

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. แผนงานวิจัย : มาตรการสุขอนามัยพืช

2. โครงการวิจัย : การศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้า

กิจกรรม : ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชและส่วนของพืชนำเข้าเพื่อขยายพันธุ์

3. ชื่อการทดลอง : ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากจีน และสหรัฐอเมริกา

: Quarantine Pests Associated with Imported Lettuce Seed

from China and USA

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง : นางโสภา มีอำนาจ

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผู้ร่วมงาน : นางสาวชลธิชา รักใคร่

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

นางสาวปรียาพรณ พงศาพิชณ์

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

นางสาววันเพ็ญ ศรีชาติ

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

นายวานิช คำพานิช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

นางสาวจันทร์พิศ เดชหามาตย์

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

นางณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5. บทคัดย่อ : ผักกาดหอม (Lettuce; *Lactuca sativa* L.) เป็นพืชวงศ์ Asteraceae ในประเทศไทยมีการปลูกเพื่อบริโภคจำนวนมาก ส่วนใหญ่ใช้เมล็ดพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ จากการสืบค้นพบศัตรูพืชที่สำคัญ จำนวน 13 ชนิด จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมในช่วงเดือน ตุลาคม 2558-กันยายน 2560 มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากจีน 11 ครั้ง น้ำหนักโดยรวม 33,252.4 กิโลกรัม นำเข้าทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ ท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ และไปรษณีย์ และมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากสหรัฐอเมริกา 14 ครั้ง น้ำหนักโดยรวม 6,685.69 กิโลกรัม นำเข้าทางด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ลาดกระบัง และท่าเรือกรุงเทพฯ ผลการตรวจศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่า แวนขยายและภายใต้กล้องสเตอริโอพบเมล็ดวัชพืช 8 ชนิด ได้แก่ *Ageratina adaphora*, *Amaranthus retroflexus*, *Amaranthus viridis*, *Cleome vicosa*, *Eleusine indica*, *Setaria viridis*, *Sonchus arvensis* และ *Oxalis corniculata* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากจีน ผลการตรวจเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา 8 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis*, *Alternaria raphani*, *Cladosporium* sp., *Curvularia lunata*, *Drechslera halodes*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium oxysporum* และ *Ulocladium* sp. บนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากจีน และตรวจพบเชื้อรา 1 ชนิด คือ *Alternaria tenuis* บนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากสหรัฐอเมริกา ผลการตรวจแบคทีเรียด้วยวิธี

Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้า ผลการตรวจเชื้อไวรัสด้วยวิธี ELISA และ PCR ไม่พบเชื้อที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม ผลการปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom test) และตรวจสอบศัตรูพืชในแหล่งปลูกผักกาดหอมไม่พบอาการผิดปกติและไม่พบศัตรูพืชเป้าหมายที่เป็นสาเหตุของโรคพืช จากข้อมูลเบื้องต้นนี้สามารถนำไปสร้างฐานข้อมูลศัตรูพืชจากต่างประเทศ และจัดทำคู่มือการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชของผักกาดหอมเบื้องต้น

Abstract : Lettuce (*Lactuca sativa* L.) belongs to the Asteraceae family. In Thailand, Lettuce is mainly used for consumption. The import of most lettuce seeds from other country. The total of 33,252.4 kgs and 6,584.086 kgs of lettuce seeds from People's Republic of China and United States of America have been imported into Thailand between 2015-2017. Twenty five samples of seeds imported from People's Republic of China and United States of America were collected to plant quarantine laboratory thoroughly inspection by visaul blotter method, dilution plate method, ELISA and PCR. Laboratory result showed the interception of *Ageratina adephora*, *Amaranthus retroflexus*, *Amaranthus viridis*, *Cleome viscosa*, *Eleusine indica*, *Setaria viridis*, *Sonchus arvensis*, *Oxalis corniculata* , *Alternaria tenuis*, *Alternaria raphani*, *Cladosporium* sp., *Curvularia lunata*, *Drechslera halodes*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium oxysporum* and *Ulocladium* sp. No symptoms from seedling symptom test and field inspection

6. คำนำ : ผักกาดหอม มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lactuca sativa* เป็นพืชที่จัดในวงศ์ *Asteraceae* มีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชียและยุโรป ประเทศไทยนิยมปลูกผักกาดหอมเพื่อบริโภค โดยเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่ปลูกส่วนใหญ่เป็นเมล็ดที่นำเข้าจากต่างประเทศ มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากหลายประเทศ เช่น จีน สหรัฐอเมริกา เนเธอร์แลนด์ ฝรั่งเศส อิตาลี ซิลี ญี่ปุ่น เม็กซิโก เบลเยียม และเวียดนาม เป็นต้น ในปี 2557-2559 มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากจีน และสหรัฐอเมริกาในปริมาณที่สูงเป็นอันดับต้น โดยนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากจีน 17 ครั้ง ปริมาณ 69,212 กิโลกรัม และนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากสหรัฐอเมริกา 16 ครั้ง ปริมาณ 6,407 กิโลกรัม (กลุ่มวิจัยการกักกันพืช, 2559) ผักกาดหอมมีศัตรูพืชที่สำคัญหลายชนิด บางชนิดไม่มีรายงานในประเทศไทยและศัตรูพืชที่ร้ายแรง เช่น เชื้อรา *Bremia lactucae*, *Botryotinia fukeliana*, *Cercospora beticola*, *Golovinomyces cichoracearum*, *Pitium ultimum*, *Sclerotinia minor* แบคทีเรีย *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*, *Rhizobium radiobacter*, *Rhizobium rhizogenes* ไวรัส *Alfalfa mosaic virus*, *Broad bean wilt virus*, *Lettuce mosaic virus*, *Tobacco streak virus*, *Tobacco black ring virus*, *Tomato spotted wilt virus* (CABI, 2014) บางชนิดเป็นศัตรูพืชที่สามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์หรือถ่ายทอดทางเมล็ดพันธุ์ได้ เช่น เชื้อรา *Alternaria cichorii*, *Botryotinia fukeliana*, *Cercospora beticola*, *Septoria lactucae* แบคทีเรีย *Pseudomonas cichorii*, *Xanthomonas*

