

การตรวจวินิจฉัย *Candidatus Liberibacter solanacearum* ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า

Diagnosis of *Candidatus Liberibacter solanacearum* Associated with Imported Seed Potatoes

สุรศักดิ์ แสนโคตร^{1*} วันเพ็ญ ศรีชาติ² โสภามีอำนาจ¹ จันทร์พิศ เดชhamมัตย์¹ และ วาสนา รุ่งสว่าง¹
Surasak Saenkhrot^{1*}, Wanpen Srichart², Sopa Meeamnat¹, Chanpis Dathamart¹ and Wasana Rungsawang¹

¹สำนักงานวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

¹Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

²สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 2 กรมวิชาการเกษตร อ.วังทอง จ.พิษณุโลก 65130

²Office of Agriculture Research and Development Region 2, Department of Agriculture, Wang Thong, Phitsanulok 65130, Thailand

* Corresponding author: Email: surasak028ss@gmail.com

(Received: 26 March 2025; Revised: 27 September 2025 ; Accepted: 29 September 2025)

Abstract: Zebra chip disease in potatoes is caused by the bacterium *Candidatus Liberibacter solanacearum*, poses a serious threat to potato production in Thailand. Although the disease has not yet been reported in the country, outbreaks have occurred in seed potato-exporting countries. Therefore, interception and preventive measures are essential to prevent the introduction of this pathogen and its potential damage on the domestic potato industry. In this study, a total of 134 imported seed potato samples from six countries — Australia, Canada, the Netherlands, New Zealand, Scotland, and the United States — were examined during 2021–2023. Diagnosis was conducted using accurate and rapid molecular techniques (nested-PCR) in combined with visual inspection for zebra chip symptoms on seed tubers. In addition, field surveys were conducted in potato-growing areas of several provinces in Thailand, including Chiang Rai, Chiang Mai, Tak, Phayao, Sakon Nakhon, and Nakhon Phanom. The results revealed no detection of either *Ca. L. solanacearum* or zebra chip symptoms in imported seed potatoes samples or in field surveys. These findings provide an important reference for establishing import regulations for seed potatoes, and contribute to the prevention and control the potential introduction and spread of this destructive pathogen in Thailand.

Keywords: Potato, seed potatoes, zebra chip, nested-PCR

บทคัดย่อ: โรค zebra chip ในมันฝรั่งมีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Candidatus Liberibacter solanacearum* ซึ่งเป็นภัยคุกคามร้ายแรงต่อการผลิตมันฝรั่งในประเทศไทย แม้ว่าโรคนี้ยังไม่เคยพบในประเทศไทย แต่ได้มีรายงานการระบาดในประเทศที่ส่งออกหัวพันธุ์มายังประเทศไทย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องดำเนินการมาตรการตรวจสอบสกัดกั้น และป้องกันเพื่อไม่ให้เชื้อสาเหตุเข้ามาสร้างความเสียหายต่ออุตสาหกรรมมันฝรั่งภายในประเทศ งานวิจัยนี้ได้ตรวจสอบหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจำนวน 134 ตัวอย่างจาก 6 ประเทศ ได้แก่ ออสเตรเลีย แคนาดา เนเธอร์แลนด์ นิวซีแลนด์ สกอตแลนด์ และสหรัฐอเมริกา ในช่วงปี พ.ศ. 2564-2566 โดยใช้เทคนิค nested-PCR ซึ่งเป็นวิธีการที่แม่นยำและรวดเร็ว ร่วมกับการตรวจสอบอาการโรค zebra chip บนหัวพันธุ์ นอกจากนี้ยังได้ดำเนินการสำรวจแปลงปลูกมันฝรั่งภายหลังการนำเข้า ในพื้นที่หลายจังหวัดของประเทศไทย ได้แก่ เชียงราย เชียงใหม่ ตาก พะเยา สกลนคร และนครพนม ผลการตรวจสอบพบว่า ไม่ปรากฏเชื้อแบคทีเรีย *Ca. L. solanacearum* และไม่พบอาการของโรค zebra chip ทั้งในตัวอย่างหัวพันธุ์นำเข้าและในการสำรวจแปลงปลูก ผลการวิจัยนี้มีความสำคัญอย่างยิ่งในการใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงเพื่อกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากต่างประเทศ และใช้เป็นแนวทางป้องกันและควบคุมการระบาดของศัตรูพืชร้ายแรงนี้ในอนาคต

