

การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis. ในพื้นที่ผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ เพื่อการส่งออก

Surveillance of Bacterial Canker: *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis. in Seed Production Areas for Export

ณัฐพร อุทัยมงคล^{1/} ศรีวิเศษ เกษสังข์^{1/} ณัฐธิดา โฆษิตเจริญกุล^{2/} ชลธิชา รักใคร่^{1/}
 ทิพวรรณ กันหาญาติ^{2/} วาสนา ฤทธิไธสง^{1/} วารินทร์ สมประทุม^{1/} วันเพ็ญ ศรีชาติ^{1/}
^{1/} กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
^{2/} กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

รวบรวมข้อมูลมะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill.) เช่น อนุกรมวิธาน ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ แหล่งปลูกมะเขือเทศการเก็บเกี่ยว ข้อมูลการนำเข้า และข้อมูลของเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) สาเหตุโรคแคงเกอร์ของมะเขือเทศ เช่น ข้อมูลลักษณะทางอนุกรมวิธาน ชื่อสามัญ พืชอาศัย การเกิดโรค การเข้าทำลาย การตรวจสอบความเสียหาย วิธีการตรวจสอบ การถ่ายทอดโรค มาตรการสุขอนามัยพืชที่ใช้ รายงานประเทศที่มีการพบเชื้อจากเอกสารวิชาการ เว็บไซต์ต่างๆ รวบรวมสภาพภูมิอากาศในแหล่งปลูกมะเขือเทศของประเทศไทยและเก็บตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าจากต่างประเทศจำนวน 17 ประเทศเพื่อตรวจหาเชื้อ Cmm ในห้องปฏิบัติการในปี 2556 จำนวน 17 ครั้ง 9 ประเทศ รวม 20 ตัวอย่างการผลการตรวจวินิจฉัยสอปไม่พบเชื้อแบคทีเรีย Cmm ติดมากับเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวและได้สำรวจโรคในแปลงปลูกมะเขือเทศของเกษตรกรภายหลังการนำเข้าระหว่างเดือนตุลาคม 2555 ถึง กันยายน 2556 ในเขตภาคเหนือ จังหวัด เชียงราย ลำพูน และ ลำปาง ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือจังหวัด สกลนคร ขอนแก่น และกาฬสินธุ์ จำนวน 215 แปลง พบว่าไม่ปรากฏโรคแคงเกอร์สาเหตุจากเชื้อ Cmm ในทุกแปลงที่ทำการสำรวจ จึงนำข้อมูลมาเข้ากระบวนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนที่ 1 โดยจุดเริ่มต้น (Initiation) ที่เป็นผลมาจากการที่ประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรปแจ้งให้ทราบว่ามีการตรวจพบเชื้อ Cmm จากเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่ส่งออกจากประเทศไทย ในขณะที่ประเทศไทยได้มีการประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์กำหนดให้เชื้อ Cmm เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยโดยพื้นที่ PRA คือประเทศไทย เส้นทางศัตรูพืชในนี้คือเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ และประเทศไทยยังไม่เคยประเมินเพื่อทราบระดับความเสี่ยงของเชื้อแบคทีเรีย Cmm มาก่อน และการประเมินศักยภาพในการ

รหัสการทดลอง 03-04-54-03-06-00-11-56

ปรับตัวของเชื้อในสภาพภูมิ อากาศประเทศไทย พบว่าเชื้อสามารถปรับตัวอยู่ในประเทศไทยได้ อย่างไรก็ตามมีความจำเป็นต้องศึกษาหาข้อมูลของมะเขือเทศและเชื้อ Cmm เพิ่มเติม เพื่อใช้ในการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชตลอดจนพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบเชื้อ Cmm ให้มีประสิทธิภาพสูงต่อไป

คำนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่สำคัญและส่งออกจำหน่ายยังประเทศต่างๆ ทั่วโลก รวมถึงประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป ต่อมาได้รับแจ้งจากประเทศฝรั่งเศสว่ามีการตรวจพบเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis จากเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่ส่งออกไปจากประเทศไทย ซึ่งเชื้อ Cmm จัดเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์เรื่องประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ (ฉบับที่ ๗) พ.ศ. ๒๕๕๐ เพราะไม่มีการปรากฏเชื้อนี้ในประเทศไทยมาก่อน อย่างไรก็ตามในประเด็นนี้ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงของเชื้อนี้ ถึงโอกาสที่เชื้อนี้อาจติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์พ่อแม่ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศเพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมในประเทศไทยและส่งกลับไปจำหน่ายยังต่างประเทศโดยศึกษาถึงโอกาสที่เชื้อจะติดเข้ามาและสามารถตั้งรกรากและระบาดทำความเสียหายในประเทศไทยได้เพื่อกำหนดให้มีติดตามเฝ้าระวัง และหาวิธีการตรวจสอบเชื้อ Cmm ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดรวมถึงยืนยันสถานภาพการเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หนังสือ และวารสารทางวิชาการที่เกี่ยวข้องในประเทศและต่างประเทศ
2. CAB INTERNATIONAL(2007 และ 2012 online) ข้อมูลทางอิเล็กทรอนิกส์
3. เครื่องคอมพิวเตอร์เครื่องพิมพ์ กระจาย
4. เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ
5. กล้องจุลทรรศน์ตู้ปลอดเชื้อ พร้อมกล้องถ่ายภาพ
6. น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อและสารเคมีในการแยกและเลี้ยงเชื้อ
7. กระจกปลูกพืช ดิน โรงเรือนปลูกพืช
8. คู่มือการสำรวจ
9. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างได้แก่ ถุงพลาสติก กระจายบันทึกปากกาเคมี เครื่องระบุพิกัด กระจายหนังสือพิมพ์
10. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เชื้อเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อ
11. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง ขวดดูแรนบิกเกอร์สไลด์ และแผ่นแก้วปิดสไลด์กระบอกตวง แท่งแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์
12. อุปกรณ์ทำตัวอย่างแห้ง เช่น กระจายหนังสือพิมพ์ ไม้อัดตัวอย่าง กระจายฟาง ซอง กระจายสำหรับใส่ตัวอย่าง

วิธีการ

1. การรวบรวมข้อมูลมะเขือเทศและเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis

สืบค้นรวบรวมข้อมูลมะเขือเทศและCmm เช่น อนุกรมวิธาน ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ แหล่งปลูกมะเขือเทศ ชนิดมะเขือเทศ การนำเข้าและส่งออกเมล็ด การเก็บรักษา การบรรจุ ข้อมูล CMM เช่นอนุกรมวิธาน พืชอาศัย การเกิดโรค เป็นต้น จากทั้งในและต่างประเทศ ฐานข้อมูล จากเอกสารวิชาการ วารสาร รายงานการประชุม สัมมนาทางวิชาการและหน่วยงานอื่นที่เกี่ยวข้อง ข้อมูล จาก CAB INTERNATIONAL (2007 และ 2012 online) และข้อมูลทางอิเล็กทรอนิกส์ เว็บไซต์ต่างๆ จากทั่วโลก รวมถึงข้อมูลที่ประเทศอื่นๆเคยวิเคราะห์ความเสี่ยงCMMกับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศมาก่อน โดยเฉพาะกับเส้นทางศัตรูพืช คือ เมล็ดพันธุ์

2. การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* จากเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากต่างประเทศ

สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 2007) หรือตามความเหมาะสมของปริมาณนำเข้าแต่ละสายพันธุ์เพื่อตรวจหาเชื้อ Cmmจากเมล็ดมะเขือเทศหรือหรือเก็บตัวอย่างพืชจากแปลงเพาะกล้ามะเขือเทศแล้วนำมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการโดย บดเมล็ดหรือตัวอย่างมะเขือเทศใน 1-10 มิลลิลิตร(ตามปริมาณของเมล็ดหรือตัวอย่างพืช) สำหรับ เมล็ดบดในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (0.85% NaCl) หรือบัฟเฟอร์จำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทำให้เจือจางที่ 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} และ 10^{-5} ตามลำดับ ใช้ไปเปดต์ดูด suspension แต่ละความเข้มข้น จำนวน 0.1 มิลลิลิตรลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) หรืออาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง (semi selective media) บ่มจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้องนาน 3-5วัน ตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรียหลัง 3 วันแล้ว แยกเชื้อให้บริสุทธิ์ แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไปหรือเพาะเมล็ดให้งอกแล้วสังเกตลักษณะอาการโรคจากนั้นนำไปพืชที่แสดงอาการผิดปกติไปเชื้อแยกเชื้อโดยทำDilution plate หรือ วิธี Tissue transplantingเมื่อแยกเชื้อให้บริสุทธิ์จากวิธี 1 หรือ 2 แล้ว นำเชื้อที่ได้ไปทดสอบแกรม (Gram reaction) โดยใช้ 3%โปตัสเซียมไฮดรอกไซด์ หรือย้อมสีแกรมถ้าให้ผลปฏิกิริยาเป็นบวก นำมาตรวจลักษณะและสีของโคโลนี รูปร่างของเซลล์แบคทีเรียและ ศึกษา Kotch's postulate บนต้นมะเขือเทศอาจตรวจสอบจากเมล็ดหรือจำแนกชนิดโดยการตรวจสอบด้วยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) หรือปฏิกิริยาชีวเคมี เป็นต้น

3. การพัฒนาเทคนิควิธีการตรวจสอบเชื้อ Cmm ทั้งในตัวอย่างพืชและเมล็ดพันธุ์

ดำเนินการสืบค้นข้อมูลเทคนิคการตรวจสอบเชื้อ Cmm ที่มีรายงานในต่างประเทศจากฐานข้อมูลแหล่งต่างๆทั้งจากเอกสารวิชาการ วารสาร รายงานการประชุม สัมมนาทางวิชาการและหน่วยงานอื่นที่เกี่ยวข้อง ข้อมูลจาก CAB INTERNATIONAL (2007 และ 2012 online) และขออนุญาตินำเข้าเชื้อCmm จากต่างประเทศเพื่อใช้เป็นตัวตรวจสอบผลปฏิกิริยาบวก (Positive control) โดยดำเนินการศึกษา ทดสอบ วิธีการตรวจสอบที่เป็นวิธีการมาตรฐานกับตัวอย่างพืชและเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ

4. การสำรวจและเฝ้าระวังตามมาตรฐาน ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance) ในแปลงปลูกมะเขือเทศและแปลงที่เป็นพืชอาศัยของเชื้อ Cmm

4.1 สืบค้นข้อมูลลักษณะของเชื้อ Cmm ได้แก่ รายละเอียดของเชื้อ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง และลักษณะอาการ พร้อมรูปภาพ และจัดทำคู่มือการสำรวจ

4.2 จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจพร้อมบันทึกข้อมูลชื่อเกษตรกร สถานที่ วันที่เก็บและข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์ เก็บตัวอย่างโรคไว้ในกล่องเก็บความเย็น นำตัวอย่างมาศึกษาลักษณะอาการในห้องปฏิบัติการ จัดเก็บโรคพืชที่แสดงอาการที่ใบอัดทับเป็นตัวอย่างแห้งและเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอสังครีกรศึกษา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ ฯ

4.3 การสำรวจ กำหนดพื้นที่แหล่งปลูกมะเขือเทศในเขตภาคเหนือ เชียงราย ลำพูน และลำปาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัด ขอนแก่น สกลนคร และกาฬสินธุ์วางแผนการสำรวจอย่างมีระบบ สำรวจแบบเฉพาะเจาะจง

การกำหนดพื้นที่สำรวจ ภาคเหนือ ได้แก่

อำเภอบ้านโฮ่ง อำเภอลี้ จังหวัดลำพูน

อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย

อำเภอเมืองปาน จังหวัดลำปาง

การกำหนดพื้นที่สำรวจ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่

อำเภอสีชมภู อำเภอบ้านทุ่ม จังหวัดขอนแก่น

อำเภอพังโคน อำเภออากาศอำนวย อำเภอพรรณานิคม จังหวัดสกลนคร

อำเภอเมือง จังหวัดกาฬสินธุ์

5. การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชดำเนินการตามขั้นตอนคือ

การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเป็นไปตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช (ISPM) ฉบับที่ 11 เรื่อง คำแนะนำสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่กักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม (Pest risk analysis for quarantine pests including analysis of environmental risks) (FAO, 2004) เพื่อให้ทราบเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* มีความเสี่ยงมากน้อยเพียงใดกับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าจากต่างประเทศ โดยกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชแบ่งเป็น 3 ขั้นตอนที่มีส่วนสัมพันธ์กัน ได้แก่

ขั้นตอนที่1: การเริ่มต้น (Stage1: Initiation)

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

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

ขั้นตอนที่ 1: การเริ่มขบวนการวิเคราะห์ (Initiation)

1.1 จุดเริ่มต้นการวิเคราะห์ (Initiation point) ต้องทราบว่าการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชหรือทบทวนของเดิมที่เคยวิเคราะห์เกิดขึ้นด้วยเหตุใดจากเหตุผลดังนี้

1.1.1 เริ่มต้นโดยการจำแนกศัตรูพืช (PRA initiated by the identification of a pest) เช่นมีการตรวจพบการเข้าทำลายหรือการระบาดของศัตรูพืชชนิดใหม่ภายในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชหรือตรวจพบศัตรูพืชชนิดใหม่ติดมากับสินค้านำเข้าชนิดหนึ่งหรือมีการวิจัยทางวิทยาศาสตร์พบความเสี่ยงจากศัตรูพืชชนิดใหม่หรือมีศัตรูพืชชนิดหนึ่งเข้ามาในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงที่1) มีรายงานว่าศัตรูพืชชนิดหนึ่งทำลายก่อให้เกิดความเสียหายรุนแรงในพื้นที่ใหม่มากกว่าพื้นที่ที่เป็นแหล่งระบาดเดิม 2) ตรวจพบศัตรูพืชชนิดหนึ่งบนสินค้านำเข้าซ้ำแล้วซ้ำอีก 3) มีผู้ยื่นคำขออนุญาตนำเข้าสิ่งมีชีวิตเพื่อการทดลองวิจัย 4) มีการจำแนกพบสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งเป็นพาหะของศัตรูพืชชนิดอื่นเพิ่มขึ้นอีก 5) สิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งที่ได้รับการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมในลักษณะซึ่งสามารถจำแนกได้อย่างชัดเจนว่ามีศักยภาพที่จะเป็นศัตรูพืชได้

1.1.2 เริ่มต้นโดยการจำแนกเส้นทางศัตรูพืช (PRA initiated by the identification of a pathway) เช่นเริ่มมีสินค้าชนิดใหม่ที่ไม่เคยนำเข้ามาก่อน หรือ สินค้ามาจากพื้นที่ใหม่หรือจากแหล่งกำเนิดใหม่พืชชนิดใหม่ถูกนำเข้าเพื่อการคัดเลือกพันธุ์หรือเพื่อการวิจัยมีเส้นทางศัตรูพืชอื่นนอกเหนือจากการนำเข้าสินค้าเช่นการแพร่กระจายโดยธรรมชาติ, วัสดุหีบห่อ, ไปรษณีย์ภัณฑ์, เศษอาหาร, สัมภาระของผู้โดยสาร เป็นต้น หากไม่มีศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชก็มักมีโอกาสปะปนมากับเส้นทางศัตรูพืช การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชอาจยุติ ณ จุดนี้

1.1.3 เริ่มต้นโดยการทบทวนหรือการปรับปรุงนโยบาย (PRA initiated by the review or revision of a policy) เป็น การดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชขึ้นใหม่ หรือ ทบทวนของเดิมที่ได้เคยวิเคราะห์ไว้แล้ว เนื่องจากการทบทวนกฎระเบียบสุขอนามัยพืช, ข้อกำหนดหรือการปฏิบัติการหรือมีข้อเสนอจากประเทศหนึ่งหรือโดยหน่วยงานอารักขาพืชนานาชาติ (หน่วยงานอารักขาพืชระดับภูมิภาค องค์การอาหารแห่งสหประชาชาติ) ให้มีการทบทวนหรือปรับปรุงหรือ มีวิธีการจำกัดศัตรูพืชใหม่ หรือระบบการกำจัดศัตรูพืชเดิมใช้ไม่ได้ มีกระบวนการใหม่ หรือข้อมูลใหม่ที่มีผลกระทบต่อ การตัดสินใจก่อนหน้านี้หรือมีข้อโต้แย้งเกิดขึ้นกับมาตรการสุขอนามัยพืชหรือสถานการณ์ทางสุขอนามัยพืชในประเทศหนึ่งเปลี่ยนแปลงไป มีประเทศใหม่เกิดขึ้นหรือ ขอบเขตทางการปกครองเปลี่ยนแปลงไป

1.2 การจำแนกพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Identification of PRA area)

กำหนดพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชให้ชัดเจนเพื่อประโยชน์ในการพิจารณาหาข้อมูลที่ต้องการ ได้เหมาะสมถูกต้องกับพื้นที่

1.3 รวบรวมข้อมูลสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

รวบรวมข้อมูลเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชทุกขั้นตอน โดยเฉพาะการวิเคราะห์ในระยะเริ่มต้นเพื่อให้เกิดความชัดเจนเกี่ยวกับสภาพการแพร่ระบาดของแมลงที่เรีย Cmm ในปัจจุบัน ตลอดจนโอกาสที่ศัตรูพืชจะติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ และเส้นทางอื่นๆที่จะเข้ามาในราชอาณาจักรไทย

ข้อมูลสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชอาจมาจากแหล่งที่หลากหลาย รวมถึงตามอนุสัญญาอารักขาพืชระหว่างประเทศ (มาตรา 18 ข้อซี) ที่เคยส่งข้อมูลศัตรูพืชนี้ประกอบการขอเปิดตลาด

1.4 ตรวจสอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่มีการดำเนินการแล้ว

ก่อนเริ่มขบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชต้องตรวจสอบว่าได้เคยวิเคราะห์ความเสี่ยงแมลงที่เรีย Cmm นี้มาก่อนแล้วหรือไม่ เพื่อนำมาพิจารณาว่าข้อมูลเดิมสามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ความเสี่ยงได้หรือไม่

1.5 ข้อสรุปของขั้นตอนการเริ่มกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

เมื่อสิ้นสุดขั้นตอนที่ 1 จะทราบเหตุผลของการต้องดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงว่าเป็นเพราะเหตุใด ข้อมูลของศัตรูพืชและเส้นทางที่เกี่ยวข้องกับศัตรูพืชและพื้นที่วิเคราะห์ศัตรูพืชรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องเพื่อใช้ประกอบการวิเคราะห์ รวมทั้งสามารถจำแนกได้ว่าเมล็ดมะเขือเทศจะเป็นเส้นทางศัตรูพืชเข้ามาในราชอาณาจักร โดยการวิเคราะห์พื้นที่ที่มีความเสี่ยงจะหมายถึงศัตรูพืชนี้ไม่มีรายงานการตรวจพบในประเทศ หรือหากมีก็มีในขอบเขตจำกัดภายใต้การควบคุมของพนักงานเจ้าหน้าที่

ขั้นตอนที่ 2: การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk assessment)

การประเมินความเสี่ยง(สำหรับศัตรูพืชกักกัน) จะประเมินความน่าจะเป็นในการจะเข้ามา (Introduction) และการแพร่กระจาย (Spread) ของศัตรูพืชกักกันและโอกาสที่จะเกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจทางตรงและทางอ้อมจากศัตรูพืชกักกันนี้ (FAO, 2004) โดยการประเมินความเสี่ยงจะประกอบด้วย 3 ขั้นตอนที่เกี่ยวข้องสัมพันธ์กัน คือ