campestris pv. *vitians* ไวรัส *Alfalfa mosaic virus*, *Broad bean wilt virus*, *Lettuce mosaic virus*, *Tomato black ring virus*, *Tobacco ringspot virus*, *Tobacco streak virus* และ *Tomato spotted wilt virus* (CABI, 2014) หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวสามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศไทย จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อเกษตรกรในประเทศและกระทบต่อการส่งออกพืชผักผลไม้ไทยไปยังต่างประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการตรวจสอบศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับพืชนำเข้า เพื่อทราบชนิดแหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืช มีประโยชน์ใช้อ้างอิงทางวิชาการ นำมาพิจารณาหามาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และกำหนดเป็นมาตรการทางด้านกฎหมายและทางวิชาการในการควบคุม การนำเข้า หรือเปลี่ยนแปลงสถานภาพของพืชนำเข้าให้เป็นสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกักตตามพระราชบัญญัติกักพืชต่อไป

7. วิธีดำเนินการ :

- อุปกรณ์

1. คู่มือ เอกสาร หนังสือ วารสาร และ ซีดีรอม CABI
2. อุปกรณ์ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เช่น ถุงพลาสติก มาร์กเกอร์ คัตเตอร์ หลาว
3. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องแก้ว อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี ชุดตรวจสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ ตู้บ่มเชื้อ waterbath ห้องบ่มเชื้อ
4. โรงเรือนปลูกพืชทดสอบ
5. พืชทดสอบ เช่น ต้นยาสูบ
6. คู่มือการจำแนกศัตรูพืช (คู่มือจำแนกวัชพืช คู่มือการจำแนกเชื้อรา)

- วิธีการ

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย เช่น ชีววิทยา วิธีการตรวจศัตรูพืชในเมล็ดพันธุ์ และวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์
2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากด่านตรวจพืช ตามมาตรฐาน International Seed Testing Association (ISTA, 2016)
 - 2.1 การสุ่มตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในกระสอบ หรือภาชนะอื่นๆ ที่มีขนาดบรรจุของภาชนะแต่ละใบเท่าๆกัน โดยมีน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์จำนวน 15 กิโลกรัม ถึง 100 กิโลกรัม
 - 2.1.1 เมล็ดพันธุ์จำนวน 1 – 4 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 3 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ
 - 2.1.2 เมล็ดพันธุ์จำนวน 5 – 8 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 2 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.3 เมล็ดพันธุ์จำนวน 9 – 15 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 1 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.4 เมล็ดพันธุ์จำนวน 16 – 30 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 15 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.5 เมล็ดพันธุ์จำนวน 31 – 59 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 20 ตัวอย่าง ขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.6 เมล็ดพันธุ์จำนวนตั้งแต่ 60 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 30 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากกองใหญ่ที่ไม่อยู่ในภาชนะบรรจุ หรือระหว่างกระบวนการไหลของเมล็ดพันธุ์ โดยมีน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์จำนวนมากกว่า 100 กิโลกรัม

2.2.1 เมล็ดพันธุ์น้ำหนักไม่เกิน 500 กิโลกรัม สุ่มอย่างน้อย 5 ตัวอย่างขั้นต้น

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

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

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

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ ด้วยตาเปล่า สังเกตลักษณะสี ผิว และรูปร่างว่ามีอะไรผิดปกติหรือไม่ มีรอยเจาะ หรือแตกกระเทาะของเมล็ดพันธุ์หรือไม่ และจึงนำเมล็ดพันธุ์ที่สุ่มได้นำไปตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4. ตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4.1 ตรวจสอบและจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชขั้นละเอียดโดยทำการคัดแยกองค์ประกอบทางกายภาพได้แก่ เมล็ดพืชบริสุทธิ์ เมล็ดพืชอื่น และสิ่งเจือปน นำแต่ละส่วนมาชั่งน้ำหนัก แล้วนำมาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืชที่ตรวจพบโดย

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

4.1.2 เปรียบเทียบกับตัวอย่างเมล็ดวัชพืชในพิพิธภัณฑสถานและใช้คู่มือจำแนกเมล็ดพืช

4.1.3 จำแนกโดยปลูกดูลักษณะต่างๆตั้งแต่เริ่มงอกเป็นต้นกล้า ลักษณะใบ ดอก ผล

4.2 ตรวจสอบและจำแนกกลุ่มของแมลงโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology)

