

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. แผนงานวิจัย : วิจัยและพัฒนามาตรการสุขอนามัยพืชและการเฝ้าระวังศัตรูพืชเพื่อการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร

2. โครงการวิจัย : การศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้า

กิจกรรม : ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชและส่วนของพืชนำเข้าเพื่อขยายพันธุ์

3. ชื่อการทดลอง : ชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ และญี่ปุ่น

: Quarantine pests associated with imported radish Seed
from New Zealand and Japan

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง : นางโสภา มีอำนาจ

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผู้ร่วมงาน : นางสาวชลธิชา รักใคร่

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

นางสาวปรียาพรรณ พงศาพิชณ์

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

นางสาววันเพ็ญ ศรีชาติ

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

นายวานิช คำพานิช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

นางสาวจันทร์พิศ เดชหามาตย์

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

นางสาววาสนา รุ่งสว่าง

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

นางณัฐธิมา โฆษิตเจริญกุล

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

จรัญญา ปิ่นสุภา

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5. บทคัดย่อ : ผักกาดหัว (*Radish, Raphanus sativus* L.) เป็นพืชวงศ์ Brassicaceae ในปี พ.ศ. 2561-2562 มีการนำเข้าจากประเทศนิวซีแลนด์และญี่ปุ่นเป็นปริมาณ 93,802.9 กิโลกรัม และ 10,760.46 กิโลกรัม ตามลำดับ ผลการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ และญี่ปุ่น จำนวน 26 ตัวอย่าง ผลการตรวจสอบเบื้องต้น พบการปนเปื้อนของเมล็ดพืชกับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ 2 ชนิด ได้แก่ *Linum usitatissimum* และ *Gallium* spp. ผลการตรวจสอบเชื้อด้วยวิธีการ blotter method, dilution plate method, ELISA และ PCR ไม่พบแบคทีเรียและไวรัสสาเหตุโรคพืช พบเชื้อรา *Alternaria raphani* *A. brassicicola* *A. alternata* และ *Cladosporium* sp. กับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ และญี่ปุ่น ซึ่งเป็นเชื้อที่มีรายงานในประเทศไทย ส่วนผลการปลูกสังเกตอาการในโรงเรือนกักกันพืช ไม่พบอาการของโรคหรือศัตรูพืชและผลการติดตามตรวจสอบในแปลงปลูกผักกาดหัว สรรวจศัตรูพืชไม่พบศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย

Abstract : Radish (*Raphanus sativus* L.) belongs to the Brassicaceae family. The total of 93,802.9 kgs and 10,760.46 kgs of radish seeds from New Zealand and Japan have been imported into Thailand between 2018-2019. Twenty six samples of seeds imported from New Zealand and Japan were collected to plant quarantine laboratory thoroughly inspection by visaul, blotter method, dilution plate method, ELISA and PCR. Laboratory result showed the interception of *Linum usitatissimum*, *Gallium* spp., *Alternaria alternata*, *A. brassicicola*, *A. raphanin* and *Cladosporium* sp.. No quarantine pest from seedling symptom test and field inspection.

6. คำนำ: ผักกาดหัว (radish) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Raphanus sativus* L.จัดเป็นสิ่งกักกัก ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกักกัก ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 ในปี พ.ศ. 2559 ถึง ปี พ.ศ. 2560 มีการนำเข้ามาเฉลี่ย 10 ครั้งต่อปี มีปริมาณการนำเข้าเฉลี่ยปีละ 80,148.8 กิโลกรัม (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2560) เพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์ขยายบริโภคในประเทศ และเพื่อการค้า จากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชสำคัญของผักกาดหัวจากนิวซีแลนด์และญี่ปุ่น พบว่าผักกาดหัวมีศัตรูพืชที่สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดพันธุ์ ตลอดจนเป็นเชื้อโรคที่สามารถติดกับเมล็ดพันธุ์ได้ ดังนี้ เชื้อรา *Alternaria japonica* และ *Verticillium dahliae* แบคทีเรีย *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* และ วัชพืช *Chenopodium murale*, *Spergula arvensis*, *Senecio vulgaris*, *Cirsium arvense* (Vanacci and Pecchia, 1988; Shahri and Rahimian, 2002; CABI, 2018)

