

การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์วงศ์แตง
ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ (เมล็ดพันธุ์แตงกวา)
Study on Quarantine Pests Associated with Some Imported
Cucurbitaceae Seeds (Cucumber Seeds)

วันเพ็ญ ศรีชาติ ศรีวิเศษ เกษสังข์ ชลธิชา รักใคร่
วานิช คำพานิช โสภามีอำนาจ
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

แตงกวา (*Cucumis sativus* L.) ข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายส่วนต่างๆ ของแตงกวา มีทั้งสิ้น 190 ชนิด จัดเป็นแมลง 70 ชนิด ไร 9 ชนิด วัชพืช 9 ชนิด ไล้เดือนฝอย 14 ชนิด เชื้อรา 42 ชนิด แบคทีเรีย 16 ชนิด ไวรัส 29 ชนิด และจากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แตงกวานำเข้าจาก 15 ประเทศ ได้แก่ ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน เกาหลี อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ญี่ปุ่น พม่า เปรู สหรัฐอเมริกา เม็กซิโก ฝรั่งเศส เนเธอร์แลนด์ อิสราเอล ชิลี แทนซาเนีย และ กัวเตมาลา ทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ลักษณะเมล็ดพันธุ์แตงกวามีสีขาว เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชขั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์แตงกวาในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้ามาจากประเทศอินโดนีเซีย ได้แก่ *Curvularia pallenscens*, *Exserohilum rostratum* และ *Phoma* sp. แต่จากการตรวจด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรครากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นแตงกวา ลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ ซึ่งจากการตรวจเอกสารและการสังเกตเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากบางประเทศ มีการคลุกสารเคมีฆ่าเชื้อรา ได้แก่ Thiram หรือ Captan หรือ คลุกสารเคมีทั้ง 2 ชนิดกับเมล็ดพันธุ์นำเข้า อัตราการใช้ 85 กรัมต่อเมล็ดพันธุ์น้ำหนัก 45 กิโลกรัม และเมล็ดพันธุ์ที่มาจากประเทศชิลี มีการฆ่าเชื้อด้วยกรดไฮโดรคลอริกมาด้วย และการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์แตงกวานำเข้าจากต่างประเทศ ในภาคเหนือ ภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ น่าน ลำปาง เชียงราย เพชรบุรี ราชบุรี สกลนคร อุตรธานี หนองบัวลำพู ขอนแก่น และเลย พบอาการโรคบนใบของแตงกวา ได้แก่ โรคราน้ำค้าง เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Pseudoperonospora cubensis* โรคใบจุด เกิดจากเชื้อ

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-03-00-09-54

สาเหตุ *Corynespora cassiicola* โรคใบจุด เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Colletotrichum lagenarium* โรคโคนแตกต้นแตกหรืออย่างไร เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Didymella bryoniae* โรคราแบ่ง เชื้อสาเหตุ *Oidium* sp. โรคผลเน่า เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Pythium* sp. และโรคเม็ดผักกาด เชื้อสาเหตุ *Sclerotium rolfsii* และอาการบนผลแตงกวา มีอาการจุดฉ่ำน้ำและเกิดเส้นใยเชื้อรา ที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อ *Corynespora cassiicola*, *Colletotrichum lagenarium*, *Cercospora* sp. และ *Fusarium oxysporum* อาการโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อไวรัส ได้แก่ โรคใบต่าง เกิดจาก Cucumber mosaic virus ซึ่งศัตรูพืชที่ตรวจพบไม่ใช่ศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืชของประเทศไทย

คำนำ

พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 กำหนดให้เมล็ดพันธุ์พืชผักต่าง ๆ ไม้ดอกหรือไม้ประดับหลายชนิดจัดเป็นสิ่งต้องห้าม (Prohibited material) สิ่งจำกัด (Restricted material) และสิ่งไม่ต้องห้าม (unprohibited material) ในการนำเข้ามายังประเทศไทยต้องแจ้งการนำเข้า และมีใบรับรองสุขอนามัยพืชจากประเทศต้นทางกำกับมาพร้อมกับเมล็ดพันธุ์นำเข้า โดยไม่มีมาตรการสุขอนามัยกำหนดไว้แต่อย่างใด การนำเข้าสินค้าเกษตรจากต่างประเทศ มีโอกาสที่ศัตรูพืชหลายชนิดที่อาจเป็นศัตรูพืชกักกันที่ร้ายแรงหรือศัตรูพืชที่สำคัญที่ก่อความเสียหายกับผลิตผลทางการเกษตรติดเข้ามาพร้อมกับเมล็ดพืชด้วย โดยอาจเป็นศัตรูพืชร้ายแรงที่ไม่มีปรากฏในประเทศไทย โดยเฉพาะในกลุ่มของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่ติดมากับพืชวงศ์แตง ซึ่งมีการนำเข้ามาเพื่อใช้เป็นเมล็ดพันธุ์หรือเป็นต้นพันธุ์ในการส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกกระจายทั่วประเทศไทย โดยในแต่ละปีมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เหล่านี้ในปริมาณมาก หากศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งยังไม่มีรายงานในประเทศไทยติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวสามารถเข้ามาเจริญและแพร่พันธุ์ได้ในประเทศไทย จะก่อให้เกิดผลกระทบทำความเสียหายต่อการเกษตรในประเทศและกระทบต่อการส่งออกพืชผักผลไม้ไทยไปยังต่างประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช ดังนั้นจึงจำเป็นต้องอย่างยิ่งที่ควรทำการตรวจสอบศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับพืชนำเข้า เพื่อให้ทราบชนิด แหล่งที่มา การปรากฏของศัตรูพืชในประเทศคู่ค้า และเส้นทางการเข้ามาของศัตรูพืช ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นฐานข้อมูลการตรวจสอบศัตรูพืช มีประโยชน์ใช้อ้างอิงทางวิชาการ นำมาพิจารณาหามาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และกำหนดเป็นมาตรการทางด้านกฎหมายและทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้า หรือเปลี่ยนแปลงสถานภาพของพืชนำเข้าให้เป็นสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งจำกัดตามพระราชบัญญัติกักพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แตงกวานำเข้าจากต่างประเทศ

2. กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope และ compound microscope
3. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
4. สารเคมีตรวจสอบเชื้อโรคพืช
5. ภาชนะเก็บตัวอย่างพืช
6. ชุดตรวจสอบศัตรูพืช (ELISA Kit)
7. หนังสือ และวารสารทั้งในประเทศและต่างประเทศ
8. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมทั้งการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม”
(ISPM No. 11 : Pest risk analysis for quarantine pest including analysis of environmental risk)

วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของแตงกวาและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร วารสาร รายงานการประชุมทางวิชาการ อินเทอร์เน็ต เพื่อค้นหาข้อมูลของแตงกวา ลักษณะทั่วไปของพืช สายพันธุ์ พื้นที่การเพาะปลูก รายชื่อของประเทศที่ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ ปริมาณการนำเข้า ข้อมูลชนิดของศัตรูพืชทั้งนอกประเทศและในประเทศ

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์แตงกวานำเข้าในห้องปฏิบัติการ

ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แตงกวาที่นำเข้ามาจากต่างประเทศมาทำการตรวจวินิจฉัยโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลง เมล็ดวัชพืช หรือลักษณะเมล็ดต่าง มีสีดำ บิดงอ ขนาดเล็ก ที่มีสาเหตุจากเชื้อโรค

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

2.2.1 การตรวจสอบเชื้อรา

1) การตรวจสอบสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะยังไม่งอก (Dry seed examination)

โดยตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์เชื้อราหรือศัตรูพืชอื่นๆ ซึ่งปะปนมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เช่น เมล็ดพันธุ์มีรูปร่างผิดปกติ หรืออาจติดมา ภายในเมล็ดพันธุ์โดยไม่แสดงอาการ รวมทั้งอาจติดมากับเศษพืชในลักษณะเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์เช่น Pycnidia เป็นต้น

2) การตรวจสอบสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะเมล็ดงอก

ส้อมตัวอย่างเมล็ดตามวิธีการมาตรฐาน ในปริมาณที่เหมาะสมวิเคราะห์โดย สุ่มแยกตามสายพันธุ์ มาตรฐานทดสอบด้วยวิธี Blotter method โดยวางเมล็ดลงในกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จำนวน 3 แผ่นที่ชุ่มน้ำซึ่งวางอยู่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วางเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว 25 เมล็ดต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำจานเพาะเมล็ดไปบ่มเชื้อ (incubate) ได้แสง near ultraviolet (NUV) สลับกับความมืด 12/12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สเตอริโอไมโครสโคป (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope)

2.2.2 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงหรือด้วยวิธี Dilution plate