4.3 จัดเตรียมตัวอย่างแมลงและไรโดย

4.3.1 นำตัวอย่างแมลงที่เก็บรวบรวมได้มาจัดรูปร่าง (set) บนไม้จัดรูปร่าง (setting board) ตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร์สนิมปักบริเวณด้านหน้าตรงมุมของปีกขวา (บริเวณมุมที่ปีกจรดกัน)

ใช้ปากคีบจัดขาทั้งสามคู่ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดินโดยใช้เข็มหมุดขนาดกลางเป็นตัวยึด ตัวเต็มวัย ขนาด เช่น เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยกระโดด และด้วงที่มีขนาดเล็กให้ติดลงบนกระดาษรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง อุณหภูมิ 50-60°C ใช้เวลา 30 – 60 วัน ขึ้นกับขนาดของแมลง

4.3.2 ทำสไลด์ถาวร แมลงจำพวกปากดูดที่มีขนาดเล็กเช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน แมลง หัวขาว เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอย ต้องนำมาทำสไลด์ถาวร และนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50-60°C เพื่อ จำแนกชนิด

4.3.3 ไร ทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ หยด Hoyer's solution ลง บนสไลด์ 1 หยด ใช้ฟู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้ชัดเจน โดยจัดท่าทางของไรให้อยู่ในท่าคว่ำและท่าตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะต่างๆที่ใช้ในการจำแนก จากนั้นปิดสไลด์ด้วย cover glass ใช้ปากกาเขียนแก้ววงกลมล้อมรอบตัวไรทันทีหลังจากทำสไลด์ เรียบร้อยแล้ว เพื่อสะดวกในการหาตัวไรได้ง่ายขึ้น นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 °C ที่ไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ cover glass ด้วยน้ำยา ทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บ และพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

4.4 ตรวจเชื้อรา เช่น เชื้อรา *Alternaria cichorii*, *Botryotinia fukeliana*, *Cercospora beticola*, *Septoria lactucae* ด้วยวิธี Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003) โดยการนำเมล็ดที่วางไว้ในภาชนะให้ความชื้นไปวางใต้แสง near ultra violet (NUV) โดยให้ แสงสลับกับมืด 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน และตรวจจำแนกชนิดเชื้อรารายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยายต่ำและกำลังขยายสูงต่อไป

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

4.6 ตรวจและจำแนกชนิดไวรัส เช่น *Lettuce mosaic virus* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ ผักกาดหอมด้วยวิธี ELISA หรือ PCR (Polymerase chain reaction) โดยตรวจจากเมล็ดโดยตรงหรือ ตรวจจากต้นกล้าตามวิธีการที่เหมาะสม

5. เพาะเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม เพื่อปลูกสังเกตลักษณะอาการผิดปกติของต้นพืชในโรงเรือน ปลูกพืชของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช ปลูกผักกาดหอมเมื่ออายุได้ 14 วัน สังเกตดูลักษณะอาการบริเวณโคน ต้น ลำต้น ใบเลี้ยง และใบ ของต้นพืช ทำการบันทึกผล กรณีถ้าพบอาการผิดปกติให้นำส่วนของพืชไป ตรวจสอบภายใต้กล้องสเตอริโอและกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง ทำการแยกเชื้อและจำแนกชนิด ศัตรูพืชด้วยวิธีที่เหมาะสมต่อไป

6. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตหรือใน โรงเรือนปลูกพืชของบริษัทนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม โดยติดตามในระยะที่เป็นต้นกล้า อายุประมาณ

14-21 วัน กรณีถ้าพบอาการผิดปกติให้นำส่วนของพืชมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการภายใต้กล้องสโตริโอหรือกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง ทำการแยกเชื้อและจำแนกชนิดศัตรูพืชด้วยวิธีที่เหมาะสมต่อไป

7. จัดทำรายชื่อดีศัตรูพืชและสรุปผล

8. วิเคราะห์ผลสรุปและเขียนรายงาน

- เวลาและสถานที่

เริ่มการทดลอง กันยายน 2558 ถึง ตุลาคม 2560

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

แปลงเกษตรกร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์ :

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย เช่น ชีววิทยา วิธีการตรวจศัตรูพืชในเมล็ดพันธุ์ และวิธีการกำจัด

ศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์

ผักกาดหอม (*Lactuca sativa* L.) เป็นพืชในวงศ์ Asteraceae จัดเป็นสิ่งกักกัด ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกักกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ พ.ศ. ๒๕๕๐ ซึ่งกำหนดให้ส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชในวงศ์ Asteraceae เป็นสิ่งกักกัด และตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 มาตรา 10 ได้ระบุไว้ว่า การนำเข้าหรือนำผ่านสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกักกัดจะต้องนำผ่านทางด่านตรวจพืชเพื่อให้พนักงานเจ้าหน้าที่ตรวจและต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกำหนด แต่เนื่องจากในปัจจุบันยังไม่มีกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม จึงมีความเสี่ยงสูงที่จะมีศัตรูพืชติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศได้

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

แหล่งปลูกผักกาดหอมในประเทศไทย เนื้อที่ปลูกทั้งสิ้น 12,794 ไร่ พื้นที่ปลูก 34 จังหวัด ได้แก่ นนทบุรี ราชบุรี ขอนแก่น ปทุมธานี นครราชสีมา สมุทรสาคร พิษณุโลก นครปฐม เชียงใหม่ สุพรรณบุรี สงขลา กรุงเทพมหานคร อุดรธานี เพชรบูรณ์ นครสวรรค์ สกลนคร หนองคาย นครพนม อุบลราชธานี