เชื้อรา *Alternaria japonica* เป็นเชื้อสาเหตุของพืชหลายชนิด สามารถเข้าทำลายได้ทุกส่วนของพืช ในส่วนของเมล็ดทำให้เกิดอาการสีเปลี่ยน เมล็ดเป็นแผล อาจทำให้เน่าได้ การแพร่กระจายสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ ทำให้เมล็ดเสียหายได้สูงถึง 80% (Vanacci and Pecchia, 1988; CABI, 2018) สามารถตรวจสอบเชื้อในเมล็ดโดยวิธี Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003)

เชื้อรา *Verticillium dahlia* เป็นสาเหตุโรคในพืชหลายชนิด ทำให้พืชมีอาการเหี่ยว การแพร่กระจายสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ 2-30% (CABI, 2018) สามารถตรวจสอบเชื้อในเมล็ดโดยวิธี Blotter method (Mathur and Kongdal, 2003)

เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* สามารถแพร่กระจายติดไปกับเมล็ดได้ ทำให้เกิดโรคและสร้างความเสียหายในพืชหลายชนิด โดยทำให้เกิดอาการใบจุด รากเน่า ถ้าเป็นในระดับรุนแรงทำให้พืชตายได้ (CABI, 2018) ตรวจสอบโดยวิธี ELISA (Xu *et al.*, 1988) และ Selective medium (Sand *et al.*, 1972; Cupples and Kelman, 1980)

เมล็ดวัชพืช *Chenopodium murale*, *Spergula arvensis*, *Senecio vulgaris*, *Cirsium arvense* มีโอกาสปนเปื้อนติดมากับเมล็ดพันธุ์นำเข้า เมล็ดวัชพืชตรวจสอบโดยใช้แว่นขยาย กล้องสเตอริโอ กล้องจุลทรรศน์วิเคราะห์ชนิดวัชพืชจากเมล็ดโดยใช้คู่มือในการจำแนก (Linda, 1993)

7. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

วิธีการ

1. การสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชเป้าหมาย เช่น ชีววิทยา วิธีการตรวจศัตรูพืชในเมล็ดพันธุ์ และวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์

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

2.1 การสุ่มตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในกระสอบ หรือภาชนะอื่นๆ ที่มีขนาดบรรจุของภาชนะแต่ละใบเท่าๆกัน โดยมีน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์จำนวน 15 กิโลกรัม ถึง 100 กิโลกรัม

2.1.1 เมล็ดพันธุ์จำนวน 1 – 4 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 3 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.2 เมล็ดพันธุ์จำนวน 5 – 8 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 2 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.3 เมล็ดพันธุ์จำนวน 9 – 15 ภาชนะบรรจุ สุ่ม 1 ตัวอย่างขั้นต้น จากแต่ละภาชนะบรรจุ

2.1.4 เมล็ดพันธุ์จำนวน 16 – 30 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 15 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.5 เมล็ดพันธุ์จำนวน 31 – 59 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 20 ตัวอย่าง ขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

2.1.6 เมล็ดพันธุ์จำนวนมากกว่าหรือเท่ากับ 60 ภาชนะบรรจุ สุ่มอย่างน้อย 30 ตัวอย่างขั้นต้น จากภาชนะบรรจุทั้งหมด

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น โดยตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ ด้วยตาเปล่า สังเกตลักษณะสี ผิว และรูปร่างว่ามีอะไรผิดปกติหรือไม่ มีรอยเจาะ หรือแตกกระเทาะของเมล็ดพันธุ์หรือไม่ และจึงนำเมล็ดพันธุ์ที่สุ่มได้นำไปตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4. การตรวจศัตรูพืชขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

4.1 ตรวจสอบและจำแนกชนิดเมล็ดวัชพืช เช่น วัชพืช *Cirsium arvense*, *Lolium temulentum*, *Senecio vulgaris* และ *Spergula arvensis* โดยทำการคัดแยกองค์ประกอบทางกายภาพได้แก่ เมล็ดพืชบริสุทธิ์

เมล็ดพืชอื่น และสิ่งเจือปน นำแต่ละส่วนมาซึ่งหาน้ำหนัก แล้วนำมาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และจำแนกชนิดเมล็ดพืชที่ตรวจพบโดย

