question prohibited.
   - ☐ 1.6 Others:

2. The following measures have been taken
   - ☐ 2.1 Destruction
   - ☐ 2.2 Return
   - ☑ 2.3 Treatment (Trisodium phosphate)
   - ☐ 2.4 Remove infected/ infested produce from consignment
   - ☐ 2.5 Quarantine period imposed
   - ☐ 2.6 Others

3. Description of the intercepted part of consignment
   - 3.1 Botanical name: *Capsicum annuum*
   - 3.2 Quantity: Nett : 72.030 Kgs

4. Information on the interception
   - 4.1 Import inspection at Suvarnabhumi Airport Plant Quarantine Station 4.2 On (date) April 02nd, 2019

5. Detail of consignment
   - 5.1 Name and address of exporter: MONSANTO HOLDINGS PRIVATE LIMITED AHURA CENTRE 5th FLOOR, 96 MAHAKALI CAVES RD ANDHERI (E) MUMBAI MAHARASHTRA 400093 INDIA
   - 5.2 Name and address of consignee: MONSANTO THAILAND LIMITED 22nd FLOOR ,RASA TOWER 1 ,555 PHAHOLOYOTHIN ROAD,CHATUCHAK BANGKOK 10900 THAILAND
   - 5.3 Distinguishing marks: Batch 0190377637
   - 5.4 Means of conveyance: Airfreight
   - 5.5 Phytosanitary certificate No.PSC10Mum2019014402
   - 5.6 Issued at: MUMBAI
   - 5.7 On (date): February 14th, 2019

6. Sender of message: Technical Group,
   Office of Agricultural Regulation
   Contact: artg@doa.in.th

7. Interception file
   - 7.1 Reference No. 68/2019
   - 7.2 Date August 01st, 2019

Signature of authorized officer

Phatchayaphon M.

(Dr. Phatchayaphon Meunchang)

Director, Office of Agricultural Regulation

กรมวิชาการเกษตร

แบบ พ.ป. ๗/๔
Form P.Q. 7/4

Department of Agriculture
Ministry of Agriculture and Cooperatives
Bangkok, Thailand

NOTIFICATION OF NON-COMPLIANCE

To Plant Protection Service of Republic of India

1. This is to declare that the plant or plant products described below have been intercepted for the Following reasons;
   - ☐ 1.1 No permit
   - ☐ 1.2 No phytosanitary certificate
   - ☐ 1.3 The phytosanitary certificate was unacceptable for the follow reason:
   - ☑ 1.4 The plant or plant products were infected/infested by: *Tobacco mottle mosaic virus*
   - ☐ 1.5 Importation of the plant and plant products in question prohibited.
   - ☐ 1.6 Others:

2. The following measures have been taken
   - ☑ 2.1 Destruction
   - ☐ 2.2 Return
   - ☐ 2.3 Treatment
   - ☐ 2.4 Remove infected/ infested produce from consignment
   - ☐ 2.5 Quarantine period imposed
   - ☐ 2.6 Others

3. Description of the intercepted part of consignment
   - 3.1 Botanical name: *Solanum lycopersicum L.*
   - 3.2 Quantity: 0.200 Kgs

4. Information on the interception
   - 4.1 Import inspection at Suvarnabhumi Airport Plant Quarantine Station
   - 4.2 On (date) February 15th, 2019

5. Detail of consignment
   - 5.1 Name and address of export: HM.CLAUSE INDIA P.1, 6-98/4 SURVEY NO.563/PART, GOWDAVELLI VILLAGE, MEDCHAL MANDAL RANGA REDDY DISTRICT TELANGANA STATE 501401 INDIA
   - 5.2 Name and address of consignee: HM.CLAUSE (THAILAND) CO., LTD. 1 EMPIRE TOWER 18TH FLOOR UNIT 1801 SOUTH SATHORN ROAD YANNAWA SATHORN BANGKOK 10120 THAILAND
   - 5.3 Distinguishing marks: -
   - 5.4 Means of conveyance: Airfreight
   - 5.5 Phytosanitary certificate No.PSC17IIyd2019000278
   - 5.6 Issued at: HYDERABAD
   - 5.7 On (date): January 23rd, 2019

6. Sender of message: Technical Group, Office of Agricultural Regulation
   Contact: artg@doa.in.th

7. Interception file
   - 7.1 Reference No. 66/2019
   - 7.2 Date: August 01st, 2019

Signature of authorized officer

Phatchayaphon M.

