ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา อินเดีย ญี่ปุ่น อิสราเอล ชิลี และฟิลิปปินส์

Pests Associated with Imported Watermelon Seed from USA, India, Japan, Israel, Chile and Philippines

วันเพ็ญ ศรีชาติ[1/] วานิช คำพานิช[1/] ชลธิชา รักใคร่[1/]
จันทร์พิศ เดชหามาตย์[1/] พรพิมล อธิปัญญาคม[2/] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[3/]
[1/] กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/] สำนักผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/] กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา จำนวน 30 ครั้ง และเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากอินเดีย จำนวน 36 ครั้ง (ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 ถึง กันยายน 2560) โดยนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบเบื้องต้นภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ ไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืชและไม่มีวัชพืชติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบว่าเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา พบเชื้อราจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Fusarium oxysporum* และ *F. solani* และเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากอินเดีย ตรวจพบเชื้อรา จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ *Drechslera halodes, Curvularia pallescens, Cladosporium* sp., *Phoma cucurbitacearum, Fusarium oxysporum, F. solani, Macrophomina phaseolina* และ *Drechslera hawaiiensis* ส่วนการตรวจสอบด้วยวิธี dilution plate method และการตรวจด้วยวิธี ELISA ไม่พบการปนเปื้อนเชื้อต่างๆ ในเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากทั้งสองประเทศ และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นแตงโม และผลการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา ในจังหวัดขอนแก่น สกลนคร และ อุดรธานี พบโรคกับต้นแตงโม จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ โรครากเน่าและเหี่ยว เชื้อสาเหตุ *Fusarium oxysporum*, โรคผลเน่า เชื้อสาเหตุ *Pythium* sp., โรคต้นแตกยางไหล เชื้อสาเหตุ *Didymella bryoniae*, โรคเหี่ยวสเคลอโรเตียม เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*, โรคแอนแทรกโนส เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum orbiculare*, โรคราน้ำค้าง เชื้อสาเหตุ *Pseudoperonospora cubensis*, โรคผลเน่า เชื้อสาเหตุ *Acidovorax avenae* pv. *citrulli* ซึ่งศัตรูพืชที่พบทั้งในห้องปฏิบัติการและในแปลงปลูก ไม่เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

คำหลัก: แตงโม สหรัฐอเมริกา อินเดีย ญี่ปุ่น อิสราเอล ชิลี ฟิลิปปินส์

รหัสการทดลอง 03-04-59-02-01-00-02-59

คำนำ

ตามรายชื่อพืช แนบท้ายประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช จากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 ซึ่งกำหนดให้ส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชในวงศ์แตง จัดเป็นสิ่งกำกัด (Restricted material) ในการนำเข้าต้องแจ้งการนำเข้า และมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย ซึ่งในใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทางยังไม่มีมาตรการสุขอนามัยกำหนดไว้แต่อย่างใด จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องตรวจสอบศัตรูพืชที่ร้ายแรงและอาจเป็นศัตรูพืชยังไม่มีปรากฏในประเทศไทยที่อาจติดมากับสินค้าเกษตร เช่น ไวรัสหรือแบคทีเรีย ที่ก่อโรคสำคัญหลายชนิด ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทำการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่มีการนำเข้ามาจากประเทศต่างๆ ที่มีการระบาดของศัตรูพืชที่สำคัญและมีโอกาสติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว โดยเฉพาะศัตรูพืชที่ก่อให้เกิดความเสียหายได้กับพืชอาศัยที่หลากหลายและมีการทำลายที่รุนแรง ส่งผลกระทบต่อพืชเศรษฐกิจของประเทศไทยทั้งภายในประเทศและส่งออกได้

การนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศ มีโอกาสที่ศัตรูพืชหลายชนิดจะติดเข้ามากับพืช โดยอาจเป็นศัตรูพืชร้ายแรงที่ไม่มีปรากฏในประเทศไทย โดยเฉพาะในกลุ่มของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์พืชต่างๆ โดยฉพาะเมล็ดพันธุ์ที่มีการนำเข้ามาเพื่อใช้เป็นพ่อและแม่พันธุ์ในการส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกกระจายทั่วประเทศไทยเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ส่งออกกลับไปยังต่างประเทศ โดยในแต่ละปีมีการนำเข้าพืชเหล่านี้เป็นปริมาณมาก หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวสามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศไทย จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อการเกษตรในประเทศและการส่งออกพืชผักผลไม้ไทยไปยังต่างประเทศที่เข้มงวดด้านกักกันพืช ดังนั้นจึงทำการศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชนำเข้า เพื่อทราบชนิด แหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืช มีประโยชน์ใช้อ้างอิงทางวิชาการและวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อกำหนดมาตรการควบคุมการนำเข้า เป็นการป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชกักกันเข้ามาและแพร่ระบาดในประเทศ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกาและอินเดีย
2. กล้องจุลทรรศน์แบบ Stereo microscope และ compound microscope
3. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
4. สารเคมีตรวจสอบเชื้อโรคพืช
5. ภาชนะเก็บตัวอย่างพืช
6. ชุดตรวจสอบศัตรูพืช (ELISA Kit)
7. หนังสือ และวารสารทั้งในประเทศและต่างประเทศ

วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของแตงโม และข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในสหรัฐอเมริกาและอินเดียเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเตอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของแตงโม ลักษณะทั่วไปของพืช สายพันธุ์ พื้นที่การเพาะปลูก รายชื่อของประเทศที่ประเทศไทยมีการการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืชทั้งนอกประเทศและในประเทศ

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกาและอินเดียในห้องปฏิบัติการและในโรงเรือนปลูกพืช

2.1 สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากด่านตรวจพืชและกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ตามมาตรฐาน International Seed Testing Association (ISTA, 2016)

- การสุ่มตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในกระสอบ หรือภาชนะอื่นๆ ที่มีขนาดบรรจุของภาชนะแต่ละใบเท่าๆกัน โดยมีน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์จำนวน 15 กิโลกรัม ถึง 100 กิโลกรัม

1) เมล็ดพันธุ์จำนวน 1 – 4 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 3 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2) เมล็ดพันธุ์จำนวน 5 – 8 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 2 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

3) เมล็ดพันธุ์จำนวน 9 – 15 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 1 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

4) เมล็ดพันธุ์จำนวน 16 – 30 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 15 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

5) เมล็ดพันธุ์จำนวน 31 – 59 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 20 ตัวอย่าง ขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

6) เมล็ดพันธุ์จำนวนมากกว่าหรือเท่ากับ 60 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 30 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

- การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากกองใหญ่ที่ไม่อยู่ในภาชนะบรรจุ หรือระหว่างกระบวนการไหลของเมล็ดพันธุ์ โดยมีน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์จำนวนมากกว่า 100 กิโลกรัม

1) เมล็ดพันธุ์น้ำหนักไม่เกิน 500 กิโลกรัม สุ่มอย่างน้อย 5 ตัวอย่างขั้นต้น

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

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

4) เมล็ดพันธุ์น้ำหนักมากกว่าหรือเท่ากับ 20,001 กิโลกรัม สุ่ม 1 ตัวอย่างขั้นต้นจากเมล็ดพันธุ์ทุก 700 กิโลกรัม แต่ต้องไม่น้อยกว่า 40 ตัวอย่างขั้นต้น

2.2 การตรวจวินิจฉัยโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการและในโรงเรือนปลูกพืช

2.2.1 ตรวจสอบและจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชขั้นละเอียด โดยทำการคัดแยกองค์ประกอบทางกายภาพได้แก่ เมล็ดพืชบริสุทธิ์ เมล็ดพืชอื่น และสิ่งเจือปน นำแต่ละส่วนมาชั่งหาน้ำหนัก แล้วนำมาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบโดย

- ตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) เพื่อศึกษาและบันทึกลักษณะภายนอกของเมล็ด เช่น สี ผิว รูปร่างและลายบนผิวของเมล็ด วัดขนาดความกว้างยาวของเมล็ด