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

4.1.2 เปรียบเทียบกับตัวอย่างเมล็ดพืชในพิพิธภัณฑ์และใช้คู่มือจำแนกเมล็ดพืช

4.1.3 จำแนกโดยปลูกดูลักษณะต่างๆตั้งแต่เริ่มงอกเป็นต้นกล้า ลักษณะใบ ดอก ผล

4.2 จำแนกกลุ่มของแมลงโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology)

4.3 จัดเตรียมตัวอย่างแมลงและไรโดย

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

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

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

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

4.5 ตรวจสอบแบคทีเรีย เช่น *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*, *Pseudomonas viridiflava* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์โดยวิธี Dilution plate method และ เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Agar plate method) ตรวจสอบและจำแนกชนิดแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา เช่น Enzyme – linked Immunosorbent Assay (Xu *et al.*, 1988) และ Selective medium (Sand *et al.*, 1972; Cupples and Kelman, 1980)

4.6 ตรวจสอบและจำแนกชนิดไวรัสที่ติดมากับเมล็ดด้วยวิธี ELISA โดยตรวจจากเมล็ดโดยตรงหรือตรวจจากต้นกล้าตามวิธีการที่เหมาะสมกับไวรัสแต่ละชนิด (Xu *et al.*, 1988)

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

5. เพาะเมล็ดพันธุ์ เพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติของต้นพืชในโรงเรือนของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช โดยสังเกตดูลักษณะอาการบริเวณโคนต้น ลำต้น ใบเลี้ยง และใบ ของต้นพืช บันทึกผล กรณีถ้าพบอาการผิดปกติให้นำส่วนของพืชไปทำการแยกเชื้อและจำแนกชนิด

6. ติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตหรือในโรงเรือนเพาะเมล็ดของบริษัทที่นำเข้า จังหวัดราชบุรี กาญจนบุรี นครปฐม และเพชรบูรณ์

7. จัดทำรายชื่อศัตรูพืชและสรุปผล

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกชนิดและลักษณะของศัตรูพืชที่ตรวจพบ
2. บันทึกภาพของศัตรูพืช และลักษณะอาการพืชที่ถูกทำลาย และเก็บตัวอย่างศัตรูพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิชาการ

เวลาและสถานที่

เริ่มต้นดำเนินงานวิจัย ตุลาคม 2560 สิ้นสุด กันยายน 2562

สถานที่ทำการวิจัย

1. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
2. ด้านตรวจพืช เช่น ด้านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ด้านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ด้านตรวจพืชไปรษณีย์ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
3. แปลงปลูกของบริษัทหรือเกษตรกร ในจังหวัด ราชบุรี กาญจนบุรี นครปฐม เพชรบูรณ์ นครราชสีมา ชัยภูมิ

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสืบค้นข้อมูลและตรวจเอกสาร

จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์และญี่ปุ่นเปรียบเทียบกับรายชื่อศัตรูพืชของประเทศไทย พบว่า จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ 9 ชนิด ได้แก่ วัชพืช *Cirsium arvense*, *Lolium temulentum*, *Senecio vulgaris*, *Spergula*

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

2. สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์และญี่ปุ่น ณ ด้านตรวจพืช และทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้า ได้ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ ผ่านทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ และไปรษณีย์ จำนวน 14 ตัวอย่าง ปริมาณนำเข้า 93,802.9 กิโลกรัม และญี่ปุ่น ผ่านทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ และไปรษณีย์ จำนวน 12 ตัวอย่าง ปริมาณนำเข้า 10,760.46 กิโลกรัม (table 1) (figure 1, 2 และ 3)

3. การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น

การตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น เมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ และญี่ปุ่น จำนวน 26 ตัวอย่าง ผลการตรวจศัตรูพืชด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ พบการปนเปื้อนของเมล็ดพืชกับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ 2 ชนิด ได้แก่ *Linum usitatissimum* และ *Gallium* spp. (figure 4-5)

4. ตรวจสอบศัตรูพืชชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ

จากการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ผลการตรวจศัตรูพืชบนเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธี blotter method, dilution plate technique และ ELSA ผลปรากฏว่าการตรวจเชื้อราด้วยวิธีการ blotter method เมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ตรวจพบเชื้อรา *Alternaria raphani* 1 ครั้ง *A. brassicicola* 2 ครั้ง *A. alternata* 2 ครั้ง และ *Cladosporium* sp. 3 ครั้ง เมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากญี่ปุ่นพบเชื้อรา *Alternaria raphani* 1 ครั้ง *A. brassicicola* 2 ครั้ง *A. alternata* 2 ครั้ง และ *Cladosporium* sp. 3 ครั้ง (table 1 และ figure 6-10) ส่วนผลการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธีการ dilution plate technique และ ELSA ตรวจไม่พบเชื้อแบคทีเรียเป้าหมาย (figure 11)

5. ปลูกเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวจากนิวซีแลนด์และญี่ปุ่น ในโรงเรือนปลูกพืช

จากการปลูกเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัว จำนวน 26 ตัวอย่าง เพื่อสังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนต้นพืชในโรงเรือนปลูกพืช (seedling symptom test) ผลการปลูกทดสอบ ต้นกล้าเจริญปกติ ไม่พบอาการที่แสดงถึงการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช เช่น อาการใบด่าง ใบจุด ใบไหม้ ต้นเหลือง แคระแกรน (figure 12)

6. ติดตามตรวจสอบศัตรูพืชภายหลังการนำเข้าในแหล่งปลูก

ติดตามตรวจสอบในแปลงปลูกผักกาดหัวภายหลังการนำเข้าจากนิวซีแลนด์ และญี่ปุ่น จำนวน 18 แปลง ในเขตจังหวัดเพชรบูรณ์ ราชบุรี กาญจนบุรี และนครราชสีมา (figure 13-15) พบแมลง 3 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยอ่อน (*Lipaphis erysimi*) ตัวงหมัดผักแถบลาย (*Phyllotreta flexuosa*) และหนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) พบวัชพืช 4 ชนิด ได้แก่ ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum*) ผักเบี้ยใหญ่ (*Portulaca*

oleracea) ผักโขมหนาม (*Amaranthus spinosus*) ลูกใต้ใบ (*Phyllanthus amarus*) และน้ำนมราชสีห์ (*Euphorbia hirta*) และพบอาการโรคใบจุด (leaf spot) ที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria brassicae* (figure 16)

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ : ข้อมูลศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ มี 9 ชนิด ได้แก่ วัชพืช *Cirsium arvense*, *Lolium temulentum*, *Senecio vulgaris*, *Spergula arvensis* เชื้อรา *Verticillium dahliae* เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*, *Pseudomonas viridiflava* ไล้เตี๋อง น ฝอย *Heterodera shachtii* ศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากญี่ปุ่น มี 8 ชนิด ได้แก่ วัชพืช *Cirsium arvense*, *Lolium temulentum*, *Senecio vulgaris*, *Spergula arvensis* เชื้อรา *Verticillium dahliae* เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* และ *Pseudomonas viridiflava* ศัตรูพืชดังกล่าวยังไม่มีรายงานในประเทศไทย (CABI, 2018) และเป็นศัตรูพืชร้ายแรง ถ้าเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศจะทำความเสียหายให้กับการเกษตรในประเทศได้ ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ โดยผ่านทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ และไปรษณีย์ จำนวน 14 ตัวอย่าง ปริมาณนำเข้า 93,802.9 กิโลกรัม และญี่ปุ่น ผ่านทางด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพ ท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ และไปรษณีย์ จำนวน 12 ตัวอย่าง ปริมาณนำเข้า 10,760.46 กิโลกรัม จากการตรวจสอบเบื้องต้น พบการปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืชกับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ 2 ชนิด ได้แก่ *Linum usitatissimum* และ *Gallium* spp. พบเป็นวัชพืชที่มีรายงานในประเทศไทย (CABI, 2018) ผลการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส และเชื้อราในห้องปฏิบัติการ ไม่พบแบคทีเรียและไวรัสสาเหตุโรคพืช ส่วนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์ตรวจพบเชื้อรา *Alternaria raphani* 1 ครั้ง *A. brassicicola* 2 ครั้ง *A. alternata* 2 ครั้ง และ *Cladosporium* sp. 3 ครั้ง เมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากญี่ปุ่นพบเชื้อรา *Alternaria raphani* 1 ครั้ง *A. brassicicola* 2 ครั้ง *A. alternata* 2 ครั้ง และ *Cladosporium* sp. 3 ครั้ง เชื้อราทั้ง 4 ชนิดนี้เป็นเชื้อราที่สามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ และเข้าทำลายเมล็ดพันธุ์หลังการเก็บเกี่ยวทำให้มีผลต่อคุณภาพการงอกของพืช คำแนะนำถ้าพบมีการปนเปื้อนปริมาณสูงควรมีการจัดการโดยใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา เช่น ไทแรม หรือ iprodione คลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูก (อรพรรณ วิเศษสังข์, 2552) เพื่อให้เมล็ดพันธุ์ยังคงคุณภาพในการงอกและเจริญเติบโต อย่างไรก็ตามเชื้อราชนิดนี้พบมีรายงานในประเทศไทย (CABI, 2018) ไม่ใช่ศัตรูพืชกักกันเป้าหมาย จากนั้นนำเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากนิวซีแลนด์และญี่ปุ่นไปปลูกสังเกตอาการในโรงเรือนกักกันพืช ไม่พบอาการของโรคหรือศัตรูพืชกับต้น และจากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกผักกาดหัวนำเข้า ในจังหวัดราชบุรี กาญจนบุรี เพชรบูรณ์ และนครราชสีมา จำนวน 18 แปลง พบแมลง 3 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยอ่อน (*Lipaphis erysimi*) ตัวงมหัดผักแถบลาย (*Phyllotreta flexuosa*) และหนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) เป็นแมลงที่พบในประเทศไทย (กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2553) พบวัชพืช 4 ชนิด ได้แก่ ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum*) ผักเบี้ยใหญ่ (*Portulaca oleracea*) ผักโขมหนาม (*Amaranthus spinosus*) ลูกใต้ใบ (*Phyllanthus amarus*) และน้ำนมราชสีห์ (*Euphorbia hirta*) เป็นวัชพืชที่มีรายงานในประเทศไทย (Kenji et al., 1984) และพบอาการโรคใบจุดของผักกาดหัว (leaf spot) ที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria brassicae* เป็นเชื้อ