คำสำคัญ: มันฝรั่ง หัวพันธุ์มันฝรั่ง ชีบราชิบ nested-PCR

คำนำ

เชื้อแบคทีเรีย *Candidatus Liberibacter solanacearum* เป็นสาเหตุของโรค zebra chip ในมันฝรั่ง Liefting *et al.* (2009) และเป็นศัตรูพืชกักกันที่กรมวิชาการเกษตรกำหนดในประกาศเงื่อนไขการนำเข้าผลพริกสดจากนิวซีแลนด์ พ.ศ. 2558 (Department of Agriculture, 2015) แม้ว่าเชื้อนี้จะยังไม่พบในประเทศไทย แต่ก็มีความเสี่ยงสูงที่จะเข้ามากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า เนื่องจากมีรายงานการระบาดในหลายประเทศที่เป็นแหล่งนำเข้า ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อพืชเศรษฐกิจในวงศ์มะเขือ (*Solanaceae*) และวงศ์ผักชี (*Apiaceae*) ที่เป็นพืชอาศัยของเชื้อ เช่น มะเขือเทศ พริก แครอท และขึ้นฉ่าย เชื้อนี้เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างแท่ง ขนาดประมาณ 0.2 ไมโครเมตร x 4 ไมโครเมตร และเจริญเติบโตได้เฉพาะในท่ออาหารพืช (phloem-limited) รายงานการตรวจพบครั้งแรกเกิดขึ้นในปี พ.ศ. 2551 ในรัฐแคลิฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกา โดยมีเพลี้ยไก่อั่ว (psyllid) ชนิด *Bactericera cockerelli* เป็นแมลงพาหะสำคัญ นอกจากนี้ยังมีรายงานการพบเชื้อในพืชอาศัยอื่น เช่น แครอท ซึ่งมีเพลี้ยไก่อั่วแครอท *Trioza apicalis* เป็นพาหะ รวมถึงเพลี้ยไก่อั่ว *T. apicalis* และ *B. trigonica* ที่เป็นพาหะในพืชวงศ์ผักชี อาการของโรค

ในมันฝรั่งเริ่มต้นด้วยการที่ใบม้วนงอและบริเวณใบยอดเป็นสีม่วง ส่วนในหัวมันฝรั่งสดพบเนื้อแข็งมีสีเข้มและจางสลับกันคล้ายลายม้าลาย ซึ่งเห็นได้ชัดเจนยิ่งขึ้นเมื่อนำไปทอด โรคนี้มีการแพร่ระบาดในหลายประเทศทั่วโลก เช่น โมร็อกโก สหรัฐอเมริกา นิวซีแลนด์ และประเทศในยุโรปหลายแห่ง โดยมีการแบ่งเชื้อออกเป็น 5 haplotypes (A, B, C, D, และ E) ตามชนิดของแมลงพาหะและพื้นที่ทางภูมิศาสตร์ (European and Mediterranean Plant Protection Organization Global Database, 2024) เพื่อป้องกันการเข้ามาของเชื้อ *Ca. L. solanacearum* และการระบาดของโรค zebra chip ในประเทศไทย จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องใช้วิธีการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชตามมาตรฐานสากล โดยเลือกใช้เทคนิคที่มีความรวดเร็ว แม่นยำสูง และคุ้มค่า เพื่อเป็นการสกัดกั้น (interception) เชื้อที่อาจปนเปื้อนมากับหัวพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และใช้เป็นข้อมูลในการปรับปรุงเงื่อนไขการนำเข้าให้ครอบคลุมพืชอาศัยทุกชนิดในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากทุกประเทศตามมาตรฐาน ISPM No. 31 (International

Plant Protection Convention, 2008) โดยทำการสุ่มตัวอย่างจากด้านตรวจพืชลาดกระบัง และด้านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ที่มีการนำเข้าจำนวน 600 หัวต่อครั้ง ตามเงื่อนไขการนำเข้าและสุ่มแบบ random ของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าตั้งแต่ปี พ.ศ. 2564 ถึง พ.ศ. 2566 นำเข้าจาก 6 ประเทศ ได้แก่ 1) ออสเตรเลีย นำเข้า จำนวน 49 ครั้ง น้ำหนักรวม 4,316.32 ตัน 2) แคนาดา นำเข้า จำนวน 10 ครั้ง น้ำหนักรวม 2,349.00 ตัน 3) เนเธอร์แลนด์ นำเข้า จำนวน 7 ครั้ง น้ำหนักรวม 337.50 ตัน 4) นิวซีแลนด์ นำเข้า จำนวน 3 ครั้ง น้ำหนักรวม 175 ตัน 5) สกอตแลนด์ นำเข้าจำนวน 62 ครั้ง น้ำหนักรวม 12,344.59 ตัน และ 6) สหรัฐอเมริกา นำเข้า จำนวน 3 ครั้ง น้ำหนักรวม 0.39 ตัน ทั้งหมดจำนวน 134 ตัวอย่าง