- เปรียบเทียบกับตัวอย่างเมล็ดวัชพืชในพิพิธภัณฑ์และใช้คู่มือจำแนกเมล็ดพืช

- จำแนกโดยปลูกดูลักษณะต่างๆตั้งแต่เริ่มงอกเป็นต้นกล้า ลักษณะใบ ดอก ผล

2.2.2 จำแนกกลุ่มของแมลงโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology)

- จัดเตรียมตัวอย่างแมลงและไร โดย

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

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

2.2.3 ไร ทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่างๆ ได้ชัดเจน โดยจัดท่าทางของไรให้อยู่ในท่าคว่ำและท่าตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะต่างๆที่ใช้ในการจำแนก จากนั้น แล้วปิดสไลด์ด้วย cover glass ใช้ปากกาเขียนแก้ววงกลมล้อมรอบตัวไรทันทีหลังจากทำสไลด์เรียบร้อยแล้ว เพื่อสะดวกในการหาตัวไรได้ง่ายขึ้น นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ cover glass ด้วยน้ำยา ทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บและพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไล

2.2.4 การตรวจสอบเชื้อรา

1) การตรวจสอบเมล็ดพันธุ์พืชขณะยังไม่งอก (Dry seed examination)

โดยตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์เชื้อราหรือศัตรูพืชอื่นๆ ซึ่งปะปนมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เช่น เมล็ดพันธุ์มีรูปร่างผิดปกติ หรืออาจมีการติดภายในเมล็ดพันธุ์โดยไม่แสดงอาการ รวมทั้งอาจติดมากับเศษพืชในลักษณะเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์ เช่น Pycnidia เป็นต้น

2) การตรวจสอบเมล็ดพันธุ์พืชขณะเมล็ดงอก

สุ่มตัวอย่างเมล็ดตามวิธีการมาตรฐาน ในปริมาณที่เหมาะสมวิเคราะห์โดยสุ่มแยกตามสายพันธุ์ มาทดสอบด้วยวิธี Blotter method โดยวางเมล็ดลงบนกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จำนวน 3 แผ่นที่ชุ่มน้ำซึ่งวางอยู่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วางเมล็ดพันธุ์แตงโม 25 เมล็ดต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวน 200 เมล็ด จากนั้นนำจานเพาะเมล็ดไปบ่มเชื้อ (incubate) ใต้แสง near ultraviolet (NUV) สลับกับความมืด 12/12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอไมโครสโคป (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope)

2.2.5 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate โดยสุ่มเมล็ดตามมาตรฐาน นำมาแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที ล้างตามด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ เมื่อได้เมล็ดพันธุ์จึงนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบด แล้วนำผงของเมล็ดใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ (0.85% NaCl) หรือบัฟเฟอร์ จำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยวางบนเครื่องเขย่า จากนั้นนำมาทำให้เจือจางในโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ หลอดละ 9 มิลลิลิตร ให้มีความเจือจางเป็น 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} และ 10^{-5} ตามลำดับ ใช้ไปเปตต์ดูดสารละลายแต่ละความเข้มข้น ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) จำนวน 2 จานอาหาร แล้วใช้แท่งแก้วลนไฟฆ่าเชื้อ เกลี่ยสารละลายให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ดผิดปกติ

โดยการเพาะเมล็ดในดินนึ่งฆ่าเชื้อ โดยเพาะ 25-50 เมล็ดต่อถุง และเก็บถุงเพาะที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส รดน้ำเช้าเย็นในโรงเรือนกักกันพืช ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช เมื่อต้นกล้าออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชุ่มชื้นเป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนใบ กิ่ง ลำต้น โค่นต้น และราก เก็บส่วนของพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

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

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

เชื้อเป้าหมาย ได้แก่ เชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Xanthomonas campestris* pv. *cucurbitae* และ *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

1. ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

2. ทดสอบแกรม (Gram reaction) โดยใช้สารละลายโปรแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (3%KOH) ที่เตรียมใหม่ใช้ภายใน 2 สัปดาห์ หากตรวจพบเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) มีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) และแกรมบวก (Gram positive) รูปร่างแบบ Coryneform rod ก็จะนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