ในกรณีที่เชื้อติดมาในปริมาณมากจะสามารถแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรง หลังจากทำการแยกเชื้อด้วยวิธี Blotter method ได้ หรือทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate โดยสุ่มเมล็ดตามมาตรฐาน นำมาแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที ล้างตามด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เย็นเชื้อ เมื่อได้เมล็ดพันธุ์จึงนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบด แล้วนำผงของเมล็ดใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ (0.85% NaCl) หรือ บัฟเฟอร์ จำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยวางบนเครื่องเขย่า จากนั้นนำมาทำให้เจือจางในอาหารเหลว Nutrient broth ให้มีความเจือจางเป็น 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} และ 10^{-5} ตามลำดับ ใช้ไปเปิดตูด suspension แต่ละความเข้มข้น จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) แล้วใช้แท่งแก้ว spread ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ดผิปกติบนใบพืชหรือต้นพืช

โดยการเพาะเมล็ดในดินนิ่งฆ่าเชื้อ โดยเพาะ 25-50 เมล็ดต่อถาด และเก็บถาดเพาะที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เมื่อต้นกล้าออกไปจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิปกติบนพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชุ่มชื้นเป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิปกติบนใบพืช เก็บใบพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

2.1) วิธี Dilution plate ตัดใบพืชที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายใต้กระแสลมตู้เย็นเชื้อ แล้วบดชิ้นส่วนในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาทำให้เจือจางเป็นลำดับจาก 10^{-1} ถึง 10^{-5} และดำเนินการเช่นเดียวกับขั้นตอนในข้อ (1)

2.2) วิธี Tissue transplanting ตัดใบพืชเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 2x2 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอรีน ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อแล้ววางพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 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 โดยการฉีดสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียอายุ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เข้าไปในใบยาสูบ (*Nicotiana tabacum* L.) บริเวณใต้ใบโดยฉีดเข้าเนื้อใบระหว่างเส้นใบ สังเกตลักษณะอาการเซลล์ตายตรงเนื้อใบ หลังการฉีดเชื้อ 24-48 ชั่วโมง หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลตดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรครุ่ย
4. ทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical properties) เช่น การใช้ยูเรีย การย่อยเจลาติน การย่อยเอสคูลิน และแป้ง reduce ไนเตรต ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นต้น
5. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคนบนพืชอาศัย (Pathogenicity test) โดยเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลุกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุโรค เช่นปลุกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้น ใบเลี้ยง หรือเนื้อใบของต้นแตงกวาอายุ 2-3 สัปดาห์ ฉีดพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจสอบลักษณะอาการโรคหลังปลุกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็นโรคนมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่
6. การตรวจสอบด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวและนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

2.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัส

1) ปลุกสังเกตลักษณะอาการโรคบนต้นกล้า (Seedling symptom test) โดยเพาะเมล็ดพันธุ์ในดินอบฆ่าเชื้อ ตัวอย่าง 50-200 เมล็ด เก็บรักษาไว้ในโรงปลูกพืชกันแมลงเมื่อต้นพืชออกใบจริง 1-2 ใบ จึงตรวจสอบลักษณะอาการโรค ต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ สงสัยว่ามีสาเหตุจากเชื้อไวรัสจะนำไปอ่อนไปตรวจสอบด้วยวิธีการอื่นเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

2) ปลุกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) เตรียมน้ำคั้นพืชสำหรับทดสอบ โดยบดใบพืชที่แสดงอาการผิดปกติในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ตรวจสอบเชื้อไวรัสใช้ 0.1 M phosphate buffer pH 7.0) โดยใช้ใบพืชหนัก 1 กรัมต่อบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร ในสภาพเย็น จากนั้นใช้สำหรับหรือนิ้วที่สะอาดจุ่มน้ำคั้นพืชทาลงบนใบพืชทดสอบ ซึ่งโรยด้วยผงคาร์โบรันดัม (carborundum ขนาด 600 mesh) หลังจากปลุกเชื้อแล้ว 5 นาที ล้างใบพืชและนำพืชทดสอบไปเก็บไว้ในตู้ความชื้นสัมพัทธ์ 25-30 องศาเซลเซียส สังเกตลักษณะอาการบนพืชทดสอบหลังปลุกเชื้อเป็นเวลา 1-4 สัปดาห์ โดยพืชทดสอบจะแสดงอาการแผลเฉพาะแห่ง (local lesion) หรืออาการแบบกระจายทั่วลำต้น (systemic infection)

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

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์นำเข้าไปในพื้นที่ของเกษตรกร

ทำการติดตามตรวจสอบต้นพืชที่มีการนำเมล็ดพันธุ์นำเข้าไปเพาะปลูกในแปลงปลูกของเกษตรกร โดยสังเกตอาการความผิดปกติของต้นพืชทั้ง โคนต้น ราก ลำต้น ใบและผลของพืช และทำการสุ่มเก็บตัวอย่างอาการดังกล่าว นำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง แยกเชื้อ จัดจำแนกชนิดของเชื้อ และทดสอบการเกิดโรคกับพืชในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวินิจฉัยเชื้อโรคศัตรูพืชอย่างละเอียด เช่นเดียวกับในขั้นตอนที่ 2

4. การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบในเมล็ดพันธุ์นำเข้าไปและศัตรูพืชที่ติดตามตรวจสอบในแปลงปลูก และสรุปผลการศึกษากันเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

โดยการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบในห้องปฏิบัติการจากเมล็ดพันธุ์นำเข้าไปและศัตรูพืชที่ติดตามตรวจสอบในแปลงปลูกของเกษตรกรและสรุปผลการศึกษากันเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2553 – กันยายน 2555 (2 ปี)

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช และด่านตรวจพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมข้อมูลทั่วไปของแตงกวาและข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศ เปรียบเทียบกับศัตรูพืชในประเทศ

การจำแนกพืช

Domain: Eukaryota

Kingdom: Viridiplantae

Phylum: Spermatophyta

Subphylum: Angiospermae

Class: Dicotyledonae

Order: Violales

Family: Cucurbitaceae

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cucumis sativus* Linn.

ชื่อสามัญ Cucumber

วงศ์ CUCURBITACEAE

ชื่ออื่นๆ ผักแคบ (ภาคเหนือ) แคเต้าะ (กระเหรี่ยงและแม่ฮ่องสอน) ตำลึง, สี่บาท (ภาคกลาง) ผักตำนิน (ภาคอีสาน)

ลักษณะของแตงกวา

แตงกวาเป็นพืชเถาเลื้อยที่มีมือเกาะ ช่วยพยุงลำต้น ลำต้นเป็นเหลี่ยมมีขนขึ้นปกคลุมอยู่ทั่วไป ลำต้นยาวประมาณ 2-3 เมตร มีรากแก้ว ใบเป็นใบเดี่ยว มีมุมแหลม 3-5 แฉก ดอกเป็นดอกตัวผู้ และตัวเมียแยกกัน แต่อยู่บนต้นเดียวกัน ดอกตัวผู้จะเกิดเป็นกลุ่ม 3-5 ดอก ดอกตัวเมียจะเกิดเดี่ยวๆ มีสีเหลือง สีส้มได้ง่าย คือมี ลักษณะคล้ายแตงกวาผลเล็ก ๆ ติดกับกลีบดอก ส่วนดอกตัวผู้จะมีเฉพาะก้านดอกเท่านั้น ในการปลูกแตงกวา ถ้ามีดอกตัวเมียมากจะทำให้ได้ผลผลิตสูง

ผล ในขณะยังเล็กจะสังเกตเห็นหนามได้อย่างชัดเจน หนามของแตงกวาจะมีสีขาวและสีดำ แตงกวาหนามสีดำจะเก็บได้เพียง 3-4 วัน หลังเก็บจากต้น ผลจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง นิ่ม ไม่กรอบ ส่วนแตงกวา ที่มีหนามสีขาวจะมีคุณสมบัติพิเศษ เก็บไว้ได้นานประมาณ 7 วัน โดยไม่นิ่ม และไม่เปลี่ยนเป็นสีเหลืองเร็ว

ถิ่นกำเนิดของแตงกวา

แตงกวามีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดีย มีการบันทึกประวัติการปลูกมากกว่า 3,000 ปี และมีการปลูกในประเทศแถบทะเลเมดิเตอร์เรเนียนเมื่อก่อน 2,000 ปี โดยนำผ่านเอเชียกลางและตอนเหนือของทวีปแอฟริกา ในศตวรรษที่ 6 ได้นำไปปลูกในประเทศจีน โดยสันนิษฐานว่าได้นำเข้าประเทศจีน 2 ทาง คือ เส้นทางสายไหม โดยผ่านประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ไปภาคเหนือของประเทศจีน ส่วนอีกเส้นทางโดยผ่านประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ พม่า ไทย ลาว ไปสู่ทางภาคใต้ของประเทศจีน ในศตวรรษที่ 9-14 ได้นำไปปลูกในทวีปยุโรป และได้รับการพัฒนาพันธุ์ต้นศตวรรษที่ 19