ราที่มีพบในประเทศไทย (กลุ่มวิจัยโรคพืช, 2554) จากการสำรวจศัตรูพืชในแปลงปลูกไม้พุ่มศัตรูพืชกักกัน เป้าหมาย

10. การนำไปใช้ประโยชน์ : ข้อมูลรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวนำเข้าจากประเทศ นิวซีแลนด์และญี่ปุ่น ข้อมูลดังกล่าวสามารถใช้สำหรับอ้างอิงทางวิชาการ เพื่อจัดทำข้อมูลเชิงสัมพันธ์ของศัตรูพืชที่ ติดมากับพืชนำเข้าเพื่อใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนการวิเคราะห์ความเสี่ยงและกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช ป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศ และสามารถหาวิธีป้องกันกำจัดศัตรูพืชก่อนที่จะนำไปเพาะปลูก ต่อไป

11. คำขอบคุณ : ขอขอบคุณพี่น้องๆ ในห้องปฏิบัติการที่ช่วยสนับสนุนในการทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ ด้วยดี

12. เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2553. 17. การป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืชปี 2553. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขา พืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพมหานคร. 303 หน้า.

กลุ่มวิจัยโรคพืช. 2554. 1. โรคผักและการป้องกันกำจัด. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพมหานคร. 153 หน้า.

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2560. สถิติการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศ ปี 2559- 2560. สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. กรุงเทพมหานคร

อรพรรณ วิเศษสังข์. 2552. 1. คู่มือการเลือกใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการ อารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร. 128 หน้า.

Borror D.J. 1981. An Introduction to the Study of Insects 827 pages with 672 figures and 12 tables. 827 p.

CABI. 2018. Crop Protection Compendium (2018 edition). Copyright © 2018 CABI. CAB International is a registered EU trademark. Available source: <http://www.cabi.org/CABI>.

Cuppels D.A. and A. Kelman, 1980. Isolation of pectolytic fluorescent pseudomonads from soil and potatoes. *Phytopathology*, 70(11):1110-1115.

Kenji N., M. Teerawatsakul, C. Prakongvongs and L. Chaiwirtnukul. 1984. Major weeds in Thailand. National weed science research institute project. Thailand.142 p.