2.1 การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) พิจารณาว่าเชื้อแบคทีเรีย CMM มีคุณสมบัติจัดเป็นศัตรูพืชกักกัน(quarantine pest) ตามคำนิยามของศัตรูพืชกักกันในมาตรฐานระหว่างประเทศสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 5 (Glossary of Phytosanitary Terms) ที่ว่า“ศัตรูพืชกักกัน (Quarantine pest) หมายถึง ศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจที่มีศักยภาพต่อพื้นที่ที่อยู่ในอันตรายนั้นและยังไม่มีอยู่ในที่นั้นหรือมีอยู่แต่ไม่แพร่กระจายอย่างกว้างขวางและกำลังมีการควบคุมอยู่อย่างเป็นทางการ (FAO, 2006) โดยพิจารณาจากหลักการ1) ชนิดของศัตรูพืช 2) การปรากฏหรือไม่ปรากฏในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยง 3) การควบคุมทางกฎระเบียบ 4) ศักยภาพที่จะตั้งรกรากและแพร่กระจายในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงและ 5) ศักยภาพที่จะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจและทางสิ่งแวดล้อมในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชด้วย

2.2 การประเมินโอกาสการเข้ามาและแพร่ระบาด (Assessment of the probability of introduction and spread) โอกาสการเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวรและแพร่กระจายของแบคทีเรียCMMในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช โดยการประเมินโอกาสการเข้ามา(Probability of entry)การประเมินโอกาสการตั้งรกรากอย่างถาวร (Probability of establishment)การประเมินโอกาสการแพร่กระจาย (Probability of spread) โดยเฉพาะเมื่อมีการนำเข้ามาส่วนของพืชมาเพื่อการขยายพันธุ์ การพิจารณาการเข้ามาการตั้งรกรากอย่างถาวรและการแพร่กระจายของศัตรูพืชจะต้องคำนึงว่าเป็นความตั้งใจที่จะนำเข้าเมล็ดมาเพื่อเป็นส่วนขยายพันธุ์กระจายไปปลูกยังแหล่งต่างๆต้องปลูกให้มีชีวิตรอดและให้ผลผลิตที่ดีจากปริมาณที่นำเข้ามาและช่วงเวลาที่เหมาะสม ศัตรูพืชจะมีชีวิต อยู่รอดครบวงจรชีวิตหรือไม่ในพืชอาศัย และเมล็ดจะส่งไปในสภาพที่อุณหภูมิและความชื้นอากาศที่ไม่ไม่มีผลต่อเชื้อแบคทีเรียในระหว่างการขนส่ง โดยการประเมินโอกาสความเป็นไปได้ของการแพร่ระบาดในเบื้องต้นจะพิจารณาทางด้านชีววิทยาเหมือนกับประเมินโอกาสความเป็นไปได้ของศัตรูพืชที่จะเข้ามาและเจริญแพร่ขยายพันธุ์ตั้งรกรากอย่างถาวร

สำหรับจุดประสงค์ของการประเมินความเสี่ยงเชื้อ Cmm เมล็ดมะเขือเทศจะถูกตั้งสมมุติฐานว่ามาจากแหล่งที่มีเชื้อแบคทีเรีย Cmm. ปรากฏและไม่มีมาตรการสุขอนามัยพืชกำกับ ซึ่งการเคลื่อนย้าย Cmm. มากับเมล็ดมะเขือเทศในโรงเรือนที่ผลิตเป็นการค้าจะถือว่าเป็นเส้นทางหลักของการแพร่กระจายอย่างไกลของแบคทีเรียที่สามารถทำความเสียหายแก่พืชในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยง

2.2.1 โอกาสการเข้ามาของศัตรูพืช (Probability of entry of a pest) ขึ้นอยู่กับเส้นทางที่เชื้อ Cmm จะติดมากับเมล็ดมะเขือเทศว่ามาที่ส่วนใด สามารถมีชีวิตรอดในระหว่างขนส่งได้หรือไม่ สามารถมองเห็นหรือมีวิธีการตรวจสอบที่เหมาะสมหรือไม่และมีชีวิตรอดในขณะขนส่งและเก็บรักษาเป็นต้น

2.2.2 โอกาสการเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวรและแพร่ขยายพันธุ์ (Probability of establishment) และการประเมินศักยภาพในการปรับตัวของเชื้อในสภาพภูมิอากาศประเทศไทย พบว่าเชื้อสามารถปรับตัวอยู่ในประเทศไทยได้ใช้ข้อมูลด้านชีววิทยาของศัตรูพืชที่เชื้อถือได้ (วงจรชีวิต พืชอาศัย การแพร่ระบาด การอยู่รอด เป็นต้น) จากพื้นที่ที่ศัตรูพืชขึ้น

ปรากฏอยู่นำมาเปรียบเทียบกับสภาพในพื้นที่ที่วิเคราะห์ จุดประสงค์ของการนำเข้ามา ที่เป็นเหตุผลในการช่วยกระจายเชื้อ ความสามารถมีชีวิตรอดในสภาพที่เหมาะสม หรือไม่เหมาะสม (ควรจะนำปัจจัยเกี่ยวกับสภาพแวดล้อมที่ถูกควบคุม เช่น ในเรือนกระจกหรือเรือนเพาะชำ) วิธีการมีชีวิตอยู่รอดของศัตรูพืชการปฏิบัติทางการเกษตรและมาตรการป้องกันกำจัดมาประเมินโอกาสเข้ามาเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืช

ในการพิจารณาโอกาสการเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวรและแพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืชนั้นควรบันทึกไว้ด้วยว่าศัตรูพืชบางชนิดอาจปรากฏอยู่ในช่วงหนึ่ง (ดู ISPM No.8 Determination of pest status in an area) แต่อาจจะไม่สามารถเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงได้ (เนื่องจากสภาพอากาศไม่เหมาะสม) แต่จะสามารถมีผลกระทบทางเศรษฐกิจในระดับที่ยอมรับไม่ได้ในภายหลังได้ (ดู IPPC Art. VII.3)

2.2.3 โอกาสการแพร่ระบาดของศัตรูพืชหลังจากเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวรและแพร่ขยายพันธุ์ (Probability of spread after establishment) ต้องใช้ข้อมูลทางชีววิทยาที่เชื่อถือได้จากแหล่งศัตรูพืชมาใช้เปรียบเทียบกับสถานการณ์ในพื้นที่ที่ศัตรูพืชนั้นระบาดอยู่ในปัจจุบัน และเพื่อนำมาใช้ประเมินโอกาสการแพร่ระบาด และกรณีตัวอย่างที่เคยเกิดมาแล้วกับศัตรูพืชที่คล้ายคลึงกันสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการพิจารณา ปัจจัยที่ใช้พิจารณา ได้แก่ ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในสภาพธรรมชาติและ/หรือ สภาพแวดล้อมที่ถูกจัดการสำหรับการแพร่ระบาดของศัตรูพืชโดยธรรมชาติ มีสิ่งกีดขวางโดยธรรมชาติ ศักยภาพการเคลื่อนย้ายไปกับสินค้าหรือพาหนะขนส่งจุดประสงค์ของสินค้าไปใช้ประโยชน์ พาหนะที่มีศักยภาพของศัตรูพืชในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชศัตรูธรรมชาติที่มีศักยภาพของศัตรูพืชในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชช่วงเวลาของวงจรชีวิต จำนวนรุ่นต่อปี ระยะพักตัว และอื่นๆ

ข้อมูลโอกาสการแพร่ระบาดของศัตรูพืชจะถูกนำมาใช้ประเมินศักยภาพความสำคัญทางเศรษฐกิจของศัตรูพืชที่อาจแสดงออกในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชด้วย หากศัตรูพืชชนิดนั้นเข้ามาและเจริญแพร่ขยายพันธุ์ในพื้นที่ที่มีศักยภาพทางความสำคัญทางเศรษฐกิจต่ำ และแพร่ระบาดไปในพื้นที่ที่มีศักยภาพทางความสำคัญทางเศรษฐกิจสูง ยิ่งกว่านั้นอาจมีความสำคัญในขั้นตอนการจัดการความเสี่ยงเมื่อพิจารณาถึงความเป็นไปได้ในการควบคุมให้อยู่ภายใต้ขอบเขตหรือจำกัดศัตรูพืชให้หมดสิ้นไป

2.2.4 ข้อสรุปเกี่ยวกับโอกาสการเข้ามาเจริญแพร่ขยายพันธุ์และระบาดของศัตรูพืช (Conclusion on the probability of introduction and spread) ภาพรวมของโอกาสเข้ามาเจริญแพร่ขยายพันธุ์ควรแสดงในลักษณะที่เหมาะสม อาจแสดงข้อมูลในลักษณะเชิงปริมาณหรือเชิงคุณภาพ

2.3 การประเมินผลทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้น (Assessment of potential economic consequence) นำข้อมูลต่างๆที่สัมพันธ์ของเชื้อแบคทีเรีย Cmm กับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศมารวมกัน และมีการวิเคราะห์การสูญเสียทางเศรษฐกิจเพื่อประเมินผลกระทบทุกด้านของศัตรูพืชทั้งทางตรงและทางอ้อม

2.4 ระดับความไม่แน่นอน (degree of uncertainly) การประเมินโอกาสการเข้ามาของศัตรูพืชและผลที่ตามมาทางด้านเศรษฐกิจจะมีปัจจัยที่ไม่แน่นอนเข้ามาเกี่ยวข้องจำนวนมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นการประเมินที่นอกเหนือจากสภาพซึ่งศัตรูพืชเกิดระบาดตามสภาพทางทฤษฎีใน

พื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช จึงเป็นสิ่งสำคัญที่จะต้องบันทึกไว้เป็นหลักฐานเกี่ยวกับปัจจัยที่ไม่แน่นอนและระดับของความไม่แน่นอนที่เข้ามาเกี่ยวข้อง

2.5 ข้อสรุปของการประเมินความเสี่ยงของศัตรูพืช (Conclusion of the pest risk assessment stage)

ผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชจะทราบว่าเชื้อ Cmm เป็นศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงมากน้อยระดับใดที่จะติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากแหล่งที่มีโรคระบาดอยู่ และจะถูกนำมาพิจารณาเกี่ยวกับการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชให้เหมาะสม รวมทั้งพื้นที่บางส่วนหรือทั้งหมดของพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชอาจกำหนดเป็นพื้นที่ที่มีปัจจัยสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืชจนทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจที่สำคัญ โดยต้องทำหลักฐานเอกสารรวมทั้งความไม่แน่นอนที่เกิดร่วมอยู่ด้วย

ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk management)

กำหนดมาตรการทางเลือกสำหรับการจัดการความเสี่ยงเพื่อลดความเสี่ยงที่ได้จากการประเมินในขั้นตอนที่ 2 ดังนี้

3.1 ระดับความเสี่ยง (Level of risks) ใช้หลักการจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่มีระดับเหมาะสมซึ่งสามารถยอมรับได้ (Appropriate Level of acceptable; ALOP) หรือระดับความเสี่ยงที่สามารถยอมรับได้ (acceptable)

3.2 ข้อมูลวิชาการประกอบการพิจารณาการจัดการความเสี่ยงโดยดูจากข้อมูลที่รวบรวมได้

3.3 การยอมรับความเสี่ยง (Acceptable of risk) นำผลของการประเมินความเสี่ยงนับตั้งแต่การเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวรและการแพร่ระบาด และผลกระทบต่อเศรษฐกิจที่แสดงความเสี่ยงว่าไม่สามารถยอมรับได้นั้นมาจัดการจำแนกมาตรการสุขอนามัยพืชเพื่อลดความเสี่ยงลงให้ถึงระดับต่ำสุดที่ยอมรับได้

3.4 จำแนกและคัดเลือกวิธีการที่เหมาะสมที่มีประสิทธิภาพในการลดโอกาสการเข้ามาเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืชที่เหมาะสม ควรให้ผลแน่นอนและมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติ อาจใช้มากกว่าสองมาตรการเพื่อลดความเสี่ยงจนถึงระดับที่ยอมรับ

3.5 การรับรองสุขอนามัยพืช (Phytosanitary certificate) โดยการรับรองว่าสินค้าปราศจากศัตรูพืชกักกันซึ่งกำหนดโดยประเทศผู้นำเข้าและเป็นไปตามข้อกำหนดด้านสุขอนามัยพืชของประเทศนำเข้า ซึ่งเป็นการยืนยันว่าได้มีการจัดการความเสี่ยงตามที่กำหนด

3.6 บทสรุปการจัดการความเสี่ยง ผลที่ได้รับจากขบวนการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชอาจไม่มีมาตรการซึ่งได้รับการพิจารณาแล้วว่าเหมาะสม หรือมีการเลือกวิธีการจัดการความเสี่ยงวิธีหนึ่งหรือหลายวิธีการซึ่งพบว่าสามารถทำให้ความเสี่ยงซึ่งเกิดร่วมกับศัตรูพืชลดต่ำจนอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ วิธีการจัดการความเสี่ยงเหล่านี้จะอยู่บนพื้นฐานของกฎระเบียบหรือข้อกำหนดด้านสุขอนามัยพืช

การจัดทำเอกสารการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Documentation of Pest Risk Analysis) เพื่อใช้ประโยชน์เมื่อต้องการทบทวนมาตรการหรือเกิดกรณีโต้แย้ง

เวลาและสถานที่

เวลา: ตุลาคม 2555 – กันยายน 2556

สถานที่: กลุ่มวิจัยการกักกันพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
 ด้านตรวจพืชฯ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตรกรมวิชาการเกษตร
 โรงเรือนปลูกมะเขือเทศของบริษัทผู้นำเข้า และแปลงปลูกของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมข้อมูลมะเขือเทศและเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

1.1 การรวบรวมข้อมูลมะเขือเทศ

มะเขือเทศเป็นพืชในวงศ์ Solanaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lycopersicon esculentum* Mill เป็นพืชอยู่ในตระกูลเดียวกับพริก มะเขือเทศมันฝรั่ง ยาสูบ พืชเนย มีถิ่นกำเนิดอยู่ชายฝั่งตะวันตกของทวีปอเมริกาใต้ แถบประเทศเปรู ชิลี และแถบอียิปต์ตะวันออก มะเขือเทศเป็นพืชที่รับประทานผลสด ประกอบอาหารหรือปลูกส่งเข้าโรงงานอุตสาหกรรม เช่น โรงงานทำซอสมะเขือเทศเป็นซอสในโรงงานผลิตปลากระป๋อง ทำน้ำมะเขือเทศ ผลดิบสีเขียวดองในน้ำเกลือ เป็นต้น

ประเทศไทยปลูกมะเขือเทศเป็นพืชผักสวนครัว แหล่งปลูกใหญ่ที่สำคัญอยู่ทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ปลูกผลสด เข้าโรงงาน หรือเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อส่งออกต่างประเทศ

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ คือ มีรากแก้วแต่หากถูกทำลายจะสร้างรากแขนงและรากฝอยขึ้นมาทดแทนเป็นจำนวนมาก เจริญในดินได้ลึกถึง 2-3 ฟุต และเจริญตามแนวนอนได้ถึง 4-5 ฟุต ลำต้นกลม อ่อนเปราะ เมื่อดันแก่ลำต้นจะแข็งเป็นเหลี่ยม มีกิ่งก้านแขนงสลับกันเป็นจำนวนมาก ใบมีสีเขียวปนเทา เรียว เป็นใบประกอบรูปคล้ายขนนก ใบเจริญสลับกันเป็นใบประกอบ ใบมะเขือเทศตั้งแต่ใบที่ 1-7 จะสร้างอาหารสำหรับการเจริญของราก ส่วนอื่นๆที่อยู่ใกล้ผลจะสร้างอาหารไปเลี้ยงผลและรากจะชะงักการเจริญเมื่อติดผลชุดแรก ดอกเกิดเป็นช่อบนลำต้นระหว่างซอกมะเขือเทศ ดอกออกเป็นช่อ ช่อดอกเป็นแบบ raceme ช่อดอกมีดอกย่อย 4-50 ดอก ดอกมีกลีบเลี้ยง 5-7 กลีบดอกมี 5 กลีบ ดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศโดยปกติก้านชูเกสรตัวเมียสั้นกว่าอับละอองเกสร ดังนั้นมะเขือเทศจะมีอัตราการผสมตัวเองสูง จะผสมข้าม 2-5 เปอร์เซ็นต์ ผลเป็นแบบเดี่ยวมีเนื้ออ่อนนุ่ม เมล็ดมีลักษณะรูปไข่ แบน เปลือกหุ้มเมล็ดมีขนเล็กๆปกคลุมอยู่

การเจริญเติบโตมี 3 ลักษณะคือ 1. แบบทอดยอดหรือการเจริญแบบเลื้อย ทรงพุ่มหลวม ต้นสูงต้องขึ้นค้ำให้ผลผลิตช้ากับเกี่ยวยาวนาน 2. แบบไม่ทอดยอด ทรงพุ่มแน่นไม่ต้องขึ้นค้ำให้ผลผลิตเร็วอายุสั้น มักใช้กับทะเลเทศส่งโรงงาน 3. กิ่งทอดยอดกิ่งเลื้อยลำต้นมักสูง การปลูกอาจขึ้นค้ำหรือไม่ก็ได้ ช่วงเวลาเก็บเกี่ยวยาวนานกว่าเจริญเติบโตแบบไม่ทอดยอด

การเก็บเกี่ยว ผลอ่อนมีสีเขียว เริ่มเปลี่ยนเป็นสีชมพูเข้มถึงแดงประมาณ 60-75 วันหลังปลูก ควรเก็บในระยะที่เริ่มสุกหรือห่าม หรือเมื่อผลเริ่มมีสีชมพู ปัจจุบันมีการปรับปรุงพันธุ์ใหม่ๆให้มีรูปร่างแตกต่างกันเช่น กลม รี สีผลนอกจากชมพูแล้วยังมีสีเหลือง เหลืองอมเขียวแล้วแต่ความต้องการของตลาด

ข้อมูลการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากต่างประเทศ

ข้อมูลการนำเข้าระหว่างปี 2551-2555 ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดมะเขือเทศจากประเทศเกาหลีใต้ จีน ญี่ปุ่น ไต้หวัน เวียดนาม สหรัฐอเมริกา อินเดีย อินโดนีเซีย ฮอลแลนด์ฟิลิปปินส์ อิสราเอล ฮองกง เปรู ฝรั่งเศส พม่า สเปน (สมาคมการค้าเมล็ดพันธุ์ไทย, 2556) โดยในปี 2553-2555 มีปริมาณนำเข้า ปี 2553 จำนวน 6,089.28 กิโลกรัม เป็นเงิน 48.06 ล้านบาท ปี 2554 จำนวน

2,925.15 กิโลกรัม เป็นเงิน 22.40 ล้านบาท และปี 2555 จำนวน 4,585.06 กิโลกรัม เป็นเงิน 53.74 ล้านบาท โดยพื้นที่ปลูกมะเขือเทศในประเทศไทยของบริษัทที่นำเข้ามาจากต่างประเทศที่มีเขื่อนี้ระบอบจำนวน 4 บริษัทตาม ตารางที่ 1

ข้อมูลปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิเฉลี่ยรายปีของแหล่งปลูกมะเขือเทศในประเทศไทยจากข้อมูลของกรมอุตุนิยมวิทยาระหว่างปี 2553-2557 (มีนาคม) แบ่งตามจังหวัดที่มีพื้นที่ปลูกมะเขือเทศของบริษัทที่ปลูกในประเทศไทยตามตารางที่ 2 และ 3

1.2 การรวบรวมข้อมูลของเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน

Domain: Bacteria

Class: Actinobacteria

Subclass: Actinobacteridae

Order: Actinomycetales

Suborder: Micrococccineae

Family: Microbacteriaceae

สาเหตุโรคแคงเกอร์ (Bacterial canker)

ชื่อวิทยาศาสตร์อื่นๆ ของเชื้อ

Aplanobacter michiganensis (Smith) Smith

Bacterium michiganense Smith

Corynebacterium michiganense (Smith) Jensen

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

Corynebacterium michiganense subsp. *michiganense* (Smith) Carlson

&Vidaver

Erwinia michiganensis (= *michiganense*) (Smith) Jensen

Mycobacterium michiganense (Smith) Krasil'nikov

Phytomonas michiganensis (Smith) Bergey et al.