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

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

5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัย (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^{8} โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่นปลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยง หรือเนื้อใบของต้นแตงโม อายุ 2-3 สัปดาห์ ฉีดพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ที่

อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจลักษณะอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของบริษัท Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

2.2.6 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

1) ปลูกสังเกตลักษณะอาการโรคบนต้นกล้า (Seedling symptom test) โดยเพาะ เมล็ดพันธุ์ในดินอบฆ่าเชื้อ ตัวอย่าง 50-200 เมล็ด เก็บรักษาไว้ในโรงปลูกพืชกันแมลงเมื่อต้นพืชออกใบจริง 1-2 ใบ จึงตรวจสอบลักษณะอาการโรค ต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ สงสัยว่ามีสาเหตุจากเชื้อไวรัสจะนำใบอ่อนไปตรวจสอบด้วยวิธีการอื่นเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

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

3) การตรวจสอบด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา (Serological techniques) การตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme – linked Immunosorbent Assay: ELISA เป็นวิธีตรวจสอบเชื้อไวรัสที่มีความไวสูง แม้จะมีเชื้อไวรัสปริมาณต่ำหรืออนุภาคแตกหักก็สามารถตรวจได้ให้ผลรวดเร็ว แน่นอน และยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมาก วิธีการที่นำมาใช้เป็นแบบ Indirect ELISA ทำการบันทึกผล เชื้อเป้าหมาย ได้แก่ เชื้อไวรัส *Squash mosaic virus*, *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV) (International Seed Testing Association, 2016b), *Kyuri green mottle mosaic virus* (KGMMV) (Kim *et al.*, 2009) ทำการเพาะเมล็ดพันธุ์ เพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติของต้นพืชในโรงเรือนของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช โดยสังเกตดูลักษณะอาการบริเวณโคนต้น ลำต้น ใบเลี้ยง และใบ ของต้นพืช บันทึกผล กรณีถ้าพบอาการผิดปกติให้นำส่วนของพืชไปทำการแยกเชื้อและจำแนกชนิด

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์นำเข้าในพื้นที่ของเกษตรกร

ทำการติดตามตรวจสอบต้นพืชที่มีการนำเมล็ดพันธุ์นำเข้าไปเพาะปลูกในแปลงปลูกของเกษตรกรตามภาคต่างๆ โดยสังเกตอาการความผิดปกติของต้นพืชทั้ง โคนต้น ราก ลำต้น ใบและหัวของพืช และทำการสุ่มเก็บตัวอย่างอาการดังกล่าว นำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง ทำการแยกเชื้อจากอาการที่พบให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ จัดจำแนกชนิด

ของเชื้อ และทดสอบการเกิดโรคกับพืชในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวินิจฉัยเชื้อโรคศัตรูพืชอย่างละเอียด เช่นเดียวกับในขั้นตอนที่ 2

4. การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและศัตรูพืชที่ติดตามตรวจสอบในแปลงปลูก และสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

โดยการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบในห้องปฏิบัติการจากเมล็ดพันธุ์นำเข้าและศัตรูพืชที่ติดตามตรวจสอบในแปลงปลูกของเกษตรกรและสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

เวลาและสถานที่

เวลา: เดือนตุลาคม 2558 – กันยายน 2560

สถานที่: ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช ด่านตรวจพืช และและแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์นำเข้าในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดขอนแก่น สกลนครและอุดรธานี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

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

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 ด่านตรวจพืชไปรษณีย์ ด่านตรวจพืชหนองคายและด่านตรวจพืชลาดกระบัง และเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากอินเดีย จำนวน 36 ครั้ง จาก 3 ด่านตรวจพืช ได้แก่ ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ด่านตรวจพืชสุวรรณภูมิ และด่านตรวจพืชไปรษณีย์ นำมาตรวจสอบเบื้องต้น ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ เมล็ดพันธุ์สมบูรณ์ ไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด และปิดมิดชิด (Figure 1)

