

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

- | | | |
|---------------------------|--|------------------------------|
| 1. ชุดโครงการวิจัย | วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช | |
| 2. โครงการวิจัย | วิจัยการกักกันพืช | |
| กิจกรรม | การศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชนำเข้า | |
| 3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) | การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรีย <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> (Smith) Davis. ในพื้นที่ปลูกมะเขือเทศในประเทศไทย | |
| ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) | Surveillance of Bacterial Canker: <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> (Smith) Davis. in Seed Production Areas for Export | |
| 4. คณะผู้ดำเนินงาน | | |
| หัวหน้าการทดลอง | ณัฐพร อุทัยมงคล | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช |
| ผู้ร่วมงาน | ชลธิชา รักใคร่ | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช |
| | ศรวิเศษ เกษสังข์ | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช |
| | ณัฐริมา โมฆิตเจริญกุล | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช |
| | วันเพ็ญ ศรีชาติ | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช |
| | วาสนา ฤทธิ์ไธสง | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช |
| | ทิพวรรณ กันหาญาติ | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช |
| | วาริรัตน์ สมประทุม | สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช |

5. บทคัดย่อ

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้ออกประกาศกำหนดให้เชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* เป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 บนพื้นฐานการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเบื้องต้น แต่ประเทศฝรั่งเศสแจ้งว่ามี การพบเชื้อ *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) จากเมล็ดมะเขือเทศที่ นำเข้าจากประเทศไทย จึงต้องดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงเพื่อยืนยันสถานภาพและเป็นข้อมูลทาง วิชาการว่าเชื้อนี้เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยตามกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชตาม มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 5 (Glossary of Phytosanitary Terms) (FAO, 2007) และฉบับ 11 (Pest Risk Analysis for Quarantine Pest) เรื่องการ วิเคราะห์ความเสี่ยงสำหรับศัตรูพืชกักกันและตามคำนิยามของคำว่า “ศัตรูพืชกักกัน” ที่มีโอกาสจะติด มากับเมล็ดมะเขือเทศนำเข้า ซึ่งผลการตรวจสอบเชื้อ Cmm จากการสุ่มเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่มีการ นำเข้าในช่วงเดือนมกราคม 2557- กรกฎาคม 2557 จาก 10 บริษัท จำนวน 25 ครั้ง นำหนักรวม

ประมาณ 417 กก.จำนวน 65 ตัวอย่าง จาก 12 ประเทศ ได้แก่ เกาหลี จีน ซิลี ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ เปรู ฝรั่งเศส ฟิลิปปีนส์ ไทย (ส่งกลับ) เม็กซิโก สหรัฐอเมริกา และอินเดีย ไม่พบเชื้อ *Cmm* ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้า เมื่อเข้าสู่กระบวนการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชพบว่า จุดเริ่มต้น (Initiation) ของการวิเคราะห์ความเสี่ยงฯ เริ่มจากการที่ประเทศฝรั่งเศสแจ้งให้ทราบว่ามีการตรวจพบเชื้อ *Cmm* จากเมล็ดมะเขือเทศที่ส่งออกจากประเทศไทย ซึ่งไม่มีรายงานการปรากฏเชื้อนี้ในประเทศไทยและประเทศไทยมีกฎระเบียบที่ประกาศให้เชื้อ *Cmm* เป็นศัตรูพืชกักกัน เช่นเดียวกับประเทศอื่นๆ เช่น สหภาพยุโรป จีน เวียดนาม เป็นต้น ที่การนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศต้องปลอดจากเชื้อ *Cmm* โดยมีพื้นที่ที่เป็นอันตรายคือแหล่งปลูกมะเขือเทศและพืชอาศัยในวงศ์ Solanaceae รวมถึงพืชอาศัยอื่นๆ ที่ปลูกกระจายทั่วประเทศ ผลการประเมินโอกาสในการเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวรของเชื้อพบว่ามีโอกาสสูงเมื่อนำข้อมูลของเชื้อ *Cmm* และมะเขือเทศมาเข้ากระบวนการประเมินความเสี่ยงพบว่าเชื้อสามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดพันธุ์ได้ มีชีวิตอยู่รอดในระหว่างการขนส่งและไม่สามารถตรวจสอบด้วยสายตาได้ ณ จุดนำเข้า จึงมีโอกาสเข้ามาในประเทศไทยได้ เชื้อสามารถเจริญได้ที่ 24-28 และ 35 องศาเซลเซียส ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ที่ระหว่าง 23.33-32.22 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับช่วงอุณหภูมิของแหล่งปลูกมะเขือเทศและพืชอาศัยอื่นในประเทศทั้งในสภาพโรงเรือนและแปลงปลูก ซึ่งจุดประสงค์นำเข้ามาเพื่อการจำหน่าย เพื่อเพาะปลูกหรือนำไปผลิตเป็นเมล็ดพันธุ์ลูกผสม ทำให้เมล็ดที่สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดพันธุ์และต้นอ่อนที่เป็นโรคที่เพาะในโรงเรือนและปลูกในหลายพื้นที่ทั่วประเทศเป็นการกระจายศัตรูพืชที่ดีและเร็วไปในบริเวณกว้างร่วมกับกิจกรรมอื่นๆ เช่น เครื่องมือตกแต่ง มนุษย์เพื่อผสมเกสร เป็นต้น และเชื้อ *Cmm* มีผลกระทบทั้งทางตรงและทางอ้อมสูง เช่น ทำให้ผลผลิตมะเขือเทศลดลง 80 เปอร์เซ็นต์ ในประเทศอินโดนีเซีย หลายประเทศกำหนดเป็นศัตรูพืชกักกัน ต้องใช้แรงงาน สารเคมี ห้องปฏิบัติการตรวจสอบ เป็นต้น ดังนั้นเชื้อ *Cmm* จึงยังคงเป็นศัตรูพืชกักกันตามที่ประกาศไว้ โดยการนำเข้าเมล็ดมะเขือเทศต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชที่มีการระบุใบรับรองสุขอนามัยพืชว่าเมล็ดต้องมาจากพื้นที่/แหล่งผลิตที่ปลอดจากเชื้อ *Cmm* หรือเมล็ดมาจากต้นพ่อแม่ที่ได้ตรวจสอบในระยะเจริญเติบโตว่าปลอดจากเชื้อ *Cmm* หรือเมล็ดพันธุ์ต้องได้รับการตรวจสอบในห้องปฏิบัติการว่าปลอดจากเชื้อ *Cmm* และเมล็ดต้องแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 นาที หรือผึ่งลมร้อน (Dry heat) ที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือแช่เมล็ดใน 5 เปอร์เซ็นต์ Hydrochloric acid (HCl) หรือ 0.05 เปอร์เซ็นต์ o-phenylphenol เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำเปล่าก่อนการส่งออกได้ดำเนินการสำรวจแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศในจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน แพร่ ตาก นครราชสีมา สระบุรี ขอนแก่น มหาสารคาม กาฬสินธุ์ อุดรธานี สกลนครและลพบุรี ได้เก็บตัวอย่างมาจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการผลการตรวจยังไม่พบเชื้อ CMMในประเทศไทย สำหรับเทคนิคการตรวจสอบเชื่อดังกล่าวพบว่าเทคนิคด้านชีวโมเลกุลสามารถตรวจสอบได้แม่นยำ รวดเร็ว กว่าวิธีอื่นๆ

Abstract

Bacterial *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*) is prohibited article under plant quarantine Act. of Thailand base on preliminary of Pest risk analysis. However, according to the notification from France, *Cmm* were detected from tomato seed of Thailand. The inspection result of imported tomato seeds from 12 countries had not found *Cmm*. Plant quarantine research group was asked to deliver a scientific opinion on the pest risk assessment (PRA) of *Cmm* for Thailand. The researcher performed the PRA and as defined in the International Standard for Phytosanitary Measures (ISPM) No. 5 and No.11. After conducted the PRA, the result reached the conclusions that *Cmm* is the causal agent of the bacterial canker of tomato. It can cause a wide variety of economic host plants in Thailand. However some symptom may be confused with those caused by other organisms. *Cmm* is not present in Thailand and the pathogen is control under Plant Quarantine Act. The potential for entry establishment and spread in the risk assessment area is high. Because *Cmm* is seed borne, tomato and some Solanaceae plants are the most important host of *Cmm*. *Cmm* can occur in both glasshouse and field crops. The environmental condition in Thailand are suitable for pathogen expression in the field at temperature between 23.33-32.2 °C. The objective of imported seed are sale and produced hybrid seed. So, Seed and transplants are consider to be the major means of long distance dispersal included other mechanicals as human and used of instrument. *Cmm* is considered as the most important bacterial pathogens of tomato and Capsicum. Infections is high yield losses. Phytosanitary certificate that complied with special imported requirement are effectively control *Cmm*. The option of management for *Cmm* before export is the tomato seeds were produced in a pest free area/pest free production site for *Cmm* or the tomato seeds was inspected and found free from *Cmm* or the plant was inspected during the growing season and confirm in laboratory to be free from *Cmm* and seed must be soaked in hot water at temperature 50°C for 25 minutes or dry heat at 50°C for 4 hours and 80°C for 24 hours or soaked in 5% Hydrochloric acid (HCl) or 0.05% o-phenylphenol for 10 minutes and following with distill water before export.

6. คำนำ

เชื้อ *Cmm* ถูกประกาศให้เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ.2550 ซึ่งมีพืชหลายชนิดที่ปลูกในประเทศไทยเป็นพืชอาศัยของเชื้อชนิดนี้ เช่น มะเขือเทศ พริก มะเขือม่วง เป็นต้น ปัจจุบันประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์พืชผักที่สำคัญในกลุ่มประเทศอาเซียน โดยเฉพาะมะเขือเทศ พริก และมะเขือม่วง เป็นต้น ต่อมาเกิดปัญหาเกี่ยวกับเมล็ดมะเขือเทศที่ส่งออก เนื่องจากประเทศฝรั่งเศสแจ้งว่ามีการตรวจพบเชื้อ *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* จากเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่ส่งออกไปจากประเทศไทย จึงมีความจำเป็นที่จะต้องยืนยันสถานภาพการเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย เนื่องจากเชื้อ *Cmm* เป็นเชื้อที่สร้างความเสียหายให้กับการผลิตมะเขือเทศทั้งในสภาพแปลงปลูกและโรงเรือน ทำให้ต้นกล้าตายและผลผลิตไม่เป็นที่ต้องการของตลาด (CABI, 2014) สามารถทำความเสียหายถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ในโรงเรือน อย่างไรก็ตามประเทศไทยไม่มีรายงานการปรากฏเชื้อนี้ในประเทศมาก่อน แต่อย่างไรก็ตามในการกำหนดเป็นศัตรูพืชกักกันนั้นยังไม่มีเอกสารวิชาการยืนยันการเป็นศัตรูพืชกักกัน ดังนั้นเพื่อให้ทราบถึงร้ายแรงของเชื้อที่สามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์ และยืนยันการคงสถานภาพเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยต่อไป จึงจำเป็นต้องศึกษาว่าเชื้อ *Cmm* เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยที่มีโอกาสติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศได้หรือไม่โดยการสำรวจในแปลงผลิตมะเขือเทศเพื่อให้ทราบข้อมูลการปรากฏ/ไม่ปรากฏและการแพร่กระจายของ เชื้อดังกล่าวประกอบกับต้องพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบเชื้อ CMM เพื่อใช้รับรองการส่งออกและการนำเข้าต่อไป

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

1. หนังสือ และวารสารทางวิชาการของมะเขือเทศและเชื้อ *Cmm* ที่เกี่ยวข้องในประเทศและต่างประเทศ
2. CAB INTERNATIONAL(2007 และ 2014 online) และข้อมูลทางอิเล็กทรอนิกส์
3. เครื่องคอมพิวเตอร์ เครื่องพิมพ์ กระดาษ ฯลฯ
4. เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ
5. กล้องจุลทรรศน์ ตู้ปลอดเชื้อ
6. น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ และสารเคมีในการแยกและเลี้ยงเชื้อ
7. กระจกปลูกพืช ดิน โรงเรือนปลูกพืช
8. ชุดตรวจสอบเชื้อ CMM ที่นำเข้าจากต่างประเทศ
9. คู่มือการตรวจสอบเชื้อ
10. ฟู่กัน, เข็มเขี่ย, ถังกระดาษเก็บตัวอย่าง
11. เครื่องหาพิกัด (GPS)

12. อุปกรณ์บันทึกข้อมูล

- วิธีการ

การทดลองย่อยที่ 1 การสำรวจสถานภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis. ในพื้นที่ปลูกมะเขือเทศในประเทศไทย

- การสำรวจ กำหนดพื้นที่สำรวจโดยเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่สำคัญของประเทศ จำนวน 156 แหล่งปลูก ใน 13 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน แพร่ ตาก นครราชสีมา สระบุรี ขอนแก่น มหาสารคาม กาฬสินธุ์ อุดรธานี สกลนครและลพบุรี วางแผนการสำรวจในพื้นที่อย่างน้อย 20 ไร่ แบ่งพื้นที่ออกเป็น 4 ส่วนๆละประมาณ 5 ไร่ แต่ละส่วนทำการสุ่มสำรวจจำนวน 10 จุดขนาดพื้นที่จุดละ 2x2 เมตร สุ่มตรวจ จุดละ 20 ตัวอย่าง ตรวจแบบตัวอักษร W ซ้าย ตามวิธีของ Delp *et.al.* (1986) ทำการสุ่มตรวจทุกเดือน วิธีการตรวจแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* ในแปลงเมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

- การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ การตรวจสอบโดยการนำตัวอย่างที่เก็บมาหรือสุ่มใบหรือลำต้นมะเขือเทศที่แสดงอาการคล้ายกับรูปภาพนำมาแยกเชื้อ *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* บนอาหาร คัดเฉพาะโคโลนีที่สงสัยแล้วนำมาตรวจจำแนกชนิด โดยทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี และใช้วิธี Polymerase chain reaction (PCR) เก็บข้อมูลที่ได้ในรูปdatasheetเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ทางสถิติจัดทำรายงาน ผลการวิจัย

การทดลองย่อยที่ 2 วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบเชื้อ *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis. ในมะเขือเทศ(2557)

- ดำเนินการทดลองโดยการตรวจสอบเชื้อ *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* ตามวิธีทางด้านชีวโมเลกุล และ ELISA

- ดำเนินการตรวจสอบเชื้อ *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* กับตัวอย่างพืช และ เมล็ดพันธุ์

- บันทึกข้อมูลผลการตรวจสอบ เชื้อ CMMกับตัวอย่างพืช และ เมล็ดพันธุ์

ขั้นตอนวิธีการตรวจสอบ เชื้อ *Cmm* จากตัวอย่างเมล็ดพืช มีดังนี้

1.การใช้อาหารกึ่งคัดเลือก (semi selective media) สำหรับแยกเชื้อที่ได้จากการใช้สารสกัดเมล็ด โดยปกติวิธีการนี้มีความไว (sensitivity) ในการตรวจสอบไม่เพียงพอ เพราะเชื้อชนิดอื่นที่แฝงอยู่ (saprophyte) จะเจริญได้เร็วกว่าจึงยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Cmm* (Fatmi and Schaad, 1988; Shirakawa and Sasaki, 1988) จึงมีการพัฒนาอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดใหม่ชื่อ bud-containing tissue (BCT) ที่สามารถคัดแยกเชื้อได้ภายใน 7 วัน โดยอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้สามารถใช้ในการตรวจสอบเชื้อจากเมล็ดพืชและพืชที่แสดงอาการเพียงเล็กน้อยได้ (Radwan *et al.*, 2011)

2.เทคนิคทางเซรัมวิทยามีความจำเป็นต้องใช้แอนติบอดีที่มีความจำเพาะเจาะจงของ

เชื้อเพียงพอสำหรับใช้ตรวจสอบเชื้อ *Cmm* (Rat, 1984)

3.เทคนิคทางอนุชีววิทยา เป็นเทคนิคที่มีความจำเพาะเจาะจง รวดเร็วในการตรวจสอบ แต่มีค่าใช้จ่ายสูงและบางเทคนิคต้องใช้เวลาในการตรวจสอบ ซึ่งเทคนิคใหม่ ๆ ที่มีรายงานและเป็นที่ยอมรับในการตรวจสอบ เช่น Fatty acid profile (Gitaitis and Beaver, 1990), molecular hybridization (Thompson *et al.*, 1989) Bio-PCR (Burokiene, 2006) และ protein profiles (Bruyne *et al.*, 1987)

การทดลองย่อยที่ 3 การศึกษาชนิดศัตรูพืชกักกันของเชื้อ *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าจากต่างประเทศ

- สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าตามมาตรฐาน ISTA ทำการสุ่มตัวอย่าง ณ จุดนำเข้า โดยทำการสุ่มตัวอย่างจากด้านตรวจพืชต่างๆ ที่มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ และทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบเมล็ดด้วยตาเปล่า สังเกตลักษณะสี ผิว และรูปร่างว่ามีอะไรผิดปกติหรือไม่ มีรอยเจาะ หรือแตกกะเทาะของเมล็ดหรือไม่ และจึงนำเมล็ดพันธุ์ที่สุ่มได้นำไปตรวจสอบศัตรูพืชชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

- ตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อโรคพืชในห้องปฏิบัติการ ทำการแยกเชื้อหรือตรวจสอบศัตรูพืชที่พบด้วยวิธีการมาตรฐานในการตรวจหาศัตรูพืชและศัตรูพืชกักกันชนิดต่างๆ เช่น การตรวจสอบด้วยเทคนิค เช่น Dilution plate method, Seedling symptom test, ELISA

การทดลองย่อยที่ 4 การวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* กับเมล็ดมะเขือเทศ

1. การรวบรวมข้อมูลมะเขือเทศและเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*)

สืบค้นรวบรวมข้อมูลมะเขือเทศ เช่น อนุกรมวิธาน ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ แหล่งปลูกมะเขือเทศ ชนิดมะเขือเทศ การนำเข้าส่งออกเมล็ด การเก็บรักษา การบรรจุ สืบค้นรวบรวมข้อมูลเชื้อ *Cmm* เช่น อนุกรมวิธาน พืชอาศัย การเกิดโรค เป็นต้น จากฐานข้อมูล เอกสารวิชาการ วารสาร รายงานการประชุม สัมมนาทางวิชาการและหน่วยงานอื่นที่เกี่ยวข้องทั้งในและต่างประเทศ ข้อมูลจาก CAB INTERNATIONAL (2007 และ 2014 online) และข้อมูลทางอิเล็กทรอนิกส์ เว็บไซต์ต่างๆ รวมถึงข้อมูลที่ประเทศอื่นๆ เคยวิเคราะห์ความเสี่ยงเชื้อ *Cmm* มาก่อน

2. การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* จากเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้า

สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 2007) หรือตามความเหมาะสมของปริมาณนำเข้าแต่ละสายพันธุ์ เพื่อตรวจหาเชื้อ *Cmm* จากเมล็ดมะเขือเทศหรือตัวอย่างที่เก็บจากแปลงเพาะกล้ามะเขือเทศที่เพาะจากเมล็ดนำเข้าแล้วนำมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการโดย 1) บดเมล็ดหรือตัวอย่างมะเขือเทศแล้วเติม

สารละลายยีนฆ่าเชื้อแล้วของ 0.85 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคลอไรด์ 1-10 มิลลิลิตร (ตามปริมาณของเมล็ดหรือตัวอย่างพืช) ทำ Dilution plate ที่ค่าการเจือจาง 10^{-1} - 10^{-9} โดยหยดสารละลายจำนวน 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) หรืออาหาร bud-containing tissue (BCT) (selective medium) จากนั้นบ่มจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้องนาน 3-5 วัน ตรวจสอบโคโคโลนีเชื้อแบคทีเรียหลัง 3 วัน แล้วแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไปหรือ 2) เพาะเมล็ดในถุงพลาสติกแล้วสังเกตลักษณะอาการโรค โดยนำไปพืชที่แสดงอาการผิดปกติเป็นจุดฉ่ำน้ำนำไปแยกเชื้อ โดยทำ Dilution plate หรือวิธี Tissue transplanting เมื่อแยกเชื้อให้บริสุทธิ์จากวิธี 1 หรือ 2 แล้ว นำเชื้อที่ได้ไปทดสอบแกรม (Gram's reaction) โดยใช้ 3 เปอร์เซ็นต์ โปตัสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือย้อมสีแบบแกรม ถ้าให้ผลปฏิกิริยาเป็นบวก นำมาตรวจลักษณะและสีของโคโคโลนี รูปร่างของเซลล์แบคทีเรียและพัสเจอร์เชื้อตามหลักการ Koch's postulate บนต้นมะเขือเทศ หรือจำแนกชนิดโดยการตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) หรือปฏิกิริยาชีวเคมี เป็นต้น

3. การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเป็นไปตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช (ISPM) ฉบับที่ 11 การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (Pest Risk Analysis for Quarantine Pest (2013) (FAO, 2014) เพื่อประเมินเชื้อ *Cmm* ว่ามีความเสี่ยงมากน้อยเพียงใดที่เชื้อจะติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ โดยกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน ที่มีส่วนสัมพันธ์กัน ได้แก่

ขั้นตอนที่ 1: การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation of pest risk analysis) เพื่อทราบสาเหตุและที่มาของการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

ขั้นตอนที่ 2: การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest risk assessment) เพื่อให้ทราบชนิดศัตรูพืชกักกัน

ขั้นตอนที่ 3: การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest risk management) เพื่อหามาตรการที่เหมาะสมสำหรับการจัดการศัตรูพืชกักกัน

ขั้นตอนที่ 1: การเริ่มขบวนการวิเคราะห์ (Initiation)

การเริ่มขบวนการวิเคราะห์เพื่อจำแนกศัตรูพืช (pest) และเส้นทางศัตรูพืช (pest pathway) ที่เกี่ยวข้องกับกักกันพืชในพื้นที่หนึ่งหรือพื้นที่ที่กำหนด และพื้นที่ที่อยู่ในอันตราย (Endanger area) โดยพิจารณาว่าจุดเริ่มต้นของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชนี้มาจากเหตุผล ดังนี้

- ศัตรูพืช (PRA initiated by the identification of a pest) เช่น มีการตรวจพบการเข้าทำลายหรือระบาดของศัตรูพืชชนิดใหม่ในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช มีการตรวจพบศัตรูพืชชนิดใหม่ติดมากับสินค้านำเข้า มีการวิจัยทางวิทยาศาสตร์พบความเสี่ยงจากศัตรูพืชชนิดใหม่ หรือมีศัตรูพืชชนิดหนึ่งเข้ามาในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงแล้วเข้าทำลายพืชและก่อให้เกิดความเสียหายรุนแรงในพื้นที่ใหม่มากกว่าพื้นที่ที่เป็นแหล่งระบาดเดิม ตรวจพบศัตรูพืชชนิดหนึ่งบนสินค้านำเข้าหลายครั้ง มีผู้ยื่นคำขออนุญาตนำเข้าสิ่งมีชีวิตเพื่อการทดลองวิจัย มีการจำแนกพบสิ่งมีชีวิตชนิด

หนึ่งเป็นพาหะของศัตรูพืชชนิดอื่นเพิ่มขึ้น สิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งที่ได้รับการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมในลักษณะซึ่งมีศักยภาพที่จะเป็นศัตรูพืชได้ หรือ

- เส้นทางศัตรูพืช (PRA initiated by the identification of a pathway) เช่น มีสินค้าชนิดใหม่ที่ไม่เคยนำเข้ามาก่อน หรือสินค้ามาจากพื้นที่ใหม่หรือจากแหล่งกำเนิดใหม่ พืชชนิดใหม่ถูกนำเข้าเพื่อการคัดเลือกพันธุ์หรือเพื่อการวิจัย หรือมีเส้นทางศัตรูพืชอื่น เช่น การแพร่กระจายโดยธรรมชาติ วัสดุหีบห่อ ไปรษณีย์ภัณฑ์ เศษอาหาร สัมภาระของผู้โดยสาร เป็นต้น หรือ

- การทบทวนหรือการปรับปรุงนโยบาย (PRA initiated by the review or revision of a policy) เป็นการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชขึ้นใหม่ หรือทบทวนของเดิมที่ได้เคยวิเคราะห์ไว้แล้ว จากการทบทวนกฎระเบียบสุขอนามัยพืช ข้อกำหนด การปฏิบัติ หรือมีข้อเสนอจากประเทศหนึ่งหรือโดยหน่วยงานอารักขาพืชแห่งชาติ หน่วยงานอารักขาพืชระดับภูมิภาค องค์การอาหารแห่งสหประชาชาติ เช่น ให้มีการทบทวนหรือปรับปรุง หรือมีวิธีการกำจัดศัตรูพืชใหม่ หรือระบบการกำจัดศัตรูพืชเดิม หรือมีข้อโต้แย้งเกิดขึ้นกับมาตรการสุขอนามัยพืช หรือสถานการณ์ทางสุขอนามัยพืชในประเทศหนึ่งเปลี่ยนแปลงไป มีประเทศใหม่เกิดขึ้นหรือขอบเขตทางการปกครองเปลี่ยนแปลงไป

1.2 การจำแนกพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Identification of PRA area)

กำหนดพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชให้ชัดเจนว่าเป็นพื้นที่ส่วนใด

1.3 รวบรวมข้อมูลของเชื้อ *Cmm* ที่ต้องการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

รวบรวมข้อมูลเชื้อ *Cmm* เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ความเสี่ยงและข้อมูลที่เชื่อจะมีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและเส้นทางอื่นๆ ที่จะเข้ามาในประเทศไทย

ข้อมูลสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชอาจมาจากแหล่งที่หลากหลาย รวมถึงตามอนุสัญญาอารักขาพืชระหว่างประเทศ (มาตรา 18 ข้อซี) ที่เคยส่งข้อมูลศัตรูพืชนี้ประกอบการขอเปิดตลาด

1.4 ตรวจสอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่มีการดำเนินการแล้ว

ตรวจสอบว่าได้เคยวิเคราะห์ความเสี่ยงเชื้อ *Cmm* นี้มาก่อนแล้วหรือไม่ ถ้าเคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชมาแล้วให้ตรวจสอบว่ายังมีความเหมาะสมหรือไม่ ยังสามารถนำมาใช้ได้หรือไม่ หรืออาจเปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลง อาจจะนำมาใช้เพียงบางส่วนหรือทั้งหมดได้

1.5 ข้อเสนอของขั้นตอนการเริ่มกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

สรุปเหตุผลของการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงว่าเป็นเพราะเหตุใด ข้อมูลของศัตรูพืชเส้นทางที่เกี่ยวข้องกับศัตรูพืชและพื้นที่วิเคราะห์ศัตรูพืช รวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องเพื่อใช้ประกอบการวิเคราะห์ รวมทั้งสามารถจำแนกได้ว่าเมล็ดมะเขือเทศจะเป็นเส้นทางที่ศัตรูพืชจะเข้ามาในประเทศไทย

ตามที่ประเทศไทยได้ประกาศเป็นศัตรูพืชกักกัน เนื่องจากไม่มีรายงานการปรากฏพบในประเทศหรือถ้ามีปรากฏก็พบในขอบเขตจำกัดภายใต้การควบคุมของพนักงานเจ้าหน้าที่

ขั้นตอนที่ 2: การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk assessment)

จะประเมินความน่าจะเป็นของโอกาสที่เชื้อ *Cmm* จะเข้ามา ตั้งรกรากอย่างถาวร (Introduction) และแพร่กระจาย (Spread) และโอกาสที่เชื้อจะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจทั้งทางตรงและทางอ้อมหากเข้ามา โดยการประเมินความเสี่ยงจะประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ที่เกี่ยวข้องสัมพันธ์กัน คือ

2.1 การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) พิจารณาว่าเชื้อแบคทีเรีย *Cmm* มีคุณสมบัติจัดเป็นศัตรูพืชกักกัน (Quarantine pest) ตามคำนิยามของศัตรูพืชกักกันในมาตรฐานระหว่างประเทศสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 5 (Glossary of Phytosanitary Terms) (FAO, 2007) ที่ว่า “ศัตรูพืชกักกัน หมายถึง ศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจที่มีศักยภาพต่อพื้นที่ที่อยู่ในอันตรายนั้นและยังไม่มีอยู่ในที่นั้นหรือมีอยู่แต่ไม่แพร่กระจายอย่างกว้างขวางและกำลังมีการควบคุมอยู่อย่างเป็นทางการ (FAO, 2007) โดยพิจารณาจาก 1) ชนิดของศัตรูพืช 2) การปรากฏหรือไม่ปรากฏในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยง 3) การควบคุมทางกฎระเบียบ 4) ศักยภาพที่จะตั้งรกรากและแพร่กระจายในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงและ 5) ศักยภาพที่จะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจและทางสิ่งแวดล้อมในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

2.2. การประเมินโอกาสการเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวรและแพร่กระจาย (Assessment of the probability of introduction and spread) โดยการประเมินโอกาสการเข้ามา (Probability of entry) ร่วมกับการประเมินโอกาสการตั้งรกรากอย่างถาวร (Probability of establishment) และการประเมินโอกาสการแพร่กระจาย (Probability of spread) โดยเฉพาะเมื่อมีการนำเข้าเมล็ดมาเพื่อปลูกขยายพันธุ์ กระจายไปปลูกยังแหล่งต่างๆ หากมีการปนเปื้อนของเชื้อ *Cmm* กับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและนำไปปลูกในสภาพอากาศและช่วงเวลาที่เหมาะสม เชื้อจะมีชีวิตอยู่รอดครบวงจรชีวิตหรือไม่ในพืชอาศัย นอกจากนี้การเก็บรักษาเมล็ดและขบวนการขนส่งมีอุณหภูมิและความชื้นที่มีผลต่อเชื้อแบคทีเรียที่อาจติดมาหรือไม่ และการประเมินโอกาสความเป็นไปได้ของการแพร่กระจายโดยพิจารณาทางด้านชีววิทยาของเชื้อ *Cmm* ในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

ในการประเมินความเสี่ยงเชื้อ *Cmm* จากเมล็ดมะเขือเทศจะถูกตั้งสมมุติฐานว่ามาจากแหล่งที่มีเชื้อ *Cmm* ปรากฏและไม่มีมาตรการสุขอนามัยพืชกำกับ ซึ่งการเคลื่อนย้ายเชื้อ *Cmm* ที่ติดมากับเมล็ดมะเขือเทศจากโรงเรือนหรือแหล่งปลูกที่ผลิตเป็นการค้าจะถือว่าเป็นเส้นทางหลักของการแพร่กระจายที่สามารถทำความเสียหายแก่พืชในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยง

2.2.1 โอกาสการเข้ามาของศัตรูพืช (Probability of entry of a pest) ขึ้นอยู่กับเส้นทางของเชื้อ *Cmm* ที่จะติดมากับมะเขือเทศที่สามารถติดมากับส่วนใดของพืชสามารถมีชีวิตรอดในระหว่างขนส่งและการเก็บรักษาได้หรือไม่ ความถี่และปริมาณศัตรูพืชที่อาจติดมากับมะเขือเทศที่นำเข้า หากจำนวนเส้นทางศัตรูพืชมากโอกาสการเข้ามาของศัตรูพืชในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยง

เสี่ยงศัตรูพืชจะสูงขึ้นตามด้วย สามารถมองเห็นหรือมีวิธีการตรวจสอบเชื้อ *Cmm* ที่เหมาะสมหรือไม่ เป็นต้น

2.2.2 โอกาสการเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร (Probability of establishment) ประเมินศักยภาพในการปรับตัวของเชื้อ *Cmm* ในสภาพภูมิอากาศประเทศไทย โดยใช้ข้อมูลด้านชีววิทยาของเชื้อ (วงจรชีวิต พืชอาศัย การแพร่ระบาด การอยู่รอด เป็นต้น) จากพื้นที่ที่เชื้อ *Cmm* นั้นปรากฏอยู่ นำมาเปรียบเทียบกับสภาพในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยง พิจารณาจุดประสงค์ของการนำเข้ามาว่าเป็นเหตุผลในการช่วยกระจายเชื้อ ความสามารถมีชีวิตรอดในสภาพที่เหมาะสมหรือไม่ จำนวนพืชอาศัย ศักยภาพความสามารถในการปรับตัวของศัตรูพืช วิธีการมีชีวิตอยู่รอดของศัตรูพืช การปฏิบัติทางการเกษตรและมาตรการป้องกันกำจัด หรือการปรากฏอยู่ในช่วงหนึ่ง (ISPM No.8; Determination of pest status in an area) แต่อาจจะไม่สามารถเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงได้ (เนื่องจากสภาพอากาศไม่เหมาะสม) แต่ว่าสามารถมีผลกระทบทางเศรษฐกิจในระดับที่ยอมรับไม่ได้ในภายหลัง (IPPC Art. VII.3)

2.2.3 โอกาสการแพร่กระจายของศัตรูพืชหลังจากเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร (Probability of spread after establishment) โดยใช้ข้อมูลทางชีววิทยาจากแหล่งที่มี *Cmm* มาเปรียบเทียบกับสถานการณ์ในพื้นที่ที่ศัตรูพืชนั้นอาจจะระบาดในปัจจุบัน และกรณีตัวอย่างที่เคยเกิดมาแล้วกับศัตรูพืชที่คล้ายคลึงกันสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการพิจารณา โดยพิจารณาปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในสภาพธรรมชาติและ/หรือสภาพแวดล้อมที่ถูกจัดการสำหรับการแพร่กระจายของศัตรูพืชโดยธรรมชาติ สิ่งกีดขวางทางธรรมชาติ ศักยภาพการเคลื่อนย้ายของศัตรูพืชไปกับสินค้าหรือพาหนะขนส่ง จุดประสงค์ของการนำสินค้าไปใช้ประโยชน์ พาหะที่มีศักยภาพของศัตรูพืชในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ศัตรูธรรมชาติที่มีศักยภาพของศัตรูพืชในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ช่วงเวลาของวงจรชีวิต จำนวนรุ่นต่อปี ระยะฟักตัวและอื่นๆ

2.2.4 ข้อสรุปเกี่ยวกับโอกาสการเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร เจริญแพร่ขยายพันธุ์และแพร่กระจายของศัตรูพืช (Conclusion on the probability of introduction and spread) ภาพรวมของโอกาสเข้ามาเจริญแพร่ขยายพันธุ์ของ *Cmm* ในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยง

2.3 การประเมินผลทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้น (Assessment of potential economic consequence) นำข้อมูลต่างๆ ที่สัมพันธ์ของเชื้อ *Cmm* กับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศมารวมกัน และวิเคราะห์การสูญเสียทางเศรษฐกิจทั้งทางตรงและทางอ้อม เพื่อประเมินผลกระทบทุกด้านของศัตรูพืช

2.4 ระดับความไม่แน่นอน (degree of uncertainty) การประเมินโอกาสการเข้ามาของเชื้อ *Cmm* และผลที่ตามมาทางด้านเศรษฐกิจอาจจะไม่แน่ใจที่ไม่แน่นอนเข้ามาเกี่ยวข้องให้บันทึกไว้เป็นหลักฐานเกี่ยวกับปัจจัยที่ไม่แน่นอนและระดับของความไม่แน่นอนที่เข้ามาเกี่ยวข้อง

2.5 ข้อสรุปของการประเมินความเสี่ยงของศัตรูพืช (Conclusion of the pest risk assessment stage) ผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชจะทราบว่าเชื้อ *Cmm* เป็นศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงมากน้อยระดับใดที่จะติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากแหล่งที่มีโรคระบาดอยู่ และจะถูก

นำมาพิจารณาเกี่ยวกับการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชให้เหมาะสม อาจเป็นพื้นที่บางส่วนหรือทั้งหมดของพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชก็ได้

ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk management)

กำหนดมาตรการทางเลือกสำหรับการจัดการความเสี่ยงเพื่อลดความเสี่ยงที่ได้จากการประเมินในขั้นตอนที่ 2 ดังนี้

3.1 ระดับความเสี่ยง (Level of risks) ใช้หลักการจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่มีระดับความเหมาะสม ซึ่งสามารถยอมรับได้ (Appropriate level of acceptable; ALOP) หรือระดับความเสี่ยงที่สามารถยอมรับได้ (acceptable)