Pseudomonas michiganense (Smith) Stevens

ชื่อสามัญ

Bacterial canker of tomato (English)

Bird's eye of tomato fruit (English)

Vascular tomato wilt (English)

Marchitamiento bacteriano del tomate (Spanish)

Cancer bacteriano del tomate (Spanish)

Chancre bactérien (French)

Bakterien-Tomate Krebs (Germany)

Cancro batterico (Italy)

พืชอาศัย

มะเขือเทศเป็นพืชอาศัยหลัก แต่สามารถพบได้ในพืชตระกูลพริก มะเขือม่วง และพืชพวก Solanum ที่เป็นวัชพืชเช่น *Solanum nigrum*, *S. douglasii*, *S. trifolium* Stamova & Sotirova (1987) *Datura stramonium*, *Chenopodium album* และ *Amaranthus retroflexus* (Chang et al., 1992). มีรายงานว่าในข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ ข้าวไรย์ ข้าวโอ๊ต ทานตะวัน แดงโม และแตงกวา เกิดโรคได้เมื่อปลูกเชื้อด้วยวิธี artificial stem inoculation นอกจากนี้ในพืชวงศ์ solanaceous สามารถปลูกเชื้อด้วยวิธี artificial inoculation ได้ง่าย (Thyr et al., 1975) Latin et al. (1995) รายงานว่าสามารถแยกเชื้อ Cmm ได้จาก *Capsicum sativum* L. (bell pepper)

ข้อมูลประเทศที่มีรายงานการพบเชื้อ Cmm โดยแบ่งตามพื้นที่ต่างๆ (CABI, 2014) ดังนี้

- **ทวีปเอเชีย** ได้แก่ อาเซอร์ไบจาน อาร์เมเนีย จีน อินเดีย อินโดนีเซีย (เมืองจาวาและสุมาตรา (Aprizalzain, 2008)) อิหร่าน ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ (เมือง Cheorwon และ Iksan (Myung and Kim, 2008)) เลบานอน ซีเรีย ตุรกี และอุซเบกิสถาน
- **ทวีปแอฟริกา** ได้แก่ อียิปต์ เคนยา มาดากัสการ์ โมร็อกโก แอฟริกาใต้ สเปน ตูนิเซีย ยูกันดาแซมเบีย และซิมบับเว
- **ทวีปอเมริกาเหนือ** ได้แก่ แคนาดา เม็กซิโก และสหรัฐอเมริกา
- **เขตอเมริกากลางและแคริบเบียน** ได้แก่ เบลีซ คอสตาริกา คิวบา โดมินีกาเกรเนดา กัวเตมา-ลุปและปานามา
- **ทวีปอเมริกาใต้** ได้แก่ อาร์เจนตินา บราซิล ชิลี โคลอมเบีย เอกวาดอร์ เปรู และอุรุกวัย
- **ทวีปยุโรป** ได้แก่ ออสเตรีย เบลารุส บัลแกเรีย ไชปรัส สาธารณรัฐเช็ก ฝรั่งเศส เยอรมนี กรีซฮังการี ไอร์แลนด์ ไอร์แลนด์ อิตาลี ลิทัวเนีย เนเธอร์แลนด์ นอร์เวย์ โปแลนด์ โปรตุเกส โรมาเนีย รัสเซีย เซอร์เบียสโลวีเนีย สเปน สวิตเซอร์แลนด์ ยูเครน และยูโกสลาเวีย
- **เขตโอเชียเนีย** ได้แก่ กวม ฟิจิ นิวซีแลนด์ตองกาและนิวแคลิโดเนีย

ลักษณะของเชื้อ: เป็นเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชหนึ่งในสอง genera ที่เป็นแกรมบวก (gram positive) เซลล์มีลักษณะเป็นแท่งสั้นๆ ปลายด้านหนึ่งโตกว่าอีกด้านหนึ่ง คล้ายกระบอกอาจตรงหรือโค้งเล็กน้อย ขนาดประมาณ 0.6-0.7x1.0-1.2 ไมครอน เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องทดลองจะเจริญอย่างช้าๆ เชื้อสามารถเจริญบนอาหาร Nutrient glucose agar หรือ Yeast peptone glucose agar (Lelliott and Stead, 1987) ให้โคโลนีกลม ผิวเรียบเป็นมัน สีเหลืองส้ม บางครั้งอาจมีสีขาว สีชมพู และสีแดง ถ้าเชื้อมีการกลายพันธุ์ (mutant) (Bradbury, 1986) โดยธรรมชาติของเชื่อนี้จะมีลักษณะอาการโรคใกล้เคียงกับเชื้อ *Verticillium* sp. หรือ *Fusarium* sp. ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว (EPPO, n.d.)

อาการ: การเกิดโรคจะเกิดได้กับมะเขือเทศทุกระยะการเจริญเติบโต โดยระยะแรกจะสังเกตเห็นใบที่อยู่ส่วนล่างๆ เฉพาะด้านหรือซีกใดซีกหนึ่งของต้นหรือกิ่งเฉาอ่อนตัวลง ขอบใบม้วนงอขึ้นด้านบน ติดตามด้วยอาการเหี่ยวแล้วแห้ง อาการดังกล่าวจะค่อยๆ ลามจากส่วนล่างของต้นสูงขึ้นมาเรื่อยๆ แต่ก็จะเป็นเพียงด้านหนึ่งหรือซีกหนึ่งของต้นเท่านั้น เหมือนเมื่อตอนเริ่มเกิด เมื่อเริ่มอาการเหี่ยวขึ้นนั้นหากพิจารณาให้ใกล้ชิดจะพบว่าตรงรอยต่อระหว่างก้านใบที่เกี่ยวกับกิ่งหรือต้นเกิดเป็นแผลขีดเส้นยาวสีซีดขึ้น ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีดำแล้วแตกออกเป็นแผลสะเก็ดยาวๆ ก้านของใบหรือกิ่งที่แสดงอาการเหล่านี้หากนำมาตัดหรือผ่าออกดูจะพบว่าส่วนที่เป็นท่อนส่งอาหารมีสีคล้ำ เมื่อปล่อยทิ้ง

ไว้สักครู่จะมีเมือกสีเหลืองของเชื้อแบคทีเรียไหลเยิ้มออกมา อาการระยะสุดท้ายคือต้นมะเขือเทศจะชะงักงันหยุดการเจริญเติบโต ใบส่วนที่เขียวจะหดย่นแล้วแห้งตาย หากเชื้อเข้าทำลายแขนงอ่อนที่เพิ่งแตกออกมาจะมีผลทำให้ความยาวระหว่างข้อของกิ่งหรือก้านของแขนงดังกล่าวหดสั้น อ้วนหนาขึ้นกว่าปกติ และหากการทำลายเกิดขึ้นในระยะที่ต้นโตเต็มที่แล้วบางครั้งอาจไม่แสดงอาการเหี่ยว แต่จะเกิดอาการแห้งตายของใบขึ้นแทน โดยเริ่มจากขอบใบที่อยู่ส่วนบนๆ ของต้นลงมา แล้วค่อยกระจายออกไปทั่วทั้งต้นทำให้พืชตายในที่สุด หากเกิดโรคหลังจากที่มะเขือเทศออกผลแล้วอาการอาจไปแสดงให้เห็นที่ผลด้วยคือถ้าเป็นผลอ่อนจะขาวซีด ต่อมาจะแห้งแล้วร่วงหลุดจากต้น สำหรับผลที่โตแต่ยังไม่สุกจะเกิดแผลสะเก็ดนูนสูงขึ้นมาจากผิวเล็กน้อย ส่วนใหญ่จะมีขนาดประมาณ 2-3 มิลลิเมตร ตรงกลางแผลจะแตกเป็นสีน้ำตาล ลักษณะขรุขระ ที่สังเกตความแตกต่างได้ชัดเจนอีกอย่างคือ รอบๆ แผลจะมีขอบสีขาวล้อมอยู่โดยรอบลักษณะคล้ายตานก (bird's eye) ในกรณีที่เกิดโรคนี้นี้ที่ผล เชื้อแบคทีเรียจะไปอาศัยเคลือบเกาะติดอยู่ทั้งที่ผิวนอกและใต้เปลือกของเมล็ด เพื่ออยู่ข้ามฤดูและแพร่ระบาดต่อไป (ศักดิ์, 2537; CABI, 2014) ทั้งนี้อาการที่ปรากฏบนพืชนั้นยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ อีก เช่น อายุพืช สายพันธุ์พืช และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค เป็นต้น (Gleason et al., 1993; Strider, 1969)

ความสำคัญของเชื้อ: *C.michiganensis* subsp. *michiganensis* หรือ Cmm มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจในระดับสูง (Economic Importance High) เพราะเชื้อทำให้ผลผลิตพืชที่เชื้อเข้าทำลายได้รับความเสียหายสามารถอย่างมากและเชื้อสามารถถ่ายทอดโรคผ่านทางเมล็ดได้ (seed borne, seed Transmittion) จึงมีความเสี่ยงในการแพร่ระบาดในพื้นที่ต่างๆ ได้ (EPPO, n.d.) ดังนั้นจึงควรมีมาตรการสุขอนามัยพืชในการควบคุมเชื้อที่ติดไปกับเมล็ด เพื่อลดโอกาสการเป็นแหล่งของโรคในการแพร่กระจายต่อไปด้วยการทำ seed treatment นอกจากนี้เชื้อ Cmm เป็นศัตรูพืชกักกันในหลายประเทศ เช่น สหภาพยุโรป (EU) ซีเรีย (Radwan et al., 2010) เวียดนาม (Minister of Agriculture and Rural Development, 2005) และนิวซีแลนด์ (Ministry for Primary Industries, n.d.) เป็นต้นนอกจากนี้ EPPO, CPPC และ IAPSC พิจารณาให้เชื่อนี้เป็นเชื้อศัตรูพืชกักกันที่สำคัญ (EPPO, n.d.) โดยเชื่อนี้มีพืชอาศัยในวงศ์ Solanaceae อาทิ พริก มะเขือเทศ (CABI, 2014) ซึ่งพืชดังกล่าวมีการปลูกอย่างแพร่หลายในทวีปต่างๆ เมื่อเกิดการแพร่ระบาดของโรคจึงส่งผลกระทบต่อการผลิตพืชในบริเวณกว้างและสร้างความเสียหายต่อระบบเศรษฐกิจตามมานอกจากนี้ มีรายงาน ว่า ข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ ข้าวไรย์ ข้าวโอ๊ต ข้าวโพด ถั่ว และทานตะวัน เป็นพืชอาศัยของเชื้อ Cmm ได้โดยการปลูกเชื้อสู่ต้นพืช (Stamova and Sotirova, 1987)