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 2) และ 2) *F. solani* จำนวน 1 ครั้ง (Figure 3) และเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากอินเดีย ตรวจพบเชื้อรา 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 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 5), โรคผลเน่า เชื้อสาเหตุ *Pythium* sp. (Figure 6), โรคเถาแตกยางไหล เชื้อสาเหตุ *Didymella bryoniae* (Figure 7), โรคเหี่ยวสเคลอโรเตียม เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* (Figure 8), โรคแอนแทรกโนส เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum orbiculare* (Figure 9), โรคราน้ำค้าง เชื้อสาเหตุ *Pseudoperonospora cubensis* (Figure 10), โรคผลเน่า เชื้อสาเหตุ *Acidovorax avenae* pv. *citrulli* (Figure 11) ซึ่งอาการของโรคที่พบ**ไม่เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย** แต่ไม่มีแปลงปลูกของเมล็ดพันธุ์แตงโมนำเข้าจากอินเดีย

4. การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและศัตรูพืชที่ติดตามตรวจสอบในแปลงปลูก และสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจสอบเมล็ดพันธุ์แตงโมที่นำเข้าจากสหรัฐอเมริกาและอินเดียในห้องปฏิบัติการ (Table 1) และสรุปรายชื่อศัตรูพืชที่ติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์แตงโมที่นำเข้าจากต่างประเทศ (Table 2)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

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 ซึ่งศัตรูพืชที่พบในแปลงปลูก**ไม่เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย**

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณศรีวิเศษ เกษสังข์ คุณชลธิชา รักใคร่ คุณปรียพรรณ พงศาพิชณ์ ที่ช่วยแนะนำแนวทางการวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณ คุณวานิช คำพานิช คุณโสภา มีอำนาจ คุณยุทธนา ประมาณ คุณวิชาญ สมาธิ คุณวิภา เกิดพิพัฒน์ คุณอรนุช นาคะโร คุณสุธรรม คงเอียด และคุณอัญชลี ราศี (ช่วยสนับสนุนตัวอย่างพืชและเตรียมงานในห้องปฏิบัติการ) คุณชัยรัตน์ หมั่นการ (ช่วยสนับสนุนภาพประกอบ) และน้องๆ ในห้องปฏิบัติการที่ช่วยสนับสนุนในการทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

จุมพล สาระนาค อรพรรณ วิเศษสังข์ และจักรพงษ์ เจิมศิริ. 2540. โรคผัก. คู่มือนักวิชาการภาคสนาม ฝ่ายวิเคราะห์และบริการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6 กรมวิชาการเกษตร. 113 หน้า.

พัฒนา สนธิรัตน ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร สหมิตรพริ้นติ้ง อ.บางใหญ่ จ.นนทบุรี. 285 หน้า.

เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. 2550. ฐานข้อมูลโรคพืชที่สำคัญในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อการส่งออก : โรคพืชวงศ์แตง.ศูนย์พันธุกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. 81 หน้า.

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 Isolated 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.

Babadoost M., Ravanlou A.,2012. Outbreak of bacterial spot (*Xanthomonas cucurbitae*) in pumpkin fields in Illinois. Plant Dis. 96 (8) pp. 1222.

CPC. 2014. Crop Protection Compendium (2014 edition). Copyright © 2014 CABI. CAB International is a registered EU trademark. Available source: http://www.cabi.org/cpc/ (site date: April 20, 2014).

International Seed Testing Association. 2016. 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.

Kao J, Jia L, Tian T, Rubio L, Falk BW, 2000. First report of Cucurbit yellow stunting disorder virus (genus Crinivirus) in North America. Plant Disease, 84(1):101. View Abstract.

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.

Kim, O., Lee, K. and Natsuaki, K.T. 2009. Occurrence and Molecular Characterization of Kyuri green mottle mosaic virus isolated from oriental melon in Korea. Journal of Agricultural Science, Tokyo University of Agriculture, 54 (2), 71-78.

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.

Liu, H. W., Luo, L. X., Li, J. Q., Liu, P. F., Chen, X. Y., Hao, J. J. 2014. Pollen and Seed Transmission of *Cucumber green mottle mosaic virus* in Cucumber. Plant Pathology, 63 (1) pp 72-77 .