ลำพูน น่าน หนองบัวลำภู เลย ตาก ยโสธร บึงกาฬ มุกดาหาร ฉะเชิงเทรา ชัยภูมิ แพร่ นครศรีธรรมราช สุรินทร์ ชัยนาท และลำปาง (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2559)

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากด่านตรวจพืช ตามมาตรฐาน International Seed Testing Association

(ISTA, 2016)

ช่วงเดือน ตุลาคม 2558 – กันยายน 2560 ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่นำเข้าจาก ประเทศจีนปริมาณนำเข้ารวม 33,252.4 กิโลกรัม โดยผ่านทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ ท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ และไปรษณีย์ จำนวน 11 ตัวอย่าง และ สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่นำเข้าจาก ประเทศสหรัฐอเมริกาปริมาณนำเข้ารวม 6,685.69 กิโลกรัม นำเข้าทางด่านตรวจพืชท่าอากาศยาน สุวรรณภูมิ ท่าเรือกรุงเทพฯ และ ลาดกระบัง จำนวน 14 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1 และ 2)

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น

ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่นำเข้าจากประเทศจีน จำนวน 11 ตัวอย่าง และตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่นำเข้าจากประเทศสหรัฐอเมริกา จำนวน 14 ตัวอย่าง เมื่อนำมาตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่า หรือภายใต้แว่นขยายหรือกล้องสเตอริโอและจำแนกศัตรูพืชในเบื้องต้น ผลการตรวจสอบพบมีเมล็ดวัชพืชปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากจีน 8 ชนิด ได้แก่ *Ageratina adaphora*, *Amaranthus retroflexus*, *Amaranthus viridis*, *Cleome viscosa*, *Eleusine indica*, *Setaria viridis*, *Sonchus arvensis* และ *Oxalis corniculata*

4. ตรวจศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่นำเข้าจากประเทศจีน จำนวน 11 ตัวอย่าง และ สหรัฐอเมริกา จำนวน 14 ตัวอย่าง เมื่อนำไปตรวจสอบและจำแนกในห้องปฏิบัติการตามวิธีการมาตรฐานที่เหมาะสม ผลการตรวจเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา *Alternaria tenuis* 8 ครั้ง, *Alternaria raphani* 1 ครั้ง, *Cladosporium* sp. 2 ครั้ง, *Curvularia lunata* 1 ครั้ง, *Drechslera halodes* 1 ครั้ง, *Fusarium semitectum* 2 ครั้ง, *Fusarium oxysporum* 1 ครั้ง และ *Ulocladium* sp. 1 ครั้ง บนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากจีน (รูปที่ 3-9) และ ตรวจพบเชื้อรา *Alternaria tenuis* 1 ครั้ง บนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากสหรัฐอเมริกา (รูปที่ 10) ศัตรูพืชดังกล่าวไม่เป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช ผลการตรวจแบคทีเรียด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่เป็นศัตรูพืชกักกัน ผลการตรวจเชื้อไวรัสด้วยวิธี ELISA และ PCR ไม่พบเชื้อไวรัสที่เป็นศัตรูพืชกักกัน

5. เพาะเมล็ดพันธุ์ เพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติของต้นพืชในโรงเรือนปลูกพืช (Seedling symptom test)

ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่นำเข้าจากประเทศจีน จำนวน 11 ตัวอย่าง และ สหรัฐอเมริกา จำนวน 14 ตัวอย่าง ปลูกเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมในโรงเรือนเพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติของต้น ผักกาดหอม พบว่าต้นกล้าผักกาดหอมปกติ ไม่มีอาการผิดปกติที่เกิดจากเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลาย (รูปที่ 11)

6. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตหรือในโรงเรือนปลูก

พืชของบริษัทนำเข้าเมล็ดพันธุ์

ผลการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชที่ติดมากับผักกาดหอมนำเข้าในแหล่งปลูก จังหวัดนครราชสีมา นครปฐม กาญจนบุรี และราชบุรี จำนวน 11 แปลง ไม่พบศัตรูพืชกักกันพืชที่เป็นศัตรูพืชเป้าหมาย (รูปที่ 12-14)

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากจีนจำนวน 6 ครั้ง 7 ตัวอย่าง น้ำหนัก 17,683.32 กิโลกรัม ทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ และด่านตรวจพืชไปรษณีย์ เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกาจำนวน 10 ครั้ง 16 ตัวอย่าง น้ำหนัก 6,389.638 กิโลกรัม ทางด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ และด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ ผลการตรวจศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบเมล็ดวัชพืช 8 ชนิด ได้แก่ *Ageratina adaphora*, *Amaranthus retroflexus*, *Amaranthus viridis*, *Cleome viscosa*, *Eleusine indica*, *Setaria viridis*, *Sonchus arvensis* และ *Oxalis corniculata* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากจีน และผลการตรวจเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรา *Alternaria tenuis*, *Alternaria raphani*, *Cladosporium* sp., *Curvularia lunata*, *Drechslera halodes*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium oxysporum* และ *Ulocladium* sp. บนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากจีน และตรวจพบเชื้อรา *Alternaria tenuis* บนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมจากสหรัฐอเมริกา ศัตรูพืชดังกล่าวไม่เป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช (ตารางที่ 1) ผลการตรวจแบคทีเรียด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่เป็นศัตรูพืชกักกัน ผลการตรวจเชื้อไวรัสด้วยวิธี ELISA ไม่พบเชื้อไวรัสที่เป็นศัตรูพืชกักกัน ผลการปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom test) ไม่พบอาการผิดปกติ ผลการติดตามตรวจในแปลงปลูกที่ จังหวัดนครราชสีมา นครปฐม กาญจนบุรี และราชบุรีจำนวน 11 แปลง ไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย

กรณีที่พบเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมในปริมาณมาก ได้แนะนำให้บริษัทที่นำเข้าเมล็ดพันธุ์ทำการคลุกสารเคมีก่อนปลูก เนื่องจากเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์อาจมีผลต่ออาการของเมล็ดพันธุ์ได้ และมีการเฝ้าระวังติดตามในแปลงปลูกเพื่อติดตามการติดมาและแพร่กระจายของเมล็ดวัชพืชต่างถิ่น

11. คำขอบคุณ :

ขอขอบคุณ นางสาวศรีวิเศษ เกษสังข์ ที่ช่วยแนะนำแนวทางการวิจัยในครั้งนี้ และพี่ๆน้องๆ ในห้องปฏิบัติการที่ช่วยสนับสนุนในการทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

12. เอกสารอ้างอิง :

กลุ่มวิจัยการกักกันพืช. 2559. หนังสือลงรับเอกสาร ปี 2559 กลุ่มวิจัยการกักกันพืช

- สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.
ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร. 2559. ระบบจัดเก็บและรายงานข้อมูลภาวะการผลิตพืช
รายเดือน ระดับตำบล (รต.) กรมส่งเสริมการเกษตร: <http://production.doae.go.th> (17
พฤษภาคม 2559).
- Blancard, D., H. Lot. and B. Maisonneuve. 2006. A Color Atlas of Disease of
Lettuce and Related Salad Crops Observation, Biology and Control.
Academic Press, San Diego. 375 pp.
- Borror, D.J. 1981. An Introduction to the Study of Insects 827 pages with 672 figures and
12 tables. 827 p.
- CABI. 2014. Crop Protection Compendium (2014 edition). Copyright © 2014 CABI. CAB
International is a registered EU trademark. Available source:
<http://www.cabi.org/CABI/> (site date: April 20, 2014).
- International Seed Testing Association. 2016. International Rules for Seed Testing.
International Seed Testing Association (ISTA). Bassersdorf, Switzerland.
- Kimble, K.A., R.G. Grogan., A.S. Greathead, A.O. Paulus and J.K. House. 1975.
Development, application and comparison of methods for indexing lettuce seed
for mosaic virus in California. Plant Disease Reporter: 59(6):461-464.
- Linda, W. Davis. 1993. Weed Seeds of the Great Plains A Handbook for
Identification. 208 p.
- Mathur, S.B. and O. Kongdal. 2003. Common laboratory seed health testing methods for
detecting fungi. First Edition. ISTA, Rome.
- Richardson, M.J. 1990. An Annotated List of Seed-Borne Diseases. 4 th Ed. International
Seed Testing Association, Zurich.
- Xu, Z.G., A.J. Cockbain, R.D. Woods and D.A. Govier. 1988. The serological relationships are
some other properties of isolates of broad bean wilt virus from faba bean and
pea in China. Annals of Applied Biology. 113(2): 287-296.

13. ภาคผนวก :

ตารางที่ 1 ผลการตรวจวินิจฉัยยีสต์รื้อพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากจีน และสหรัฐอเมริกา

ประเทศ	ปริมาณ (กิโลกรัม)	จำนวน (ครั้ง/ตัวอย่าง)	ศัตรูพืชที่พบ	จำนวน ครั้งที่พบ
China	33,252.4	11	Fungi	
			<i>Alternaria raphani</i>	1
			<i>Alternaria tenuis</i>	8
			<i>Cladosporium</i> sp.	2
			<i>Curvularia lunata</i>	1
			<i>Drechslera halodes</i>	1
			<i>Fusarium semitectum</i>	2
			<i>Fusarium oxysporum</i>	1
			<i>Ulocladium</i> sp.	1
			Weed	
			<i>Ageratina adephora</i>	1
			<i>Amaranthus retroflexus</i>	1
			<i>Amaranthus viridis</i>	1
			<i>Cleome vicosa</i>	1
			<i>Eleusine indica</i>	1
			<i>Setaria viridis</i>	1
			<i>Sonchus arvensis</i>	1
			<i>Oxalis corniculata</i>	1
USA	6,685.69	14	<i>Alternaria tenuis</i>	1
รวม	39,938.09	25		26



รูปที่ 1 ลักษณะเมล็ดพันธุ์ฝักกาดหอมนำเข้าจากจีน



รูปที่ 2 ลักษณะเมล็ดพันธุ์ฝักกาดหอมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา



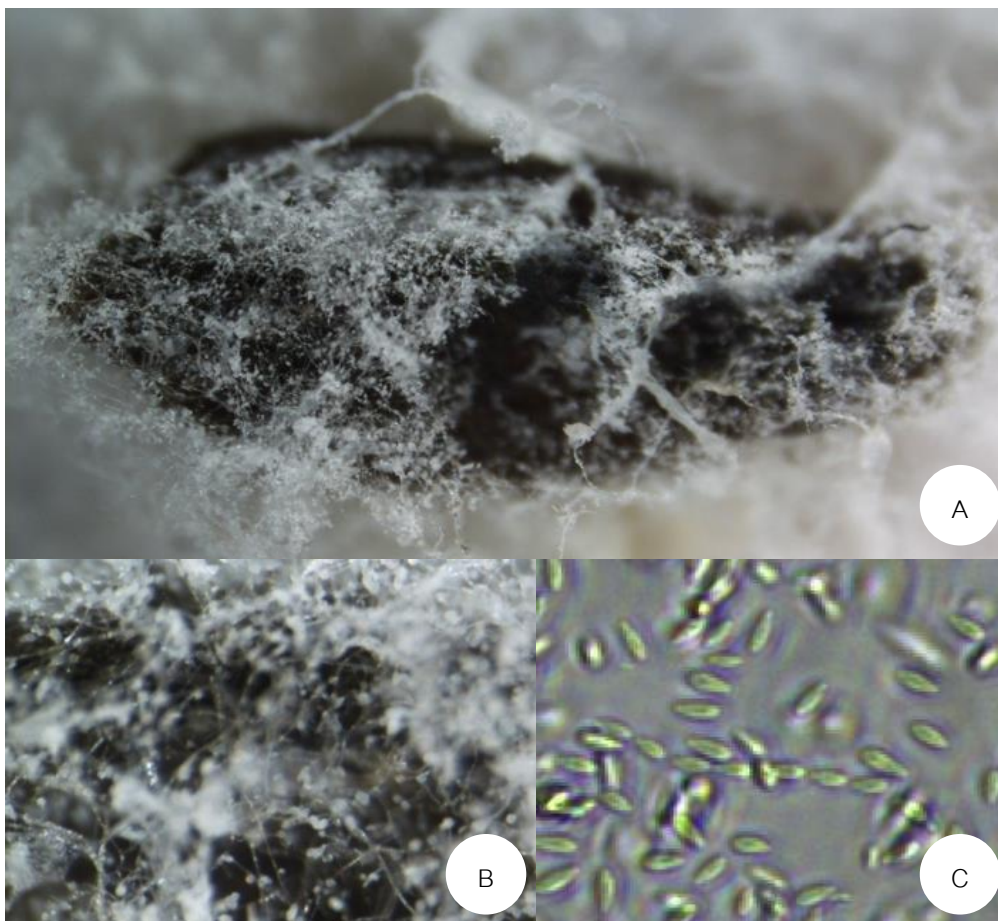
รูปที่ 3 ลักษณะเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม (A) หลังงอก 7 วัน (B-C) ในห้องปฏิบัติการ



รูปที่ 4 เชื้อรา *Alternaria raphani* บนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากจีน ที่กำลังขยาย 30 เท่า (A) ลักษณะก้านชูสปอร์และสปอร์ ที่กำลังขยาย 112.5 เท่า (B) และสปอร์ ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า (C)



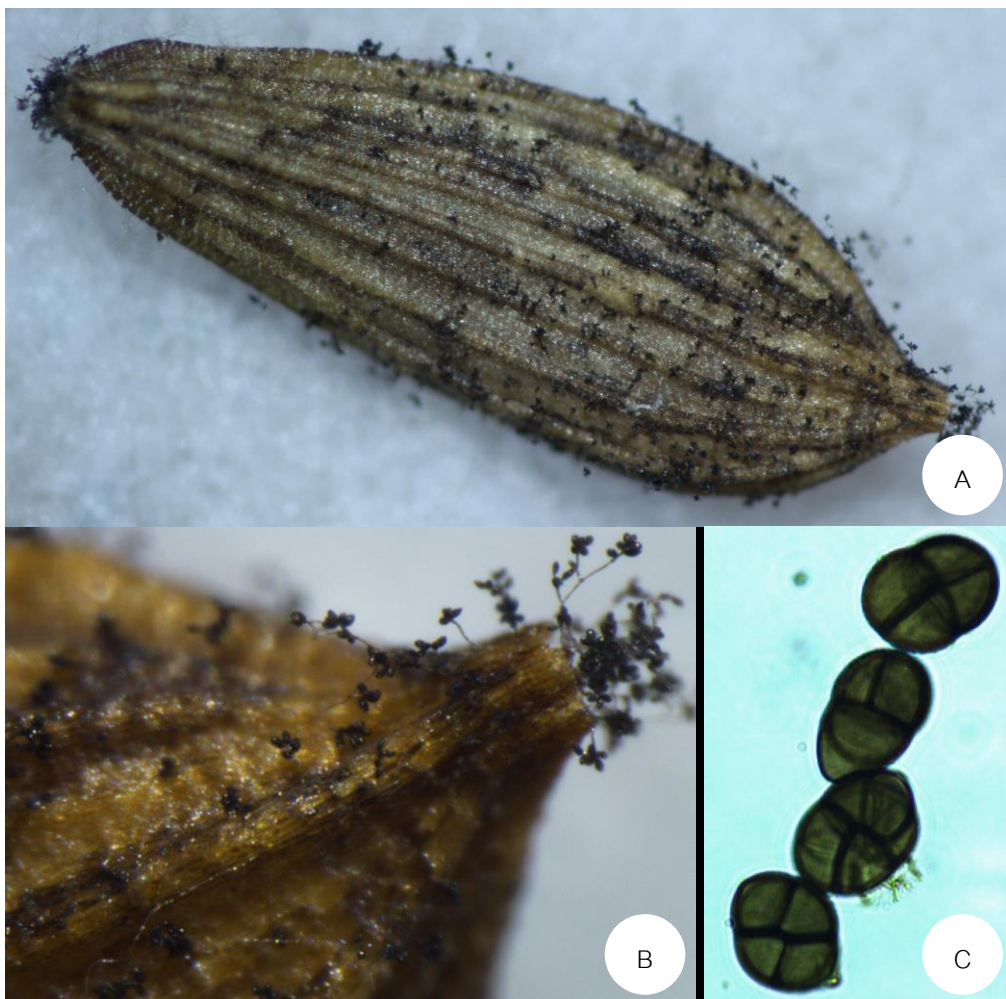
รูปที่ 5 เชื้อรา *Alternaria tenuis* บนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากจีน ที่กำลังขยาย 30 เท่า (A) ลักษณะสปอร์ ที่กำลังขยาย 112.5 เท่า (B) และกำลังขยาย 1,000 เท่า (C)