2. การตรวจสอบอาการของโรคในเบื้องต้น โดยการตรวจสอบด้วยตาเปล่า โดยการผ่าหัวมันฝรั่งเพื่อดูลักษณะอาการโรค zebra chip (Figure 1) ภายในหัวมันฝรั่ง ลักษณะเนื้อเยื่อภายในหัวพันธุ์ รูปร่าง ขนาด และบันทึกภาพ และตรวจยืนยันผลด้วยเทคนิค nested-PCR ทั้งที่พบอาการและไม่พบอาการ

3. การตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Candidatus Liberibacter solanacearum* โดยใช้เทคนิค nested-PCR ตามวิธีการดังนี้

3.1 การสกัดดีเอ็นเอจากหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า ที่แสดงอาการ zebra chip และสุ่มตรวจจากหัวพันธุ์ที่ไม่พบอาการ ด้วยวิธี cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) ตามกรรมวิธีของ Munyaneza *et al.* (2010) การสกัดดีเอ็นเอจาก หัวพันธุ์มันฝรั่งบริเวณเนื้อเยื่อ vascular ring (Figure 2) โดยนำเนื้อเยื่อส่วนท่อน้ำเลี้ยง 0.5 กรัม บดในสารละลาย CTAB 1 มิลลิลิตร (100 mM Tris, pH 8.0, 1.4 M NaCl, 50 mM EDTA, pH 8.0, 2% (w/v) CTAB, 1% (w/v) polyvinylpyrrolidone (PVP)-40 and 0.2 % (v/v) 2-mercaptoethanol) และดูดสารละลายลงในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ที่ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสในหลอดใหม่ปริมาณ 500 ไมโครลิตร และเติมสาร chloroform: isoamyl (24:1) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากันด้วยการพลิกกลับหลอดไปมา และนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสด้านบนในหลอดใหม่ แล้วเติมสาร isopropanol ที่แช่เย็นปริมาณ 1 เท่าของสารละลายส่วนใสและกลับหลอดไปมา จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนดีเอ็นเอที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เทส่วนสารละลายใส



Figure 1. Symptom of zebra chip diseases on A: Potato tuber, B: Potato plant and C: Fried potato chips.
(European and Mediterranean Plant Protection Organization Global Database, 2024)

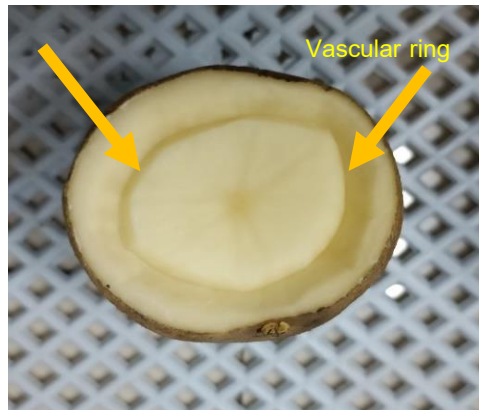


Figure 2. Cutting tissue from the vascular ring area of seed potatoes for pathogen detection using the nested PCR technique.

ทั้งแล้วล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอทานอลที่เย็นจัด ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ จำนวนสองครั้ง และนำตะกอนดีเอ็นเอไปตากไว้ที่อุณหภูมิห้องจนแอลกอฮอล์ระเหยจนแห้งสนิท จึงนำตะกอนดีเอ็นเอมาละลายด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 20 - 50 ไมโครลิตร เมื่อตะกอนดีเอ็นเอละลายดีแล้วจึงนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3.2 การตรวจสอบความไว (sensitivity) ของเทคนิค nested PCR