ได้รับการพัฒนาพันธุ์ให้เหมาะสมต่อการปลูกได้ในโรงเรือน ศตวรรษที่ 15-16 ได้นำไปปลูกในทวีปอเมริกาและอเมริกาเหนือ และได้รับการพัฒนาพันธุ์อย่างมากในประเทศสหรัฐอเมริกาตั้งแต่ต้นศตวรรษที่ 19 ปัจจุบันแตงกวาเป็นผักที่นิยมบริโภคทั่วโลก ทั้งในสภาพการบริโภคสดและแปรรูป

การปลูกแตงกวา มี 2 แบบ คือ ปลูกโดยใช้ค้ำหรือปลูกโดยไม่ใช้ค้ำก็ได้ ตามแต่สภาพพื้นที่ และความสะดวกของผู้ปลูก การปลูกโดยใช้ค้ำจะช่วยพยุงลำต้น ทำให้การดูแลรักษาง่ายขึ้น แต่จะเสียเวลาและสิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย การปลูกแบบใช้ค้ำนิยมใช้กับแตงกวาที่จะใช้ดอง เพราะถ้าไม่ใช้ค้ำแล้วผลจะงอ ไม่สวย และผลจะเน่าได้ง่าย เนื่องจากผลแตงส้มสัมผัสกับดิน

แตงกวาสามารถขึ้นได้ดีในที่ดอนแทบทุกชนิด แต่ชอบดินร่วนปนทราย มีความชื้นพอเหมาะ มีการระบายน้ำได้ดี เพราะถ้าน้ำขังแฉะจะทำให้เกิดโรคทางใบได้ง่าย การเตรียมดินปลูกแตงกวาเป็นพืชที่มีระบบรากลึกปานกลาง ควรขุดดินลึกประมาณ 20-25 เซนติเมตร ตากดินไว้ประมาณ 5-7 วัน ใส่ปุ๋ยคอกหรือปุ๋ยหมักใช้ระยะระหว่างแถว 1 เมตร ระยะระหว่างต้น 50 เซนติเมตร หยอดเมล็ดปลูกโดยตรงหลุมละ 3-5 เมล็ด กลบด้วยปุ๋ยคอกหรือปุ๋ยหมัก หรือดินผสมละเอียดลงจนเต็มหลุม แล้วรดน้ำให้ชุ่ม คลุมด้วยฟาง หรือหญ้าแห้ง เพื่อช่วยเก็บรักษาความชื้น ประมาณ 14 วัน แตงกวาจะเริ่มเลื้อย

แตงกวาเป็นพืชที่ชอบน้ำและความชื้นพอประมาณ ระยะแรกควรให้น้ำอย่างสม่ำเสมอและเพียงพอ จนแตงกวาเริ่มออกดอกจึงลดลงเหลือ 2-3 วันต่อครั้ง แต่ไม่ควรปล่อยให้แตงกวาขาดน้ำ ในระยะออกดอก จะทำให้ดอกร่วง แตงกวาที่ขาดน้ำจะมีรสขม

เมื่อแตงกวามีอายุ 30-40 วัน หลังจากหยอดเมล็ดก็สามารถเก็บเกี่ยวได้ หลังจากเก็บผลแตงกวาแล้วต้องรีบนำเข้าที่ร่มทันที ห้ามล้าง เพราะจะทำให้ผลเหลืองเร็ว หลังฝนตกใหม่ๆ ไม่ควรเข้าไปเก็บเกี่ยว ควรรอให้ดินแห้งดีก่อน

แตงกวาชอบอากาศอบอุ่น แต่ไม่ถึงกับร้อนจัด ถ้าร้อนเกินไปแตงกวาก็จะมีแต่ดอกตัวผู้ ทำให้ได้ผลผลิตน้อย สภาพอุณหภูมิของไทยสามารถปลูกแตงกวาได้ตลอดปี ผลผลิตที่ได้ก็อาจแตกต่างกันไปบ้าง

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

แตงกวามีจำนวนโครโมโซม $2n = 14$ เป็นพืชผสมข้ามตามธรรมชาติโดยอาศัยลมและแมลง แต่พบอัตราการผสมตัวเอง 1-47 เปอร์เซ็นต์ โดยธรรมชาติมีดอกเพศผู้และดอกเพศเมียแยกดอกแต่อยู่ภายในต้นเดียวกัน เป็นพืชฤดูเดียว เถาเลื้อยหรือขึ้นค้ำ

ระบบรากเป็นระบบรากแก้ว (tap root system) รากแขนงเป็นจำนวนมาก รากสามารถแผ่ทางด้านกว้างและหยั่งลงได้ลึกถึง 1 เมตร

ลำต้นเป็นเถาเลื้อย เป็นเหลี่ยม มีขนขึ้นปกคลุมทั่วไป มีข้อยาว 10-20 ซม. เมื่อเกาะเกิดออกมาตามข้อ โดยส่วนปลายของมือเกาะไม่มีการแตกแขนงเป็นหลายเส้น ใบมีก้านใบยาว 5-15 ซม. ใบหยาบมีขนใบมีมุมใบ 3-5 มุม ปลายใบแหลม ใบใหญ่แบบ palmate มีเส้นใบ 5-7 เส้น ดอกเพศเมียเป็นดอกเดี่ยวเกิดจากบริเวณมุม ใบหรือข้อมีกลีบเลี้ยงสีเขียว 5 กลีบ กลีบดอกสีเหลือง 5 กลีบ รังไข่มี

ลักษณะกลมยาว 2-5 ซม. มีปุ่มนูนของหนามและขนชัดเจน ส่วนของยอดเกสรตัวเมียมี 2-5 แฉก ส่วนดอกเพศผู้อาจเป็นดอกเดี่ยวหรือเป็นช่อ มีกลีบเลี้ยงและกลีบดอกเหมือนดอกเพศเมีย ละอองเกสรตัวผู้ 3 อัน และมีก้านชูเกสรสั้น ๆ ดอกเพศเมียและดอกเพศผู้บานในตอนเช้าและพร้อมรับการผสมเกสร ดอกจะหุบ ตอนบ่ายภายในวันเดียวกัน

ลักษณะดอกตัวเมีย การเกิดดอกตัวเมียนั้นขึ้นอยู่กับช่วง แสงและอุณหภูมิกล่าว คือ จะเกิดดอกตัวเมียมากกว่าดอกตัวผู้ ในสภาพช่วงแสงสั้นและมีอุณหภูมิกลางคืนต่ำ ซึ่งตรงกับฤดูหนาวของเมืองไทย

ลักษณะผลของแตงกวามีลักษณะกลมยาวทรงกระบอก ความยาวผลระหว่าง 5-40 ซม. มีไส้ภายในผล และในปัจจุบันพันธุ์การค้าในต่างประเทศมีการปรับปรุงพันธุ์ที่สามารถติดผลได้ โดยไม่ได้รับการผสมเกสร (parthenocarpic type) โดยภายในผลไม่มีไส้ เนื้อกรอบ และน้ำหนักต่อผลสูงนิยมทั้งบริโภคผลสดแปรรูป สีส้มมีสีขาว เขียวอ่อน เขียว และเขียวเข้มดำ หนามสีขาว แดง น้ำตาล และดำ พันธุ์ของแตงกวาสามารถจำแนกได้ตามประโยชน์การใช้สอย ดังนี้

1. พันธุ์สำหรับรับประทานสด เป็นพันธุ์ที่มีเนื้อบางและไส้ใหญ่ สีเปลือกเป็นสีเขียวอ่อน ผลมีน้ำมากเป็นพันธุ์ที่มีทั้งผลเล็กและผลใหญ่ เมื่อผลยังอ่อนอยู่จะมีหนามเต็มไปหมด แต่เมื่อโตเต็มที่หนามจะหลุดออกเอง พันธุ์รับประทานสดนี้ไม่เหมาะกับการนำไปดอง แตงกวารับประทานสดแบ่งตามขนาดของผลนั้น แบ่งได้เป็น

