

## รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. ชุดโครงการวิจัย	วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช	
2. โครงการวิจัย	วิจัยการกักกันพืช	
กิจกรรม	การศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชนำเข้า	
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)	การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าจากต่างประเทศ	
ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ)	Interception of Quarantine Pest in Imported Tomato Seeds Consignments	
4. คณะผู้ดำเนินงาน		
หัวหน้าการทดลอง	ชลธิชา รักไคร่	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ผู้ร่วมงาน	ศรวิเศษ เกษสังข์	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	วันเพ็ญ ศรีชาติ	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	วานิช คำพานิช	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	โสภา มีอำนาจ	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

### 5. บทคัดย่อ

การศึกษาชนิดศัตรูพืชกักกันที่ติดเข้ามาพร้อมกับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้า ซึ่งในปี 2556 - 2557 มีการนำเข้ารวม 14,212 กิโลกรัม จากญี่ปุ่น สาธารณรัฐประชาชนจีน สหรัฐอเมริกา ชิลี ฝรั่งเศส เม็กซิโก อิตาลี อินเดีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ แอฟริกาใต้ เนเธอร์แลนด์ อิสราเอล สเปน เปรู เกาหลีใต้ เมียนมาร์ ลาว และไต้หวัน สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศทุกครั้งที่มีการนำเข้า ได้ตัวอย่างจำนวน 95 ตัวอย่าง นำมาตรวจสอบสุขภาพเมล็ดพันธุ์ โดยตรวจสอบเบื้องต้นด้วยตาเปล่า ตรวจสอบด้วยแว่นขยาย ตรวจสอบโดยวิธี Blotter test, Dilution plate technique และ seedlings symptom test ผลการตรวจพบเชื้อรา จำนวน 12 ชนิด ได้แก่ *Alternaria raphani*, *Alternaria tenuis*, *Cladosporium* sp., *Chaetomium* sp., *Curvularia lunata*, *Curvularia pallescens*, *Dreschlera halodes*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium solani*, *Ulocladium* sp., *Macrophomina* sp. และ *Phoma* sp. ผลการตรวจด้วยวิธี Dilution plate technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่สำคัญด้านกักกันพืช และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคบนต้นพืชในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นมะเขือเทศ ซึ่งศัตรูพืชที่พบทั้งในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและตรวจสอบในสถานกักพืชแล้วไม่ใช่ศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย

## 6. คำนำ

ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 ภายใต้พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กำหนดให้มะเขือเทศเป็นสิ่งต้องห้าม (Prohibited material) การนำเข้าต้องแจ้งการนำเข้า และมีใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทางกำกับมาพร้อมกับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้า โดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยกำหนดไว้แต่อย่างใด การนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศจึง มีโอกาสที่ศัตรูพืชหลายชนิดที่อาจเป็นศัตรูพืชกักกันที่ร้ายแรงหรือศัตรูพืชที่สำคัญที่ก่อความเสียหายกับผลิตผลทางการเกษตรติดเข้ามา กับเมล็ดพืชผัก (ศักดิ์, 2537) ที่ให้เกษตรกรเพาะปลูกกระจายทั่วประเทศไทย โดยในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เหล่านี้ในปริมาณมาก หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว สามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศไทย จะก่อให้เกิดผลกระทบทำความเสียหายต่อการเกษตรในประเทศและกระทบต่อการส่งออกสินค้าเกษตรด้านพืชของไทยไปยังประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการตรวจสอบศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับพืชนำเข้า เพื่อให้ทราบชนิด แหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืช มีประโยชน์ใช้อ้างอิงทางวิชาการ นำมาพิจารณาหามาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ (FAO, 2004) และกำหนดเป็นมาตรการทางด้านกฎหมายและทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้า ตามพระราชบัญญัติกักพืชต่อไป

## 7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์
  1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ นำเข้าจากต่างประเทศ
  2. กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope และ compound microscope
  3. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
  4. สารเคมีตรวจสอบเชื้อโรคพืช
  5. ภาชนะเก็บตัวอย่างพืช
  6. ชุดตรวจสอบศัตรูพืช ( ELISA Kit)
  7. หนังสือ และวารสารทั้งในประเทศและต่างประเทศ
  8. สถานกักพืช