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. APSnet Plant pathology Online. (http://www.apsnet.org/online/common/names/cucurbit.asp) (site date: April 20, 2014).

Zitter T.A., Hopkins D.L., Thomas C.E., 1996. Compendium of cucurbit diseases. APS Press St. Paul, MN, USA.

Table 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

Table 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

Figure 1 The packaging and imported watermelon seeds

A) The watermelon seeds imported from United States

B) The watermelon seeds imported from India

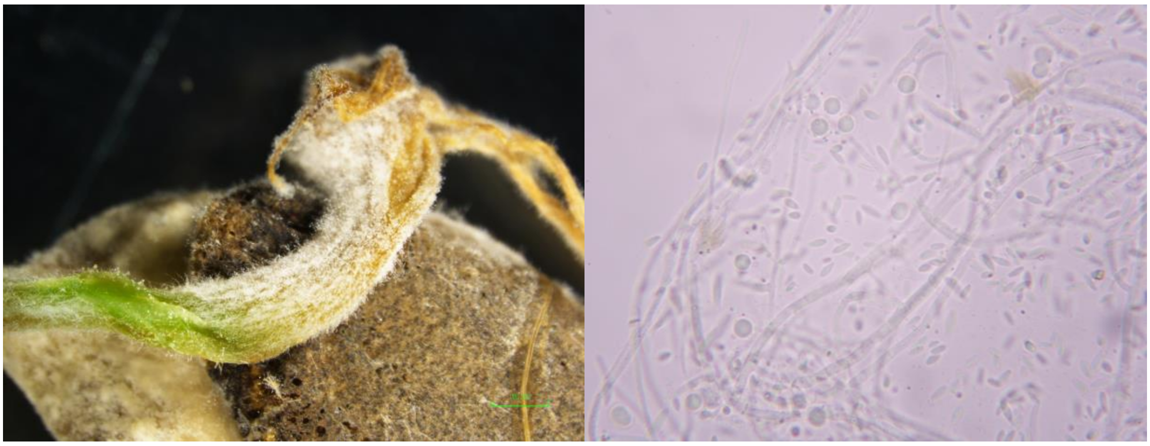

Figure 2 *Fusarium oxysporium* on imported watermelon seeds from United States of America of Low magnification (50x) and conidia structure of high magnification (1000x).

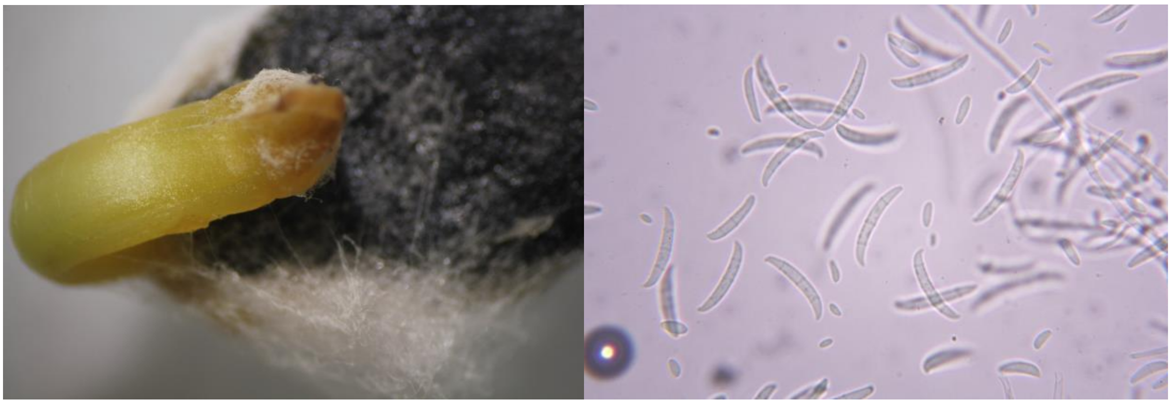

Figure 3 *Fusarium solani* on imported watermelon seeds from United States of America of Low magnification (50x) and conidia structure of high magnification (1000x).