(Dr. Phatchayaphon Meunchang)

Director, Office of Agricultural Regulation

กรมวิชาการเกษตร

แบบ พ.ร. ๗/๔
Form P.Q. 7/4

Department of Agriculture
Ministry of Agriculture and Cooperatives
Bangkok, Thailand

NOTIFICATION OF NON-COMPLIANCE

To Plant Protection Service of Republic of India

1. This is to declare that the plant or plant products described below have been intercepted for the Following reasons:
   - ☐ 1.1 No permit
   - ☐ 1.2 No phytosanitary certificate
   - ☐ 1.3 The phytosanitary certificate was unacceptable for the follow reason:
   - ☑ 1.4 The plant or plant products were infected/infested by: *Tobacco mosaic virus* (TMV)
   - ☐ 1.5 Importation of the plant and plant products in question prohibited.
   - ☐ 1.6 Others:

2. The following measures have been taken
   - ☐ 2.1 Destruction
   - ☐ 2.2 Return
   - ☑ 2.3 Treatment(Trisodium phosphate)
   - ☐ 2.4 Remove infected/ infested produce from consignment
   - ☐ 2.5 Quarantine period imposed
   - ☐ 2.6 Others

3. Description of the intercepted part of consignment
   - 3.1 Botanical name: *Solanum lycopersicum L.*
   - 3.2 Quantity: Nett: 55,230 Kgs

4. Information on the interception
   - 4.1 Import inspection at Suvarnabhumi Airport Plant Quarantine Station 4.2 On (date) June 06th, 2019

5. Detail of consignment
   - 5.1 Name and address of exporter: MONSANTO HOLDINGS PRIVATE LIMITED AHURA CENTRE,5th FLOOR, 96 MAHAKALI CAVES RD,ANDHERI (E) MUMBAI,MAHARASHTRA 400093 INDIA
   - 5.2 Name and address of consignee: MONSANTO THAILAND LIMITED 22nd FLOOR ,RASA TOWER I ,555 PHAHOLYOTHIN ROAD,CHATUCHAK BANGKOK 10900 THAILAND
   - 5.3 Distinguishing marks: Batch 0191372605
   - 5.4 Means of conveyance Airfreight
   - 5.5 Phytosanitary certificate No.PSC17Hyd2019003300
   - 5.6 Issued at HYDERABAD
   - 5.7 On (date) May 30th, 2019

6. Sender of message: Technical Group,
   Office of Agricultural Regulation
   Contact: artg@doa.in.th

7. Interception file
   - 7.1 Reference No. 70/2019
   - 7.2 Date August 01st, 2019

Signature of authorized officer

Phatchayaphon M.

(Dr. Phatchayaphon Meunchang)

Director, Office of Agricultural Regulation

กรมวิชาการเกษตร

พน.น.ต/ต๔
Form P.Q. 7/4

Department of Agriculture
Ministry of Agriculture and Cooperatives
Bangkok, Thailand

NOTIFICATION OF NON-COMPLIANCE

To Plant Protection Service of Republic of India

1. This is to declare that the plant or plant products described below have been intercepted for the Following reasons:
   - ☐ 1.1 No permit
   - ☐ 1.2 No phytosanitary certificate
   - ☐ 1.3 The phytosanitary certificate was unacceptable for the follow reason:
   - ☑ 1.4 The plant or plant products were infected/infested by: *Tobacco mosaic virus* (TMV)
   - ☐ 1.5 Importation of the plant and plant products in question prohibited.
   - ☐ 1.6 Others:

2. The following measures have been taken
   - ☐ 2.1 Destruction
   - ☐ 2.2 Return
   - ☑ 2.3 Treatment(Trisodium phosphate)
   - ☐ 2.4 Remove infected/ infested produce from consignment
   - ☐ 2.5 Quarantine period imposed
   - ☐ 2.6 Others

3. Description of the intercepted part of consignment
   - 3.1 Botanical name: *Solanum lycopersicum L.*
   - 3.2 Quantity: Nett: 105.130 Kgs

4. Information on the interception
   - 4.1 Import inspection at Suvarnabhumi Airport Plant Quarantine Station 4.2 On (date) June 06th, 2019

