ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา อินเดีย ญี่ปุ่น อิสราเอล ชิลี และฟิลิปปินส์

Pests Associated with Imported Melon 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/] ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/] กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา และเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากอินเดีย (ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 ถึง กันยายน 2560) โดยนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบเบื้องต้นภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ ไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืช และไม่มีวัชพืชติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบว่าเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา พบเชื้อราจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Fusarium oxysporum* และ *F. solani* และเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากอินเดีย ตรวจพบเชื้อรา จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ 1) *Drechslera halodes* และ *Macrophomina phaseolina* ส่วนการตรวจสอบด้วยวิธี Dilution technique และ ELISA technique ไม่พบศัตรูพืชติดมากับเมล็ดพันธุ์ และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นเมลอน และผลการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากอเมริกา ในจังหวัดขอนแก่น กาฬสินธุ์ และ อุดรธานี พบโรคกับต้นเมลอน จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ โรคต้นแตกหรือยางไหล เชื้อสาเหตุ *Didymella bryoniae*, โรคราน้ำค้าง เชื้อสาเหตุจาก *Pseudoperonospora cubensis*, โรคแอนแทรคโนส เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum orbiculare,* และโรคต้นเหี่ยว หรือผลเน่า เชื้อสาเหตุ *Fusarium oxysporum* ซึ่งศัตรูพืชที่พบทั้งในห้องปฏิบัติการและในแปลงปลูก ไม่เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

คำหลัก: ชนิดศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์เมลอน อเมริกา อินเดีย ญี่ปุ่น อิสราเอล ชิลี และฟิลิปปินส์

รหัสการทดลอง 03-04-59-02-01-00-03-59

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

วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของเมลอน และข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในอเมริกาและอินเดียเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเตอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของเมลอน ลักษณะทั่วไปของพืช สายพันธุ์ พื้นที่การเพาะปลูก รายชื่อของประเทศที่ประเทศไทยมีการการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืชทั้งนอกประเทศและในประเทศ

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากอเมริกาและอินเดียในห้องปฏิบัติการและในโรงเรือนปลูกพืช

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 นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลงอุณหภูมิ 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 เพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติของต้นพืชในโรงเรือนของกลุ่มวิจัย-การกักกันพืช 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 กาฬสินธุ์ และ อุดรธานี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

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

ศัตรูพืชที่พบเข้าทำลายเมล่อน

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 มีเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากอเมริกา จำนวน 12 ครั้ง และนำเข้าจากอินเดีย จำนวน 6 ครั้ง นำมาตรวจสอบเบื้องต้น ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ เมล็ดพันธุ์สมบูรณ์ ไม่มีร่องรอยการทำลายของแมลงศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และบางตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มีการเคลือบเมล็ดด้วยสารเคมีไทแรม ปริมาณ 80-160 กรัม ต่อเมล็ด 100 กิโลกรัม (Figure 1)

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

จากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์เมลอนที่นำเข้าจากอเมริกาและอินเดียในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี Blotter method พบว่าเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา พบเชื้อราจำนวน 2 ชนิด ชนิดละ 1 ครั้ง ได้แก่ 1) *Fusarium oxysporum* และ2) *F. solani* (Figure 2) และเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากอินเดีย ตรวจพบเชื้อรา จำนวน 2 ชนิด ชนิดละ

1 ครั้ง ได้แก่ 1) *Drechslera halodes* และ 2) *Macrophomina phaseolina* (Figure 3) ซึ่งเชื้อสาเหตุดังกล่าว ไม่เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

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 และอุดรธานี จำนวน 25 แปลง ได้แก่ โรคต้นแตกหรือยางไหล เชื้อสาเหตุ *Didymella bryoniae* (Figure 4), โรคราน้ำค้าง เชื้อสาเหตุจาก *Pseudoperonospora cubensis* (Figure 5), โรคแอนแทรคโนส เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum orbiculare* (Figure 6), และโรคต้นเหี่ยว หรือผลเน่า เชื้อสาเหตุ *Fusarium oxysporum* (Figure 7) แต่ไม่มีแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากอินเดีย ซึ่งอาการของโรคที่พบ**ไม่เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย** แต่เมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากอินเดียไม่มีแปลงปลูก

4. การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและศัตรูพืชที่ติดตามตรวจสอบในแปลงปลูก และสรุปผลการศึกษาการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจสอบเมล็ดพันธุ์เมลอนที่นำเข้าจากอเมริกาและอินเดียจากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์เมลอนที่นำเข้าจากต่างประเทศ สรุปได้ดัง Table 1

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์เมลอนนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา จำนวน 12 ครั้ง และเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากอินเดีย จำนวน 6 ครั้ง (ระหว่างเดือนตุลาคม 2558 ถึง กันยายน 2559) โดยนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบเบื้องต้นภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ไม่พบลักษณะอาการผิดปกติ และเมื่อนำ เมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี 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**

คำขอบคุณ

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

เอกสารอ้างอิง

คมศร แสงจินดา ณัฏฐพร อุทัยมงคล สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ และวาสนา ฤทธิ์ไธสง. 2557. การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์แคนตาลูปนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2557 เล่มที่ 3 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1443-1468.