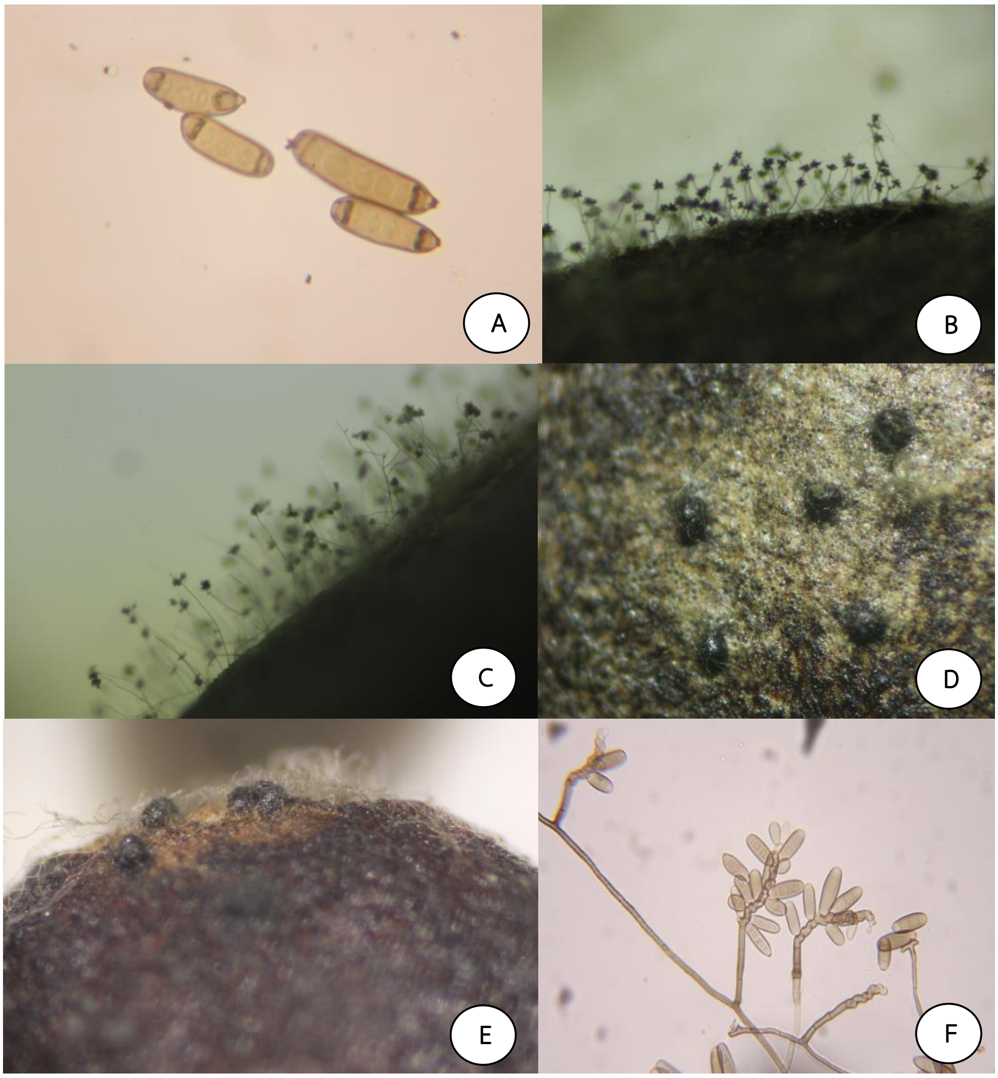

Figure 4 Fungi associated on imported watermelon seeds from India under stereo microscope and compound microscope