1.1 แตงผลยาว (long cucumber) ที่รู้จักกันในชื่อของแตงร้านซึ่งมีความยาวผลอย่างน้อย 15 ซม. และมีความกว้างผลมากกว่า 2.5 ซม. ส่วนใหญ่จะมีเนื้อหนาไส้แคบ กรณีที่เป็นพันธุ์ของไทยนั้น จะมีสีผลสีเขียวแก่ตรงส่วนใกล้ขั้วผลประมาณ 1/3 - ๒ ของผลที่เหลือมีจุดประสีเขียวยาวหรือขาว และเส้นสีขาวเป็นแถบเล็ก ๆ ตลอดความยาวไปถึงปลายผล ส่วนพันธุ์ของต่างประเทศนั้น จะมีสีเขียวเข้มสม่ำเสมอทั้งผล

1.2 แตงผลสั้น (short cucumber) ที่รู้จักกันในชื่อของแตงกวา ซึ่งมีความยาวผล 8-12 ซม. และมีความกว้างผลมากกว่า 2.5 ซม. ส่วนใหญ่จะมีเนื้อน้อยไส้กว้าง

2. พันธุ์อุตสาหกรรม เป็นพันธุ์ที่มีเนื้อหนา ไส้เล็ก บางพันธุ์ก็ไม่มีไส้เลย เปลือกสีเขียวเข้ม เมื่อนำไปดองจะคงรูปร่างได้ดี ไม่ค่อยเหี่ยวยุบ แตงกวาพันธุ์นี้มักจะเป็นลูกผสม ผลมักมีรูปร่างพอมยาว ซึ่งแบ่งตามขนาดได้ดังนี้

2.1 แตงผลยาว (long cucumber) เป็นแตงชนิดที่ใช้ทำแตงดองของญี่ปุ่นและจีนซึ่งจะต้องมีความยาวผล 20-30 ซม. และมีความกว้างผล 2-3 ซม. มีเนื้อหนาไส้แคบผิวสีเขียวเข้มตลอดความยาวของผล มักใช้ดองโดยมีการใช้น้ำปรุงรสด้วยส่วนผสมของซีอิ๊ว

2.2 แตงผลสั้น (short cucumber) เป็นแตงชนิดที่ใช้ทำแตงดองของสหรัฐอเมริกาและยุโรป ซึ่งมีความยาว 8-12 ซม. และมีความกว้างผล 1.0-5.1 ซม. โดยทั่วไปจะมีอัตราส่วนความยาวต่อความกว้าง (L/D ratio) มีค่าอยู่ระหว่าง 2.8-3.1 มีเนื้อหนาและแน่น ไส้แคบ ผิวสีเขียวเข้มตลอดความ

ยาวของผล มักใช้ดองทั้งผล ผ่าตามความยาวและหั่นเป็นชิ้น ๆ ตามความกว้างของผลมักดองโดยมีการใช้น้ำปรุงรสด้วยส่วนผสมของซีอิ๊ว

ปริมาณการนำเข้า

ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์แตงกวาจากต่างประเทศ ในช่วง ปี 2554 ปริมาณ 15,744.50 กิโลกรัม มูลค่าการนำเข้า 25,275,916.30 บาท และปี 2555 ปริมาณนำเข้า 23,413.33 กิโลกรัม มูลค่าการนำเข้า 40,457,710.48 บาท

ศัตรูพืชที่พบเข้าทำลายแตงกวา มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 190 ชนิด จัดเป็นแมลง 70 ชนิด ไร 9 ชนิด วัชพืช 9 ชนิด ไส้เดือนฝอย 14 ชนิด เชื้อรา 42 ชนิด แบคทีเรีย 16 ชนิด ไวรัส 29 ชนิด ยกตัวอย่างเช่น

เชื้อรา ได้แก่ *Acremonium cucurbitacearum* (Koile et al., 2007; CPC, 2007), *Alternaria alternata*, *Alternaria brassicae*, *Alternaria brassicicola* (CPC, 2007), *Alternaria cucumerina* (Lamey, 1991; CPC, 2007), *Aspergillus niger*, *Chalara elegans* (CPC, 2007), *Cercospora citrulina* (เพชรรัตน์, 2550), *Cladosporium cucumerinum* (Koile et al., 2007; CPC, 2007), *Cochliobolus lunatus* (CPC, 2007), *Colletotrichum orbiculare* (*Colletotrichum lagenarium*) (เพชรรัตน์, 2550; Doubrava et al., 2007; CPC, 2007), *Diaporthe melonis* (CPC, 2007), *Corynespora casicola* (เพชรรัตน์, 2550), *Didymella bryoniae* (เพชรรัตน์, 2550; Doubrava et al., 2007; CPC, 2007), *Erysiphe cichoracearum* (Lamey, 1991), *Fusarium oxysporum* (เพชรรัตน์, 2550; CPC, 2007), *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (Turini, 2510), *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum*, *Fusarium pallidoroseum* (CPC, 2007), *Fusarium solani* (เพชรรัตน์, 2550) *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* (Zitter, 1998), *Gibberella avenacea*, *Geotrichum candidum* (CPC, 2007), *Gibberella intricans*, *Gibberella pulicaris*, *Glomerella cingulata*, *Golovinomyces orontii*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Leveillula taurica* (CPC, 2007), *Macrophomina phaseolina* (Zitter, 1998; CPC, 2007; Koile et al., 2007; Turini, 2510), *Monosporascus cannonballus* (CPC, 2007; Koile et al., 2007; Extension Plant Pathology, 2010; Turini, 2510), *Monosporascus eutypoides*, *Myrothecium roridum*, *Nectria haematococca*, *Olpidium radicale*, *Penicillium viridicatum*, *Phoma eupyrena* (CPC, 2007.), *Oidium* sp. , *Physlospora rhodina* (เพชรรัตน์, 2550), *Phytophthora* spp. (Koile et al, 2007), *Phytophthora cryptogea*, *Phytophthora drechsleri* (CPC, 2007), *Podosphaera xanthii* (*Sphaerotheca fuliginea*) (Horlock and McGrath, 2004; CPC, 2007; Turini, 2510), *Pseudoperonospora cubensis* (เพชรรัตน์, 2550; CPC, 2007; Doubrava et al., 2007; Koile et al., 2007; Extension Plant Pathology, 2010; Turini, 2510), *Pythium aphanidermatum* (Extension Plant Pathology, 2010), *Pythium butleri* (CPC, 2007), *Rhizoctonia solani* (Koile et al., 2007; Zitter, 1998.), *Rhizopus stolonifer*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Verticillium dahliae* (CPC, 2007;

Koile *et al.*, 2007), *Sclerotium rolfsii* (เพชรรัตน์, 2550) เชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (*Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli*) (Burdman *et al.*, 2005; เพชรรัตน์, 2550; CPC, 2007; Koile *et al.*, 2007), *Erwinia* sp. (เพชรรัตน์, 2550), *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (CPC, 2007), *Erwinia chrysanthemi* (CPC, 2007), *Erwinia tracheiphila* (Lamey, 1991; CPC, 2007; Koile *et al.*, 2007), *Pantoea ananatis* (CPC, 2007), *Pseudomonas syringae* (CPC, 2007), *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* (CPC, 2007), *Pseudomonas syringae* subsp. *lachrymans* (Lamey, 1991; CPC, 2007; Koile *et al.*, 2007), *Pseudomonas viridiflava*, *Rhizobium radiobacter*, *Rhizobium rhizogenes*, *Rhodococcus fascians*, *Xanthomonas cucurbitae*, *Xanthomonas melonis* (CPC, 2007) และ เชื้อไวรัส ได้แก่ Beet curly top virus (Extension Plant Pathology, 2010), Cucumber green mottle mosaic virus (เพชรรัตน์, 2550; CPC, 2007), Cucumber mosaic virus (เพชรรัตน์, 2550; Koile *et al.*, 2007; Extension Plant Pathology, 2010), Cucumber vein yellowing virus, Cucumber yellow stunting disorder virus (CPC, 2007), Cucurbit yellow stunt disorder virus (CYSDV) (CPC, 2007; Extension Plant Pathology, 2010; Turini, 2510), Lettuce infectious yellows virus (CPC, 2007; Extension Plant Pathology, 2010), Squash leaf curl virus (CPC, 2007), Papaya ringspot virus-type W (PRSV-W) (เพชรรัตน์, 2550; CPC, 2007), Squash mosaic virus, Tobacco ringspot virus, Tobacco streak virus, Watermelon mosaic virus, Watermelon silver mottle virus, Zucchini yellow fleck virus (CPC, 2007), Zucchini yellow mosaic virus (เพชรรัตน์, 2550; CPC, 2007)

จากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเบื้องต้นสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์แตงกวาจากต่างประเทศเข้ามาในราชอาณาจักร พบศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทย และเป็นศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงสูงที่อาจติดเข้ามาและก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชผลในประเทศ ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย คือ *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* เชื้อไวรัส คือ Tobacco streak virus และเชื้อรา คือ *Fusarium solani* f.sp. *cucurbitae* และ *Gibberella avenacea* ดังนั้นเพื่อเป็นการป้องกันการระบาดของศัตรูพืชดังกล่าว หรือศัตรูชนิดใหม่จึงทำการตรวจสอบหาศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์เป็นข้อมูลในการหามาตรการที่เหมาะสมกับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์แตงกวาจากต่างประเทศเข้ามาในราชอาณาจักร

2. การตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์แตงกวานำเข้าใน ห้องปฏิบัติการ

2.1 การตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากทุกประเทศในเบื้องต้น พบว่าลักษณะของเมล็ดมีสีขาว เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด (ภาพที่ 1)

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

จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แตงกวานำเข้าจาก 15 ประเทศ ได้แก่ ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน เกาหลี อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ญี่ปุ่น พม่า เปรู สหรัฐอเมริกา เม็กซิโก ฝรั่งเศส เนเธอร์แลนด์ อิสราเอล ซิลี แทนซาเนีย และ กัวเตมาลา โดยแยกตามสายพันธุ์ ซึ่งเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวมีการนำเข้าเพื่อทำการเพาะปลูก หรือเป็นพ่อ-แม่พันธุ์ในการผสมพันธุ์ให้ได้เป็นลูกผสมและส่งเมล็ดพันธุ์ลูกผสมจำหน่ายกลับไปยังต่างประเทศ ซึ่งจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์แตงกวาในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากประเทศอินโดนีเซีย ได้แก่ *Curvularia pallescens*, *Exserohilum rostratum* และ *Phoma* sp. (ภาพที่ 2) แต่จากการตรวจด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคที่รุนแรงกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และจากการนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นแตงกวา ต้นพืชเจริญสมบูรณ์ (ภาพที่ 3) ซึ่งจะเห็นว่าเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากบางประเทศมีการทำการควบคุมเชื้อโรคศัตรูพืช เช่น มีการคลุกสารเคมีฆ่าเชื้อรา ได้แก่ สารกำจัดเชื้อรา Thiram หรือ Captan หรือมีการคลุกสารทั้งสองชนิดกับเมล็ดพันธุ์แตงกวา อัตราการใช้ 85 กรัมต่อเมล็ดพันธุ์น้ำหนัก 45 กิโลกรัม (ภาพที่ 4) และยังมีกรล้างด้วยกรดไฮโดรคลอริกใบบางประเทศ ได้แก่ ซิลี ซึ่งมีส่วนป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อโรคศัตรูพืชบางชนิดได้อย่างไรก็ตาม จำเป็นที่จะต้องหาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืชที่เฉพาะเจาะจงกับเชื้อโรคบางชนิดเพื่อให้แน่ใจมากขึ้นว่า ไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อสาเหตุโรคที่อาจเข้ามาระบาดในประเทศไทยได้ และต้องมีการติดตามตรวจสอบไปยังพื้นที่ที่มีการนำเมล็ดพันธุ์ไปเพาะปลูกต่อไป

3. การติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์นำเข้าในพื้นที่ของเกษตรกร

จากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์แตงกวานำเข้าจากต่างประเทศ ภาคเหนือ จำนวน 3 จังหวัด ได้แก่ ลำปาง น่าน และเชียงราย ภาคกลาง จำนวน 2 จังหวัด ได้แก่ เพชรบุรีและราชบุรี ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 5 จังหวัด ได้แก่ สกลนคร อุดรธานี หนองบัวลำพู ขอนแก่น และเลย ซึ่งพบอาการโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อรา ได้แก่ โรคราน้ำค้าง เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Pseudoperonospora cubensis* (ภาพที่ 5) โรคใบจุด เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Corynespora cassiicola* (ภาพที่ 6) โรคใบจุด เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Colletotrichum laginarium* (ภาพที่ 7) โรคโคนแตกต้นแตกหรืออย่างไรล เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Didymella bryoniae* (ภาพที่ 8) โรคราแป้ง เชื้อสาเหตุ *Oidium* sp. (ภาพที่ 9) โรคผลเน่า เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Pythium* sp. (ภาพที่ 10) และโรคเมล็ดผุเกิดจากเชื้อสาเหตุ *Sclerotium rolfsii* (ภาพที่ 11) และอาการบนผลแตงกวา มีอาการจุดฉ่ำน้ำ และเกิดเส้นใยเชื้อรา ที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อ *Corynespora cassiicola*, *Colletotrichum laginarium*, *Cercospora* sp. และ *Fusarium oxysporum* (ภาพที่ 12) อาการโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อ

ไวรัส ได้แก่ โรคใบด่าง เกิดจาก Cucumber mosaic virus (ภาพที่ 13) ซึ่งศัตรูพืชที่ตรวจพบไม่ใช่ศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

4. การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่ตรวจพบในเมล็ดพันธุ์นำเข้าและศัตรูพืชที่ติดตามตรวจสอบในแปลงปลูก และสรุปผลการศึกษากการเป็นศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืช

จากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์แตงกวาที่นำเข้าจากต่างประเทศพบศัตรูพืชสรุปได้ดัง (ตารางที่ 1) เมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และจากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์แตงกวาที่นำเข้าจากต่างประเทศ (ตารางที่ 2)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

แตงกวา (*Cucumis sativus* L.) จากสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชที่เข้าทำลายแตงกวา มีศัตรูพืชทั้งสิ้น 190 ชนิด จัดเป็นแมลง 70 ชนิด ไร 9 ชนิด วัชพืช 9 ชนิด ไล้เดือนฝอย 14 ชนิด เชื้อรา 42 ชนิด แบคทีเรีย 16 ชนิด ไวรัส 29 ชนิด และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคและศัตรูพืชชั้นละเอียดกับเมล็ดพันธุ์แตงกวานำเข้าในห้องปฏิบัติการ โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์แตงกวานำเข้าจาก 15 ประเทศ จำนวน 191 ตัวอย่าง ทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า เมล็ดพันธุ์แตงกวานำเข้ามีสีขาว เมล็ดสมบูรณ์ สะอาด ไม่พบร่องรอยการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชหรือร่องรอยของเชื้อโรคศัตรูพืช เมล็ดพันธุ์บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์สะอาด ปิดมิดชิด โดยแยกตามสายพันธุ์ และจากการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชกับเมล็ดพันธุ์แตงกวาในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Blotter method พบเชื้อรากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากประเทศอินโดนีเซีย ได้แก่ *Curvularia pallescens*, *Exserohilum rostratum* และ *Phoma* sp. แต่จากการตรวจด้วยวิธี Dilution technique ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่น่าสงสัยจะเป็นเชื้อก่อโรคกับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว และจากการนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือน (Seedling symptom) ไม่พบอาการผิดปกติกับต้นแตงกวา ลักษณะต้นเจริญสมบูรณ์ จากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์แตงกวานำเข้าจากต่างประเทศ ภาคเหนือ ภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 10 จังหวัด ได้แก่ ลำปาง น่าน เชียงราย เพชรบุรีและ สกลนคร อุดรธานี หนองบัวลำพู ขอนแก่น และเลย ซึ่งพบอาการโรคบนใบที่มีสาเหตุจากเชื้อรา ได้แก่ โรคราน้ำค้าง เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Pseudoperonospora cubensis* โรคใบจุด เกิดจากเชื้อ สาเหตุ *Corynespora cassiicola* โรคใบจุด เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Colletotrichum laginarium* โรคโคนแตกต้นแตกหรือยางไหล เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Didymella bryoniae* โรคราแป้ง เชื้อสาเหตุ *Oidium* sp. โรคผลเน่า เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Pythium* sp. และโรคเม็ดผักกาด เชื้อสาเหตุ *Sclerotium rolfsii* และอาการบนผลแตงกวา มีอาการจุดน้ำและเกิดเส้นใยเชื้อรา ที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อ *Corynespora cassiicola*, *Colletotrichum lagenarium*, *Cercospora* sp. และ *Fusarium oxysporum* อาการโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อไวรัส ได้แก่ โรคใบด่างเกิดจาก Cucumber mosaic virus ซึ่งศัตรูพืชที่ตรวจพบไม่ใช่ศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืชของประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ผู้เชี่ยวชาญ อุดร อุณหวุฒิ คุณศรีวิเศษ เกษสังข์ คุณชลธิชา รักใคร่ คุณปรียพรรณ พงศาพิชณ์ ที่ช่วยแนะนำแนวทางการวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณ คุณวานิช คำพานิช และคุณโสภา พิศวงปรากฏ คุณชัยรัตน์ หมั่นการ (สนับสนุนภาพถ่ายประกอบงานวิจัย) คุณยุทธนา ประมาณ คุณวิชาญ สมาธิ คุณวิภา เกิดพิพัฒน์ คุณอรนุช นาคะโร คุณสุธรรม คงเอียด คุณจิรวัดน์ ไกรนรา และคุณอัญชลี ราศี และน้องๆ ในห้องปฏิบัติการที่ช่วยสนับสนุนในการทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- เครือข่ายพันธุ์ กิตติปกรณ และ วันเพ็ญ ศรีทองชัย. 2545. โรคไวรัสที่สำคัญของพืชผักและพืชน้ำมัน. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ. 88 หน้า.
- ธรรมศักดิ์ ทองเกตุ. 2549. การปลูกแตงเทศ ตอนที่ 1. KU-e magazine. ปี 7 ฉบับ 12 ธันวาคม 2549. (<http://www.ku.ac.th/e-magazine/dec49/agri.html>)
- เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. 2550. ฐานข้อมูลโรคพืชที่สำคัญในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อการส่งออก : โรคพืชวงศ์แตง. ศูนย์พันธุกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. 81 หน้า.
- Burdman, S., Kots, N., Kritzman, G. and Kopelowitz, J. 2005. Molecular, physiological, and host-range characterization of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* isolates from watermelon and melon in Israel. *Plant Disease* 89(12), 1339-1347.
- Crop Protection Compendium. 2007. ed. Wallingford, UK: CPC. (<http://www.cabicompendium.org/cpc>)
- Denis, P. 1994. Diseases of vegetable crops. Department of Primary Industries. Australia 164 pp.
- Doubrava, N., Blake, J. H. Keinath, A. P. and Williamson, J.E. 2007. Cucumber, Squash, Melon & Other Cucurbit Diseases. Clemson University Cooperative Extension Service. USA. (http://www.clemson.edu/extension/hgic/pests/plant_pests/veg_fruit/hgic2206.html)
- Extension Plant Pathology. 2010 . Diseases of melon (*Cucumis melo*) in Arizona. The University of Arizona. USA. (<http://cals.arizona.edu/PLP/plpext/diseases/vegetables/melon/melon.html>)
- Horlock, C. and McGrath, M. T. 2004. Powdery mildew of melons (watermelon, rockmelon and honeydew). Department of Primary Industries. Queensland government. Australia. (<http://www2.dpi.qld.gov.au/horticulture/11644.html>)