ระยะของพืชที่เชื้อเข้าทำลายคือระยะเมล็ดงอก,ระยะออกดอก,ระยะติดผลและระยะให้ผลผลิต

ส่วนของพืชที่เชื้อเข้าทำลาย คือส่วนผล,ส่วนใบ,ส่วนลำต้น , เมล็ด และส่วนอื่นๆทั่วทั้งลำต้น

การถ่ายทอดโรค เป็นโรคเมล็ดพันธุ์และสามารถถ่ายทอดทางเมล็ดพันธุ์ได้ปริมาณเชื้อ Cmm ในสภาพธรรมชาติที่สามารถเข้าทำลายเมล็ดพันธุ์ได้คือ 10^2 - 10^4 CFU/ เมล็ด (Fatmi and Schaad, 1988; Hadas et al., 2005) และสามารถถ่ายทอดโรคได้ที่ 10^2 CFU/ เมล็ด (Kaneshiro, 2008) และยังพบว่าเมล็ดที่มีการปนเปื้อนเชื้อ Cmm ที่ อัตรา 0.01% ก็เป็นปริมาณที่เพียงพอในการแพร่กระจายเชื้อสาเหตุโรคในแปลงปลูกได้ (Chang et al., 1991; Gitaitis et al., 1991)

การเข้าทำลาย: เชื้อจะเข้าไปสู่ภายในพืชได้ดี โดยผ่านทางแผลที่ต้น ใบ กิ่งก้าน หรือ cotyledon หรือช่องเปิดธรรมชาติ เช่นปากใบ หรือบริเวณราก จากนั้นก็จะเข้าไปอยู่ในท่อส่งน้ำในลำ

ต้นแล้วเจริญเติบโต ก่อให้เกิดการทำลายและจุดต้นท่อน้ำในลำต้นดังกล่าวนอกจากนี้เชื่อมีการสร้างสารพิษ(toxic lycopenoid) ซึ่งทั้งหมดนี้จะเป็นสาเหตุที่ส่งผลให้พืชแสดงอาการของโรคขึ้นในที่สุด (Miura et al., 1986)

ชีววิทยาของเชื้อและสภาพแวดล้อม: สภาพแวดล้อมที่ส่งเสริมความรุนแรงของเชื้อควรมีอุณหภูมิประมาณ 23.33 ถึง 32.22 องศาเซลเซียส (75-90°F) และมีความชื้นสูงติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน แต่ถ้าสภาพอากาศไม่เหมาะสม เช่น อากาศเย็นมาก หรืออบอุ่นขึ้นประมาณ 25 องศาเซลเซียส และมีปริมาณเชื้อก่อโรคในระดับต่ำ อัตราการเกิดโรคจะลดลง (Chang et al., 1992) เชื้อมีการเจริญเติบโตและการก่อโรคได้ดีที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า 33 องศาเซลเซียส ความรุนแรงของโรคจะลดลงสำหรับความชื้นนั้นต้องการอยู่ในระดับปานกลางไม่ชอบดินที่แฉะหรือแห้งเกินไป (ศักดิ์, 2537) เชื้อสามารถมีชีวิตแฝงอยู่ในพืชได้ประมาณ 3 ปี และติดกับอุปกรณ์ทางการเกษตรได้มากกว่า 7 เดือน (CABI, 2014)

การแพร่กระจาย: การระบายข้ามฤดูปลูกที่สำคัญคือติดอยู่กับเมล็ดในลักษณะของ seed-borne สามารถติดไปกับเศษซากพืช หัว ไหล ดอก ผล ใบ ราก ต้นกล้า ลำต้น และพักตัวอยู่ในดินได้ (CABI, 2014) มีรายงานของ Dhanvantari (1993) ทดสอบการอยู่รอดของเชื้อบนเมล็ดพันธุ์พบว่าถ้าเก็บเมล็ดที่มีเชื้อ Cmm ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 18 เดือน ทำให้เชื้อที่ติดมากับเมล็ดลดลงจาก 82-1% และถ้าเก็บนานถึง 2 ปี เชื้อจะลดลงเหลือเป็น 0% แต่ถ้าเก็บเมล็ดที่ 4 องศาเซลเซียส ที่ความชื้น 60% เป็นเวลา 3 ปี ทำให้เชื้อที่ติดมากับเมล็ดลดลงประมาณ 100-5% โดยพบว่าถ้าเมล็ดมะเขือเทศมีการปนเปื้อนของเชื้อ Cmm เพียง 0.01-0.05% หรือ 1-5 เมล็ดต่อเมล็ดทั้งหมด 10,000 เมล็ดสามารถเกิดการแพร่ระบาดของเชื้อได้ในสภาพแปลงปลูกมะเขือเทศได้ (Chang et al., 1991; Gitaitis et al., 1991) นอกจากนี้เชื้อสามารถแพร่กระจายไปยังพืชต้นอื่นๆ ด้วยน้ำฝน ระบบน้ำ และเครื่องมือต่างๆ ในการทำเกษตรกรรม หรือโดยการจับต้องสัมผัสเช่น การถอนย้ายกล้า การผูกมัดต้นกับไม้ค้ำยัน การตัดแต่ง pruning ตลอดจนการเก็บเกี่ยวผล กล่าวกันว่ามดหรือกรรไกรที่นำมาใช้กับต้นมะเขือเทศที่เป็นโรคแล้วครั้งหนึ่ง เชื้อที่ติดมาจะสามารถถ่ายโรคให้กับต้นอื่นๆ ได้ถึง 30 ต้น โดยปัจจัยที่ทำให้เกิดการแพร่ระบาดอย่างมากในโรงเรือนคือระบบน้ำ ถึงแม้ว่ามะเขือเทศจะเป็นพืชที่อ่อนแอต่อเชื้อ Cmm ในสภาพแวดล้อมธรรมชาติ (Rat et al., 1991) แต่หลังจากมีการเข้าทำลายมะเขือเทศด้วยเชื้อนี้พบว่าเชื้อจะมีระยะการพักตัวที่ยาวนานในต้นพืชก่อนที่จะแสดงอาการ จึงอาจเป็นการเพิ่มโอกาสในการแพร่กระจายของเชื้อได้อีกทางหนึ่ง (Strider, 1969)

ความเสียหาย: เชื้อ Cmm เป็นเชื้อที่สร้างความเสียหายให้กับการผลิตมะเขือเทศทั้งในสภาพแปลงปลูกและโรงเรือนและสร้างความกังวลในการเพาะปลูกให้กับเกษตรกรอย่างมากเพราะเชื้อนี้ทำให้ต้นกล้าตายและผลผลิตไม่เป็นที่ต้องการของตลาด (CABI, 2014) เมื่อเกิดการแพร่ระบาดของเชื้อนี้ในโรงเรือนทำให้ผลผลิตของมะเขือเทศได้รับความเสียหายถึง 80% ในประเทศลิทัวเนีย (Burokiene, 2006) พบความเสียหายของผลผลิตมะเขือเทศในรัฐนอร์ทแคโรไลนาของสหรัฐอเมริกา 70% ในบางฤดูกาลเพาะปลูก ส่วนพันธุ์การค้าที่มีการเพาะปลูกและพันธุ์ที่ถูกควบคุม (controlled studies) พบว่าผลผลิตได้รับความเสียหายสูงถึง 84% และ 93% ตามลำดับ (Poysa, 1993) ประเทศฝรั่งเศสมีการทดสอบความเสียหายของเชื้อ Cmm พบว่าเชื้อนี้ทำให้ผลผลิตลดลง 20-30% (Rat et al., 1991)

มาตรการสุขอนามัยพืช: ในการตรวจสอบเชื้อ Cmm ของเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ

- การแช่เมล็ดลงในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 นาที (NPPO, 2013)

- การนำเมล็ดพืชลมร้อน (Dry heat) ที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Miller and Ivey, 2005)
- การแช่เมล็ดใน 5% Hydrochloric acid (HCl) หรือ 0.05% o-phenylphenol เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นจึงล้างออกด้วยน้ำเปล่า เป็นการกำจัดเชื้อ Cmm ที่ติดมากับเมล็ด จากการเข้าทำลายในสภาพธรรมชาติ (NPPO, 2013)
- การประยุกต์ใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยาในการตรวจสอบ เช่น เทคนิค Real time-polymerase chain reaction (RT-PCR) ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความจำเพาะเจาะจงไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น โอกาสในการปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นต่ำ มีความไวในการตรวจสอบที่ระดับ 10 CFU หรือเมล็ดที่มีการปนเปื้อนของเชื้อเพียง 1% ก็สามารถตรวจสอบได้ ไม่จำเป็นต้องมีการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อ ประหยัดค่าใช้จ่ายและเวลา จึงนำมาใช้ในการตรวจสอบเชื้อ Cmm ที่ติดมากับเมล็ดของมะเขือเทศในประเทศจีน (Zhao et al., 2007)

2. การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* จากเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากต่างประเทศ