3.2 ข้อมูลวิชาการประกอบการพิจารณาการจัดการความเสี่ยง โดยดูจากข้อมูลที่รวบรวมได้

3.3 การยอมรับความเสี่ยง (Acceptable of risk) นำผลของการประเมินความเสี่ยงนับตั้งแต่การเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร การแพร่ระบาดและผลกระทบต่อเศรษฐกิจที่แสดงความเสี่ยงว่าไม่สามารถยอมรับได้นั้นมาจัดการจำแนกมาตรการสุขอนามัยพืช เพื่อลดความเสี่ยงลงให้ถึงระดับต่ำสุดที่ยอมรับได้

3.4 จำแนกและคัดเลือกวิธีการที่เหมาะสมที่มีประสิทธิภาพในการลดโอกาสการเข้ามาเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืชที่เหมาะสม ควรให้ผลที่แน่นอนและมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติ อาจใช้มากกว่าสองมาตรการเพื่อลดความเสี่ยงจนถึงระดับที่ยอมรับ

3.5 การรับรองสุขอนามัยพืช (Phytosanitary certificate) โดยการรับรองสุขอนามัยพืชว่าสินค้าปราศจากศัตรูพืชกักกัน ซึ่งกำหนดโดยประเทศผู้นำเข้าและเป็นไปตามข้อกำหนดด้านสุขอนามัยพืชของประเทศนำเข้า เพื่อเป็นการยืนยันว่าได้มีการจัดการความเสี่ยงตามที่กำหนด

3.6 บทสรุปการจัดการความเสี่ยง ผลที่ได้จากขบวนการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช อาจมีมาตรการซึ่งได้รับการพิจารณาแล้วว่าเหมาะสม หรือมีการเลือกวิธีการจัดการความเสี่ยงวิธีหนึ่งหรือหลายวิธีการที่สามารถทำให้ความเสี่ยงของศัตรูพืชลดต่ำจนอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ วิธีการจัดการความเสี่ยงเหล่านี้จะอยู่บนพื้นฐานของกฎระเบียบหรือข้อกำหนดด้านสุขอนามัยพืช

การจัดทำเอกสารการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Documentation of Pest Risk Analysis) เพื่อใช้ประโยชน์เมื่อต้องการทบทวนมาตรการหรือเกิดกรณีโต้แย้ง

4. การสรุปผลและเขียนรายงาน

เวลาและสถานที่

- เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2555 – กันยายน 2558

สถานที่ 1. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการ

เกษตร

2. ด้านตรวจพืชฯ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร
3. โรงเรือนและแปลงปลูกมะเขือเทศของเอกชนหรือเกษตรกร

8. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองย่อยที่ 1 การสำรวจสถานภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis. ในพื้นที่ปลูกมะเขือเทศในประเทศไทย

ดำเนินการสำรวจโดยกำหนดพื้นที่สำรวจโดยเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่สำคัญของประเทศ จำนวน 156 แหล่งปลูก ใน 13 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน แพร่ ตาก นครราชสีมา สระบุรี ขอนแก่น มหาสารคาม กาฬสินธุ์ อุดรธานี สกลนครและลพบุรี วางแผนการสำรวจในพื้นที่อย่างน้อย 20 ไร่ แบ่งพื้นที่ออกเป็น 4 ส่วนๆละประมาณ 5 ไร่ แต่ละส่วนทำการสุ่มสำรวจจำนวน 10 จุดขนาดพื้นที่จุดละ 2x2 เมตร สุ่มตรวจ จุดละ 20 ตัวอย่าง ตรวจแบบตัวอักษร W ซ้าย ตามวิธีของ Delp *et.al.* (1986) ทำการสุ่มตรวจทุกเดือน วิธีการตรวจแบคทีเรีย *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* ในแปลงเมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือการสำรวจที่จัดทำไว้ บันทึกรายละเอียดข้อมูลของแปลง บันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างห่อกระดาษและใส่ถุง นำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

- การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ การตรวจสอบโดยการนำตัวอย่างที่เก็บมาหรือสุ่มใบหรือลำต้นมะเขือเทศที่แสดงอาการคล้ายกับรูปภavnนำมาแยกเชื้อ *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* บนอาหาร คัดเฉพาะโคโลนีที่สงสัยแล้วนำมาตรวจจำแนกชนิด โดยทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี และใช้วิธี Polymerase chain reaction (PCR) ผลการสำรวจแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและได้เก็บตัวอย่างมาจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการผลการตรวจยังไม่พบเชื้อ CMMในประเทศไทย

การทดลองย่อยที่ 2 วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบเชื้อ *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis. ในมะเขือเทศ(2557)

- ดำเนินการทดลองโดยการตรวจสอบเชื้อ *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* ตามวิธีทางด้านชีวโมเลกุล และ ELISA

- ดำเนินการตรวจสอบเชื้อ *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* กับตัวอย่างพืช และเมล็ดพันธุ์

ผลการตรวจไม่พบเชื้อCMM ในประเทศไทย

การทดลองย่อยที่ 3 การศึกษาชนิดศัตรูพืชกักกันของเชื้อ *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ

ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดมะเขือเทศ จากประเทศต่างๆเช่น เกาหลี ซิลี เนเธอร์แลนด์ เปรู ฝรั่งเศส อเมริกา อิสราเอล อินโดนีเซีย อินเดีย จีน เม็กซิโก ญี่ปุ่น แอฟริกาใต้ เป็นต้น

ผลการตรวจสอบเชื้อ *Cmm* จากเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าในเดือนมกราคม 2555-2558 นำตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ เมื่อตรวจด้วยวิธีการ dilution plate บ่มที่อุณหภูมิห้อง และคัดเลือกโคโลนีเชื้อแบคทีเรียที่สงสัยจากตัวอย่างมาตรวจสอบ ตรวจสอบด้วยวิธี ELISA และเทคนิคทางชีวโมเลกุล ผลปรากฏว่า ไม่พบ *Cmm* ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้า และผลการสุ่มตรวจสอบจากแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้า 4 บริษัท ได้แก่ บริษัทมอนซานโต้ ไทยแลนด์ จำกัด บริษัท ซาคะตะ จำกัด บริษัท อัดมีส์ จำกัดและบริษัทซินส์เมล็ดพันธุ์ ในจังหวัดขอนแก่น รวม 10 ตัวอย่าง ไม่พบเชื้อ *Cmm* สาเหตุโรคเช่นกัน

การทดลองย่อยที่ 4 การวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* กับเมล็ดมะเขือเทศ

4.1.การรวบรวมข้อมูลมะเขือเทศและเชื้อ *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

4.1.1 การรวบรวมข้อมูลมะเขือเทศ

มะเขือเทศเป็นพืชในวงศ์ Solanaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lycopersicon esculentum* Mill หรือ *L. lycopersicum* (L.) Karsten ex Farw หรือ *Solanum lycopersicum* เป็นพืชในวงศ์เดียวกับพริก มะเขือเทศ มันฝรั่ง ยาสูบ พิทูเนีย มีถิ่นกำเนิดอยู่ชายฝั่งตะวันตกของทวีปอเมริกาใต้ แถบประเทศเปรู ซิลี และแถบอิกเวเตอร์ เป็นพืชที่ใช้รับประทานผลสด ประกอบอาหาร หรือส่งเข้าโรงงานอุตสาหกรรม เช่น โรงงานทำซอสมะเขือเทศ ซอสในโรงงานผลิตปลากระป๋อง ทำน้ำมะเขือเทศ ผลดิบสีเขียวดองในน้ำเกลือ เป็นต้น

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ เป็นพืชที่มีรากแก้วแต่หากถูกทำลายจะสร้างรากแขนง และรากฝอยขึ้นมาทดแทนเป็นจำนวนมาก เจริญในดินได้ลึกถึง 2-3 ฟุต และเจริญตามแนวนอนได้ถึง 4-5 ฟุต ลำต้นกลม อ่อนเปราะ เมื่อแก่ลำต้นจะแข็งเป็นเหลี่ยม มีกิ่งก้านแขนงสลับกันเป็นจำนวนมาก ใบมีสีเขียวปนเทา เรียว เป็นใบประกอบรูปคล้ายขนนก ใบเจริญสลับกันเป็นใบประกอบ ใบมะเขือเทศ ตั้งแต่ใบที่ 1-7 จะสร้างอาหารสำหรับการเจริญของราก ส่วนอื่นๆ ที่อยู่ใกล้ผลจะสร้างอาหารไปเลี้ยงผลและรากจะชะงักการเจริญเมื่อติดผลชุดแรก ดอกเกิดเป็นช่อบนลำต้นระหว่างซอกมะเขือเทศ ดอกออกเป็นช่อ ช่อดอกเป็นแบบ raceme มีดอกย่อย 4-50 ดอก ดอกมีกลีบเลี้ยง 5-7 กลีบ ซึ่งดอกมี 5 กลีบ เป็นดอกสมบูรณ์เพศโดยปกติก้านชูเกสรตัวเมียสั้นกว่าอับละอองเกสร ดังนั้นมะเขือเทศจะมีอัตราการผสมตัวเองสูง จะผสมข้าม 2-5 เปอร์เซ็นต์ ผลเป็นแบบเดี่ยวมีเนื้ออ่อนนุ่ม เมล็ดมีลักษณะรูปไข่แบน เปลือกหุ้มเมล็ดมีขนาดเล็กๆ ปกคลุมอยู่

การเจริญเติบโต มี 3 ลักษณะคือ 1) แบบทอดยอดหรือการเจริญแบบเลื้อย ทรงพุ่มหลวม ต้นสูงต้องขึ้นค้างให้ผลผลิตช้าเก็บเกี่ยวยาวนาน 2) แบบไม่ทอดยอด ทรงพุ่มแน่นไม่ต้องขึ้นค้าง

ให้ผลผลิตเร็วอายุสั้น มักใช้กับมะเขือเทศส่งโรงงาน 3) กิ่งทอดยอดกิ่งเลื้อย ลำต้นมักสูง อาจขึ้นค้างหรือไม้ก็ได้ ช่วงเวลาเก็บเกี่ยวนานกว่าเจริญเติบโตแบบไม่ทอดยอด

การเก็บเกี่ยว ผลอ่อนมีสีเขียว เริ่มเปลี่ยนเป็นสีชมพูเข้มถึงแดงประมาณ 60-75 วัน หลังปลูก ควรเก็บในระยะที่เริ่มสุกหรือห่าม หรือเมื่อผลเริ่มมีสีชมพู ปัจจุบันมีการปรับปรุงพันธุ์ใหม่ๆ ให้มีรูปร่างแตกต่างกัน เช่น กลม รี สีผลนอกจากชมพูแล้วยังมีสีเหลือง เหลืองอมเขียวแล้วแต่ความต้องการของตลาด

แหล่งปลูก ประเทศไทยมีการปลูกมะเขือเทศที่สำคัญอยู่ทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยปลูกผลิตผลสดเข้าโรงงานหรือผลิตเป็นเมล็ดพันธุ์เพื่อส่งออกต่างประเทศ พื้นที่ปลูกมะเขือเทศมากที่สุดประมาณ 34,600 ไร่ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่จังหวัดหนองคาย สกลนคร และนครพนม ส่วนภาคเหนือมีพื้นที่ปลูกมากที่สุดที่จังหวัดเชียงใหม่ รองลงมาคือ ตาก ลำปาง และเชียงราย และภาคกลางมีพื้นที่ปลูกมากที่สุดที่จังหวัดเพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ และกาญจนบุรี (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2557; สศก., 2557)

ข้อมูลการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากต่างประเทศ

ข้อมูลการนำเข้า ระหว่างปี 2551-2555 ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดมะเขือเทศจากประเทศเกาหลีใต้ จีน ญี่ปุ่น ไต้หวัน เวียดนาม สหรัฐอเมริกา อินเดีย อินโดนีเซีย ฮอลแลนด์ ฟิลิปปินส์ อิสราเอล ฮองกง เปรู ฝรั่งเศส พม่า สเปน (สมาคมการค้าเมล็ดพันธุ์ไทย) (Table 1) โดยในปี 2553-2555 ดังนี้ ปี 2553 มีปริมาณนำเข้า 6,089.28 กิโลกรัม เป็นเงิน 48.06 ล้านบาท ปี 2554 จำนวน 2,925.15 กิโลกรัม เป็นเงิน 22.40 ล้านบาท และปี 2555 จำนวน 4,585.06 กิโลกรัม เป็นเงิน 53.74 ล้านบาท โดยมีบริษัทที่นำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ ได้แก่ มอนซานโต้ ซินเจนทา ซากาตะ และเจียไต่ ทั้งนี้เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากต่างประเทศที่นำเข้ามาล้วนมาจากแหล่งที่พบการแพร่ระบาดของเชื้อ *Cmm*

ข้อมูลปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิเฉลี่ยรายปีของแหล่งปลูกมะเขือเทศ ในประเทศไทยจากข้อมูลของกรมอุตุนิยมวิทยาระหว่างประเทศปี 2553-2557 แบ่งตามจังหวัดที่มีพื้นที่ปลูกมะเขือเทศที่มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากต่างประเทศมาปลูก เพื่อผลิตเป็นเมล็ดพันธุ์ลูกผสมในประเทศไทย (Table3 และ Figure 1-3)

4.1.2 การรวบรวมข้อมูลทั่วไปของเชื้อ *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน

Domain: Bacteria

Class: Actinobacteria

Subclass: Actinobacteridae

Order: Actinomycetales

Suborder: Micrococccineae

Family: Microbacteriaceae

สาเหตุโรค ผลสะเก็ด (Bacterial canker)

ชื่อวิทยาศาสตร์อื่นๆ ของเชื้อ :

Aplanobacter michiganensis (Smith) Smith

Bacterium michiganense Smith

Corynebacterium michiganense (Smith) Jensen

Corynebacterium michiganense pv. *michiganense* (Smith) Dye & Kemp

Corynebacterium michiganense subsp. *michiganense* (Smith) Carlson

&Vidaver

Erwinia michiganensis (=michiganense) (Smith) Jensen

Mycobacterium michiganense (Smith) Krasil'nikov

Phytomonas michiganensis (Smith) Bergey et al.

Pseudomonas michiganense (Smith) Stevens

ชื่อสามัญ

Bacterial canker of tomato (English)

Bird's eye of tomato fruit (English)

Vascular tomato wilt (English)

Marchitamiento bacteriano del tomate (Spanish)

Cancer bacteriano del tomate (Spanish)

Chancre bactérien (French)

Bakterien-Tomate Krebs (Germany)

Cancro batterico (Italy)

พืชอาศัย

เชื้อ *Cmm* มีรายงานพืชอาศัยหลายชนิด ได้แก่ มะเขือเทศ (*S. lycopersicum*) พริก (*Capsicum annuum*) และมะแว้งนก (*S. nigrum*) นอกจากนี้ Stamova และ Sotirova (1987) รายงานว่าสามารถปลูกเชื้อ *C. michiganensis* ด้วยวิธีการแทงเข็มที่จุ่มสารแขวนลอยเซลล์แบคทีเรียที่ความเข้มข้น 10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ลงบนต้นพืชโดยตรง (stem inoculation) กับข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ ข้าวไรย์ ข้าวโอ๊ต ข้าวโพด ถั่ว และทานตะวัน พืชจะแสดงอาการเหี่ยว ลำต้นเป็นแคงเกอร์ และพืชเกิดการเปลี่ยนสี (discoloration) ซึ่งจะปรากฏอาการดังกล่าวบนพืชทดสอบภายหลังการปลูกเชื้อประมาณ 5 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส ในสภาพโรงเรือน เมื่อแยกเชื้อจากพืช และเมื่อนำแบคทีเรียทุกโคโลนีที่มีลักษณะคล้าย *C. michiganensis* ทดสอบบนต้นกล้า

มะเขือเทศสายพันธุ์ Manalucic ที่อ่อนแอต่อโรค พบเชื้อ *C. michiganensis* แต่ไม่มีการระบุ subspecies ของเชื้อ *C. michiganensis*

ข้อมูลประเทศที่มีรายงานการพบเชื้อ *Cmm* โดยแบ่งตามพื้นที่ต่างๆ ในแต่ละภูมิภาค เช่น ทวีปเอเชีย ทวีปแอฟริกา ทวีปอเมริกาเหนือ เขตอเมริกากลางและแคริบเบียน ทวีปอเมริกาใต้ ทวีปยุโรป และเขตโอเชียเนีย (Figure 4) (CABI, 2014)

ลักษณะของเชื้อ *Cmm* เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (gram positive) เซลล์มีลักษณะเป็นแท่งสั้นๆ ปลายด้านหนึ่งโตกว่าอีกด้านหนึ่ง คล้ายกระบอกอาจตรงหรือโค้งเล็กน้อย ขนาดประมาณ 0.6-0.7x1.0-1.2 ไมครอน เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องทดลองจะเจริญช้า เชื้อสามารถเจริญบนอาหาร Nutrient glucose agar หรือ Yeast peptone glucose agar (Lelliott and Stead, 1987) ให้โคโลนีกลม ผิวเรียบเป็นมัน สีเหลืองส้ม บางครั้งอาจมีสีขาว สีชมพู และสีแดง ถ้าเชื้อมีการกลายพันธุ์ (mutant) (Bradbury, 1986) โดยธรรมชาติของเชื้อนี้จะแสดงอาการของโรคใกล้เคียงกับเชื้อ *Verticillium* หรือ *Fusarium* ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว (EPPO, nd.)