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

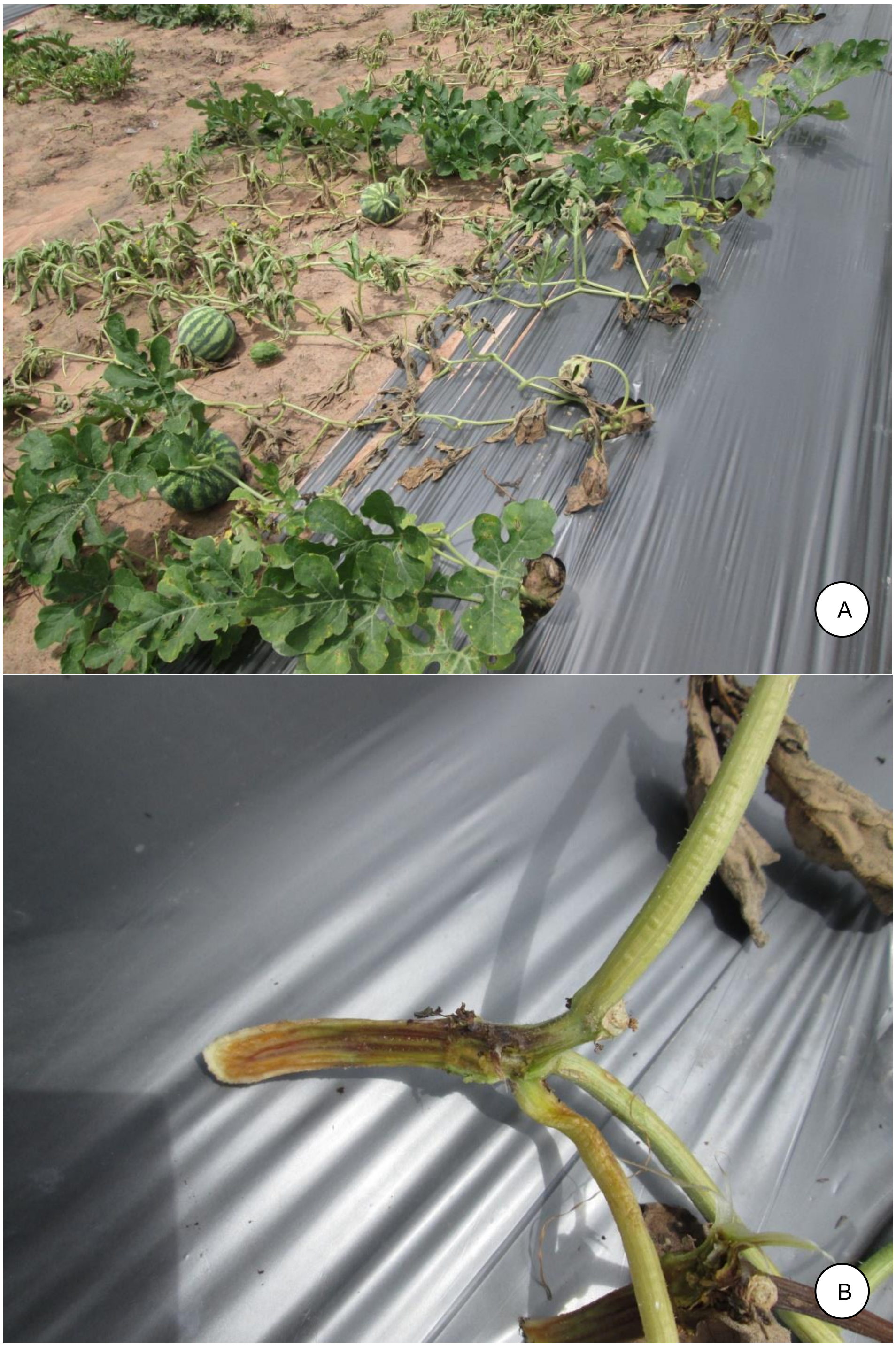

Figure 5 Fusarium wilt on watermelon A) Fusarium wilt on watermelon B) A discoloration of the vascular system (xylem), which can be observed readily in longitudinal or cross section of roots or stems.

Figure 6 Pythium fruit rot of watermelon caused by *Pythium* sp.

Figure 7 Gummy stem blight on watermelon leaf.

Figure 8 The southern blight fungus caused by *Sclerotium rolfsii* which produces seed-like resting structures.

Figure 9 Anthracnose (*Colletotrichum orbiculare*) symptoms on watermelon.

Figure 10 Downy mildew on watermelon leaf

Figure 11 Bacterial Fruit Blotch caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* that cross section through mature fruit shows internal damage.