5. Detail of consignment
   - 5.1 Name and address of exporter: MONSANTO HOLDINGS PRIVATE LIMITED AHURA CENTRE,5th FLOOR, 96 MAHAKALI CAVES RD,ANDHERI (E) MUMBAI,MAHARASHTRA 400093 INDIA
   - 5.2 Name and address of consignee: MONSANTO THAILAND LIMITED 22nd FLOOR ,RASA TOWER I, 555 PHAHOLYOTHIN ROAD,CHATUCHAK BANGKOK 10900 THAILAND
   - 5.3 Distinguishing marks: Batch 0191194513
   - 5.4 Means of conveyance Airfreight
   - 5.5 Phytosanitary certificate No.PSC17Hyd2019002923
   - 5.6 Issued at HYDERABAD
   - 5.7 On (date) May 15th, 2019

6. Sender of message: Technical Group,
   Office of Agricultural Regulation
   Contact: artg@doa.in.th

7. Interception file
   - 7.1 Reference No. 71/2019
   - 7.2 Date August 01st, 2019

Signature of authorized officer

Phatchayaphon M.

(Dr. Phatchayaphon Meunchang)

Director, Office of Agricultural Regulation

กรมวิชาการเกษตร

แบบ พ.ก. ๗/๔
Form P.Q. 7/4

Department of Agriculture
Ministry of Agriculture and Cooperatives
Bangkok, Thailand

NOTIFICATION OF NON-COMPLIANCE

To Plant Protection Service of Republic of India

1. This is to declare that the plant or plant products described below have been intercepted for the Following reasons:
   - ☐ 1.1 No permit
   - ☐ 1.2 No phytosanitary certificate
   - ☐ 1.3 The phytosanitary certificate was unacceptable for the follow reason:
   - ☑ 1.4 The plant or plant products were infected/infested by: *Tobacco mottle mosaic virus* (ToMMV)
   - ☐ 1.5 Importation of the plant and plant products in question prohibited.
   - ☐ 1.6 Others:

2. The following measures have been taken
   - ☐ 2.1 Destruction
   - ☐ 2.2 Return
   - ☑ 2.3 Treatment(Trisodium phosphate)
   - ☐ 2.4 Remove infected/ infested produce from consignment
   - ☐ 2.5 Quarantine period imposed
   - ☐ 2.6 Others

3. Description of the intercepted part of consignment
   - 3.1 Botanical name: *Solanum lycopersicum L.*
   - 3.2 Quantity: Nett: 71.940 Kgs

4. Information on the interception
   - 4.1 Import inspection at Suvarnabhumi Airport Plant Quarantine Station 4.2 On (date) June 07th, 2019

5. Detail of consignment
   - 5.1 Name and address of exporter: MONSANTO HOLDINGS PRIVATE LIMITED AHURA CENTRE,5th FLOOR, 96 MAHAKALI CAVES RD,ANDHERI (E) MUMBAI,MAHARASHTRA 400093 INDIA
   - 5.2 Name and address of consignee: MONSANTO THAILAND LIMITED 22nd FLOOR, RASA TOWER I ,555 PHAHOLYOTHIN ROAD,CHATUCHAK BANGKOK 10900 THAILAND
   - 5.3 Distinguishing marks: Batch 0191266887
   - 5.4 Means of conveyance Airfreight
   - 5.5 Phytosanitary certificate No.PSC17Hyd2019003157
   - 5.6 Issued at HYDERABAD
   - 5.7 On (date) May 24th, 2019

6. Sender of message: Technical Group.
   Office of Agricultural Regulation
   Contact: artg@doa.in.th

7. Interception file
   - 7.1 Reference No. 72/2019
   - 7.2 Date August 01st, 2019

Signature of authorized officer

Phatchayaphon M.

(Dr. Phatchayaphon Meunchang)

Director, Office of Agricultural Regulation

กรมวิชาการเกษตร

พ.ก. 5/2
Form P.Q. 7/4

Department of Agriculture
Ministry of Agriculture and Cooperatives
Bangkok, Thailand

NOTIFICATION OF NON-COMPLIANCE

To Plant Protection Service of Republic of India

1. This is to declare that the plant or plant products described below have been intercepted for the Following reasons:
   - ☐ 1.1 No permit
   - ☐ 1.2 No phytosanitary certificate
   - ☐ 1.3 The phytosanitary certificate was unacceptable for the follow reason:
   - ☑ 1.4 The plant or plant products were infected/infested by: *Tobacco mosaic virus* (TMV)
   - ☐ 1.5 Importation of the plant and plant products in question prohibited.
   - ☐ 1.6 Others:

2. The following measures have been taken
   - ☐ 2.1 Destruction
   - ☑ 2.2 Return
   - ☐ 2.3 Treatment
   - ☐ 2.4 Remove infected/ infested produce from consignment
   - ☐ 2.5 Quarantine period imposed
   - ☐ 2.6 Others