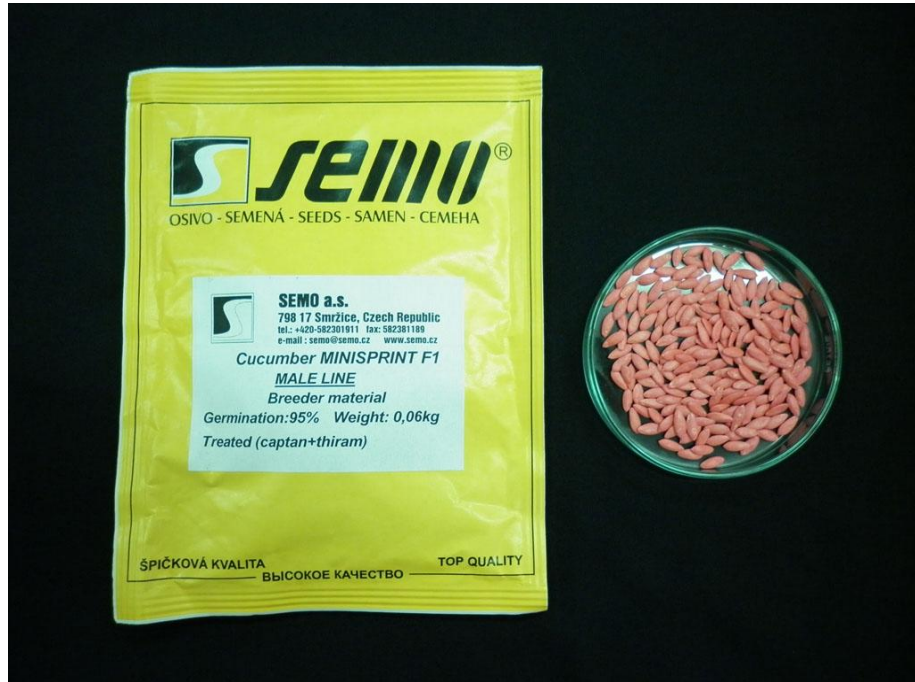
- Horlock, C. and Persley, D. 2004. Viruses affecting melons (watermelon, rockmelon and honeydew). Department of Primary Industries. Queensland government. Australia (<http://www2.dpi.qld.gov.au/horticulture/9575.html>)
- Koile, S.T., Gladders, P. and Paulus, A.O. 2007. Cucurbitaceae. Vegetable diseases: A color handbook. Manson Publishing. England. 220-250 p.
- Lamey, H. A. 1991. Disease Management In Home-Grown Cucumbers, Melons and Squash. North Dakota State University USA. (<http://www.ag.ndsu.edu>)
- Lamey, H. Arthur. 1991. Disease Management In Home-Grown Cucumbers, Melons and Squash. Extension Plant Pathologist. North Dakota State University. USA. (<http://www.ag.ndsu.edu/pubs/plantsci/hortcrop/pp656w.htm>)
- Malik, A.H., Mansoor S., Iram S., Briddon R.W. and Zafar, Y. 2005. A severe outbreak of melon yellow mosaic disease caused by Zucchini yellow mosaic virus in the Punjab province of Pakistan. New Disease Reports. 11, 31. (<http://www.ndrs.org.uk/article.php>)
- Turini, T. 2510. Melon Disease update: Diagnosis and control. University of California Cooperative Extension. (<http://cefresno.ucdavis.edu/files/76298.pdf>)
- Zitter, T. A. and Banik, M. T. 1984. Virus Diseases of Cucurbits. Department of Plant Pathology, Cornell University. (http://vegetablemndonline.ppath.cornell.edu/factsheets/Viruses_Cucurbits.htm)
- Zitter, T.A 1998. Fusarium Diseases of Cucurbits. Department of Plant Pathology, Cornell University. (<http://www2.dpi.qld.gov.au/horticulture/11645.html>)
- Zitter, T.A., Hopkins, D.L. and Thomas, C.E. 1996. Compendium of Cucurbit Diseases. The America Phytopathological Society. Minnesota, USA. 87 pp.

ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลบัญชีรายชื่อโรค เชื้อสาเหตุโรคที่ตรวจจากเมล็ดพันธุ์นำเข้าจาก
ต่างประเทศ

เมล็ดพันธุ์นำเข้าจากประเทศ	เชื้อโรคพืชที่พบบนเมล็ดพันธุ์
ประเทศอินโดนีเซีย	<i>Curvularia pallescens</i> , <i>Exserohilum rostratum</i> <i>Phoma</i> sp.

ตารางที่ 2 แสดงข้อมูลบัญชีรายชื่อโรค เชื้อสาเหตุโรคและบริเวณที่พบเชื้อ จากแปลงปลูกของ
เกษตรกร ที่มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวจากต่างประเทศ

ลำดับ	ชื่อโรค	เชื้อสาเหตุ	บริเวณที่พบเชื้อ
อาการโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อรา			
1	โรคราน้ำค้าง	<i>Pseudoperonospora cubensis</i>	ใบ
2	โรคใบจุด	<i>Corynespora</i> sp., <i>Cercospora</i> sp.	ใบ, ผล
3	โรคใบจุด	<i>Colletotrichum laginarium</i>	ใบ, ผล
4	โรคโคนต้นแตก ต้นแตก และยางไหล	<i>Didymella bryoniae</i>	โคน, ใบ
5	โรคราแป้ง	<i>Oidium</i> sp.	ใบ
6	โรคผลเน่า	<i>Pythium</i> sp.	ผล
7	โรคเมล็ดผักกาด	<i>Sclerotium rolfsii</i>	ผล
8	โรคผลฉ่ำน้ำ	<i>Fusarium oxysporum</i>	ผล
อาการโรคที่มีสาเหตุจากไวรัส			
8	โรคใบด่าง	Cucumber mosaic virus	ใบ



ภาพที่ 1 ลักษณะเมล็ดพันธุ์และบรรจุภัณฑ์ของเมล็ดพันธุ์แตงกวาที่นำเข้ามาจากประเทศเกาหลี