- การใช้อาหารกึ่งคัดเลือก สำหรับแยกเชื้อที่ได้จากการสารสกัดเมล็ด โดยปกติวิธีการนี้มีความไว (sensitivity) ในการตรวจสอบไม่เพียงพอเพราะเชื้อชนิดอื่นที่แฝงอยู่ (saprophyte) จะเจริญได้เร็วกว่าจึงยับยั้งการเจริญของเชื้อ Cmm (Fatmi and Schaad, 1988; Shirakawa and Sasaki, 1988) จึงมีการพัฒนาอาหารเลี้ยงเชื้อตัวใหม่ชื่อ BCT ที่สามารถคัดแยกเชื้อได้ภายใน 7 วัน โดยอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้สามารถใช้ในการตรวจสอบเชื้อเพื่อพิสูจน์เชื้อจากเมล็ดและพืชที่แสดงอาการเพียงเล็กน้อยได้ (Radwan et al., 2011)
- เทคนิคทางเซรุ่มวิทยามีความจำเป็นต้องใช้แอนติบอดีที่มีความจำเพาะเจาะจงของเชื้อเพียงพอ สำหรับใช้ตรวจสอบเชื้อ Cmm (Rat, 1984)
- เทคนิคทางอณูชีววิทยา เป็นเทคนิคที่มีความจำเพาะเจาะจง รวดเร็วในการตรวจสอบ แต่มีค่าใช้จ่ายที่สูงและบางเทคนิคต้องใช้เวลาในการตรวจสอบ ซึ่งเทคนิคใหม่ๆ ที่มีรายงานและเป็นที่ยอมรับในการตรวจสอบ เช่น Fatty acid profile (Gitaitis and Beaver, 1990), molecular hybridization (Thompson et al., 1989) Bio-PCR (Burokiene, 2006) และ protein profiles (Bruyne et al., 1987)

- ข้อมูลการพบเชื้อ Cmm ในต่างประเทศไทย

ในปี 2555-2556 ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดมะเขือเทศจาก 13 ประเทศ รวมถึงประเทศที่มีรายงานการพบเชื้อ Cmm เช่น ประเทศเกาหลี*, ซิลี*, เนเธอร์แลนด์*, เปรู*, ฝรั่งเศส*, อเมริกา*, อิสราเอล*, อินโดนีเซีย*, อินเดีย*, จีน*, เม็กซิโก*, ญี่ปุ่น*, แอฟริกาใต้* (ตารางที่ 1)

มีการแจ้งจากประเทศฝรั่งเศสว่ามีการตรวจพบเชื้อนี้จากเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าจากประเทศไทย และ การตรวจพบหรือระบาดจากประเทศไซปรัส สเปน อิตาลี ออสเตรีย และอิหร่าน

การตรวจวินิจฉัยเชื้อ Cmm ในห้องปฏิบัติการและการปลูกทดสอบในโรงเรือน

ผลการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าในเดือน มกราคม 2557 17 ครั้ง 20 ตัวอย่าง จาก 9 ประเทศ ได้แก่ ประเทศเปรู เนเธอร์แลนด์ ฝรั่งเศส อินเดีย จีน แอฟริกาใต้ ลาว สหรัฐอเมริกาและฟิลิปปินส์ โดยจากการตรวจเมล็ดนำเข้าโดยทำ Ddilution Plate method และปลูกแล้วเก็บตัวอย่างที่น่าสงสัยมาตรวจสอบ ผลยังไม่พบ Cmm ติดมากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้า

ผลการสุ่มตรวจสอบจากแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้า 4 บริษัท รวม 10 ตัวอย่าง ผลการตรวจไม่พบเชื้อ Cmm สาเหตุโรค

3. การพัฒนาเทคนิควิธีการตรวจสอบเชื้อ Cmm ทั้งในตัวอย่างพืชและเมล็ดพันธุ์

ได้ดำเนินการสืบค้นข้อมูลเทคนิควิธีการตรวจสอบเชื้อ Cmm ที่มีรายงานในต่างประเทศ พบว่ามีวิธีการตรวจสอบที่จัดทำเป็นมาตรฐานแล้วเป็นที่ยอมรับในระดับสากลในปัจจุบัน เช่น ตามวิธีการของ EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization, PM7/42 และ ISTA (International Seed Association) อย่างไรก็ตามในปีงบประมาณ 2556 นี้ได้ดำเนินการตรวจสอบด้วยชุดตรวจสอบสำเร็จรูปที่นำเข้าจากต่างประเทศ และอยู่ระหว่างดำเนินการขออนุญาตนำเข้าเชื้อ Cmm สำหรับใช้อ้างอิงในการตรวจสอบต่อไป

4. การสำรวจและเฝ้าระวังตามมาตรฐาน ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance) ในแปลงปลูกมะเขือเทศและแปลงที่เป็นพืชอาศัยของเชื้อ Cmm

ผลการสำรวจเชื้อ Cmm ในแปลงปลูกมะเขือเทศในเขตภาคเหนือและภาค ตะวันออกเฉียงเหนือ ได้ดำเนินการสำรวจระหว่างเดือนตุลาคม 2555 ถึง กันยายน 2556 ในเขตภาคเหนือ จังหวัด เชียงราย ลำพูน และ ลำปาง ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัด สกลนคร ขอนแก่น และ กาฬสินธุ์ ว่ามีโรคแคงเกอร์จากเชื้อ Cmm หรือไม่ โดยทำการสำรวจทั้งหมดจำนวน 215 แปลง พบว่าไม่ปรากฏแคงเกอร์จากเชื้อ Cmm ในทุกแปลงที่ทำการสำรวจ แต่พบการระบาดของโรคเหี่ยวเหี่ยว สาเหตุจากแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* และโรคใบจุดสาเหตุจากเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*

5. ผลการศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Risk Assessment)

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเกิดจากการตรวจพบศัตรูพืชที่ประเทศไทยประกาศเป็นศัตรูพืชกักกันกับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่ประเทศไทยส่งออกไปสหภาพยุโรป พื้นที่ PRA เนื่องจากประเทศไทยมีสภาพภูมิอากาศเหมาะสมต่อการปลูกมะเขือเทศ ปัจจุบันสามารถปลูกได้ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศ เพื่อใช้ในครัวเรือน อุตสาหกรรม หรือผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อส่งออกยังต่างประเทศ ดังนั้น พื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช คือ “ประเทศไทย” ที่เชื้อแบคทีเรีย Cmm อาจจะติดเข้ามาสู่กับเส้นทาง (Pathway) คือ เมล็ดมะเขือเทศซึ่งประเทศไทยยังไม่เคยดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงเชื้อแบคทีเรีย Cmm กับเมล็ดมะเขือเทศมาก่อน

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk assessment)

การจัดประเภทศัตรูพืช (Pest Categorization)

รวบรวมข้อมูลมะเขือเทศ เช่น อนุกรมวิธาน ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ แหล่งปลูกมะเขือเทศ การเก็บเกี่ยว ข้อมูลการนำเข้า (ตารางที่ 1) และการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย Cmm จากเมล็ดมะเขือเทศที่นำเข้าในเดือนมกราคม 2557 จาก 17 ประเทศ รวม 20 ตัวอย่าง ไม่พบเชื้อแบคทีเรีย Cmm ติดมา และรวบรวมข้อมูลของเชื้อแบคทีเรีย ได้ข้อมูลลักษณะทางอนุกรมวิธาน ชื่อสามัญ พืชอาศัย การเกิดโรค การเข้าทำลาย การตรวจสอบ ความเสียหาย วิธีการตรวจสอบ การถ่ายทอดโรค มาตรการสุขอนามัยพืชที่ใช้ รายงานประเทศที่มีการพบเชื้อ รวมถึงสภาพภูมิอากาศในแหล่งปลูกมะเขือเทศของประเทศไทย (ตารางที่ 2) นำข้อมูลมาเข้ากระบวนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนที่ 1 โดยจุดเริ่มต้น (Initiation) เป็นผลมาจากการที่สหภาพยุโรปแจ้งให้ทราบว่ามีการตรวจพบเชื้อ Cmm

จากเมล็ดมะเขือเทศที่ส่งออกจากประเทศไทย โดยที่ประเทศไทยได้มีการประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์กำหนดให้เชื้อ Cmm เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย โดยพื้นที่ PRA คือประเทศไทยทั้งประเทศเนื่องจากประเทศไทยมีการปลูกมะเขือเทศได้ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศ ซึ่งเชื้อ Cmm มีข้อมูลว่าเป็นโรคที่สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดพันธุ์ได้ โดยที่กรณีการนำเข้ามะเขือเทศทำให้มะเขือเทศเป็นเส้นทางศัตรูพืชที่สำคัญ และประเทศไทยยังไม่เคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงเชื้อ Cmm มาก่อน และการประเมินศักยภาพในการปรับตัวของเชื้อในสภาพภูมิอากาศประเทศไทย พบว่าเชื้อสามารถปรับตัวอยู่ในประเทศไทยได้ซึ่งจะต่อด้วยการประเมินความเสี่ยงในขั้นตอนที่ 2 ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ได้ข้อมูลมะเขือเทศเช่น อนุกรมวิธาน ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ แหล่งปลูกมะเขือเทศ การเก็บเกี่ยว ข้อมูลการนำเข้า (ตารางที่ 1) และข้อมูลของเชื้อแบคทีเรีย Cmm เช่น ข้อมูลลักษณะทางอนุกรมวิธาน ชื่อสามัญ พืชอาศัย การเกิดโรค การเข้าทำลาย การตรวจสอบ ความเสียหาย วิธีการตรวจสอบ การถ่ายทอดโรค มาตรการสุขอนามัยพืชที่ใช้ รายงานประเทศที่มีการพบเชื้อจากเอกสารวิชาการ เว็บไซต์ต่างๆ รวบรวมสภาพภูมิอากาศในแหล่งปลูกมะเขือเทศของประเทศไทย (ตารางที่ 2 และ 3) และผลการเก็บตัวอย่างเมล็ดมะเขือเทศนำเข้าเพื่อตรวจหาเชื้อ Cmm ในห้องปฏิบัติการ จาก 17 ครั้ง 9 ประเทศ รวม 20 ตัวอย่างและผลการสุ่มตรวจสอบจากแปลงปลูกเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้า 4 บริษัท รวม 10 ตัวอย่าง ไม่พบเชื้อแบคทีเรีย Cmm ติดมา และได้ดำเนินการสำรวจแปลงปลูกมะเขือเทศภายหลังการนำเข้าระหว่างเดือนตุลาคม 2555 ถึง กันยายน 2556 ในเขตภาคเหนือ จังหวัดเชียงราย ลำพูน และ ลำปาง ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือจังหวัด สกลนคร ขอนแก่น และ กาฬสินธุ์ ว่ามีโรคเหี่ยวจากเชื้อ Cmm หรือไม่ โดยทำการสำรวจทั้งหมดจำนวน 215แปลง พบว่าไม่ปรากฏโรคเหี่ยวจากเชื้อ Cmm ในทุกแปลงที่ทำการสำรวจ แต่พบการระบาดของโรคเหี่ยวเหี่ยวและ ใบจุด สาเหตุเกิดจากแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* และ *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* นำข้อมูลมาเข้ากระบวนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนที่ 1 โดยจุดเริ่มต้น (Initiation) ที่เป็นผลมาจากการที่สหภาพยุโรปแจ้งให้ทราบว่ามี การตรวจพบเชื้อ Cmm จากเมล็ดมะเขือเทศที่ส่งออกจากประเทศไทย ในขณะที่ประเทศไทยได้มีการประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์กำหนดให้เชื้อ Cmm เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยอย่างไรก็ตามควรรหาข้อมูลของมะเขือเทศและเชื้อ Cmm เพิ่มเติมเพื่อนำมาใช้ในการประเมินได้อย่างถูกต้องตามหลักวิชาการต่อไปและควรเก็บตัวอย่างมะเขือเทศในโรงเรือนบริษัทที่นำเข้าเมล็ดมะเขือเทศจากแหล่งที่มีโรคระบาด และติดตามการตรวจสอบโรคในแปลงปลูกมะเขือเทศภายในประเทศไทยต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- ศักดิ์ สุนทรสิงห์. 2537. โรคของผักและการป้องกันกำจัด. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ 198 น.
 สมาคมการค้าเมล็ดพันธุ์ไทย. 2556. ข้อมูลสถิติ. (ระบบออนไลน์) แหล่งข้อมูล:
<http://www.thasta.com> (10 มีนาคม 2556).