ธรรมศักดิ์ ทองเกตุ. 2549. การปลูกแตงเทศ ตอนที่ 1. KU-e magazine. ปี 7 ฉบับ 12 ธันวาคม 2549. (http://www.ku.ac.th/e-magazine/dec49/agri.html)

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

Burdman, S., Kots, N., Kritzman, G. and Kopelowitz, J. 2005. Molecular, physiological, and host-range characterization of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* isolates from watermelon and melon in Israel. Plant Disease 89(12), 1339-1347.

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

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

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

Doubrava, N., Blake, J. H. Keinath, A. P. and Williamson, J.E. 2007. Cucumber, Squash, Melon & Other Cucurbit Diseases. Clemson University Cooperative Extension

Service. USA. (http://www.clemson.edu/extension/hgic/pests/plant_pests/veg_fruit/hgic2206.html)

Extension Plant Pathology. 2010. Diseases of melon (Cucumis melo) in Arizona. The University of Arizona. USA. (http://cals.arizona.edu/PLP/plpext/diseases/vegetables/melon/melon.html)

Horlock, C. and McGrath, M. T. 2004. Powdery mildew of melons (watermelon, rockmelon and honeydew). Department of Primary Industries. Queensland government. Australia. (http://www2.dpi.qld.gov.au/horticulture/11644.html)

Horlock, C. and Persley, D. 2004. Viruses affecting melons (watermelon, rockmelon and honeydew). Department of Primary Industries. Queensland government. Australia (http://www2.dpi.qld.gov.au/horticulture/9575.html)

International Seed Testing Association. 2016. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association (ISTA). Bassersdort, Switzerland.

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.

Koile, S.T., Gladders, P. and Paulus, A.O. 2007. Cucurbitaceae. Vegetable diseases: A color handbook. Manson Publishing. England. 220-250 p.

Table 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 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,

Figure 1 The packaging and imported melon seeds A) The imported melon seed from United States B) The imported melon seed from India.

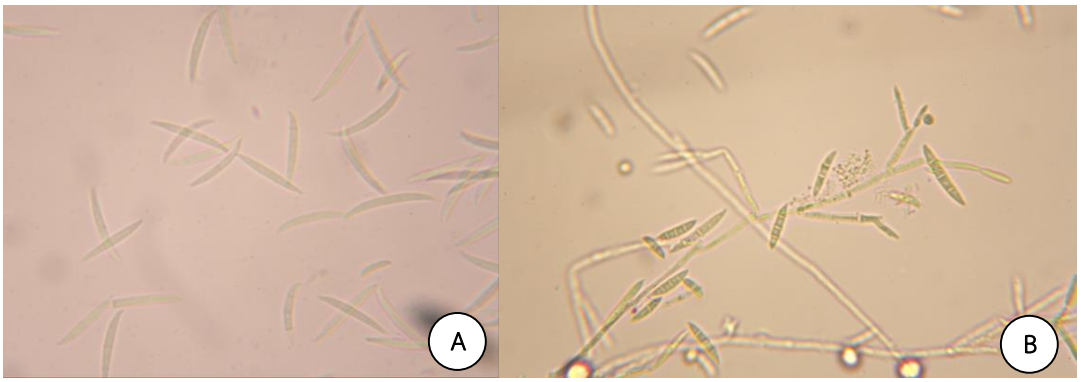

Figure 2 Fungi associated on imported watermelon seeds from United States of America under stereo microscope and compound microscope
A) *Fusarium oxysporum* at 400x B) *F. solani* at 400x