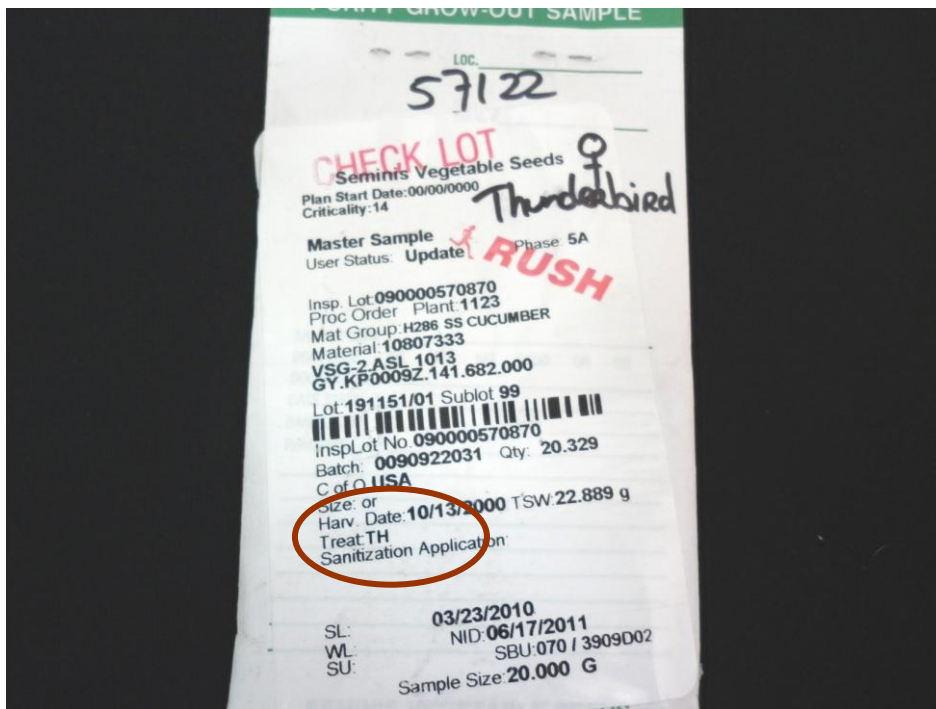


ภาพที่ 2 ลักษณะเชื้อราที่พบบนเมล็ดพันธุ์แตงกวานำเข้ามาจากประเทศอินโดนีเซีย

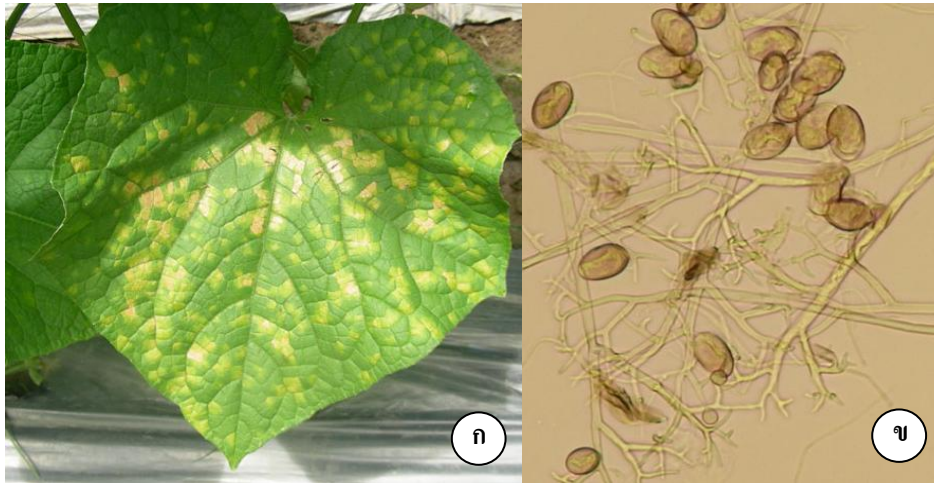
- ก) ลักษณะของเชื้อรา *Curvularia pallescens* กำลังขยาย 400 เท่า
- ข) ลักษณะของเชื้อรา *Exserohilum rostratum* กำลังขยาย 400 เท่า
- ค) ลักษณะของเชื้อรา *Phoma* sp. กำลังขยาย 100 เท่า



ภาพที่ 3 ลักษณะต้นแตงกวาที่ปลูกสังเกตอาการของโรคในโรงเรือนกักกันพืช



ภาพที่ 4 เมล็ดพันธุ์แตงกวาที่นำเข้ามาจากประเทศสหรัฐอเมริกา ที่มีการคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสารกำจัดเชื้อรา Thiram