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 Method for

- Detecting Fungi. Copenhagen. Denmark. 425 pp.
- Sands, D.C., L. Hankin and M. Zucker, 1972. A selective medium for pectolytic fluorescent Pseudomonads. *Phytopathology*, 62:998-1000.
- Shahriari D. and H. Rahimian, 2002. Occurrence of bacterial leaf spot and blight of cucurbits in Varamin and evaluation of the resistance of some cultivars and lines of cucumber to the disease. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 38:1-2.
- Vannacci G. and S. Pecchia, 1988. Location and transmission of seed-borne *Alternaria raphani* Groves and Skolko in *Raphanus sativus* L.: a case study. *Archiv fur Phytopathologie and Pflanzenschutz*, 24(4):305-315.
- 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

Table 1. Pest associated with radish seeds.

Country	Quantity (Kg)	Consignment	Scientific name	Time
New Zealand	93,802.9	14	<i>Alternaria raphani</i>	1
			<i>Alternaria brassicicola</i>	2
			<i>Alternaria alternata</i>	2
			<i>Cladosporium</i> sp.	3
			<i>Linum usitatissimum</i>	1
			<i>Galium</i> spp.	1
Japan	10,760.46	12	<i>Alternaria raphani</i>	1
			<i>Alternaria brassicicola</i>	2
			<i>Alternaria alternata</i>	2
			<i>Cladosporium</i> sp.	3
Total	114,964.81	26		



Figure 1. Seed sampling.

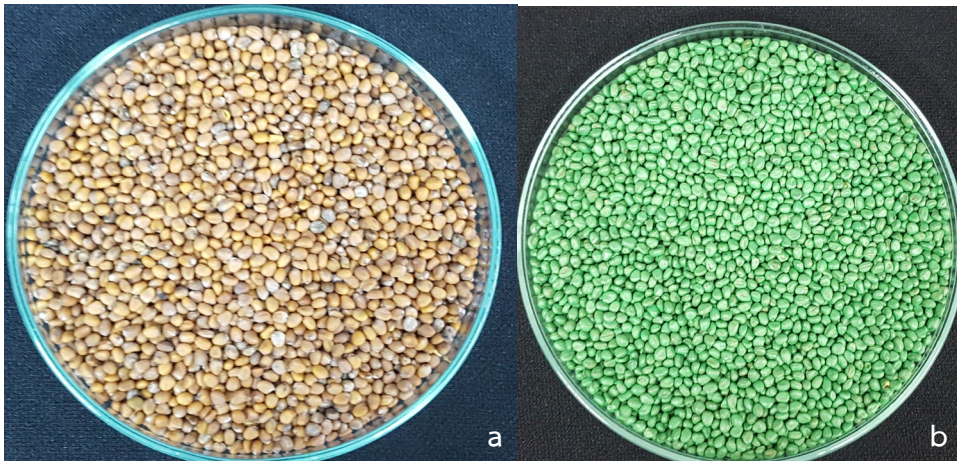


Figure 2. Radish seeds from New Zealand (a, b).



Figure 3. Seed samples packed in cans (a, b) and radish seeds from Japan (c).



Figure 4. Visual inspection (a, b).

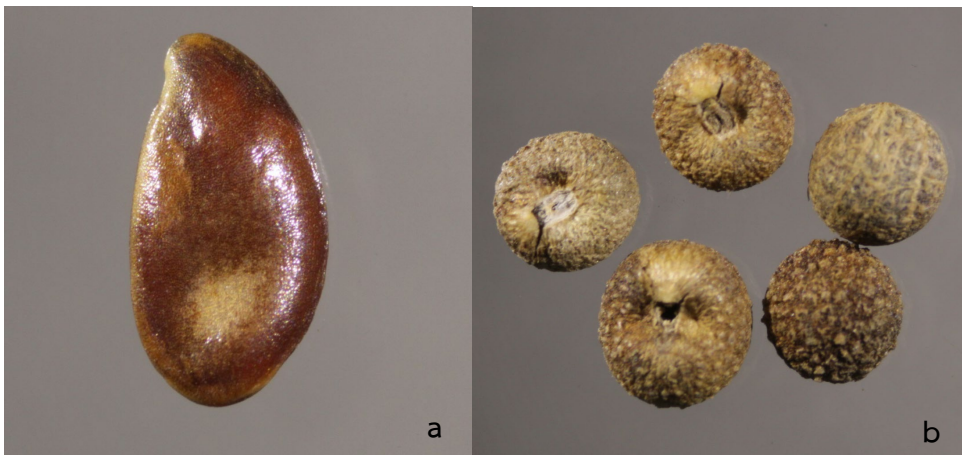


Figure 5. *Linum usitatissimum* (a) and *Galium* spp.(b) associated with imported radish seed.