- วิธีการ

## 1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของมะเขือเทศ และข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเทอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของมะเขือเทศ ลักษณะทั่วไปของพืช สายพันธุ์ พื้นที่การเพาะปลูก รายชื่อของประเทศที่ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืชทั้งนอกประเทศและในประเทศ

## 2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าในห้องปฏิบัติการ

ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ ที่นำเข้าจากต่างประเทศมาทำการตรวจวินิจฉัยโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่า(Visual inspection)และภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลง เมล็ดวัชพืช หรือลักษณะเมล็ดต่าง มีสีดำ บิดงอ ขนาดเล็ก ที่มีสาเหตุจากเชื้อโรค

2.2 การสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 2007) และตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ นำเข้า

### 2.2.1 การตรวจสอบเชื้อรา

#### 1) การตรวจสอบสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะยังไม่งอก (Dry seed examination)

โดยตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์เชื้อราหรือศัตรูพืชอื่นๆ ซึ่งปะปนมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เช่นเมล็ดพันธุ์มีรูปร่างผิดปกติ หรืออาจติดมา ภายในเมล็ดพันธุ์โดยไม่แสดงอาการ รวมทั้งอาจติดมากับเศษพืชในลักษณะเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์เช่น Pycnidia เป็นต้น

#### 2) การตรวจสอบสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะเมล็ดงอก

สุ่มตัวอย่างเมล็ดตามวิธีการมาตรฐาน ในปริมาณที่เหมาะสมวิเคราะห์โดยสุ่มแยกตามสายพันธุ์ มาทดสอบด้วยวิธี Blotter method โดยวางเมล็ดลงบนกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จำนวน 3 แผ่นที่ชุ่มน้ำซึ่งวางอยู่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วางเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ 10 เมล็ดต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวน 200 เมล็ด จากนั้นนำจานเพาะเมล็ดไปบ่มเชื้อ (incubate) ใต้แสง near ultraviolet (NUV) สลับกับความมืด 12/12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ  $28 \pm 2$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอไมโครสโคป (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope)

## 2.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

### 1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

ในกรณีที่เชื้อติดมาในปริมาณมากจะสามารถแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรงหลังจากทำการแยกเชื้อด้วยวิธี Blotter method ได้ หรือทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate โดยสุมเมล็ดตามมาตรฐาน นำมาแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที ล้างตามด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสมดู่เขี่ยเชื้อ เมื่อได้เมล็ดพันธุ์จึงนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบด แล้วนำผงของเมล็ดใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ (0.85% NaCl) หรือบัฟเฟอร์ จำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยวางบนเครื่องเขย่า จากนั้นนำมาทำให้เจือจางในอาหารเหลว Nutrient broth ให้มีความเจือจางเป็น  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  และ  $10^{-5}$  ตามลำดับ ใช้ไปเตร็ดชุด suspension แต่ละความเข้มข้น จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) แล้วใช้แท่งแก้วลนไฟฆ่าเชื้อ spread ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

### 2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ดผิปกติ

โดยการเพาะเมล็ดในดินหนึ่งฆ่าเชื้อ โดยเพาะ 25 - 50 เมล็ดต่อถุง และเก็บถุงเพาะที่อุณหภูมิ 28 - 30 องศาเซลเซียส รดน้ำเข้าเยื่อในโรงเรือนกักกันพืช ของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช เมื่อต้นกล้าออกใบจริง 1 - 2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิปกติบนพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชุ่มชื้นเป็นเวลา 3 - 5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิปกติบนใบ กิ่ง ลำต้น โคนต้น และราก เก็บส่วนของพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

2.1) วิธี Dilution plate ตัดใบพืชที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2 - 3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสมดู่เขี่ยเชื้อ แล้วบดชิ้นส่วนในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาทำให้เจือจางเป็นลำดับจาก  $10^{-1}$  ถึง  $10^{-5}$  และดำเนินการเช่นเดียวกับ ขั้นตอนในข้อ (1)

2.2) วิธี Tissue transplanting ตัดใบพืชเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด  $2 \times 2$  มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2 - 3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสมดู่เขี่ยเชื้อแล้ววางชิ้นพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA หรืออาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง (semiselective media) นำจานเลี้ยงเชื้อไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จึงนำมาตรวจสอบหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรียเก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจนครบ 3 - 5 วัน เพื่อตรวจหาโคโลนีของแบคทีเรียชนิดอื่นจากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และนำไปศึกษาคุณลักษณะเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

## การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

1. ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน
2. ทดสอบแกรม (Gram reaction) โดยใช้สารละลายโปรแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (3 % KOH) ที่เตรียมใหม่ใช้ภายใน 2 สัปดาห์ หากตรวจพบเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) มีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) และแกรมบวก (Gram positive) รูปร่างแบบ Coryneform rod ก็จะไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป
3. ทดสอบ hypersensitivity reaction บนยาสูบ โดยการฉีดสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรีย อายุ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น  $10^8$  โคโลนีต่อมิลลิลิตร เข้าไปในใบยาสูบ (*Nicotiana tabacum* L.) บริเวณใต้ใบ โดยฉีดเข้าเนื้อใบระหว่างเส้นใบ สังเกตลักษณะอาการเซลล์ตายตรงเนื้อใบหลังการฉีดเชื้อ 24 - 48 ชั่วโมง หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลตดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรครูปิซ
4. ทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical properties) เช่นการใช้น้ำ การย่อยเจลาติน การย่อยเอสคูลินและแบ่ง reduce ในเตรต ความการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ (Schaad *et al.*, 2001) เป็นต้น
5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคนิพพิซ (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น  $10^8$  โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลุกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่นปลุกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยงหรือเนื้อใบของต้นมะเขือเทศ อายุ 2-3 สัปดาห์ ฉีดพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ในที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจสอบลักษณะอาการโรคหลังปลุกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็นโรคนำแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่
6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

### 2.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

- 1) ปลุกสังเกตลักษณะอาการโรคนต้นกล้า (Seedling symptom test) โดยเฉพาะเมล็ดพันธุ์ในดินอบฆ่าเชื้อ ตัวอย่าง 50 - 200 เมล็ด เก็บรักษาไว้ในโรงปลูกพืชกันแมลงเมื่อต้นพืชออกใบจริง 1 - 2 ใบ จึงตรวจสอบลักษณะอาการโรค ต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ สงสัยว่ามีสาเหตุจากเชื้อไวรัสจะนำไปอ่อนไปตรวจสอบด้วยวิธีการอื่นเพื่อจำแนกชนิดต่อไป
- 2) ปลุกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) เตรียมน้ำคั้นพืชสำหรับทดสอบโดยบดใบพืชที่แสดงอาการผิดปกติในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ตรวจสอบเชื้อไวรัสใช้ 0.1 M phosphate buffer pH 7.0) โดยใช้ใบ

พืชหนัก 1 กรัมต่อบัพเฟอร์ 2 มิลลิลิตร ในสภาพเย็น จากนั้นใช้สำลีหรือน้ำที่สะอาดจุ่มน้ำคั้นพืชทาลงบนใบพืชทดสอบ ซึ่งโรยด้วยผงคาร์โบรันดัม (carborundum ขนาด 600 mesh) หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 5 นาที ล้างใบพืชและนำพืชทดสอบไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 - 30 องศาเซลเซียส สังเกตลักษณะอาการบนพืชทดสอบหลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 1 - 4 สัปดาห์ โดยพืชทดสอบจะแสดงอาการแผลเฉพาะแห่ง (local lesion) หรืออาการแบบกระจายทั่วลำต้น (systemic infection)

3) การตรวจสอบด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา (Serological techniques) การตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme - linked Immunosorbent Assay: ELISA เป็นวิธีตรวจสอบเชื้อไวรัสที่มีความไวสูง แม้จะมีเชื้อไวรัสปริมาณต่ำหรืออนุภาคแตกหักก็สามารถตรวจได้ ให้ผลรวดเร็ว แม่นอน และยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมาก วิธีการที่นำมาใช้เป็นแบบ Indirect ELISA ทำการบันทึกผล

### 3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์นำเข้าไปในพื้นที่ของเกษตรกร

ทำการติดตามตรวจสอบต้นพืชที่มีการนำเมล็ดพันธุ์นำไปเพาะปลูกในแปลงปลูกของเกษตรกรตามภาคต่างๆ โดยสังเกตอาการความผิดปกติของต้นพืชทั้ง โคนต้น ราก ลำต้น ใบและผลของพืช และทำการสุ่มเก็บตัวอย่างอาการดังกล่าว นำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง แยกเชื้อ จัดจำแนกชนิดของเชื้อ และทดสอบการเกิดโรคกับพืชในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวินิจฉัยเชื้อโรคศัตรูพืชอย่างละเอียด เช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 2

- เวลาและสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2555 - กันยายน 2557 (2 ปี)

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช ด้านตรวจพืช และและแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

## 8. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

### 1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของมะเขือเทศ และข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

มะเขือเทศ จัดเป็นพืชผักที่จัดอยู่ในวงศ์ Solanaceae (Solannaceae) ซึ่งได้แก่ พริก มะเขือเทศ มันฝรั่ง และยาสูบ ฯลฯ มีแหล่งกำเนิดอยู่ในแถบตอนกลางของทวีปอเมริกาและแถบภูเขาแอนดีสในอเมริกาใต้แถบประเทศเปรู ชิลี และเอกวาดอร์ประเทศที่มีการผลิตมะเขือเทศสูงที่สุดในโลก คือ สาธารณรัฐประชาชนจีน รองลงมาคือ อินเดีย และสหรัฐอเมริกา เป็นต้น แหล่งปลูกมะเขือเทศที่นำเข้าไปที่สำคัญในประเทศไทย ได้แก่ สกลนคร, ขอนแก่น, อุตรดิตถ์ และกาฬสินธุ์ ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากต่างประเทศ ในปี 2556 - 2557 ปริมาณ 14,212 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 826.72 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2555 - 2557)

**ศัตรูพืชที่พบเข้าทำลาย** มีสิ่งมีชีวิตที่เป็นศัตรูพืชรวม ทั้งสิ้น 490 ชนิด คือเชื้อรา 96 ชนิด แบคทีเรีย 30 ชนิด ไวรัส 46 ชนิด ไล้เดือนฝอย 40 ชนิด โปรโตรซัว 2 ชนิด แมลง 212 ชนิด ไร 10 ชนิด หอย 1 ชนิด และวัชพืช 53 ชนิดชนิดที่จัดเป็นศัตรูพืชกักกัน(Anonymous, 2006) และยังมีรายงานในประเทศไทยเช่น *Pseudomonas corrugate*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* Potato spindle tuber viroid , *Citrus exocortis viroid*, (CABI, 2007)

## 2.การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขึ้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ นำเข้าจากต่างประเทศใน ห้องปฏิบัติการ

### 2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้ามาจากทุกประเทศในเบื้องต้น พบว่าลักษณะของเมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด ซึ่งจากการตรวจเอกสารและการสังเกตเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากบางประเทศ มีการคลุกสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์พืชที่นำเข้ามาด้วย

**2.2 ได้สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าจากต่างประเทศจำนวน 19 ประเทศ ได้แก่** ประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา ชิลี ฝรั่งเศส เม็กซิโก อิตาลี อินเดีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ แอฟริกาใต้ สาธารณรัฐประชาชนจีน เนเธอร์แลนด์ อิสราเอลแอฟริกาใต้ สเปน เปรู ลาว พม่า และ ไต้หวัน ผลการตรวจพบ**เชื้อราที่ติดกับมะเขือเทศ** ที่นำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *Alternaria raphini*, *Alternaria tenuis*, *Cladosporium* sp., *Chaetomium* sp. จาก**อินเดีย** พบเชื้อรา จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Dreschlera halodes*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium solani*, *Ulocladium* sp., *Macrophomina* sp. และ *Phoma* sp. เมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากอินโดนีเซีย พบ เชื้อรา จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Curvularia lunata*, *Curvularia pallescens* ไม่พบเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับพืชที่ปลูกสังเกตอาการ

### 3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์นำเข้าในพื้นที่ของเกษตรกร

จากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากต่างประเทศ ในภาคเหนือ 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดสกลนคร อุตรธานี และขอนแก่น พบอาการโรคบนใบของมะเขือเทศ ได้แก่ จำนวน 3 โรค ได้แก่ โรคเหี่ยวเขียว จากเชื้อ *Pseudomonas solanacearum* โรคใบจุดจากเชื้อสาเหตุ *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* และโรคใบด่าง เชื้อสาเหตุ *Cucumber mosaic virus* ซึ่งศัตรูพืชที่พบทั้งในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและตรวจสอบโรคในแปลงปลูก **ไม่ใช่ศัตรูพืชด้านกักกันพืช**ของประเทศไทย

## 9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ผลการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ พบว่าลักษณะของเมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด ซึ่งจากการตรวจเอกสารและการสังเกตเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้ามาจากบางประเทศ มีการคลุกสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้ามาด้วย