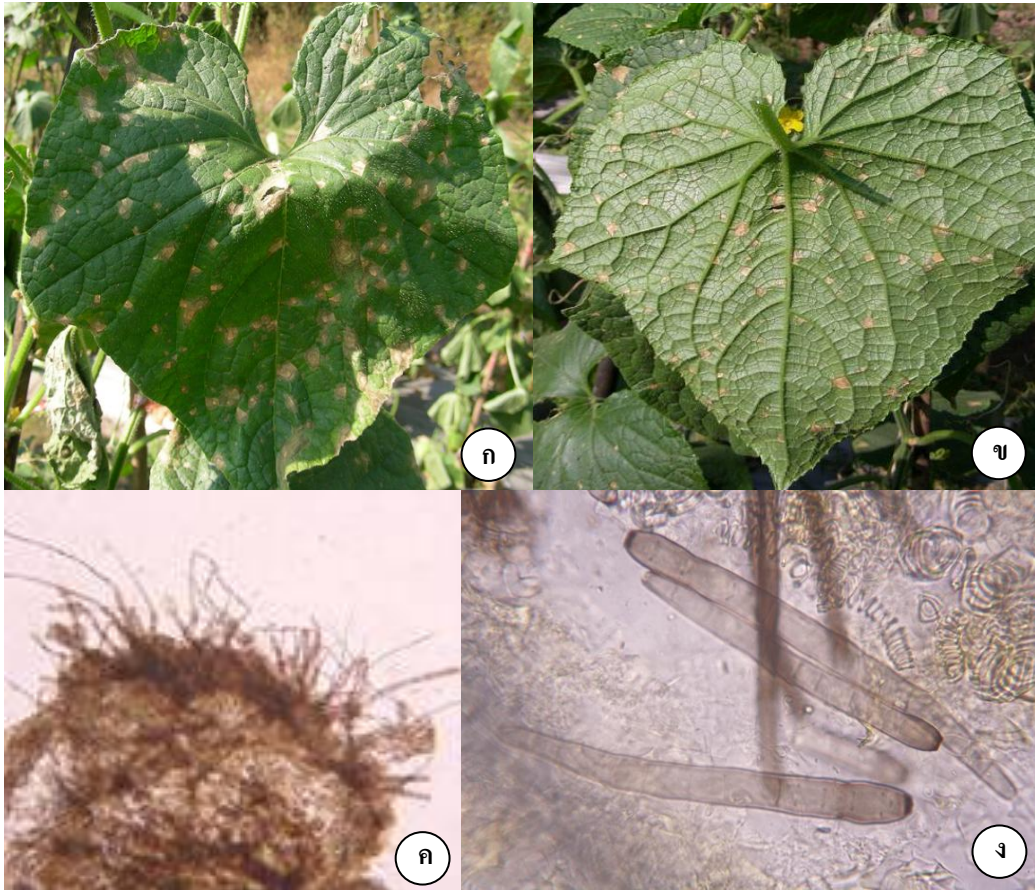


ภาพที่ 5 ลักษณะอาการโรคน้ำค้าง เชื้อสาเหตุ *Pseudoperonospora cubensis*

บนแตงกวาในแปลงปลูกของเกษตรกร

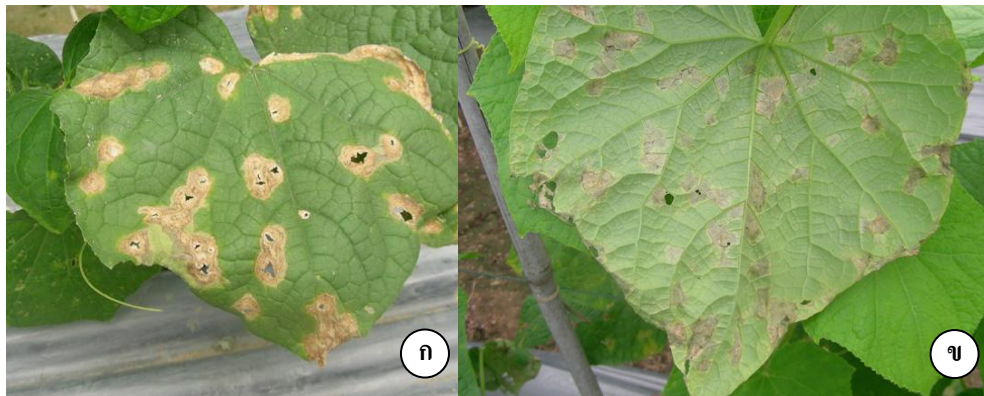
ก) ลักษณะอาการโรคน้ำค้างบนใบแตงกวา

ข) ลักษณะโคโคโคนีและก้านชูสปอร์ของเชื้อสาเหตุ กำลังขยาย 400 เท่า



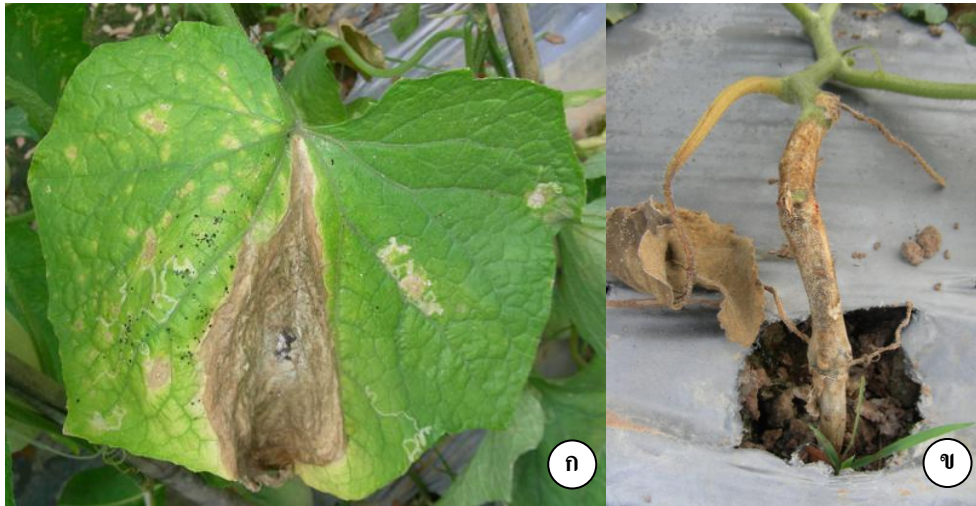
ภาพที่ 6 ลักษณะอาการโรคใบจุด เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Corynespora* sp. บริเวณบนใบแตงกวาในแปลงปลูกของเกษตรกร

- ก) ลักษณะอาการโรคใบจุดบนใบแตงกวา ข) ลักษณะอาการโรคใบจุดใต้ใบแตงกวา
ค) ลักษณะก้านชูสปอร์เชื้อ กำลังขยาย 100 เท่า ง) ลักษณะสปอร์ของเชื้อ กำลังขยาย 400 เท่า



ภาพที่ 7 ลักษณะอาการโรคใบจุด เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum laginarium* บนใบของแตงกวาในแปลงปลูกของเกษตรกร

- ก) ลักษณะอาการโรคใบจุดด้านบนใบแตงกวา
ข) ลักษณะอาการโรคใบจุดด้านล่างใบแตงกวา



ภาพที่ 8 ลักษณะอาการของโรคโคนเน่าก้านเน่าหรือยางไหล เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Didymella bryoniae* บริเวณ โคนต้นและบนใบของแตงกวาในแปลงปลูกของเกษตรกร

- ก) ลักษณะอาการโรคบนใบแตงกวา
- ข) ลักษณะอาการโรคบริเวณ โคนต้นแตงกวา



ภาพที่ 9 ลักษณะอาการ โรคราแป้ง เชื้อสาเหตุ *Oidium* sp. ในแปลงปลูกของเกษตรกร

ก) อาการของโรคราแป้งบริเวณบนใบของแตงกวา

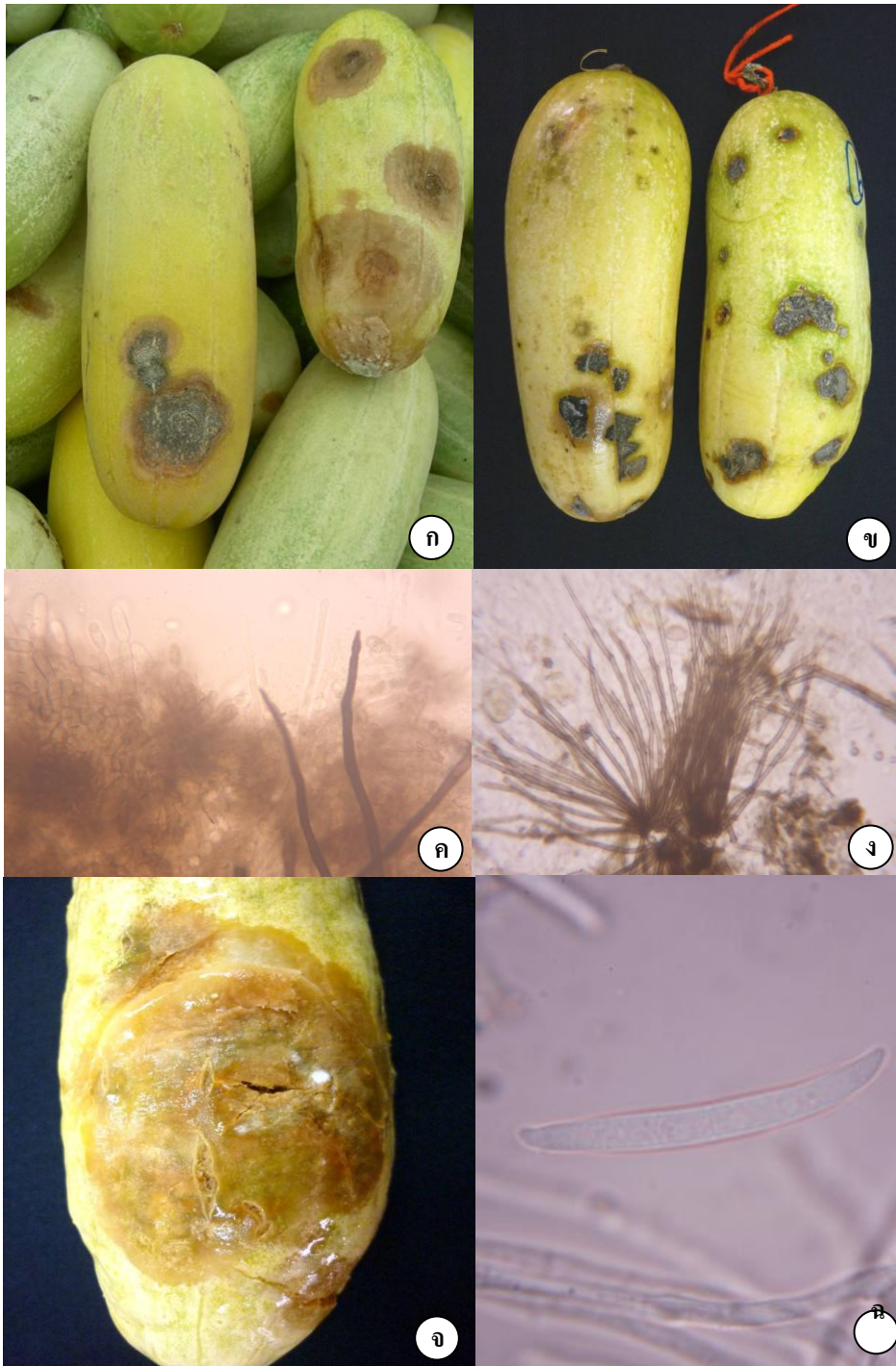
ข) ลักษณะก้านชูสปอร์และสปอร์ของเชื้อรา กำลังขยาย 400 เท่า



ภาพที่ 10 ลักษณะอาการโรคผลเน่า เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Pythium* sp. บริเวณผลของ
แตงกวาในแปลงปลูกของเกษตรกร



ภาพที่ 11 ลักษณะอาการโรคเน่าคอดกาด เชื้อสาเหตุ *Sclerotium rolfsii* บริเวณผล
ของแตงกวาในแปลงปลูกของเกษตรกร



ภาพที่ 12 ลักษณะอาการน้ำเน่าบนผลของแตงกวาที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อราหลายชนิด

- ก) ลักษณะอาการแผลบนผลแตงกวาที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum lagenarium*
- ข) ลักษณะอาการแผลบนผลแตงกวาที่เกิดจากเชื้อรา *Cercospora* sp.
- ค) ลักษณะของเชื้อรา *Colletotrichum lagenarium* กำลังขยาย 400 เท่า
- ง) ลักษณะของเชื้อรา *Cercospora* sp. กำลังขยาย 100 เท่า
- จ) ลักษณะอาการแผลบนผลแตงกวาที่เกิดจากเชื้อรา ลักษณะของเชื้อรา *Fusarium oxysporum*
- ฉ) ลักษณะของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* กำลังขยาย 400 เท่า



ภาพที่ 13 ลักษณะอาการโรคใบด่าง สาเหตุจาก Cucumber mosaic virus บนใบของแตงกวาในแปลงปลูกของเกษตรกร