รูปที่ 6 เชื้อรา *Fusarium oxysporum* บนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากจีน ที่กำลังขยาย 30 เท่า (A) ลักษณะสปอร์ ที่กำลังขยาย 112.5 เท่า (B) และกำลังขยาย 400 เท่า (C)



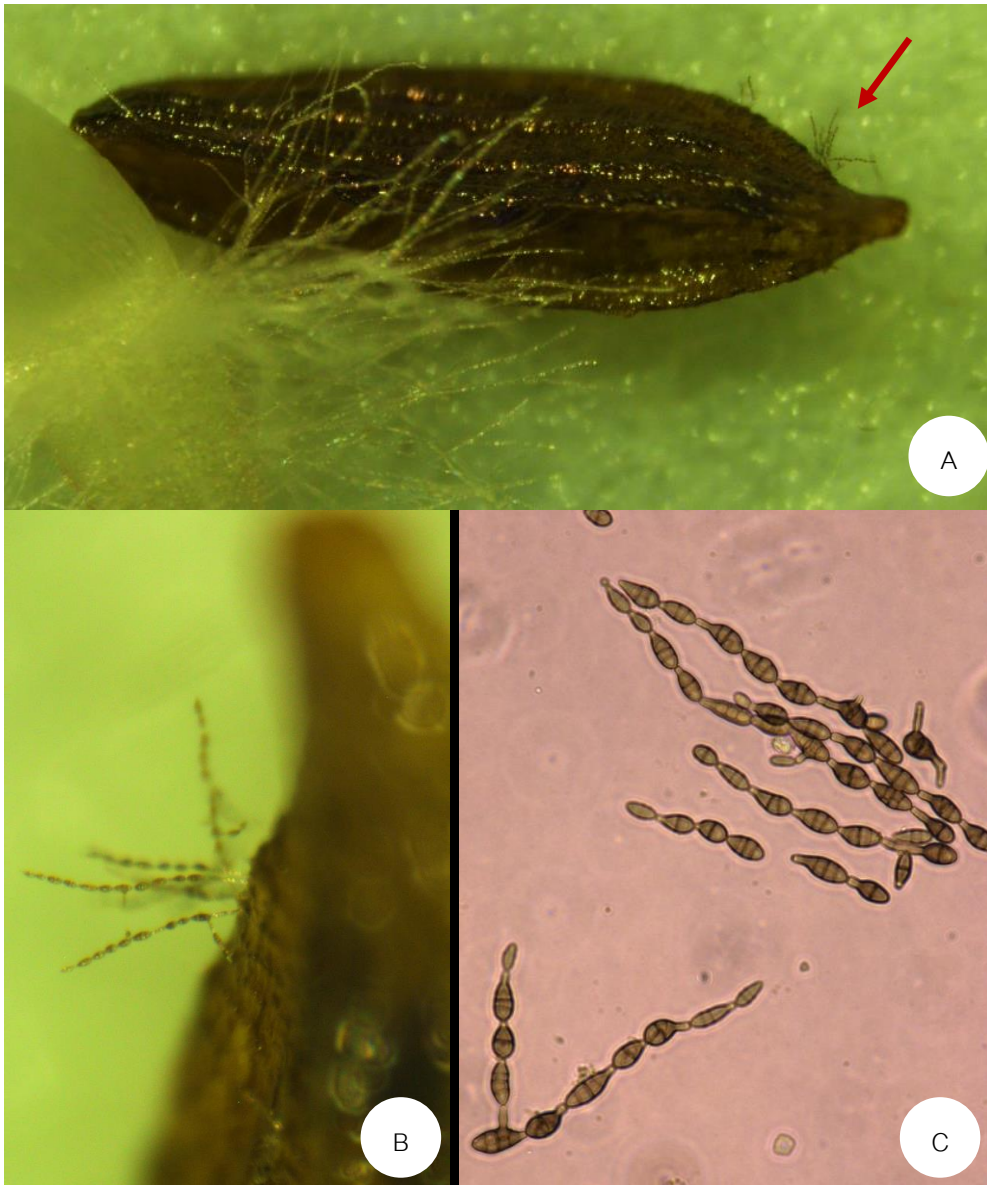
รูปที่ 7 เชื้อรา *Fusarium semitectum* บนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากจีน ที่กำลังขยาย 40 เท่า (A) ลักษณะสปอร์ ที่กำลังขยาย 80 เท่า (B) และกำลังขยาย 1,000 เท่า (C)