Figure 6. Blotter method. A sample of 400 seeds, 25 seeds in each petri. Incubation facilities: shelf, light arrangements and trays with petri dishes.



Figure 7. Examine the habit character of fungi on the seed under stereomicroscope (a) and compound microscope (b).

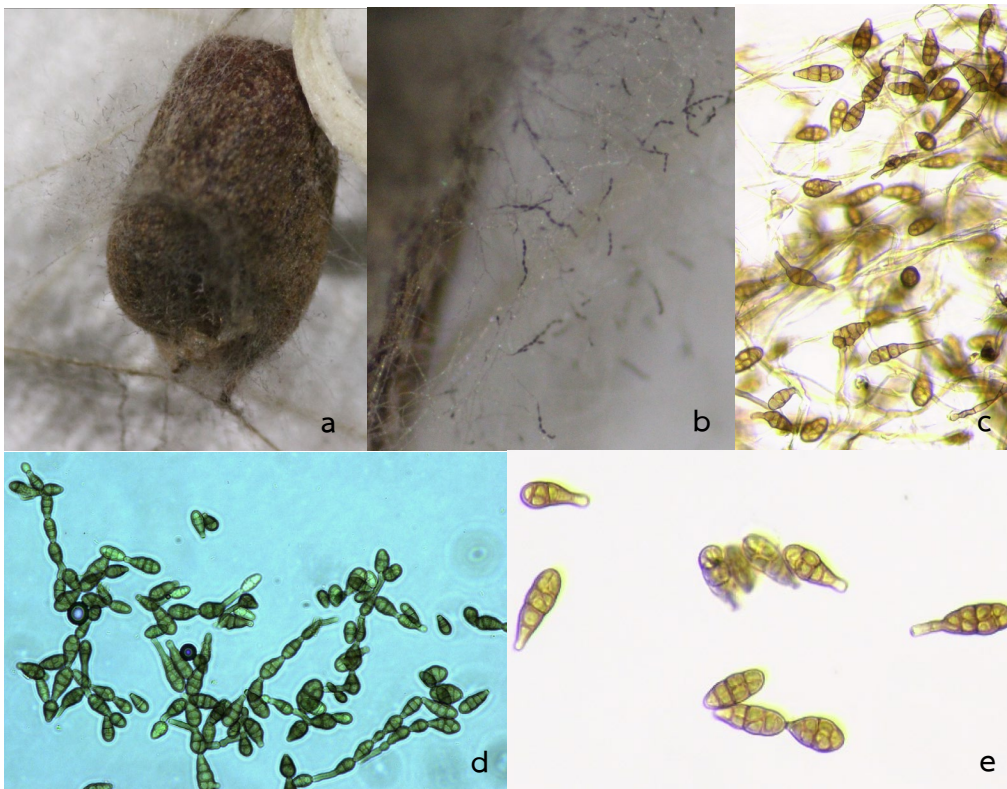


Figure 8. Habit characters of *Alternaria alternata* on a radish seed (a, x20; b, x50). Conidia of *Alternaria alternata* (c and d, x 200; and e, x 400).