อาการ เกิดได้กับมะเขือเทศทุกระยะการเจริญเติบโต ระยะแรกจะสังเกตเห็นใบที่อยู่ส่วนล่าง เฉพาะด้านหรือซีกใดซีกหนึ่งของต้นหรือกิ่งเฉาอ่อนตัวลง ขอบใบม้วนงอขึ้นด้านบน ต่อมาพืชจะมีอาการเหี่ยวและแห้งในที่สุด อาการดังกล่าวจะค่อยๆ ลามจากส่วนล่างของต้นสูงขึ้นมาเรื่อยๆ แต่จะเป็นเพียงด้านหนึ่งหรือซีกหนึ่งของต้นเท่านั้นเหมือนระยะเริ่มแรก เมื่อพืชเริ่มอาการเหี่ยวขึ้น หากพิจารณาอย่างใกล้ชิดจะพบว่าบริเวณรอยต่อระหว่างก้านใบที่เกี่ยวกับกิ่งหรือต้นเกิดเป็นแผลขีดเส้นยาวสีซีดขึ้น ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีดำแล้วแตกออกเป็นแผลสะเก็ดยาวๆ ก้านของใบหรือกิ่งที่แสดงอาการเหล่านี้หากนำมาตัดหรือผ่าออกดูจะพบว่าส่วนที่เป็นท่ออาหารจะมีสีคล้ำ เมื่อปล่อยให้แห้งสักครู่จะมีเมือกสีเหลืองของเชื้อแบคทีเรียไหลเยิ้มออกมา อาการระยะสุดท้ายคือต้นมะเขือเทศจะหยุดการเจริญเติบโต ใบส่วนที่เหี่ยวจะหดย่นแล้วแห้งตาย หากเชื้อเข้าทำลายแขนงอ่อนที่เพิ่งแตกออก จะมีผลทำให้ความยาวระหว่างข้อของกิ่งหรือก้านของแขนงดังกล่าวหดสั้น อ้วนหนาขึ้นกว่าปกติ และหากการทำลายเกิดขึ้นในระยะที่ต้นโตเต็มที่แล้วบางครั้งอาจไม่แสดงอาการเหี่ยว แต่จะเกิดอาการแห้งตายของใบขึ้นแทน โดยเริ่มจากขอบใบที่อยู่ส่วนบนๆ ของต้นลงมา แล้วค่อยกระจายออกไปทั่วทั้งต้นทำให้พืชตายในที่สุด หากเกิดโรคหลังจากที่มะเขือเทศออกผลแล้ว อาการอาจไปแสดงให้เห็นที่ผล ถ้าเป็นผลอ่อนจะขาวซีด ต่อมาจะแห้งแล้วร่วงหลุดจากต้น สำหรับผลที่โตแต่ยังไม่สุกจะเกิดแผลสะเก็ดนูนสูงขึ้นมาจากผิวเล็กน้อย ส่วนใหญ่จะมีขนาดประมาณ 2-3 มิลลิเมตร ตรงกลางแผลจะแตกเป็นสีน้ำตาลลักษณะชรุชระ บริเวณรอบๆ แผลจะมีขอบสีขาวล้อมอยู่โดยรอบลักษณะคล้ายตานก (bird's eye) หากเกิดโรคนี้นี้ขึ้นที่ผล เชื้อแบคทีเรียจะไปอาศัยเคลือบเกาะติดอยู่ที่ผิวนอกและใต้เปลือกของเมล็ดเพื่ออยู่ข้ามฤดูและแพร่ระบาดต่อไป (ศักดิ์, 2537; CABI, 2014) ทั้งนี้อาการที่ปรากฏบนพืชนั้นยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ อีก เช่น อายุพืช สายพันธุ์พืช และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค เป็นต้น (Gleason *et al.*, 1993; Strider, 1969) (Figure 5-6)

มาตรการสุขอนามัยพีช มีการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพีชสำหรับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศอย่างใดอย่างหนึ่งหรือหลายวิธีร่วมกัน เช่น

- มีการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศว่าปลอดจากเชื้อ *Cmm*
- การแช่เมล็ดลงในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 นาที (NPPO, 2013)
- การนำเมล็ดที่งอมร้อน (Dry heat) ที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Miller and Ivey, 2005)
- การแช่เมล็ดใน 5 เปอร์เซ็นต์ Hydrochloric acid (HCl) หรือ 0.05 เปอร์เซ็นต์ *o*-phenylphenol เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นจึงล้างออกด้วยน้ำเปล่า เป็นการกำจัดเชื้อ *Cmm* ที่ติดมากับเมล็ดจากการเข้าทำลายในสภาพธรรมชาติ (NPPO, 2013)

- การประยุกต์ใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยาในการตรวจสอบ เช่น เทคนิค Real time-polymerase chain reaction (RT-PCR) ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความจำเพาะเจาะจงไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น โอกาสในการปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นต่ำ มีความไวในการตรวจสอบที่ระดับ 10 CFU หรือเมล็ดที่มีการปนเปื้อนของเชื้อเพียง 1 เปอร์เซ็นต์ ก็สามารถตรวจสอบได้ ไม่จำเป็นต้องมีการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อ ประหยัดค่าใช้จ่ายและเวลา จึงนำมาใช้ในการตรวจสอบเชื้อ *Cmm* ที่ติดมากับเมล็ดของมะเขือเทศในประเทศจีน (Zhao *et al.*, 2007)

4.2 การสุ่มตรวจสอบเชื้อ *Cmm* จากเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากต่างประเทศ

ในปี 2555-2556 ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดมะเขือเทศจาก 14 ประเทศ โดยพบว่ามีการนำเข้าจากประเทศที่มีรายงานการพบเชื้อ *Cmm* เช่น เกาหลี ซิลี เนเธอร์แลนด์ เปรู ฝรั่งเศส อเมริกาอิสราเอล อินโดนีเซีย อินเดีย จีน เม็กซิโก ญี่ปุ่น แอฟริกาใต้ (กลุ่มงานศัตรูพืชกักกัน, 2557; CABI, 2014) (Table 1)

ผลการตรวจสอบเชื้อ *Cmm* จากการสุ่มเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่มีการนำเข้าจากต่างประเทศในช่วงเดือนมกราคม 2557- กรกฎาคม 2557 จาก 10 บริษัท จำนวน 25 ครั้ง น้ำหนักรวม 416.7768 กก. จำนวน 65 ตัวอย่าง จาก 12 ประเทศ ได้แก่ เกาหลี จีน ซิลี ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ เปรู ฝรั่งเศส ฟิลิปปินส์ ไทย (ส่งกลับ) เม็กซิโก สหรัฐอเมริกา และอินเดีย (Table 2) โดยตรวจสอบเมล็ดมะเขือเทศนำเข้าจากประเทศต่างๆ ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธีการ dilution plate บ่มที่อุณหภูมิห้อง และคัดเลือกโคโลนีเชื้อแบคทีเรียที่สงสัยจากตัวอย่างมาตรวจสอบ ซึ่งผลการตรวจสอบไม่พบเชื้อ *Cmm* ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้า และผลการสุ่มตรวจสอบจากแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าจาก 4 บริษัท ได้แก่ บริษัทมอนซานโต้ บริษัทซาคะตะ บริษัทออดัมส์ และบริษัทซินส์เมล็ดพันธุ์ ในจังหวัดขอนแก่นรวม 10 ตัวอย่าง ไม่พบเชื้อ *Cmm* เช่นกัน

4.3. ผลการศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Risk Assessment)

ขั้นตอนที่ 1: การเริ่มขบวนการวิเคราะห์ (Initiation)

เริ่มจากมีรายงานแจ้งจากประเทศฝรั่งเศสว่ามีการตรวจพบเชื้อ *Cmm* จากเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าจากประเทศไทย ซึ่งเชื่อนี้ถูกประกาศให้เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยตามประกาศ

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ที่มาจากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในเบื้องต้นเท่านั้น โดยพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยง ได้แก่ ประเทศไทย เนื่องจากประเทศไทยเป็นแหล่งปลูกมะเขือเทศที่ปลูกกระจายทั่วทุกภูมิภาค (ศูนย์สารสนเทศการผลิตทางการเกษตร, 2557) เพื่อการค้า การบริโภค และตามวัฒนธรรมที่จะปลูกพืชผักสวนครัวในแหล่งที่อยู่อาศัยของตนเอง และเชื่อกันว่ามีข้อมูลทางชีววิทยาที่สามารถเจริญเติบโตได้หลายภูมิภาค รวมทั้งในภูมิภาคเอเชีย ซึ่งเชื่อกันได้ผ่านการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในเบื้องต้นเพื่อประกาศเป็นศัตรูพืชด้วยกัน ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่ต้องยืนยันสถานภาพของเชื้อ *Cmm* ในประเทศไทย โดยมีข้อมูลทางวิชาการที่สนับสนุนถึงความเสี่ยงที่เชื้อจะมีโอกาสติดเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร แพร่ระบาดทำความเสียหาย และส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจทั้งทางตรงและทางอ้อมจากเชื้อนี้ ตามหลักการประกาศเป็นศัตรูพืชด้วยกัน และมีมะเขือเทศเป็นเส้นทางศัตรูพืชได้ด้วย

ขั้นตอนที่ 2: การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk assessment)

2.1 การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) โดยพิจารณาจาก

2.1.1 การจัดจำแนกชนิด (Identify) และชีววิทยาของเชื้อ

1) อนุกรมวิธานของเชื้อ *Cmm* มีชื่อเริ่มแรกว่า Bacterium เป็นสาเหตุของโรคเหี่ยว (Bacterial wilt) และโรคแคงเกอร์ (Canker) ต่อมามีการเปลี่ยนชื่ออีกหลายชื่อ Davis และคณะ (1984) กำหนดให้ในจีนัส *Clavibacter* ประกอบด้วย *C. michiganensis* และอื่นๆ อีก 4 ชนิด หลังจากนั้นมีการจัดจำแนกเชื้อทั้ง 4 ชนิด ใหม่พบว่า *C. michiganensis* คือ *michiganense* จากการศึกษาข้อมูลลักษณะของเชื้อ (phenotypic) การทดสอบทางชีวเคมี เครื่องหมายโมเลกุลและความเฉพาะเจาะจงของพีชอาคัย (Saddler and Kerr, 2012; Smith, 1910) นอกจากนี้สามารถจัดแบ่งเชื้อ *C. michiganensis* ออกเป็น 6 subspecies โดยทุก subspecies ของเชื้อ *C. michiganensis* ที่เข้าทำลายมะเขือเทศจะจัดอยู่ในกลุ่ม subspecies *michiganensis* โดย Yim และคณะ (2012) พบว่าเชื้อ *Cmm* ที่เข้าทำลายพริกจะแตกต่างจากชนิดที่เข้าทำลายมะเขือเทศ เมื่อใช้ลักษณะรูปร่างทางสัณฐานวิทยาของโคโลนี การก่อโรค และลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16s rRNA และ ITS (Internal transcribed spacer) ของเชื้อในการจัดจำแนกชนิด

เชื่อนี้มีชื่อที่เรียกกันในปัจจุบันคือ *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

2) วงจรชีวิตของโรค

- แหล่งที่มาของเชื้อ คือ เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่มีเชื้อ *Cmm* (Strider, 1969; Fatmi et al., 1988; EPPO, 2013a) และต้นอ่อนที่ปนเปื้อนเชื้อ *Cmm* ขณะที่ย้ายปลูก (Ricker and Riedel, 1993) โดยปริมาณเชื้อ *Cmm* ในสภาพธรรมชาติที่สามารถเข้าทำลายเมล็ดพันธุ์ได้คือที่ 10^2 - 10^4 จำนวนโคโลนีต่อกรัม (เมล็ด) (Colony forming unite/กรัม, CFU/กรัม) (Fatmi and Schaad, 1988; Hadas et al., 2005) และสามารถถ่ายทอดโรคได้ที่ 10^2 จำนวนโคโลนีต่อกรัม (เมล็ด) (Kaneshiro, 2003) และยังพบว่าเมล็ดที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *Cmm* ที่อัตรา 0.01 เปอร์เซ็นต์ เพียง

พอที่จะก่อให้เกิดการแพร่ระบาดของเชื้อ *Cmm* ในสภาพแปลงปลูกได้ (Chang *et al.*, 1991; Gitaitis *et al.*, 1991) เชื้อจะมีชีวิตรอดอยู่ในเมล็ดได้เป็นเวลานาน (Strider, 1969) ส่วนการมีชีวิตรอดในเศษซากพืชในดินขึ้นกับชนิดของดิน (Moffett and Wood, 1984) แต่จะอยู่ได้ถึง 2 ปี ในเศษซากพืชที่อยู่บริเวณผิวดิน (Gleason *et al.*, 1991) โดยปัจจัยของสภาพแวดล้อมและระบบการจัดการในการปลูกจะมีผลต่อแหล่งของเชื้อ *Cmm* โดยตรง (Figure 7-8)

- **การเข้าทำลาย** เชื้อสามารถเข้าทำลายส่วนของผล ใบ ลำต้น เมล็ด และส่วนอื่นๆ ทั่วทั้งต้น เชื้อจะเข้าไปภายในพืชได้ดีโดยผ่านทางแผลที่ใบเลี้ยง ใบ กิ่งก้าน ต้นหรือช่องเปิดธรรมชาติ เช่น ปากใบ หรือบริเวณรากขนอ่อนที่มีรอยแตก (Kontaxis, 1962; Layne, 1967) ผลจากการพรุนดิน (Carlton *et al.*, 1994) จากนั้นเชื้อ *Cmm* จะเข้าไปเจริญในท่อส่งน้ำในลำต้นและเพิ่มปริมาณเชื้อ ทำให้เกิดการอุดตันของท่อส่งน้ำในลำต้น เชื้อจะเคลื่อนที่จากท่อลำเลียงน้ำเข้าสู่ผนังรังไข่หรือส่วนของดอกทำให้เชื้อสามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดได้ (Medina-Mora *et al.*, 2001; Tancos *et al.*, 2013) นอกจากนี้เชื้อมีการสร้างสารพิษ (toxic lycopenptide) ทำให้พืชแสดงอาการผิดปกติ (Miura *et al.*, 1986) ช่วงระยะเวลาระหว่างที่เชื้อเข้าทำลายจนกระทั่งพืชแสดงอาการใช้เวลาประมาณ 7- 84 วัน โดยขึ้นกับปัจจัยต่างๆ เช่น อายุพืช ระยะการเจริญเติบโตของพืช อุณหภูมิ ลักษณะของดินและสารอาหารของพืช (Gleason *et al.*, 1993) พืชจะแสดงอาการเมื่อปริมาณเชื้อมากกว่า 10^7 CFU/ เมล็ด (Chang *et al.*, 1992) นอกจากนี้ช่วงเวลาก่อนการพักตัวของเชื้อก่อนจะแสดงอาการโรคอาจใช้เวลานานขึ้น ถ้าเมล็ดเป็นสายพันธุ์ที่มีความต้านทาน เชื้อมีปริมาณน้อยและอุณหภูมิไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ แต่ถ้าสภาพต่างๆ เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อก็จะเพิ่มความรุนแรงของโรคมมากขึ้น (Gleason *et al.*, 1993)

- **อาการโรค** อาการโรคที่เกิดจากเชื้อ *Cmm* บนพืชอาศัยจะปรากฏได้ 2 ลักษณะ ขึ้นกับการเข้าทำลายนั้นเป็นแบบเข้าทำลายทุกส่วนของพืชหรือเข้าทำลายเฉพาะบางส่วนของพืชในบางครั้งจะมีความสับสนของโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Cmm* หรือเชื้อ *Ralstonia solanacearum*, *Fusarium* spp หรือ *Verticillium* spp. จะพบอาการของโรคได้ทุกระยะการเจริญเติบโต โดยระยะแรกจะสังเกตเห็นใบที่อยู่ส่วนล่างๆ เฉพาะด้านหรือซีกใดซีกหนึ่งของต้นหรือกิ่งเฉาอ่อนตัวลง ขอบใบม้วนงอขึ้นด้านบน ติดตามด้วยอาการเหี่ยวแล้วแห้ง อาการดังกล่าวจะค่อยๆ ลามจากส่วนล่างของต้นสูงขึ้นมาเรื่อยๆ แต่ก็จะเป็นเพียงด้านหนึ่งหรือซีกหนึ่งของต้นเท่านั้น หากพิจารณาอย่างใกล้ชิดจะพบว่าบริเวณรอยต่อระหว่างก้านใบที่เกี่ยวกับกิ่งหรือต้นจะเกิดเป็นแผลขีดทางยาวสีซีดขึ้น และต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีดำแล้วแตกออกเป็นแผลสะเก็ดยาวๆ ก้านของใบหรือกิ่งที่แสดงอาการเหล่านี้ หากนำมาตัดหรือผ่าออกดูจะพบว่าส่วนที่เป็นท่อส่งอาหารมีสีคล้ำ เมื่อปล่อยให้แห้งแล้วจะมีเมือกสีเหลืองของเชื้อแบคทีเรียไหลเยิ้มออกมา อาการระยะสุดท้ายคือต้นมะเขือเทศจะหยุดการเจริญเติบโต ใบส่วนที่เหี่ยวจะหดย่นแล้วแห้งตาย หากเชื้อเข้าทำลายแขนงอ่อนที่เพิ่งแตกออกมาจะมีผลทำให้ความยาวระหว่างข้อของกิ่งหรือก้านของแขนงดังกล่าวหดสั้น อ้วนหนาขึ้นกว่าปกติ และหากการทำลายเกิดขึ้นในระยะที่ต้นโตเต็มที่แล้วบางครั้งอาจไม่แสดงอาการเหี่ยว แต่จะเกิดอาการแห้งตายของใบขึ้น

แทน โดยเริ่มจากขอบใบที่อยู่ส่วนบนๆ ของต้นลงมา แล้วจึงกระจายออกไปทั่วทั้งต้นทำให้พืชตายในที่สุด หากเกิดโรคหลังจากที่มะเขือเทศออกผลแล้วอาการอาจไปแสดงให้เห็นที่ผลด้วยคือถ้าเป็นผลอ่อนจะมีสีขาวซีด ต่อมาจะแห้งแล้วร่วงหลุดจากต้น สำหรับผลที่โตแต่ยังไม่สุกจะเกิดแผลสะเก็ดนูนสูงขึ้นมาจากผิวเล็กน้อย ส่วนใหญ่จะมีขนาดประมาณ 2-3 มิลลิเมตร ตรงกลางแผลจะแตกเป็นสีน้ำตาล ลักษณะขรุขระ ที่สังเกตได้ชัดเจนคือรอบๆ แผลจะมีขอบสีขาวล้อมอยู่โดยรอบ ลักษณะคล้ายตานก (Bird's eye) ในกรณีที่เกิดโรคนี้นั้นที่ผลเชื้อแบคทีเรียจะไปอาศัยเคลือบเกาะติดอยู่ทั้งที่ผิวนอกและใต้เปลือกของเมล็ด เพื่ออยู่ข้ามฤดูและแพร่ระบาดต่อไป (ศักดิ์, 2537; CABi, 2014) ทั้งนี้อาการที่ปรากฏบนพืชยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ อีก เช่น อายุพืช สายพันธุ์พืช และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค เป็นต้น (Gleason *et al.*, 1993; Strider 1969) เชื้อจะเข้าทำลายพืชในระยะเมล็ดงอก ระยะออกดอก ระยะติดผล และระยะให้ผลผลิต โดยส่วนของพืชที่เชื้อเข้าทำลาย คือ ส่วนผล ส่วนใบ ส่วนลำต้น เมล็ด และส่วนอื่นๆ ทั่วทั้งลำต้น เชื้อจะเข้าไปสู่ภายในพืชได้ดี โดยผ่านทางแผลที่ต้น ใบ กิ่ง-ก้าน หรือ cotyledon หรือช่องเปิดธรรมชาติ เช่น ปากใบ หรือบริเวณราก จากนั้นก็จะเข้าไปอยู่ในท่อส่งน้ำในลำต้นแล้วเจริญเติบโต ก่อให้เกิดการทำลายและอุดตันท่อส่งน้ำในลำต้นดังกล่าว นอกจากนี้เชื้อมีการสร้างสารพิษ (toxic lyclopeptide) ซึ่งทั้งหมดนี้จะเป็นสาเหตุที่ส่งผลให้พืชแสดงอาการของโรคขึ้นในที่สุด (Miura *et al.*, 1986)

3) การตรวจสอบและจำแนกชนิด เชื้อ *Cmm* เป็นเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่เป็นแกรมบวก (gram's positive) เซลล์มีลักษณะเป็นแท่งสั้นๆ ปลายด้านหนึ่งโตกว่าอีกด้านหนึ่ง คล้ายกระบอกอาจตรงหรือโค้งเล็กน้อย ขนาดประมาณ 0.6-0.7x1.0-1.2 ไมครอน เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องทดลองจะเจริญอย่างช้าๆ เชื้อสามารถเจริญบนอาหาร Nutrient glucose agar หรือ Yeast peptone glucose agar (Lelliott and Stead, 1987) ให้โคโลนีกลม ผิวเรียบเป็นมัน สีเหลืองส้ม บางครั้งอาจมีสีขาว สีมชมพู และสีแดงถ้าเชื้อมีการกลายพันธุ์ (mutant) (Bradbury, 1986) โดยธรรมชาติของเชื้อนี้จะมีลักษณะใกล้เคียงกับเชื้อ *Verticillium* หรือ *Fusarium* ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว (EPPO, n.d.)