รูปที่ 8 เชื้อรา *Ulocladium* sp. บนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมนำเข้าจากจีน ที่กำลังขยาย 40 เท่า (A) ลักษณะสปอร์ ที่กำลังขยาย 112.5 เท่า (B) และกำลังขยาย 1,000 เท่า (C)



รูปที่ 9 เชื้อรา *Cladosporium* sp. บนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม ที่กำลังขยาย 25 เท่า (A,B)
ลักษณะสปอร์ ที่กำลังขยาย 40 เท่า (C) และกำลังขยาย 50 เท่า (D)



รูปที่ 10 เชื้อรา *Alternaria tenuis* บนเมล็ดพันธุ์ฝักกาดหอมนำเข้าจากสหรัฐอเมริกา ที่กำลังขยาย 20 เท่า (A) ลักษณะสปอร์ ที่กำลังขยาย 112.5 เท่า (B) และกำลังขยาย 400 เท่า (C)



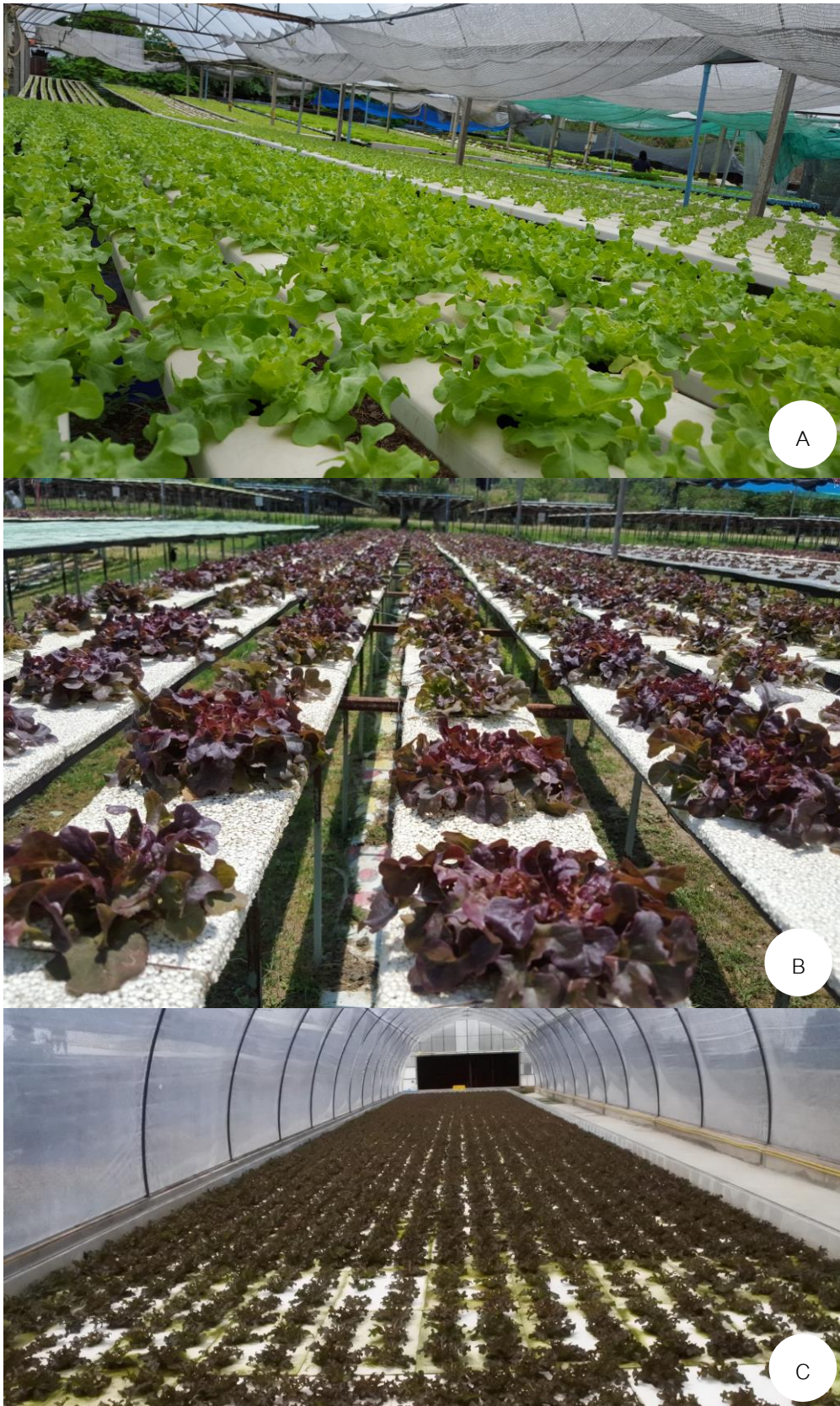
รูปที่ 11 ต้นกล้าผักกาดหอมหลังออก 7 วัน (A,B) และ 14 วัน ในโรงเรือนทดลอง (C)



รูปที่ 12 ผักกาดหอมหลังงอก 7 วัน (A) และ 14 วัน ในแปลงปลูก (B)



รูปที่ 13 ผักกาดหอมหลังงอก 14 วัน (A-F) และ 21 วัน ในแปลงปลูกร (G-K)



รูปที่ 14 ผักกาดหอมหลังปลูก 45 วัน ในแปลงปลูก (A-C)