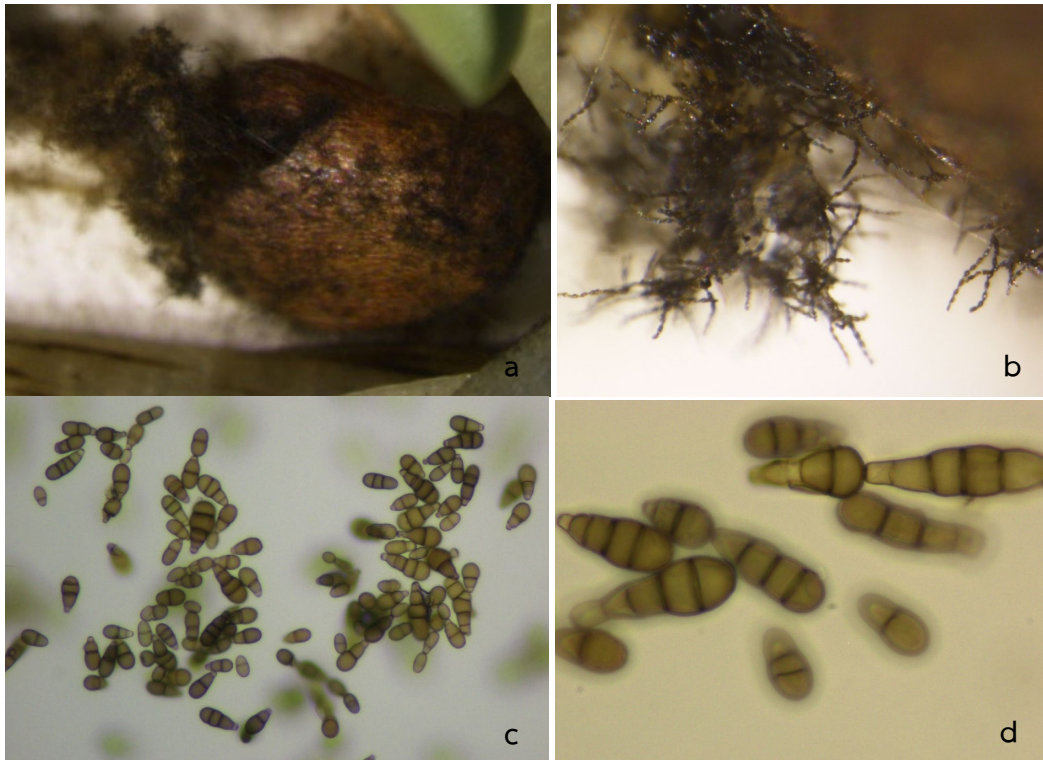


Figure 9. Habit characters of *Alternaria brassicicola* on a radish seed (a, x 20; b, x100).
Conidia of *Alternaria brassicicola* (c, x 400; d , x 1000).

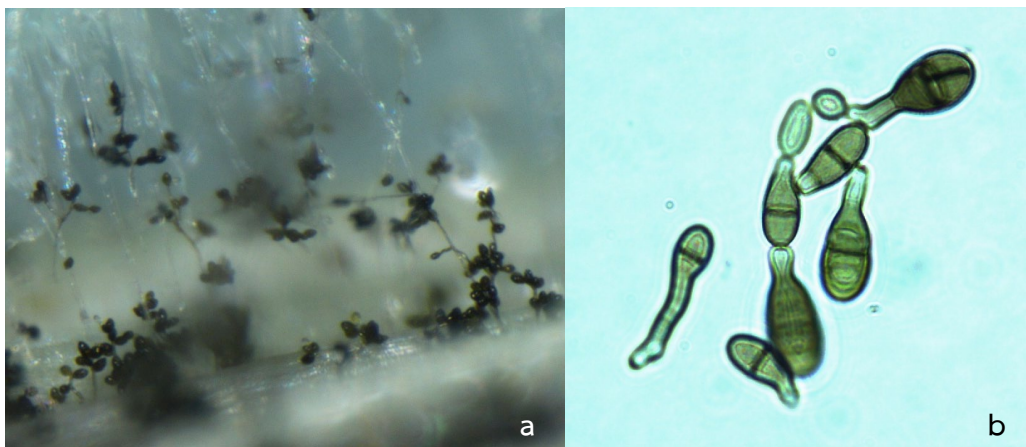


Figure 10. Habit characters of *Alternaria raphani* on a radish seed (a, x 125). Conidia of *Alternaria raphani* (b, x 1000).



Figure 11. Dilution technique.



Figure 12. Seedling symptom test.



Figure 13. Field inspection (Petchapun province).



Figure 14. Field inspection (Ratchaburi province).



Figure 15. Field inspection (Nakhon Ratchasima province).



Figure 16. *Lipaphis erysimi* (a), *Phyllotreta flexuosa* (b), *Plutella xylostella* (c), *Trianthema portulacastrum* (d), *Partulaca oleracea* (e), *Amaranthus spinosus* (f), *Phyllanthus amarus* (g), *Euphobia hirta* (h), leaf spot on radish (i) and conidia of *Alternaria brassicae* (j).