วิธีการตรวจสอบ เชื้อ *Cmm* จากตัวอย่างเมล็ดพืช ดังนี้

1. การใช้อาหารกึ่งคัดเลือก (semi selective media) สำหรับแยกเชื้อที่ได้จากการแยกสกัดจากเมล็ด โดยปกติวิธีการนี้มีความไว (sensitivity) ในการตรวจสอบไม่เพียงพอ เพราะเชื้อชนิดอื่นที่แฝงอยู่ (saprophyte) จะเจริญได้เร็วกว่าจึงยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Cmm* (Fatmi and Schaad, 1988; Shirakawa and Sasaki, 1988) จึงมีการพัฒนาอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดใหม่ชื่อ bud-containing tissue (BCT) ที่สามารถคัดแยกเชื้อได้ภายใน 7 วัน โดยอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้สามารถใช้ในการตรวจสอบเชื้อจากเมล็ดพืชและพืชที่แสดงอาการเพียงเล็กน้อยได้ (Radwan *et al.*, 2011)

2. เทคนิคทางเซรุ่มวิทยามีความจำเป็นต้องใช้แอนติบอดีที่มีความจำเพาะเจาะจงของเชื้อเพียงพอสำหรับใช้ตรวจสอบเชื้อ *Cmm* (Rat, 1984)

3. เทคนิคทางอณูชีววิทยา เป็นเทคนิคที่มีความจำเพาะเจาะจง รวดเร็วในการตรวจสอบ แต่มีค่าใช้จ่ายสูงและบางเทคนิคต้องใช้เวลาในการตรวจสอบ โดยเทคนิคใหม่ๆ ที่มีรายงานและเป็นที่ยอมรับในการใช้ตรวจสอบ เช่น Fatty acid profile (Gitaitis and Beaver, 1990), molecular hybridization (Thompson *et al.*, 1989) Bio-PCR (Burokiene, 2006) และ protein profiles (Bruyne *et al.*, 1987) เป็นต้น

2.1.2 การแพร่ระบาดของเชื้อในปัจจุบัน

การแพร่กระจายในระดับโลก พบว่าเชื้อ *Cmm* มีการแพร่กระจายหลายแหล่งทั่วโลก (Figure 4) (CABI, 2014) ดังนี้

- ทวีปเอเชีย ได้แก่ อาเซอร์ไบจาน อาร์เมเนีย จีน อินเดีย อินโดนีเซีย (เมืองจาวา และสุมาตรา (Aprizalzain, 2008)) อิหร่าน ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ในเมืองชวอน (Cheorwon) และเมืองอิกซาน(Iksan) (Myung and Kim, 2008)) เลบานอน ซีเรีย ตุรกี และอุซเบกิสถาน
- ทวีปแอฟริกา ได้แก่ อียิปต์ เคนยา มาดากัสการ์ โมร็อกโก แอฟริกาใต้ สเปน ตูนิเซีย ยูกันดา แซมเบีย และซิมบับเว
- ทวีปอเมริกาเหนือ ได้แก่ แคนาดา เม็กซิโก และสหรัฐอเมริกา
- เขตอเมริกากลางและแคริบเบียน ได้แก่ เบลีซ คอสตาริกา คิวบา โดมินิกา เกรนาดา กัวเตมาลา และปานามา
- ทวีปอเมริกาใต้ ได้แก่ อาร์เจนตินา บราซิล ชิลี โคลอมเบีย เอกวาดอร์ เปรู และอุรุกวัย
- ทวีปยุโรป ได้แก่ ออสเตรีย เบลารุส บัลแกเรีย ไชปรัส สาธารณรัฐเช็ก ฝรั่งเศส เยอรมนี กรีซ ฮังการี ไอร์แลนด์ ไอร์แลนด์ อิตาลี ลิทัวเนีย เนเธอร์แลนด์ นอร์เวย์ โปแลนด์ โปรตุเกส โรมาเนีย รัสเซีย เซอร์เบีย สโลวีเนีย สเปน สวิตเซอร์แลนด์ ยูเครน และยูโกสลาเวีย

2.1.3 การปรากฏหรือไม่ปรากฏในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยง

ประเทศไทยเป็นพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยง ที่มีพื้นที่ที่เป็นอันตรายคือแหล่งพืชอาศัยที่สำคัญของเชื้อ เช่น มะเขือเทศ ซึ่งประเทศไทยเป็นแหล่งปลูกมะเขือเทศผลสดและผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมที่ใหญ่ในกลุ่มประเทศอาเซียนและมีการเพาะปลูกพืชในวงศ์โซลานาซีอี (Solanaceae) อื่นๆ เช่น พริก มะเขือ มะแว้งนก เป็นผักสวนครัวกระจายทั่วทุกภูมิภาคของประเทศที่เป็นพืชอาศัยของเชื้อนี้ พบว่ายังไม่เคยมีรายงานการปรากฏพบเชื้อนี้ในประเทศไทย

2.1.4 การควบคุมทางกฎระเบียบ

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้ออกประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 โดย

กำหนดให้ศัตรูพืชชนิดแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* เป็นสิ่งต้องห้าม และประกาศให้มะเขือเทศ ซึ่งเป็นพืชอาศัยหลักของเชื้อ *Cmm* จัดเป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชและพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 ที่กำหนดให้ส่วนหนึ่ง ส่วนใดของพืชในวงศ์โซลานาซีอี (Solanaceae) (ไม่รวมถึง บุหรี่ ยาเส้น ชิการ์) เป็นสิ่งต้องห้าม การนำเข้าพืชในวงศ์นี้ต้องผ่านการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชก่อนการนำเข้าและการนำเข้าต้องปฏิบัติตามที่อธิบดีกรมวิชาการเกษตรกำหนด ปัจจุบันการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พืชในวงศ์นี้ยังไม่มีมาตรการพิเศษทางสุขอนามัยพืชใดๆ กำกับ แม้จะมาจากแหล่งที่มีรายงานของเชื้อนี้แพร่ระบาดก็ตาม

การควบคุมเชื้อ *Cmm* ของต่างประเทศ เช่น ประเทศสมาชิกของสหภาพยุโรป (EU) ได้แก่ ออสเตรีย เบลเยียม บัลแกเรีย โครเอเชีย ไชปรัส สาธารณรัฐเช็ก เดนมาร์ก เอสโตเนีย ฟินแลนด์ ฝรั่งเศส เยอรมนี กรีซ ฮังการี ไอร์แลนด์ อิตาลี ลัตเวีย ลิทัวเนีย ลักเซมเบิร์ก มอลตา เนเธอร์แลนด์ โปแลนด์ โปรตุเกส โรมาเนีย สโลวาเกีย สโลวีเนีย สเปน สวีเดน และสหราชอาณาจักร จัดให้เชื้อ *Cmm* เป็นศัตรูพืชกักกัน (A2 quarantine pest) กำหนดให้การนำเข้าเมล็ดพันธุ์ต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชและใบอนุญาตนำเข้า โดยเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่จะนำเข้าจากต่างประเทศ จะต้องมาจากประเทศที่มีการสำรวจ ตรวจสอบ ติดตามขบวนการผลิตเมล็ดพันธุ์ รับรองการปลอดจากการแพร่กระจายของเชื้อ *Cmm* ในแหล่งปลูก และมีการสุ่มตรวจสอบเชื้อตลอดฤดูกาลปลูกพืช

ประเทศจีน กำหนดให้การนำเข้าเมล็ดพันธุ์ต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชและใบอนุญาตนำเข้าและเมล็ดพันธุ์ทั้งหมดต้องปราศจากเมล็ด *Brassica* spp. และรับรองว่าปราศจากเชื้อ *Cmm* (Ministry for Primary Industries, n.d.)

นอกจากนี้ประเทศที่ประกาศว่าเชื้อ *Cmm* เป็นศัตรูพืชกักกัน เช่น ซีเรีย (Radwan *et al.*, 2011) เวียดนาม (Minister of Agriculture and Rural Development, 2005) สำหรับ European Plant Protection Organization (EPPO), Asia and Pacific Plant Protection Commission (APPPC), The Caribbean Plant Protection Commission (CPPC) และ The Inter-African Phytosanitary Council (IAPSC) พิจารณาให้เชื้อนี้เป็นเชื้อศัตรูพืชกักกันประเภท A2 คือ พบว่าเป็นศัตรูพืชกักกันในบางพื้นที่ (Present in some parts of the region) (Leandro *et al.*, 2011)

สรุปได้ว่าการจัดประเภทศัตรูพืชนั้น เชื้อ *Cmm* เป็นสาเหตุโรคพืชที่มีวงจรชีวิตที่เข้าทำลายพืชในวงศ์ Solanaceae และมีชีวิตอยู่รอดในเมล็ดได้ โดยที่ประเทศไทยซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีความเสี่ยงไม่เคยมีปรากฏเชื่อนี้มาก่อน และยังมีภาวะเปราะบางในการควบคุมโดยประกาศเป็นศัตรูพืชกักกันเช่นเดียวกับหลายๆ ประเทศ แต่จำเป็นต้องศึกษาศักยภาพการคงเป็นศัตรูพืชกักกันต่อไปหรือไม่

2.2 ศักยภาพที่เชื้อ *Cmm* จะเข้ามาตั้งรกรากและแพร่กระจายในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยง

2.2.1 ศักยภาพการเข้ามาเชื้อ *Cmm* เป็นโรคเมล็ดพันธุ์และสามารถถ่ายทอดทาง

เมล็ดพันธุ์ได้ โดยเชื้อจะอาศัยอยู่ภายใต้เปลือกของเมล็ด (CABI, 2014) ปริมาณเชื้อ *Cmm* ในสภาพธรรมชาติที่สามารถเข้าทำลายเมล็ดพันธุ์ได้คือ 10^2 - 10^4 CFU/เมล็ด (Fatmi and Schaad, 1988; Hadas *et al.*, 2005) และสามารถถ่ายทอดโรคได้ที่ 10^2 CFU/เมล็ด (Kaneshiro, 2003) และยังพบว่าเมล็ดที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *Cmm* ที่ อัตรา 0.01 เปอร์เซ็นต์ ก็เป็นปริมาณที่เพียงพอในการแพร่กระจายเชื้อสาเหตุโรคในแปลงปลูกได้ ซึ่งระดับการเกิดโรคจากเมล็ดที่มีเชื้อจะผันแปรไปตั้งแต่ 1 เปอร์เซ็นต์ 24-53 เปอร์เซ็นต์ 80-90 เปอร์เซ็นต์ โดยขึ้นอยู่กับสัดส่วนของเมล็ดที่ติดเชื้อในแต่ละภาค (batch) และสภาพในการเก็บรักษาเมล็ด (Chang *et al.*, 1991; Gitaitis *et al.*, 1991) เชื้อ *Cmm* สามารถถ่ายทอดโรคผ่านทางเมล็ดได้ตั้งแต่ 1-97 เปอร์เซ็นต์ โดยความผันแปรของการถ่ายทอดโรคผ่านทางเมล็ดนั้น อาจเกิดจากอายุของเมล็ดที่เก็บและสภาพของการเก็บเมล็ด พบว่าการเก็บเมล็ดที่อุณหภูมิห้องจะทำให้การถ่ายทอดโรคทางเมล็ดลดลงไปจากเมล็ดที่ถูกเชื้อเข้าทำลายในสภาพธรรมชาติ 82 เปอร์เซ็นต์ เป็น 4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บเมล็ดเป็นเวลา 18 เดือน ถ้าเก็บถึง 2 ปี พบว่า เปอร์เซ็นต์การถ่ายทอดโรคทางเมล็ดจะลดลงเป็น 0 เปอร์เซ็นต์ ถ้าเก็บเมล็ดที่ 4 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพโรงเก็บทั่วไปจะทำให้เชื้อที่ติดมากับเมล็ดเสื่อมลงได้ตั้งแต่ 100 เปอร์เซ็นต์ ถึง 5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บนาน 3 ปี 6 เดือน จึงเป็นเหตุผลว่าในบางครั้งไม่มีการถ่ายทอดโรคผ่านทางเมล็ดหรือมีเปอร์เซ็นต์การถ่ายทอดโรคเพียงเล็กน้อย (Chang *et al.*, 1991; Gitaitis *et al.*, 1991; Dhanvantari, 1993) เชื้อสามารถถ่ายทอดผ่านทางส่วนอื่นๆ ของพืชที่เชื้อเข้าทำลายและเศษซากพืชได้ วงจรชีวิตของเชื้อ *Cmm* สำหรับประเทศไทยซึ่งเป็นพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชนั้น พบว่ามีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากแหล่งที่มีการแพร่ระบาดของเชื้อ *Cmm* เช่น จีน ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา อิตาลี เป็นต้น (Table 1) ซึ่งโรคนี้อาจเป็นโรคเมล็ดพันธุ์ที่รุนแรง โดยเชื้อสามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าและถ่ายทอดโรคสู่เมล็ดพันธุ์ได้อีกด้วย เมื่อมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ทางเครื่องบินหรือทางไปรษณีย์ ซึ่งจะถูกจัดเก็บในสภาพห้องเย็น ที่มีอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส จึงคงสภาพความมีชีวิตของเชื้อในเมล็ดพันธุ์ได้ และใช้เวลาเดินทางเพียง 24 ชั่วโมง ก็สามารถเข้ามาถึงจุดนำเข้า ซึ่งไม่สามารถสังเกตเชื้อ *Cmm* ได้ด้วยตาเปล่า และมีการนำเข้าหลายครั้ง เฉพาะเดือนมกราคมปี 2557 มีการนำเข้าถึง 17 ครั้ง จาก 9 ประเทศ โอกาสที่เชื้อจะเข้ามาได้สูง ตัวอย่างที่สุ่มตรวจสอบไม่พบเชื้อนี้

2.2.2 ศักยภาพการตั้งรกราก

ลักษณะภูมิประเทศ ประเทศไทยตั้งอยู่ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ในบริเวณที่เรียกว่า “คาบสมุทรอินโดจีน” ซึ่งเป็นดินแดนที่เชื่อมระหว่างกลางของอินเดียทางตะวันตกและจีนทางตะวันออก ประเทศไทยอยู่ติดกับทะเล 2 ฝั่ง คือ ฝั่งอ่าวไทยและฝั่งทะเลอันดามัน เมื่อพิจารณาเกี่ยวกับทำเลที่ตั้งของประเทศไทย จะพบว่าประเทศไทยมีพรมแดนทางทิศตะวันตกติดประเทศลาว และกัมพูชา ทิศใต้ติดประเทศมาเลเซีย ทิศตะวันตกติดประเทศเมียนมาร์ และทิศเหนือติดกับประเทศเมียนมาร์และประเทศลาว (ก.พ., มปป.)

ประเทศไทยมีพื้นที่ประมาณ 513,120 ตารางกิโลเมตร หรือประมาณ 320.7 ล้านไร่

เป็นพื้นดิน 510,890 ตารางกิโลเมตร เป็นพื้นน้ำ 2,230 ตารางกิโลเมตร มีเนื้อที่มากเป็นอันดับ 51 ของโลก เป็นพื้นที่การเกษตรจำนวน 122.2 ล้านไร่ คิดเป็นร้อยละ 38.2 ของพื้นที่ทั้งประเทศ โดยภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีพื้นที่ทางการเกษตร 57.7 ล้านไร่ หรือประมาณร้อยละ 44 ของพื้นที่การเกษตรทั้งประเทศ ซึ่งเป็นภาคที่มีพื้นที่การเพาะปลูกมากที่สุดของประเทศไทย ส่วนใหญ่ปลูกข้าวและพืชไร่ เช่น มันสำปะหลัง อ้อย ข้าวโพด (ก.พ., มปป.; อนันต์, มปป.) สำหรับพืชผักที่สำคัญ เช่น หอม กระเทียม ข้าวโพดฝักอ่อน หน่อไม้ฝรั่ง มันฝรั่ง มะเขือเทศ และพริก เป็นต้น

ลักษณะภูมิอากาศ ประเทศไทยมีลักษณะอากาศแบบเขตร้อน แบ่งออกได้เป็น 3 ฤดู คือ 1) ฤดูร้อน 2) ฤดูฝน 3) ฤดูหนาว ยกเว้นภาคใต้ที่มี 2 ฤดู คือ ฤดูร้อนกับฤดูฝน มีฤดูร้อนในช่วงระหว่างเดือนเมษายน-พฤษภาคม และฤดูฝนจะอยู่ในช่วงกลางเดือนพฤษภาคม-เดือนตุลาคม และฤดูหนาวจะอยู่ในเดือนพฤศจิกายน-กลางเดือนมีนาคม (ก.พ., มปป.)

ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยของประเทศไทยระหว่างปี 2553-2556 ประมาณ 120.75 มิลลิเมตร โดยพบว่าปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยในแต่ละภูมิภาคที่เป็นแหล่งปลูกมะเขือเทศดังนี้ ภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงราย ลำปาง ลำพูน น่านมีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยประมาณ 110.75, 101.25, 117.25 และ 119 ตามลำดับ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดขอนแก่น และสกลนครมีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยประมาณ 96.75 และ 150.13 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (Figure 1)

อุณหภูมิเฉลี่ยของประเทศไทยระหว่างปี 2553-2557 ประมาณ 26 องศาเซลเซียส โดยพบว่าอุณหภูมิเฉลี่ยในแต่ละภูมิภาคที่เป็นแหล่งปลูกมะเขือเทศดังนี้ ภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงราย ลำปาง ลำพูน น่าน มีอุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 24.4, 26.4, 26.2 และ 26 ตามลำดับ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดขอนแก่น และสกลนครมีอุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 27.4 และ 26.2 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (Figure 2)

ชีววิทยาของเชื้อ *Cmm* และสภาพแวดล้อม สภาพแวดล้อมที่ส่งเสริมความรุนแรงของเชื้อ คือ อุณหภูมิประมาณ 23.33-32.22 องศาเซลเซียส (75-90 องศาฟาเรนไฮต์) และมีความชื้นสูงเป็นระยะเวลานาน แต่ถ้าสภาพอากาศไม่เหมาะสม เช่น อากาศเย็นมาก หรืออบอู้นขึ้นประมาณ 25 องศาเซลเซียส และมีปริมาณเชื้อก่อโรคในระดับต่ำ อัตราการเกิดโรคจะลดลง (Chang *et al.*, 1992) เชื้อมีการเจริญเติบโตและการก่อโรคได้ดีที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า 33 องศาเซลเซียส ความรุนแรงของโรคจะลดลง สำหรับความชื้นเชื้อต้องการในระดับปานกลางไม่ชอบดินที่แฉะหรือแห้งเกินไป (ศักดิ์, 2537) เชื้อสามารถมีชีวิตแฝงอยู่ในพืชได้ประมาณ 3 ปี และติดกับอุปกรณ์ทางการเกษตรได้มากกว่า 7 เดือน (CABI, 2014) เชื้อสามารถอยู่รอดในเศษซากพืช โดยเชื้อที่ตั้งรกรากอยู่นี้จะพักตัวเพื่อรอเข้าทำลายต้นกล้าพืชที่ปลูกใหม่ในฤดูกาลถัดไป การเข้าทำลายของเชื้ออาจเกิดจากหนาม (trichomes) ที่แตกหักจากต้นที่เป็นโรคร่วงลงบนใบเกิดเป็นบาดแผลหรือบาดแผลที่เกิดจากการพ่นสารเคมีก็เป็นได้

พืชอาศัย เชื้อ *Cmm* มีศักยภาพที่จะเข้ามาตั้งรกรากในประเทศไทยได้ เนื่องจากพืช

อาศัยของเชื้อมีหลายชนิดที่ปลูกในประเทศไทย เช่น พริก มะเขือเทศ มะเขือ พืชเนี่ย เป็นต้น มีการปลูกทั่วไปทั้งในสวน โรงเรือน แปลงเกษตรกร ทั้งที่สูงหรือที่ราบลุ่มที่มีน้ำได้ทั่วทั้งประเทศ สภาพภูมิอากาศของประเทศไทยมีความคล้ายคลึงกับแหล่งที่มีรายงานการแพร่ระบาดของเชื้อนี้

สรุปเมื่อศึกษาข้อมูลแหล่งปลูกมะเขือเทศในประเทศไทย (Table 2) อุณหภูมิ และความชื้นที่พิจารณาจากปริมาณน้ำฝน (Figure 1-2) พบว่าอุณหภูมิโดยเฉลี่ยอยู่ในช่วงที่เชื้อ *Cmm* จะเข้ามาตั้งรกรากและก่อโรคได้ในระดับสูง สภาพความชื้นที่เชื้อนี้ต้องการอยู่ในระดับปานกลางแต่ประเทศไทยค่อนข้างชื้น โดยบางพื้นที่ที่เพาะปลูกมะเขือเทศจะปล่อยน้ำขังในแปลงทำให้เชื้อนี้อาจมีชีวิตและเจริญได้ไม่ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อพิจารณาจากพืชอาศัยที่มีหลายชนิดและปลูกซ้ำๆ ในพื้นที่เดิมจึงมีความเสี่ยงที่เชื้อจะตั้งรกรากได้ หากเชื้อมีโอกาสเข้ามา ก็จะสามารถตั้งรกรากได้ในระดับปานกลางถึงสูง

2.2.3 ศักยภาพการแพร่กระจาย การแพร่ระบาดของเชื้อนี้ได้หลายวิธี เช่น ติดอยู่กับ

เมล็ดในลักษณะของ seed-borne สามารถติดไปกับเศษซากพืช หัว ไหล ดอก ผล ใบ ราก ต้นกล้า ลำต้น และพักตัวอยู่ในดินได้ (CABI, 2014) มีรายงานของ Dhanvantari (1993) ทดสอบการอยู่รอดของเชื้อบนเมล็ดพันธุ์พบว่าถ้าเก็บเมล็ดที่มีเชื้อ *Cmm* ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 18 เดือน นอกจากนี้เชื้อสามารถแพร่กระจายไปยังพืชต้นอื่นๆ ด้วยน้ำฝน ระบบน้ำ และเครื่องมือต่างๆ ในการทำเกษตรกรรม หรือโดยการจับต้องสัมผัส เช่น การถอนย้ายกล้า การผูกมัดต้นกับไม้ค้ำยัน การตัดแต่งพืช ตลอดจนการเก็บเกี่ยวผล ถึงแม้ว่ามะเขือเทศจะเป็นพืชที่อ่อนแอต่อเชื้อ *Cmm* ในสภาพแวดล้อมธรรมชาติ (Rat et al., 1991) แต่หลังจากมีการเข้าทำลายมะเขือเทศด้วยเชื้อนี้พบว่าเชื้อจะมีระยะการพักตัวที่ยาวนานในต้นพืชก่อนที่จะพืชจะแสดงอาการ จึงอาจเป็นการเพิ่มโอกาสในการแพร่กระจายของเชื้อได้อีกทางหนึ่ง (Strider, 1969) และตามรายงานของ Moffett and Wood (1984) ว่าเชื้อมีชีวิตรอดในเศษซากพืชในดินได้แต่ขึ้นกับชนิดของดิน รวมถึงวัตถุประสงค์ของการนำเข้าเช่นนำเข้าเพื่อการค้า จำหน่ายแจก เมื่อนำเมล็ดไปปลูกในแหล่งต่างๆ ทั่วประเทศจะเป็นการกระจายแหล่งของเชื้อด้วย ดังนั้นการแพร่กระจายจึงมีโอกาสสูง

2.3 ศักยภาพที่จะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจทางตรงและทางอ้อมในพื้นที่

เชื้อ *Cmm* เป็นเชื้อที่สร้างความเสียหายให้กับการผลิตมะเขือเทศทั้งในสภาพแปลงปลูกและโรงเรือนและสร้างความกังวลในการเพาะปลูกให้กับเกษตรกรอย่างมากเพราะเชื้อนี้ทำให้ต้นกล้าตายและผลผลิตไม่เป็นที่ต้องการของตลาด (CABI, 2014) เมื่อเกิดการแพร่ระบาดของเชื้อนี้ในโรงเรือนทำให้ผลผลิตของมะเขือเทศได้รับความเสียหายถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ในประเทศลิทัวเนีย (Burokiene, 2006) พบความเสียหายของผลผลิตมะเขือเทศในรัฐนอร์ทแคโรไลนาของสหรัฐอเมริกา 70 เปอร์เซ็นต์ ในบางฤดูกาลเพาะปลูก ส่วนพันธุ์การค้าที่มีการเพาะปลูกและพันธุ์ที่ถูกควบคุม (controlled studies) พบว่าผลผลิตได้รับความเสียหายสูงถึง 84 เปอร์เซ็นต์ และ 93 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Poysa, 1993) ประเทศฝรั่งเศสมีการทดสอบความเสียหายของเชื้อ *Cmm* พบว่าเชื้อนี้ทำ

ให้ผลผลิตลดลง 20-30 เปอร์เซ็นต์ (Rat *et al.*, 1991) ปี ค.ศ. 1909 พบว่ามะเขือเทศที่ปลูกในโรงเรือนของรัฐมิชิแกนได้รับความเสียหายจากการเข้าทำลายของเชื้อนี้คิดเป็นมูลค่า 300,000 ดอลลาร์ต่อการปลูกในหนึ่งปี ในประเทศเกาหลีใต้ที่เมืองชวอนและเมืองอิกซานพบว่าเชื้อนี้ทำให้มะเขือเทศมีอาการที่ผิดปกติ ม้วนงอ ผิดรูปร่าง ในประเทศอินโดนีเซียพบว่าเชื้อนี้ทำให้ผลผลิตมะเขือเทศลดลง 80 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ในประเทศไทยที่ปลูกมะเขือเทศซึ่งเป็นพืชอาศัยหลักของเชื้อนี้พบว่าในปี 2557 ผลผลิตมะเขือเทศในรูปผลสดประมาณ 112,900 ตัน คิดเป็นมูลค่าประมาณ 1,500 ล้านบาท (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2558; สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2558) ในการผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศเพื่อส่งออกหากพบการเข้าทำลายของเชื้อ *Cmm* ซึ่งจะทำลายผลผลิตพืชที่ปลูกเป็นผลสด ทำให้ผลผลิตลดลงได้เช่นประเทศอื่นๆ และก่อให้เกิดความเสียหายต่อธุรกิจเมล็ดพันธุ์ลูกผสมที่ประเทศไทยผลิตเพื่อส่งออก อาจทำให้สูญเสียรายได้ไปมากกว่าครึ่ง โดยเฉพาะประเทศไทยจะต้องถูกกำหนดให้มีการตรวจสอบและรับรองว่าเมล็ดที่ส่งออกต้องปลอดจากศัตรูพืชชนิดนี้อีกด้วย เนื่องจากเป็นศัตรูพืชกักกันของหลายๆ ประเทศ ดังนั้นเชื้อ *Cmm* จึงมีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจในระดับสูง (Economic Importance High) (EPPO, n.d.) ทำให้หลายๆ ประเทศต้องมีมาตรการจัดการเช่นการกำจัดเชื้อก่อนปลูก การตรวจสอบเชื้อในระหว่างการผลิต การสร้างโรงเรือนเพื่อเพาะกล้า เพื่อป้องกันการเกิดโรค ถ้าเกิดความเสียหายก็ทำให้เกษตรกรเสียหายได้ เมล็ดพันธุ์บางสายพันธุ์มีราคาแพง กิโลกรัมละหลายแสน ทำให้ไม่สามารถผลิตเมล็ดได้ตรงตามความต้องการผู้ซื้อเกษตรกรขาดรายได้ หรือต้องกำหนดมาตรการทางกักกันพืชเพื่อหาพื้นที่ปลอดจากเชื้อตามข้อกำหนดของประเทศคู่ค้า ดังนั้นจึงควรมีมาตรการสุขอนามัยพืชในการควบคุมเชื้อที่ติดไปกับเมล็ด เพื่อลดโอกาสการเป็นแหล่งของโรคในการแพร่ระบาดต่อไปด้วยการทำ seed treatment และเนื่องจากเชื้อ *Cmm* มีพืชอาศัยหลายชนิดและมีการปลูกอย่างแพร่หลายในทวีปต่างๆ เมื่อเกิดการแพร่ระบาดของโรคจากเมล็ดที่มีการปนเปื้อนเชื้อจะส่งผลกระทบต่อการผลิตพืชในบริเวณกว้างและสร้างความเสียหายต่อระบบเศรษฐกิจตามมาในระดับสูง

สรุปได้ว่าเชื้อ *Cmm* เป็นศัตรูพืชกักกันตามคำนิยามของมาตรฐานระหว่างประเทศสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 5 (Glossary of Phytosanitary Terms) (FAO, 2007) และมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 11 โดยพิจารณาจาก 1) ชนิดของเชื้อ *Cmm* ที่มีการจัดจำแนกที่ชัดเจน 2) ไม่มีการปรากฏในประเทศไทยที่เป็นแหล่งของพืชอาศัยของเชื้อที่อ่อนแอ ได้แก่ มะเขือเทศและพืชในวงศ์ Solanaceae เป็นต้น 3) โดยมีการควบคุมทางกฎระเบียบที่ประกาศให้เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย การนำเข้าสินค้าเกษตรพืชต้องปลอดจากเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ 4) โดยเชื้อนี้มีศักยภาพที่จะตั้งรกรากได้ปานกลางและแพร่กระจายในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงได้ระดับสูงและ 5) ศักยภาพที่จะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจและทางสิ่งแวดล้อมในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชได้ระดับสูง

2.4 การบริหารจัดการความเสี่ยงเชื้อ *Cmm*

Cmm เป็นศัตรูพืชที่สำคัญในแหล่งผลิตมะเขือเทศและเป็นศัตรูพืชกักกันเมื่อพิจารณาศักยภาพในการเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร การแพร่กระจายและผลกระทบทางเศรษฐกิจ

ของประเทศไทยทั้งทางตรงและทางอ้อมได้ในระดับสูง จึงต้องมีมาตรการในการจัดการความเสี่ยงดังกล่าว โดยการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าดังนี้ ต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชที่ระบุว่า

- เมล็ดต้องมาจากพื้นที่ผลิตเพื่อส่งออกหรือแหล่งปลอดเชื้อ *Cmm* หรือ
- เมล็ดต้องมาจากต้นที่ได้รับการตรวจสอบในระยะการเจริญเติบโตและตรวจสอบในห้องปฏิบัติการว่าปลอดเชื้อ *Cmm* หรือ
- มีการตรวจสอบในห้องปฏิบัติการก่อนส่งออกว่าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศปลอดจากเชื้อ *Cmm* และ ต้องดำเนินการ
- ให้แช่เมล็ดลงในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 นาที หรือ
- การนำเมล็ดฟุ้งลมร้อน (Dry heat) ที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือ
- การแช่เมล็ดใน 5 เปอร์เซ็นต์ Hydrochloric acid (HCl) หรือ 0.05 เปอร์เซ็นต์ o-phenylphenol เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นจึงล้างออกด้วยน้ำเปล่า เป็นการกำจัดเชื้อ *Cmm* ที่ติดมากับเมล็ดจากการเข้าทำลายในสภาพธรรมชาติ

และเมื่อเมล็ดมาถึงประเทศไทยต้องได้รับการสุ่มตัวอย่างและตรวจสอบว่าปลอดจากศัตรูพืชจริง ณ สถานที่กักพืช

9. สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

รวบรวมข้อมูลมะเขือเทศ เช่น อนุกรมวิธาน ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ แหล่งปลูกมะเขือเทศ การเก็บเกี่ยว ข้อมูลการนำเข้า รวบรวมข้อมูลเชื้อ *Cmm* ได้ข้อมูลลักษณะทางอนุกรมวิธาน ชื่อสามัญ พืชอาศัย การเกิดโรค การเข้าทำลาย การตรวจสอบ ความเสียหาย วิธีการตรวจสอบ การถ่ายทอดโรค มาตรการสุขอนามัยพืช ข้อมูลประเทศที่มีการพบเชื้อ รวมถึงสภาพภูมิอากาศในแหล่งปลูกมะเขือเทศของประเทศไทย ผลการตรวจสอบเชื้อ *Cmm* จากการสุ่มเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่มีการนำเข้าในช่วงเดือนมกราคม 2557- กรกฎาคม 2557 จาก 10 บริษัท จำนวน 25 ครั้ง น้ำหนักประมาณ 417 กก. จำนวน 65 ตัวอย่าง จากประเทศ ได้แก่ เกาหลี จีน ซิลิ ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ เปรู ฝรั่งเศส ฟิลิปปินส์ ไทย (ส่งกลับ) เม็กซิโก สหรัฐอเมริกา และอินเดีย ผลการตรวจสอบไม่พบเชื้อ *Cmm* ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าเช่นกัน จากนั้นนำข้อมูลเข้าสู่กระบวนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช พบว่าจุดเริ่มต้น (Initiation) ของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเริ่มจากการที่สหภาพยุโรปแจ้งให้ทราบว่ามีการตรวจพบเชื้อ *Cmm* จากเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่ส่งออกจากประเทศไทย ซึ่งไม่มีรายงานการปรากฏของเชื้อและประเทศไทยประกาศให้เชื้อ *Cmm* เป็นศัตรูพืชกักกัน บนพื้นฐานการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงของเชื้อนี้เพียงเบื้องต้นเท่านั้น จึงต้องดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงโดยการจำแนกชนิดของเชื้อ *Cmm* ตามหลักอนุกรมวิธาน การไม่ปรากฏพบในประเทศไทย โดยพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในที่นี้ คือ ประเทศไทยทั้งประเทศ เนื่องจากประเทศไทยมีการปลูกมะเขือเทศได้ทั่ว