- Aprizalzainal, Aswaldianwar, Ujangkhairul and Sudarsono. 2008. Distribution of *Clavibacter michiganensis* subsp. *nichiganensis* in Various Tomato Production Centers in Sumatra and Java. *Microbiology*. 2: 63–68.
- Bradbury, J.F. 1986. Guide to plant pathogenic bacteria. CAB International, Wallingford, UK.
- Bruyne, E. de, R. Vantomme and J. de Ley. 1987. Enzymatic features and SDS gel electrophoretic protein patterns of *Corynebacterium michiganense*. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent*. 52: 1095-1100.
- Burokiene, D. 2006. Early detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato seedlings. *Agronomy Research*. 4: 151-154.
- CAB International. 2007. Crop Protection Compendium [CD]. CAB International, Wallingford, U.K.
- CAB International. 2012. Crop Protection Compendium. CAB INTERNATIONAL, Wallingford, UK. (Online). Available: <http://www.cabi.org/cpc/> (May11, 2012)
- CABI (CAB International). 2014 *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* . (Online). Available. <http://www.cabi.org/cpc/?compid=1&dsid=15338&loadmodule=datasheet&-page=868&site=161> (21 Feb, 2014).
- Chang, R.J., S.M. Ries and J.K. Pataky. 1991. Dissemination of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* by practices used to produce tomato transplants. *Phytopathology*. 81:1276-1281.
- Chang, R.J., S.M. Ries and J.K. Pataky. 1992. Effects of temperature, plant age, inoculum concentration, and cultivar on the incubation period and severity of bacterial canker of tomato. *Plant Disease*. 76: 1150-1155.
- Denis, P. 1994. Diseases of vegetable crops. Department of Primary Industries. Australia 164 pp.
- Dhanvantari, B.N. 1993. Seed-borne infection in tomato bacterial canker. pp. 33-36. *In* Proceedings of the 9th Annual Tomato Disease Workshop.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). n.d. Data Sheets on Quarantine Pests; *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Prepared by CABI and EPPO for the EU under Contract 90/399003.
- FAO. 2004. Pest Risk Analysis for Quarantine Pests Including Analysis of Environmental Risks Pest risk Analysis for Quarantine Pests. ISPM No. 11, Rome.
- FAO. 2006. Glossary of Phytosanitary Terms (2009). ISPM No. 11, FAO, Rome.
- Fatmi, M. and N.W. Schaad. 1988. Semi selective agar medium for isolation of *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* from tomato seed. *Phytopathology*. 78: 121-126.

- Gitaitis, R.D. and R.W. Beaver. 1990. Characterization of fatty acid methyl ester content of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Phytopathology*. 80: 318-321.
- Gitaitis, R.D., R.W. Beaver and A.E. Voloudakis. 1991. Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in symptomless tomato transplants. *Plant Disease*. 75: 834-838.
- Gleason, M.L., R.D. Gitaitis and M.D. Ricker. 1993. Recent progress in understanding and controlling bacterial canker of tomato in eastern North America. *Plant Disease*. 77: 1069-1076.
- Lelliott, R.A. and D.E. Stead. 1987. *Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
- Miller, S. A., and M. L. Ivey. 2005. Hot water and chlorine treatment of vegetable seeds to eradicate bacterial plant pathogens. The Ohio State University Extension. HYG-3085-05.
- Minister of Agriculture and Rural Development. 2005. The list of plant quarantine pest of socialist republic of Vietnam. (Online). Available. http://pflanzengesundheit.jki.b-und.de/dokumente/upload/6d45d_vn3-qso.pdf (24 Feb, 2014).
- Ministry for Primary Industries. n.d. China General Requirements. (Online). Available. <http://www.biosecurity.govt.nz/regs/exports/plants/icpr/cn> (28 Feb, 2014).
- Miura, L., R. da S. Romeiro and J.C. Gomes. 1986. Production, purification and biological activity of an exotoxin produced in vitro by *Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense*. *Fitopatologia Brasileira*. 11: 789-794.
- Myung, L.S. and D.G. Kim. 2008. First Report of Bacterial Canker of Tomato Caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in Korea. *Korea. Plant Dis.* 92: 1472.
- NPPO (National Plant Protection Organization). 2013. NAPPO Regional Standard for Phytosanitary Measures (RSPM); RSPM 36 Phytosanitary Guidelines for the Movement of Seed. Ottawa, Canada.
- Poysa, V. 1993. Evaluation of tomato breeding lines resistant to bacterial canker. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 15: 301-304.
- Radwan, F., A. von Tiedemann, B. Koopmann, M. Abu-Ghorrah and K. Rudolph. 2011. Occurrence of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, the causal agent of bacterial canker of tomato, in Syria. *Phytopathol. Mediterr.* 49: 172-178.
- Rat, B., J. Poissonnier, M.J. Goisque and A. Burgaud. 1991. Le point sur le chancre bactérien. *Fruit et Légumes*. 86: 38-40.
- Shirakawa, T. and T. Sasaki. 1988. A selective medium for isolation of *Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense*, the pathogen of tomato bacterial canker disease. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*. 54: 540-543.

- Stamova, L. and V. Sotirova. 1987. Reaction of different crops to artificial inoculation with *Corynebacterium michiganense*. Archiv für Phytopathologie und Pflanzenschutz. 23: 211-216.
- Strider, D.L. 1969. Bacterial canker of tomato caused by *Corynebacterium michiganense*: a literature review and bibliography. Technical Bulletin North Carolina Agricultural Experiment Station, No. 193.
- Thompson, E., J.V. Leary and W.W.C. Chun. 1989. Specific detection of *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* by homologous DNA probe. Phytopathology. 79: 311-314.

ภาคผนวก 1

ตารางที่ 1 แหล่งปลูกมะเขือเทศที่นำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศ

บริษัทผลิตเมล็ดพันธุ์	แหล่งกำเนิด	แหล่งปลูก
บริษัทเมล็ดพันธุ์ ก	เกาหลี*, ซิลี*, เนเธอร์แลนด์*, เปรู*, ฝรั่งเศส*, อเมริกา*, จีน*, อิสราเอล*, อินโดนีเซีย*, อินเดีย*, เม็กซิโก*	ขอนแก่น, กาฬสินธุ์, สกลนคร, ลำปาง, ลำพูน, น่าน, เชียงราย
บริษัทเมล็ดพันธุ์ ข	อเมริกา*, จีน*, อิสราเอล*, อินเดีย*	ขอนแก่น
บริษัทเมล็ดพันธุ์ ค	ฝรั่งเศส*, ญี่ปุ่น*, อเมริกา*, จีน*, อินเดีย*, แอฟริกาใต้*	ขอนแก่น
บริษัทเมล็ดพันธุ์ ง	จีน*, อินเดีย*, ญี่ปุ่น*	ขอนแก่น, สกลนคร

*ประเทศที่มีรายงานการตรวจพบเชื้อ CMM จากฐานข้อมูล CABI (2014)

ที่มา: โดยได้รับความอนุเคราะห์ข้อมูลจาก กลุ่มงานศัตรูพืชฯ สำนักรักษาและพัฒนาการอารักขาพืช

ภาคผนวก 2

ตารางที่ 2 ปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิเฉลี่ย ณ แหล่งปลูกมะเขือเทศในประเทศไทย พ.ศ.2553

สถานี	ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย (mm)	อุณหภูมิเฉลี่ย (°C)
เชียงใหม่	152.07	25.41
ขอนแก่น	102.51	27.69
ลำพูน	82.20	27.53
ลำปาง	112.93	27.10
น่าน	121.40	27.18
สกลนคร	120.83	26.98
สถานีพีซีไร่สกลนคร	134.89	26.29

ตารางที่ 3 ปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิเฉลี่ย ณ แหล่งปลูกมะเขือเทศในประเทศไทย พ.ศ.2554

สถานี	ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย (mm)	อุณหภูมิเฉลี่ย (°C)
เชียงใหม่	170.22	24.47
ขอนแก่น	114.76	26.17
ลำพูน	142.23	25.53
ลำปาง	155.21	25.81
น่าน	162.88	25.73
สกลนคร	157.72	25.52
สถานีพีซีไร่สกลนคร	173.45	24.93

ที่มา: กรมอุตุนิยมวิทยาปี 2554-2555