3. Description of the intercepted part of consignment
   - 3.1 Botanical name: *Solanum lycopersicum L.*
   - 3.2 Quantity: Nett: 20.00 Kgs

4. Information on the interception
   - 4.1 Import inspection at Suvarnabhumi Airport Plant Quarantine Station 4.2 On (date) May 28th, 2019

5. Detail of consignment
   - 5.1 Name and address of exporter: JK AGRI GENETICS LIMITED 1-10-177,4th FLOOR,VARUN TOWER,BEGUMPET HYDERABAD 500016 INDIA
   - 5.2 Name and address of consignee: DYNAMIC SEEDS CO., LTD. 99/220 TESSABANSONGKROAH, LADYAO JATUCHAK BANGKOK 10900 THAILAND
   - 5.3 Distinguishing marks
   - 5.4 Means of conveyance Airfreight
   - 5.5 Phytosanitary certificate No.PSC17Hyd2019002608
   - 5.6 Issued at HYDERABAD
   - 5.7 On (date) May 03rd, 2019

6. Sender of message: Technical Group,
   Office of Agricultural Regulation
   Contact: artg@doa.in.th

7. Interception file
   - 7.1 Reference No. 85/2019
   - 7.2 Date August 16th, 2019

Signature of authorized officer
Phatchayaphon M.

(Dr. Phatchayaphon Meunchang)

Director, Office of Agricultural Regulation

กรมวิชาการเกษตร

แบบ พ.ก. ๗/๔
Form P.Q. 7/4

Department of Agriculture
Ministry of Agriculture and Cooperatives
Bangkok, Thailand

NOTIFICATION OF NON-COMPLIANCE

To Plant Protection Service of Japan

1. This is to declare that the plant or plant products described below have been intercepted for the Following reasons :
   - ☐ 1.1 No permit
   - ☐ 1.2 No phytosanitary certificate
   - ☐ 1.3 The phytosanitary certificate was unacceptable for the follow reason:
   - ☑ 1.4 The plant or plant products were infected/infested by: *Polygonum convolvulus*
   - ☐ 1.5 Importation of the plant and plant products in question prohibited.
   - ☐ 1.6 Others :

2. The following measures have been taken
   - ☐ 2.1 Destruction
   - ☐ 2.2 Return
   - ☑ 2.3 Treatment
   - ☐ 2.4 Remove infected/ infested produce from consignment
   - ☐ 2.5 Quarantine period imposed
   - ☐ 2.6 Others

3. Description of the intercepted part of consignment
   - 3.1 Botanical name: *Brassica oleracea* L.
   - 3.2 Quantity: Nett: 10 Kilograms

4. Information on the interception
   - 4.1 Import inspection at Suvarnabhumi Airport Plant Quarantine Station 4.2 On (date) May 22nd, 2020

5. Detail of consignment
   - 5.1 Name and address of exporter: THE MUSASHINO SEED CO., LTD. 26-10, MINAMI IKEBUKURO 1-CHOME, TOSHIMA-KU,TOKYO,JAPAN
   - 5.2 Name and address of consignee: EAST WEST SEED INTERNATIONAL LIMITED 50/1 MOO2, SAINOI-BANG BUA THONG ROAD, AMPHUR SAINOI NONTHABURI 11150 THAILAND
   - 5.3 Distinguishing marks: -
   - 5.4 Means of conveyance Airfreight (CI835)
   - 5.5 Phytosanitary certificate no. 200-91-0029075
   - 5.6 Issued at YOKOHAMA
   - 5.7 On (date) May 13th 2020

6. Sender of message : Technical Group, Office of Agricultural Regulation
   Contact: arty@doa.in.th

7. Interception file
   - 7.1 Reference No. 96/2020
   - 7.2 Date July 31st, 2020

Signature of authorized officer
Phatchayaphon M.
(Dr. Phatchayaphon Meunchang)
Director, Office of Agricultural Regulation

กรมวิชาการเกษตร

พ.ป.ร. ๕/๔
Form P.Q. 5/4

Department of Agriculture
Ministry of Agriculture and Cooperatives
Bangkok, Thailand