ทุกภูมิภาคของประเทศ สำหรับการควบคุมทางกฏระเบียบพบว่าประเทศไทยได้ออกประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 โดยแนบท้ายประกาศนั้นได้กำหนดให้ *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* เป็นศัตรูพืชกักกัน ซึ่งมีอีกหลายประเทศที่มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ จะกำหนดให้เชื้อ *Cmm* เป็นศัตรูพืชกักกัน เช่น สหภาพยุโรป จีน เวียดนาม เป็นต้น เมื่อพิจารณาศักยภาพในการเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวรของเชื้อ *Cmm* พบว่าเชื้อ *Cmm* สามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดพันธุ์ได้ เชื้อจึงสามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์จากแหล่งปลูกที่พบการระบาดของเชื้อได้ โดยมีชีวิตอยู่รอดในระหว่างการขนส่งและไม่สามารถตรวจสอบด้วยสายตาได้ ณ จุดนำเข้า จึงมีโอกาสเข้ามาในประเทศไทยได้ และข้อมูลการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศของประเทศไทยพบว่ามี การนำเข้าจากประเทศที่พบการแพร่ระบาดของเชื้อและบ่อยครั้ง สำหรับศักยภาพในการเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร และแพร่กระจายในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงพบว่าเชื้อ *Cmm* มีสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 23.33-32.22 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับช่วงอุณหภูมิของแหล่งปลูกมะเขือเทศในประเทศไทยหลายพื้นที่ทั้งในสภาพโรงเรือนและสภาพแปลงปลูก เชื้อ *Cmm* มีพืชอาศัยหลายชนิดที่ปลูกในประเทศไทย เช่น พริก มะเขือเทศ มะเขือ เป็นต้น จึงสรุปว่ามีความเสี่ยงสูงที่เชื้อจะติดเข้ามา กับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าและสามารถตั้งรกรากได้อย่างถาวร โดยการปลูกมะเขือเทศของประเทศไทยจะนำเมล็ดพันธุ์ผสมที่นำเข้าจากต่างประเทศไปปลูกในหลายพื้นที่ นอกจากนี้เชื้อ *Cmm* มีโอกาสแพร่กระจายไปกับเมล็ดพันธุ์ ส่วนต่าง ๆ ของพืชที่มีการเข้าทำลายของเชื้อ เครื่องมือ อุปกรณ์การเกษตรได้ จึงมีความเสี่ยงที่เชื้อจะแพร่กระจายสู่แหล่งปลูกได้ในบริเวณกว้าง จากข้อมูลสภาพภูมิอากาศของประเทศไทยและพืชอาศัยของเชื้อ *Cmm* แสดงให้เห็นว่าเชื้อมีโอกาสเข้ามาตั้งรกรากอยู่ได้ จากการสืบค้นข้อมูลผลกระทบของเชื้อ *Cmm* ในเบื้องต้นจากประเทศต่างๆ เช่น ประเทศอินโดนีเซียมีปริมาณผลผลิตมะเขือเทศลดลง 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเชือนี้เข้าทำลาย ประเทศฝรั่งเศสมีการทดสอบความเสียหายของเชื้อ *Cmm* พบว่าเชือนี้ทำให้ผลผลิตลดลง 20-30 เปอร์เซ็นต์ เป็นต้น ข้อมูลดังกล่าวบ่งชี้ว่าเชื้อ *Cmm* มีศักยภาพที่จะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจของประเทศไทยทั้งทางตรงและทางอ้อมได้ในระดับสูง ดังนั้นในการนำเข้าต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชที่ระบุว่าเมล็ดต้องมาจากแหล่งผลิตที่ปลอดจากเชื้อ *Cmm* หรือเมล็ดมาจากต้นพ่อแม่ที่ได้ตรวจสอบใน ระยะเจริญเติบโตว่าปลอดจากเชื้อ *Cmm* หรือเมล็ดพันธุ์ต้องได้รับการตรวจสอบในห้องปฏิบัติการว่า ปลอดจากเชื้อ *Cmm* และเมล็ดต้องแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 นาที หรือผึ่งลมร้อน (Dry heat) ที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือแช่เมล็ดใน 5 เปอร์เซ็นต์ Hydrochloric acid (HCl) หรือ 0.05 เปอร์เซ็นต์ o-phenylphenol เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำเปล่า ก่อนการส่งออก

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

10.1 หน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับการตรวจสอบศัตรูพืชสามารถเตรียมความพร้อมหาวิธีการตรวจสอบเชื้อ *Cmm* จากต่างประเทศ

10.2 ได้มาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าสินค้าเกษตรที่เป็นพืชอาศัยของเชื้อ *Cmm* ทำให้การปฏิบัติงานทางกักกันพืชที่รัดกุม มีประสิทธิภาพ สามารถป้องกันเชื้อ *Cmm* จากต่างประเทศไม่ให้เข้ามากระบาดทำความเสียหายหรือทำลายระบบการเกษตรของประเทศไทย และโปร่งใสสอดคล้องกับข้อตกลงระหว่างประเทศ

10.3 ใช้เป็นข้อมูลทางวิชาการเพื่อการพัฒนามาตรการสุขอนามัยพืชต่อไป

11. เอกสารอ้างอิง

- ก.พ. มมป. ระบบบริหารราชการของราชอาณาจักรไทย. กรรณการพิมพ์. สำนักงานคณะกรรมการข้าราชการพลเรือนนทบุรี. 200 หน้า. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://www.dp-t.go.th/foreign/images/stories/file_pdf/ASEAN_GURU/manage_thai.pdf. (21 มีนาคม 2558).
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2557. รายงานข้อมูลภาวะการผลิตพืช แบบรายปี. ศูนย์สารสนเทศ กรมส่งเสริมการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : <http://production.doae.go.th>. (21 ธันวาคม 2557).
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2558. รายงานข้อมูลภาวะการผลิตพืช แบบรายปี. ศูนย์สารสนเทศ กรมส่งเสริมการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : <http://production.doae.go.th>. (21 มีนาคม 2558).
- กรมอุตุนิยมวิทยา. 2557. ข้อมูลสภาพภูมิอากาศของประเทศไทยในปี 2556. จากการขอข้อมูลโดยตรงที่กรมอุตุนิยมวิทยา.
- กลุ่มศัตรูพืชกักกัน. 2557. ข้อมูลการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากต่างประเทศระหว่างปี 2556-2557. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- ศักดิ์ สุทรสิงห์. 2537. โรคของผักและการป้องกันกำจัด. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ 198 น.
- ศูนย์สารสนเทศการผลิตทางการเกษตร. 2557. รายงานข้อมูลภาวะการผลิตพืช (รต.01) แบบรายปี 2556/2557. กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://production.doae.go.th/report/report_main2.php?report_type=1. (24 มิถุนายน 2557).
- สศก. (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร). 2556. สถิติการเกษตรของประเทศไทย. ศูนย์สารสนเทศ การเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 199

หน้า. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://www.oae.go.th/download/download_journal/yearbook55.pdf. (21 มีนาคม 2558).

_____. 2557. มะเขือเทศ: เนื้อที่เพาะปลูก เนื้อที่เก็บเกี่ยว ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ พันธุ์โรงงานและบริโภค ปี 2554-2556. ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://www.oae.go.th/ewtadmin/ewt/oae_web/download/prcai/vegetable/tomato.pdf. (21 มีนาคม 2558).

_____. 2558. มันฝรั่ง: เนื้อที่เพาะปลูก เนื้อที่เก็บเกี่ยว ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ ปี 2556-2558. ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : <http://www.oae.go.th/download/prcai/vegetable/potato.pdf>. (21 มีนาคม 2558).

_____. 2558. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2557. โรงพิมพ์ สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ, กรุงเทพฯ. 215 น.

อนันต์ ดาโลดม. มปป. พื้นที่การเพาะปลูกกับความเป็นประเทศเกษตรกรรม. สมาคมพืชสวนแห่งประเทศไทย. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : <http://www.foodresources.org/news/16/09/10/6743>. (21 มีนาคม 2558).

Aprizalzainal, Aswaldianwar, Ujangkhairul and Sudarsono. 2008. Distribution of *Clavibacter michiganensis* subsp. *nichiganensis* in various tomato production centers in Sumatra and Java. *Microbiology*. 2: 63–68.

Bradbury, J.F. 1986. **Guide to plant pathogenic bacteria**. CAB International, Wallingford, UK. 332 pp.

Bruyne, E. de, R. Vantomme and J. de Ley. 1987. Enzymatic features and SDS gel electrophoretic protein patterns of *Corynebacterium michiganense*. Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen. **RijksuniversiteitGent**. 52: 1095-1100.

Burokiene, D. 2006. Early detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato seedlings. *Agronomy Research*. 4: 151-154.

CABI. 2014 *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* . (Online). Available. <http://www.cabi.org/cpc/?compid=1&dsid=15338&loadmodule=datasheet&-page=868&site=161>. (February 21, 2014).

- Carlton, W.M., M.L. Gleason and E.J. Braun. 1994. Effects of pruning on tomato plants supporting epiphytic populations of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. **Plant Disease**. 78: 742-745.
- Chang, R.J., S.M. Ries and J.K. Pataky. 1991. Dissemination of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* by practices used to produce tomato transplants. **Phytopathology**. 81: 1276-1281.
- Chang, R.J., S.M. Ries and J.K. Pataky. 1992. Effects of temperature, plant age, inoculum concentration, and cultivar on the incubation period and severity of bacterial canker of tomato. **Plant Disease**. 76: 1150-1155.
- Chang, R.J., S.M. Ries and J.K. Pataky. 1992. Local sources of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in the development of bacterial canker on tomatoes. **Phytopathology**. 82: 553-560.
- Davis, M.J., A.G. Gillaspie, A.K. Vidaver and R.W. Harris. 1984. *Clavibacter* a new genus containing some phytopathogenic coryneform bacteria, including *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* sp. nov., subsp. nov. and *Clavibacter xyli* subsp. *cynodontis* subsp. nov., pathogens that cause ratoon stunting disease of sugarcane and bermudagrass stunting disease. **International Journal of Systematic Bacteriology**. 34: 107-117.
- Dhanvantari, B.N. 1993. Seed-borne infection in tomato bacterial canker. In **Proceedings of the 9th**. Annual Tomato Disease Workshop 33-36 p.
- Eichenlaub, R., K.H. Gartemann and A. Burger. 2006. *Clavibacter michiganensis*, a group of gram-positive phytopathogenic bacteria. Pages 385-421 In: **Plant-Associated Bacteria**. S. S. Gnanamanickam, ed. Springer, The Netherlands.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). 2013a. EPPO Standards Diagnostic PM 7/42 (2) *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. **EPPO Bulletin**. 43: 46-67.
- EPPO. nd. **Data Sheets on Quarantine Pests; *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis***. Prepared by CABI and EPPO for the EU under Contract 90/399003.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). 2nd. **EPPO-PQR (Plant Quarantine Data Retrieval system)**. (Online). Available. www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm. (March 1, 2015).

- FAO. 2007. **International Standards for Phytosanitary Measures no. 5: Glossary of Phytosanitary Terms (2007)**. (Online). Available. http://agriculture.gouv.fr/-IMG/pdf/ispn_05_version_2007_ang.pdf. (March 16, 2015).
- Fatmi, M. and N.W. Schaad. 1988. Semi selective agar medium for isolation of *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* from tomato seed. **Phytopathology**. 78; 121-126.
- Gitaitis, R.D. and R.W. Beaver. 1990. Characterization of fatty acid methyl ester content of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. **Phytopathology**. 80: 318-321.
- Gitaitis, R.D., R.W. Beaver and A.E. Voloudakis. 1991. Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in symptomless tomato transplants. **Plant Disease**. 75: 834-838.
- Gleason, M.L., E.J. Braun, W.M. Carlton and R.H. Peterson. 1991. Survival and dissemination of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomatoes. **Phytopathology**. 81: 1519-1523.
- Gleason, M.L., R.D. Gitaitis and M.D. Ricker. 1993. Recent progress in understanding and controlling bacterial canker of tomato in eastern North America. **Plant Disease**. 77: 1069-1076.
- Hadas, R., G. Kritzman, F. Klietman, T. Gefen and S. Manulis. 2005. Comparison of extraction procedures and determination of the detection threshold for *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato seeds. **Plant-Pathology**. 54: 643-649.
- Kaneshiro, W.S. and A.M. Alvarez. 2003. Variability and survival of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*) in seed. **Phytopathology**. 93: 43.
- Kontaxis, D.G. 1962. Leaf trichomes as avenues for infection by *Corynebacterium michiganense*. **Phytopathology**. 52: 1306-1307.
- Layne, R.E.C. 1967. Foliar trichomes and their importance as infection sites for *Corynebacterium michiganense* on tomato. **Phytopathology**. 57: 981-985.
- Leandro, L., F. Siverio, M.M. Lopez and A. Rodriguez. 2011. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, a seedborne Tomato pathogen: Healthy seeds are still the goal. **Plant Disease**. 95: 1328-1339.
- Lelliott, R.A. and D.E. Stead. 1987. **Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants**. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.

- Medina-Mora, C.M., M.K. Hausbeck and D.W. Fulbright. 2001. Bird's eye lesions of tomato fruit produced by aerosol and direct application of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. **Plant Disease**. 85: 88-91.
- Miller, S. A. and M.L. Ivey. 2005. **Hot water and chlorine treatment of vegetable seeds to eradicate bacterial plant pathogens**. The Ohio State University Extension. HYG-3085-05.
- Minister of Agriculture and Rural Development. 2005. **The list of plant quarantine pests of socialist republic of Vietnam**. (Online). Available. http://pflanzenges-undheit.jki.bund.de/dokumente/upload/6d45d_vn3-qso.pdf. (February 24, 2014).
- Ministry for Primary Industries. nd. **China General Requirements**. (Online). Available. <http://www.biosecurity.govt.nz/regs/exports/plants/icpr/cn>. (February 28, 2014).
- Miura, L., R. da S. Romeiro and J.C. Gomes. 1986. Production, purification and biological activity of an exotoxin produced *in vitro* by *Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense*. **Fitopatologia Brasileira**. 11: 789-794.
- Moffett, M.L. and B.A. Wood. 1984. Survival of *Corynebacterium michiganense* subsp. *michiganense* within host debris in soil. **Australian Plant Pathology**. 13: 1-3.
- Myung, L.S. and D.G. Kim. 2008. First report of bacterial canker of tomato caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in Korea. **Korea Plant Dis**. 92: 1472.
- NPPO. 2013. **NAPPO Regional Standard for Phytosanitary Measures (RSPM); RSPM 36 Phytosanitary Guidelines for the Movement of Seed**. Ottawa, Canada.
- Poysa, V. 1993. Evaluation of tomato breeding lines resistant to bacterial canker. **Canadian Journal of Plant Pathology**. 15: 301-304.
- Radwan, F., A. von Tiedemann, B. Koopmann, M. Abu-Ghorrah and K. Rudolph. 2011. Occurrence of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, the causal agent of bacterial canker of tomato, in Syria. **Phytopathol. Mediterr**. 49: 172–178.
- Rat, B. 1984. *Corynebacterium michiganense*. Technique de detection dans les semences de tomato. In : 1st **International Workshop on Seed Bacteriology**.
- Rat, B., J. Poissonnier, M.J. Goisque and A. Burgaud. 1991. Le point sur le chancre bactérien. **Fruit et Légumes**. 86: 38-40.

- Ricker, M.D. and R.M. Riedel. 1993. Effect of secondary spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on yield of northern processing tomatoes. **Plant Disease**. 77: 364-366.
- Saddler, G.S. and E.M. Kerr. 2012. "Genus V. *Clavibacter*." In : **Bergey's manual of systematic bacteriology, 2nd ed. Vol.5: The Actinobacteria, Part A**. Eds Goodfellow M., P. Kampfer, H.J. Busse, M.E. Trujillo, K. Suzuki, W. Ludwig and W.B. Whitman. Springer, New York, 877-883 p.
- Shirakawa, T. and T. Sasaki. 1988. A selective medium for isolation of *Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense*, the pathogen of tomato bacterial canker disease. **Annals of the Phytopathological Society of Japan**. 54; 540-543.
- Smith, E.F. 1910. A new tomato disease of economic importance. *Science* 803: 794-796.
- Stamova, L. and V. Sotirova. 1987. Reaction of different crops to artificial inoculation with *Corynebacterium michiganense*. **Archiv für Phytopathologie und Pflanzenschutz**. 23: 211-216.
- Strider, D.L. 1969. **Bacterial canker of tomato caused by *Corynebacterium michiganense***: A literature review and bibliography. Technical Bulletin North Carolina Agricultural Experiment Station, No. 193. 110 p.
- Tancos, M.A., L. Chalupowicz, I. Barash, S. Manulis-Sasson and C.D. Smart. 2013. Tomato fruit and seed colonization by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* through external and internal routes. **Applied and Environmental Microbiology**. 79: 6948-6957.
- Thompson, E., J.V. Leary and W.W.C. Chun. 1989. Specific detection of *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* by homologous DNA probe. **Phytopathology**. 79: 311-314.
- Yim, K.O., H.I. Lee, J.H. Kim, S.D. Lee, J.H. Cho and J.S. 2012. Characterization of phenotypic variants of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* isolated from *Capsicum annuum*. **European Journal of Plant Pathology**. 133: 559-575.
- Zhao, W.J., H.Y. Chen, S.F. Zhu and M.X. Xia. 2007. **One-step detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in symptomless tomato seeds using a taqman probe**. (Online). Available.

http://www.researchgate.net/publication/238792706_onestep_detection_of_clavibacter_michiganensis_subsp_michiganensis_in_symptomless_tomato_seeds_using_a_taqman_probe. (March 23, 2015).