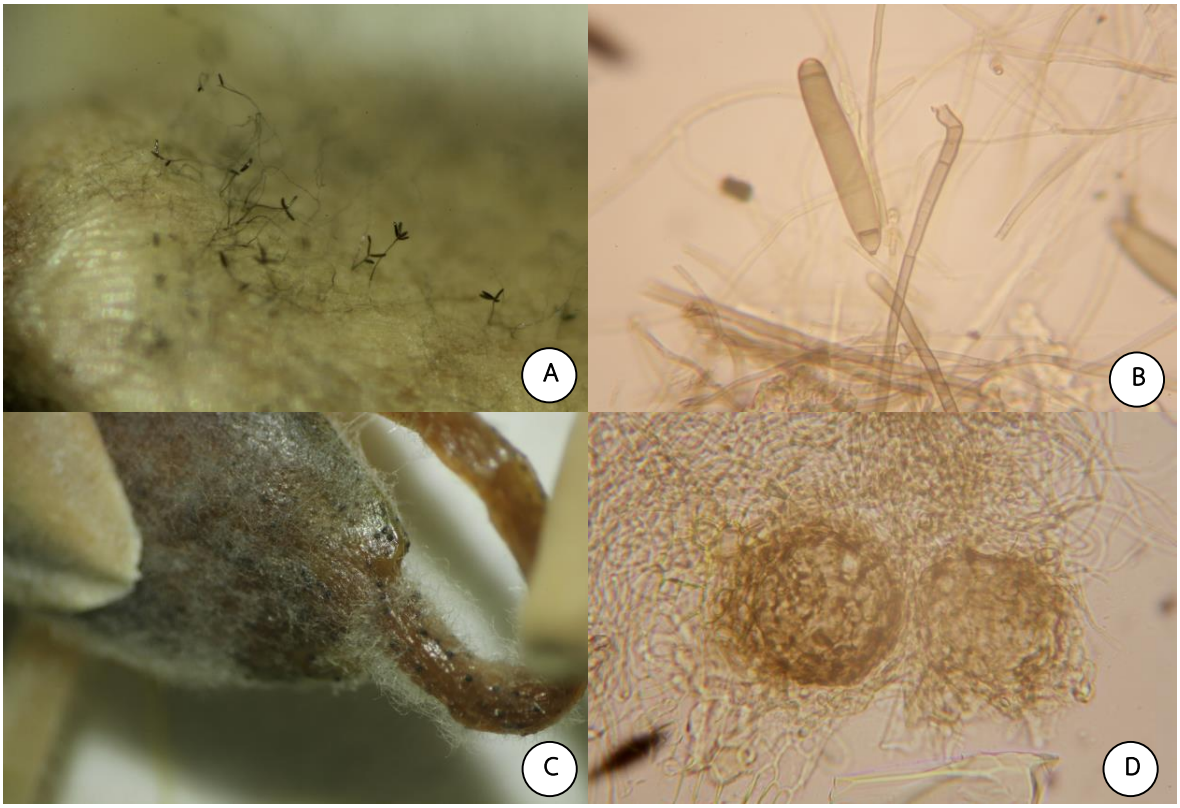

Figure 3 Fungi associated on imported watermelon seeds from India under stereo microscope and compound microscope
A) *Drechslera halodes* at 165x B) *Drechslera halodes* at 400x
C) *Macrophomina phaseolina* at 50x D) *Macrophomina phaseolina* at 200x

Figure 4. Canker of gummy stem blight on melon with fruiting bodies of *Didymella bryoniae*

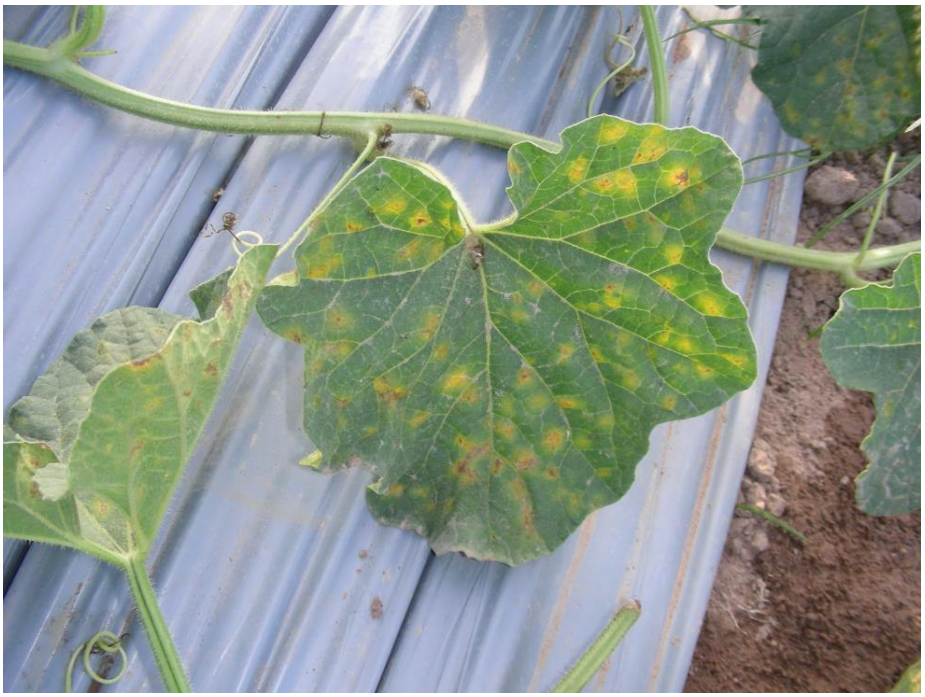

Figure 5. Downy mildew symptoms on melon. Angular-shaped lesions on the upper side of leaves are light green to yellow in color.

Figure 6. Anthracnose on melon leaf.

Figure 7. Fusarium rot on melon fruit