NOTIFICATION OF NON-COMPLIANCE

To Plant Protection Service of Italian Republic

1. This is to declare that the plant or plant products described below have been intercepted for the Following reasons ;
   - ☐ 1.1 No permit
   - ☐ 1.2 No phytosanitary certificate
   - ☐ 1.3 The phytosanitary certificate was unacceptable for the follow reason:
   - ☑ 1.4 The plant or plant products were infected/infested by: *Polygonum convolvulus*
   - ☐ 1.5 Importation of the plant and plant products in question prohibited.
   - ☐ 1.6 Others:

2. The following measures have been taken
   - ☐ 2.1 Destruction
   - ☐ 2.2 Return
   - ☑ 2.3 Treatment
   - ☐ 2.4 Remove infected/ infested produce from consignment
   - ☐ 2.5 Quarantine period imposed
   - ☐ 2.6 Others

3. Description of the intercepted part of consignment
   - 3.1 Botanical name: *Coriandrum sativum*
   - 3.2 Quantity: 880 Bags Nett: 22,000 Kilograms

4. Information on the interception
   - 4.1 Import inspection at Port of Bangkok Plant Quarantine Station 4.2 On (date) February 18th 2020

5. Detail of consignment
   - 5.1 Name and address of exporter: ANSEME S.P.A. VIA CIPRO 60 47521 CESENA FC ITALY
   - 5.2 Name and address of consignee: ADVANCE SEEDS CO., LTD. 99/9 MOO 4 SUANPRIKTHAI MUEANG PATHUMTHANI PATHUMTHANI 12000 THAILAND
   - 5.3 Distinguishing marks:
   - 5.4 Means of conveyance Vessel (MSC MANU)
   - 5.5 Phytosanitary certificate n.UE/IT/0918457
   - 5.6 Issued at FORLI(FC)
   - 5.7 On (date) November 19th 2019

6. Sender of message : Technical Group,
   Office of Agricultural Regulation
   Contact: artg@doa.in.th

7. Interception file
   - 7.1 Reference No. 59/2020
   - 7.2 Date April 20th, 2020

Signature of authorized officer
Phatchayaphon M.
(Dr. Phatchayaphon Meunchang)
Director, Office of Agricultural Regulation

กรมวิชาการเกษตร

แบบ พ.ก. ๗/๔
Form P.Q. 7/4

Department of Agriculture
Ministry of Agriculture and Cooperatives
Bangkok, Thailand

NOTIFICATION OF NON-COMPLIANCE

To Plant Protection Service of Italian Republic

1. This is to declare that the plant or plant products described below have been intercepted for the Following reasons ;
   - ☐ 1.1 No permit
   - ☐ 1.2 No phytosanitary certificate
   - ☐ 1.3 The phytosanitary certificate was unacceptable for the follow reason:
   - ☑ 1.4 The plant or plant products were infected/infested by: *Galium aparine*
   - ☐ 1.5 Importation of the plant and plant products in question prohibited.
   - ☐ 1.6 Others:

2. The following measures have been taken
   - ☐ 2.1 Destruction
   - ☐ 2.2 Return
   - ☑ 2.3 Treatment
   - ☐ 2.4 Remove infected/ infested produce from consignment
   - ☐ 2.5 Quarantine period imposed
   - ☐ 2.6 Others

3. Description of the intercepted part of consignment
   - 3.1 Botanical name: *Coriandrum sativum*
   - 3.2 Quantity: 800 Bags Nett: 20,000 Kilograms

4. Information on the interception
   - 4.1 Import inspection at Port of Bangkok Plant Quarantine Station 4.2 On (date) March 19th,2020

5. Detail of consignment
   - 5.1 Name and address of exporter: ANSEME S.P.A. VIA CIPRO 60 47521 CESENA FC ITALY
   - 5.2 Name and address of consignee: EAST WEST SEED INTERNATIONAL LIMITED 50/1 MOO2. SAINOI-BANG BUA THONG ROAD, AMPHUR SAINOI NONTHABURI 11150 THAILAND
   - 5.3 Distinguishing marks: -
   - 5.4 Means of conveyance Vessel (NASIA)
   - 5.5 Phytosanitary certificate n.UE/IT/0917937
   - 5.6 Issued at FORLI(FC)
   - 5.7 On (date) January 29th,2020

6. Sender of message : Technical Group, Office of Agricultural Regulation
   Contact: artg@doa.in.th

7. Interception file
   - 7.1 Reference No. 63/2020
   - 7.2 Date May 28th, 2020

Signature of authorized officer
Phatchayaphon M.
(Dr. Phatchayaphon Meunchang)
Director, Office of Agricultural Regulation

กรมวิชาการเกษตร