12. ภาคผนวก

Table 1 Tomato seed importation into Thailand, company name, imported country and important planting areas (Plant Quarantine Research Group, 2014)

Company	Imported countries	Important planting areas
Monsanto	Guatemala, South Korea *, Chile *, Netherlands *, Peru *, France *, USA *, China*, Israel *, Indonesia*, India*, Mexico*	Khon Kaen, Kalasin, Sakon Nakhon, Lampang, Lamphun, Nan, Chiang Rai
Syngenta	USA *, China *, Israel *, India *	Khon Kaen
Sakata	France *, Japan *, USA *, China *, India *, South Africa*	Khon Kaen
Chia Tai	China *, India *, Japan*	Khon Kaen, Sakon Nakhon

* Distribution report of *Cmm* (CABI, 2014)

Table 2 Tomato seed importation into Thailand, company name, imported country weight and No sample. (Plant Quarantine Research Group, 2014)

Company	Imported countries	Weight (Kg)	Sample (No.)
East west	China	0.93	1
Syngenta	India	12.829	1
green Agricultural	Netherland	0.332	1
green Agricultural	France	0.502	1

Company	Imported countries	Weight (Kg)	Sample (No.)
green Agricultural	U.S.A.	0.098	1
Genius seed	Netherland	0.025	1
Healthy Care	India	30.568	2
East west	Philippines	100.05	1
East west	India	100	1
Monsanto	Korea	0.053	2
SaKata seed	Japan	0.02	1
SaKata seed	Japan	0.0137	1
T.S.A.	U.S.A.	0.005	1
Hsin seed	Thailand	0.0129	16
Monsanto	Mexico	3.001	14
Monsanto	Peru	2.191	3
Monsanto	Chile	1.1	1
Novartis	France	0.4	1
Monsanto	Netherland	0.024	1
Novartis	India	0.18	1
East west	Philippines	35.7	1
Monsanto	China	63.8	2
Monsanto	India	37.92	5
Novartis	U.S.A.	0.0012	1
East west	India	18.35	1
Healthy Care	India	8.555	1
Monsanto	U.S.A.	0.116	2
Total		416.7768	65

Table 3 Production areas of Tomato in Thailand (Department of Agricultural Extension, 2014)

Province	Area (rai)	Province	Area (rai)
Sakon Nakhon	6,419.00	Lop Buri	927.00
Bueng Kan	2,989.75	Phayao	810.00
Nong Khai	2,784.00	Khon Kaen	731.50

Province	Area (rai)	Province	Area (rai)
Chiang Mai	2,548.50	Lampang	600.00
Nakhon Phanom	2,197.25	Nakhon Ratchasima	591.00
Tak	1,730.00	Saraburi	558.00
Phetchaburi	1,651.50	Ubon Ratchathani	429.50
Mae Hong Son	1,316.50	Chaiyaphum	399.50
Prachuap Khiri Khan	1,265.00	Nakhon Pathom	349.00
Chiang Rai	1,107.50		

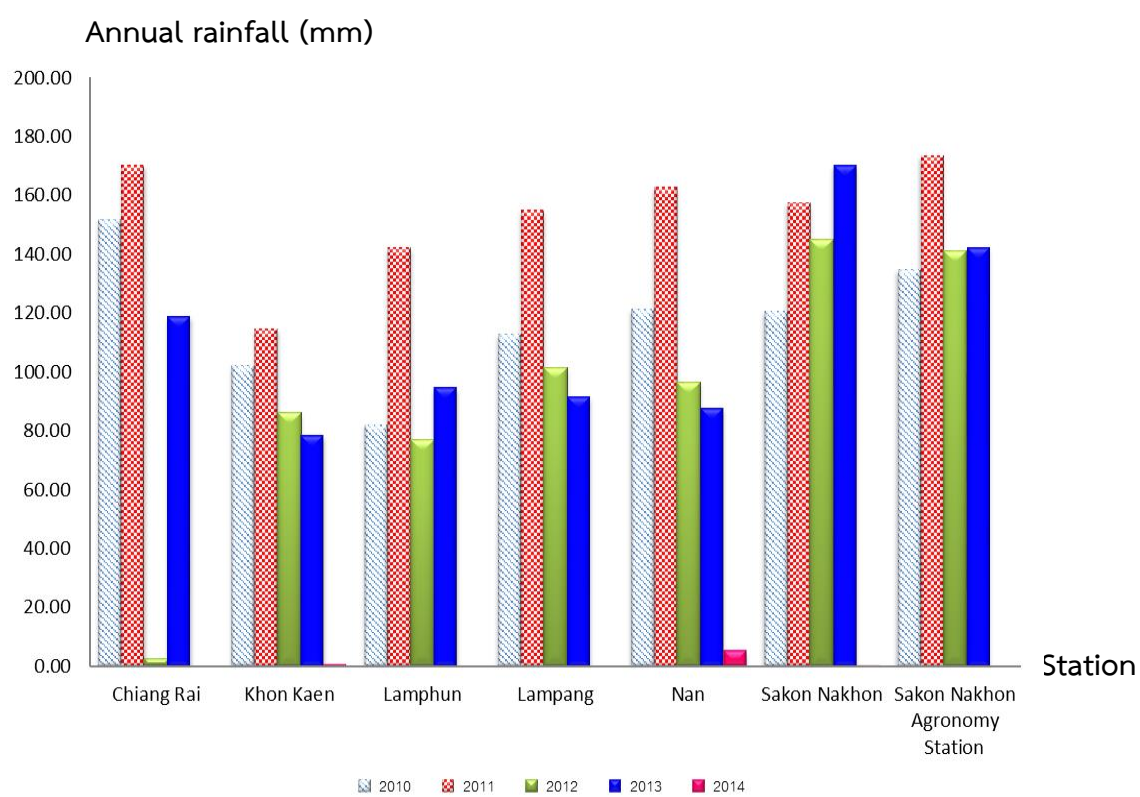


Figure 2 Average annual temperature (2010-2014) (Meteorological Department, 2014)

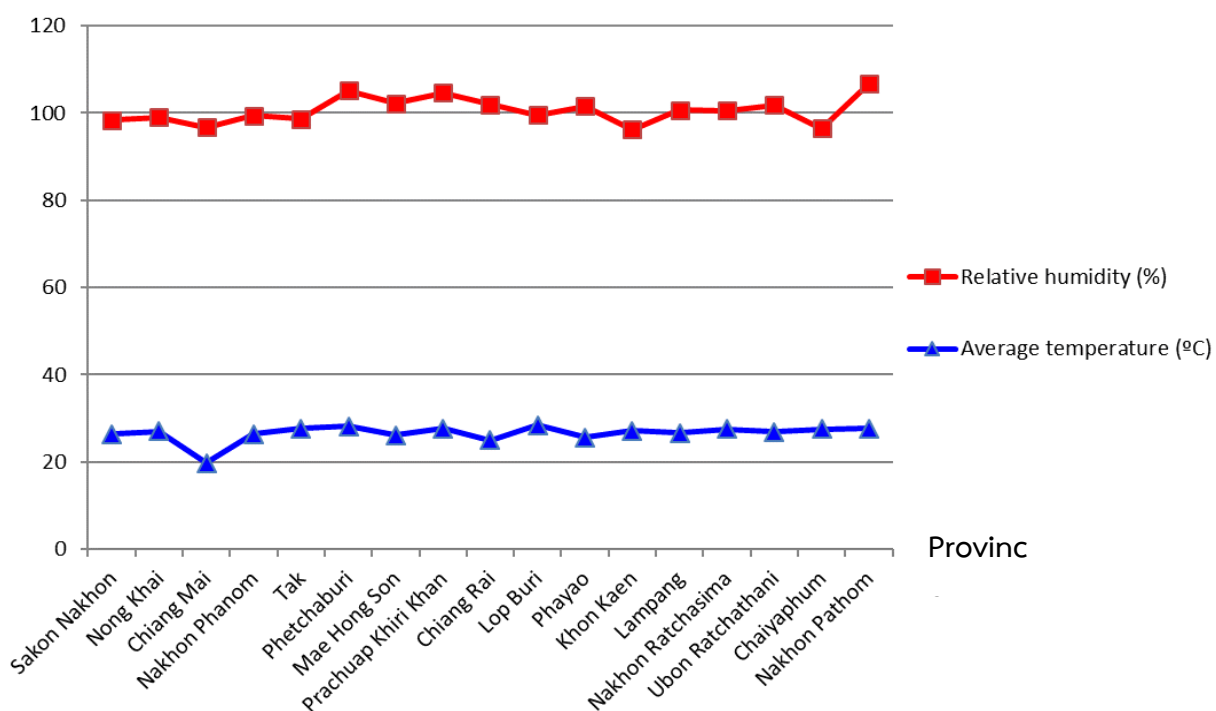


Figure 3 Average temperature and relative humidity of important planting areas of tomato in Thailand (Meteorological Department, 2014)

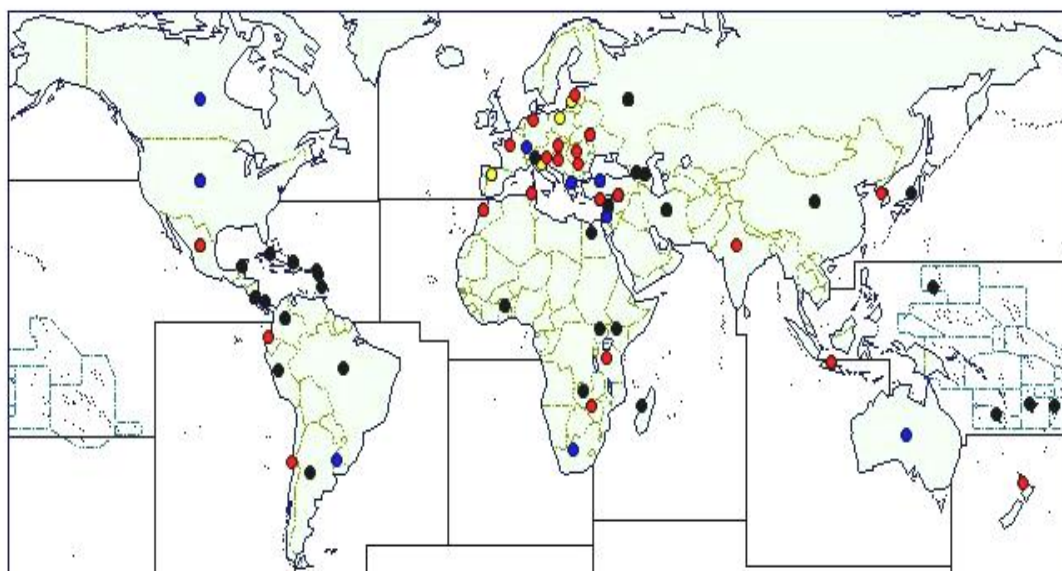


Figure 4 Distribution map of *Cmm*; Black spot is present/no further details, Red spot is localized, Blue spot is widespread, Yellow spot is occasional or few reports (CABI, 2014).



Figure 5 Systemic infection on tomato plants by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. A) Generalized wilting, B) unilateral leaflet wilt and necrosis, C) part of the vascular system invaded by the pathogen causing yellow-brown discoloration, D) cankers on stems in later stages of disease development, E) droplets of bacterial ooze observed when the stem splits open at the

beginning of canker formation, F) pathogen reaching the fruit and infecting the seeds through the vascular tissues (Leandro *et al.*, 2011).

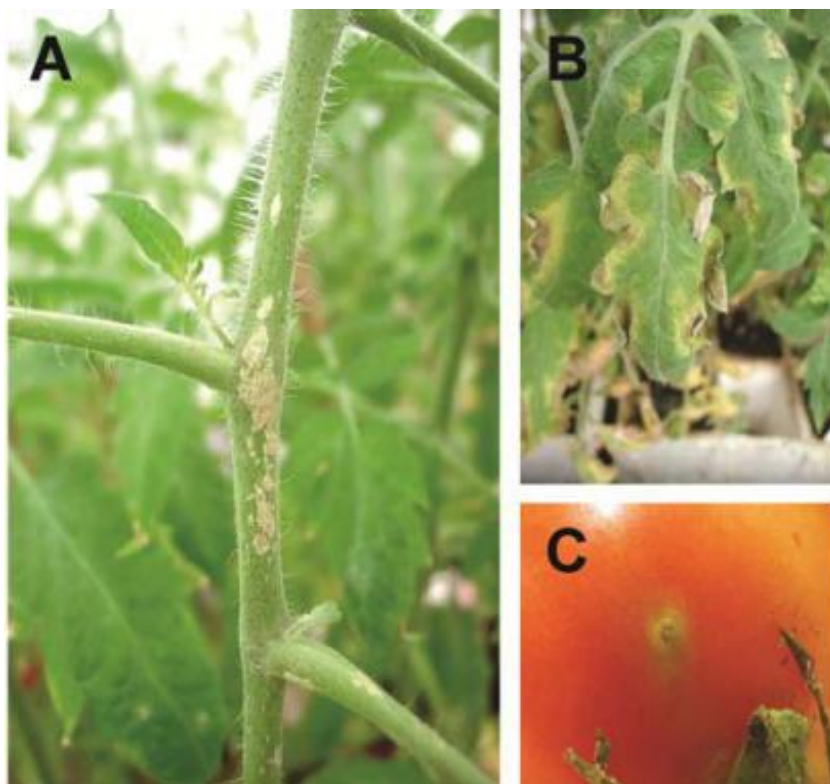


Figure 6 Localized infection by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. A) Small white blisterlike lesions in stem and petiole, B) marginal necrosis of leaflets, and C) typical spots with whitish halos on fruits, also called “bird’s-eye spots”(Leandro *et al.*, 2011).

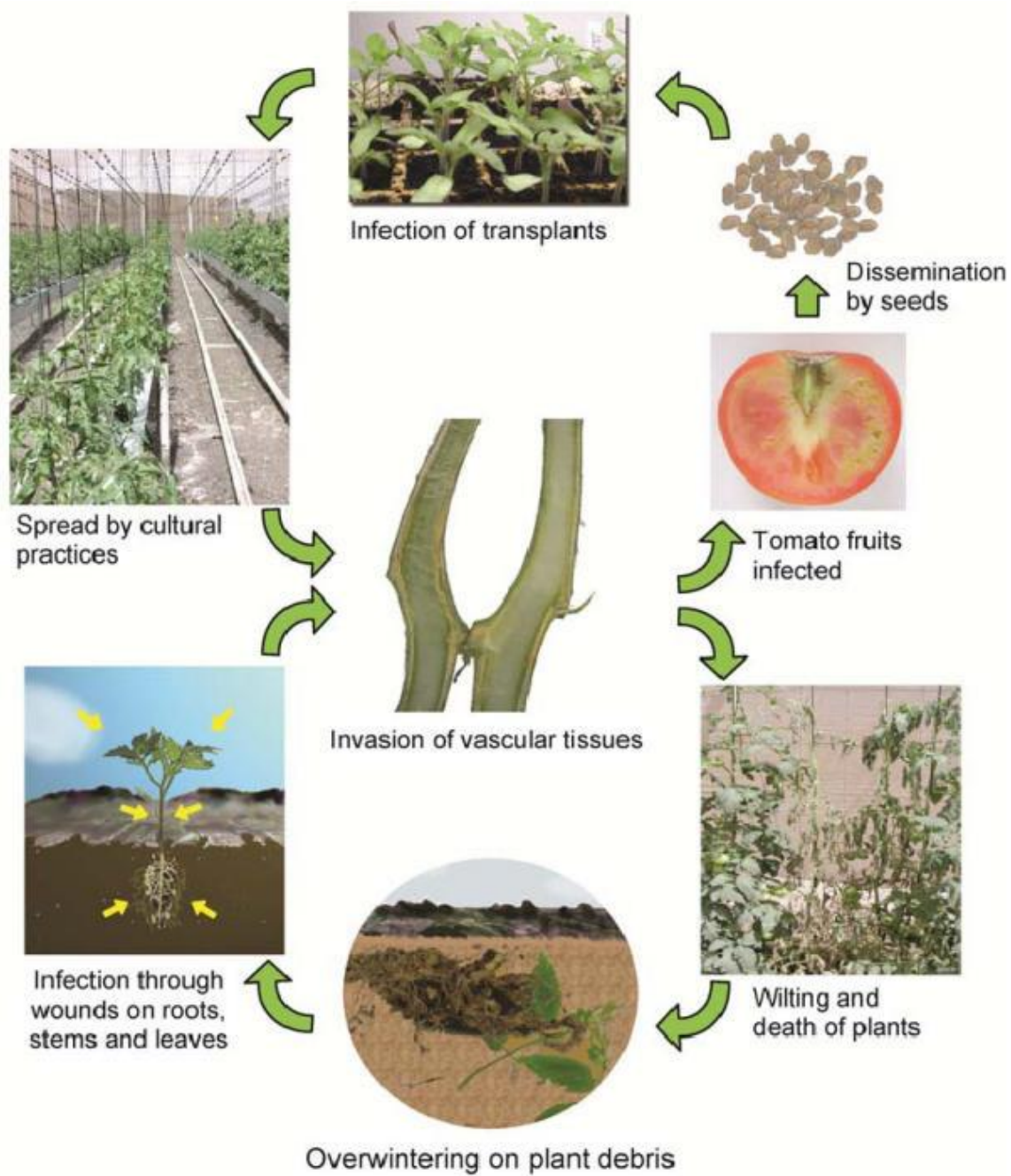


Figure 7 Disease cycle of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

(Eichenlaub *et al.*, 2006)

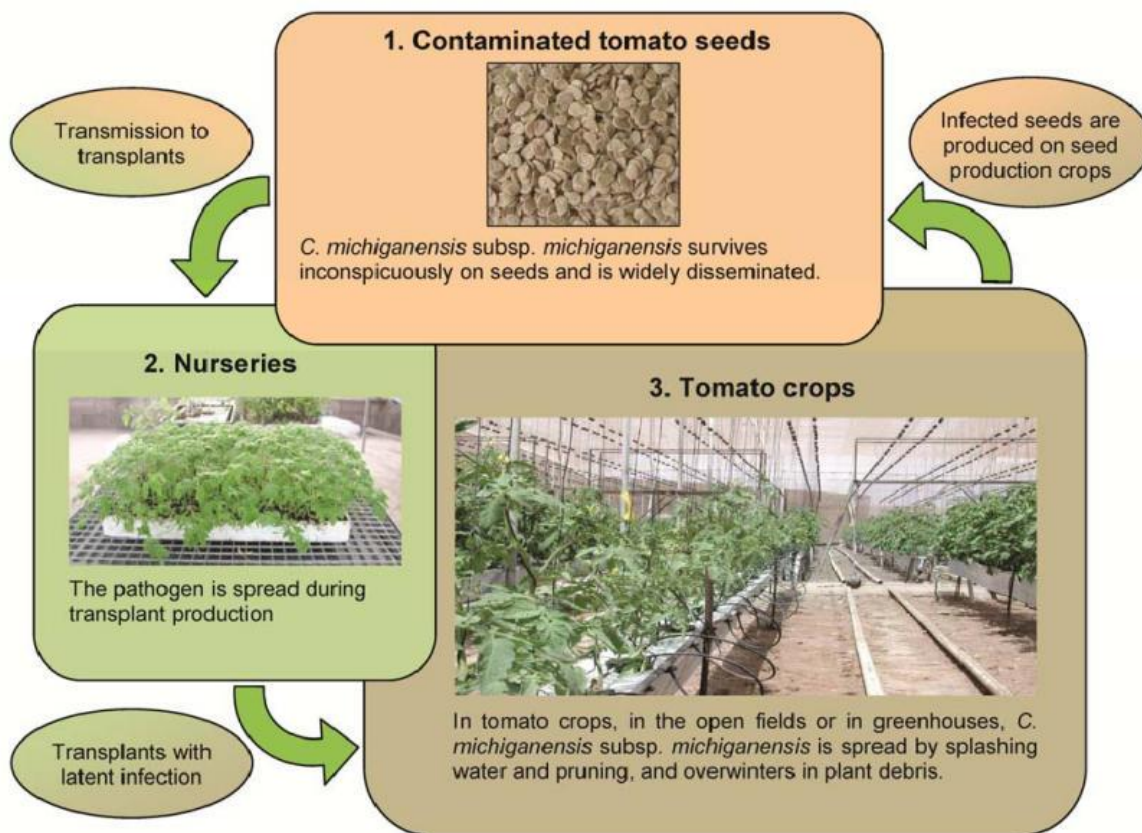


Figure 8 Tomato bacterial canker feature and environments in which *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* is present: 1, contaminated tomato seeds; 2, nurseries; and 3, tomato crops (Leandro *et al.*, 2011).