ได้สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ ผลการตรวจพบเชื้อราที่ติดกับมะเขือเทศ ที่นำเข้ามาจากสาธารณรัฐ-ประชาชนจีน จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *Alternaria raphani*, *Alternaria tenuis*, *Cladosporium* sp., *Chaetomium* sp จากอินเดีย พบเชื้อรา จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Dreschlera halodes*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium solani*, *Ulocladium* sp., *Macrophomina* sp. และ *Phoma* sp เมล็ดพันธุ์ที่นำเข้ามาจากอินโดนีเซีย พบเชื้อรา จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *Curvularia lunata* และ *Curvularia pallens* ไม่พบเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับพืชที่ปลูกสังเกตอาการในสถานกักกันพืช จากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้ามาจากต่างประเทศ ในภาคเหนือ 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัด สกลนคร อุตรดิตถ์ และขอนแก่น พบอาการโรคบนใบของมะเขือเทศ ได้แก่ จำนวน 3 โรค ได้แก่ โรคเหี่ยวเหี่ยว จากเชื้อ *Pseudomonas solanacearum* โรคใบจุดจากเชื้อสาเหตุ *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* และโรคใบด่าง เชื้อสาเหตุ *Cucumber mosaic virus* ซึ่งศัตรูพืชที่พบทั้งในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและตรวจสอบโรคในแปลงปลูก ไม่ใช่ศัตรูพืชด้านกักกันพืชของประเทศไทย

## 10. การนำผลงานไปใช้ประโยชน์

- 10.1 ได้ข้อมูลศัตรูพืชที่เก็บไว้เป็นหลักฐานทางวิชาการ
- 10.2 สามารถเผยแพร่ข้อมูลศัตรูพืชและศัตรูพืชกักกันที่สำคัญของพืชนำเข้าให้กับเจ้าหน้าที่ของรัฐและภาคเอกชนที่เกี่ยวข้อง
- 10.3 ทำให้การปฏิบัติงานกักกันพืชรัดกุมมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นสามารถป้องกันศัตรูพืชร้ายแรงและรุกรานชนิดใหม่จากต่างประเทศมิให้ระบาดเข้ามาทำลายการเกษตรของประเทศไทย
- 10.4 สามารถกำหนดมาตรการกักกันพืชได้อย่างรัดกุมมีประสิทธิภาพและโปร่งใสสอดคล้องกับข้อตกลงระหว่างประเทศ
- 10.5 นำผลการวิจัยมาดำเนินการปรับปรุงแก้ไขกฎหมายกักกันพืช โดยจัดทำปรับปรุงข้อแก้ไขประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ฯ และประกาศกรมวิชาการเกษตร เวียนแจ้งให้ทราบทั้งในและนอกประเทศ



## 11. ขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณสุรพล ยินอศฺวพรรณ ที่ช่วยแนะนำแนวทางการวิจัยในครั้้งนี้ และขอขอบคุณ คุณวันเพ็ญ ศรีชาติ คุณยุทธนา ประมาณ คุณวิชาญ สมานิ คุณวิภา เกิดพิพัฒน์ คุณอรนุช นาคะโร คุณสุธรรม คงเอียด คุณจิรวัฒน์ ไกรนรา และ และน้องๆ ในห้องปฏิบัติการที่ช่วยสนับสนุนในการทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

## 12. เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2547. เอกสารวิชาการ ศัตรูพืชกักกันที่สำคัญของเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ
- นิรนาม. 2542. พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 12 หน้า.
- ศักดิ์ สุนทรสิงห์. 2537. โรคของผักและการป้องกันกำจัด. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ 198 น.
- สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2553. ข้อมูลสถิตินำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ ปี 2555 - 2557. สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.
- Anonymous. 2006. Phytosanitary Principles for the protection of plants and the application of phytosanitary measures in international trade.
- Anonymous. 2007. International rules for seed testing. Seed Science and Technology. Rules, Vol. 21 supplement. 287 pp.
- Crop Protection Compendium. 2007. ed. Wallingford, UK: CPC. (online). Available. <http://www.cabicompendium.org/cpc> (December 15, 2014)
- FAO . 2004. Pest Risk Analysis for Quarantine Pests Including Analysis of Environmental Risks Pest risk Analysis for Quarantine Pests. ISPM No. 11, Rome.
- Schaad N.W., J.B. Jones and W. Chun. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria, 3<sup>rd</sup> edition, APS Press, St Paul, Minnesota, USA.