นำดีเอ็นเอของเชื้อสาเหตุ *Ca. L. solanacearum* ที่สังเคราะห์จากบริษัท ซึ่งมีความเข้มข้น 5 ng/μl มาใช้ตรวจสอบความไวของเทคนิค nested PCR โดยนำดีเอ็นเอมาเจือจางในระดับความเข้มข้น $10^0 - 10^{-7}$ (Subcommittee on Plant Health Diagnostic Standards, 2017) ในการทำปฏิกิริยา nested-PCR ครั้งที่ 1 ด้วยคู่ไพรเมอร์ OA2 (GCGCTTATTTTAATAGGAGCGGCA) และ OI2c (GCCTCGCGACTTCGCAACCCAT) ให้ผลิตภัณฑ์ PCR (PCR-product) ขนาด 1,160 bp ปฏิกิริยาครั้งที่ 2 ด้วยคู่ไพรเมอร์ Lib16S01F (TTCTACGGGATAACGCACGG) และ Lib16S01R (CGTCAGTATCAGGCCAGTGAG) ให้ PCR-product ขนาด 580 bp ส่วนผสมสำหรับทำปฏิกิริยา PCR ประกอบด้วย PCR DreamTaq Green Master mix 2X (Thermo Scientific™) ปริมาตร 12.5 ไมโครลิตร สารละลายไพรเมอร์ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์

ใช้สารละลายดีเอ็นเอ 3 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 7.5 ไมโครลิตร ปริมาตรรวมทั้งหมดเท่ากับ 25 ไมโครลิตร โปรแกรมการทำ PCR ครั้งที่ 1 ด้วยไพรเมอร์ OA2 และ OI2c เริ่มต้นที่ 94 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ตามด้วย Denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 45 วินาที Annealing ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 45 วินาที และ Extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที โดยทำปฏิกิริยาทั้งหมดจำนวน 40 รอบ และขั้นตอนสุดท้ายที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที และการปฏิกิริยาครั้งที่ 2 ด้วยคู่ไพรเมอร์ Lib16S01F และ Lib16S01R ที่อุณหภูมิเริ่มต้น 94 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที Denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที Annealing ที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที Extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 45 วินาที โดยทำปฏิกิริยาทั้งหมดจำนวน 40 รอบ และขั้นตอนสุดท้ายที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที

3.3 การตรวจสอบ PCR-product ด้วยเทคนิคเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (gel electrophoresis) ตามขั้นตอนดังนี้

3.3.1 เตรียมอะกาโรสเจล 2 เปอร์เซ็นต์ โดยชั่งผงอะกาโรส 2 กรัม ละลายในบัฟเฟอร์ 0.5X TBE buffer ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปหลอมจนละลายด้วยเครื่องไมโครเวฟ จากนั้นเติมสีย้อม (RedSafe™

nucleic acid staining solution) โดยผสมลงในอะกาโรสที่
หลอมละลายแล้ว ผสมให้เข้ากันจากนั้นเทเจลลงบนถาด
สำหรับเตรียมแผ่นเจล

3.3.2 นำ PCR-product ปริมาตร 10
ไมโครลิตร ลงในเจลที่เตรียมไว้และใช้ดีเอ็นเอมาตรฐาน
ชนิด 100 bp DNA ladder เป็นตัวเปรียบเทียบขนาด
ของนำ PCR-product และให้กระแสไฟฟ้าที่ 100 โวลต์
เป็นเวลา 45 นาที

3.3.3 ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสง
UV ด้วยเครื่อง gel documentation บันทึกภาพ แล้วนำไป
วิเคราะห์ผล

3.4 การตรวจสอบเชื้อ *Ca. L. solanacearum*
ในตัวอย่างที่สุ่มตรวจ นำตัวอย่างมาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี
ที่อธิบายในข้อ 3.1 และนำมาตรวจสอบด้วยเทคนิค
nested-PCR ตามขั้นตอนที่ได้กล่าวไว้ข้อ 3.2 และ 3.3

4. การติดตามและตรวจสอบโรคในแปลง
ปลูกมันฝรั่งของบริษัทผู้นำเข้า โดยสุ่มสำรวจแปลง
ในช่วงหลังการเพาะปลูกประมาณ 45 วัน จนถึงช่วงเก็บ
เกี่ยวผลผลิต ดำเนินการในหลายพื้นที่ ได้แก่ อำเภอ
แม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเวียงป่าเป้าและอำเภอ
เทิง จังหวัดเชียงราย อำเภอเชียงคำ จังหวัดพะเยา
อำเภอพงศ์โคนและอำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร และ
อำเภอดงขาง จังหวัดนครพนม โดยเดินสำรวจแปลงเป็น
รูปตัวยู (U) สังเกตอาการของส่วนลำต้นและใบที่มี

อาการคล้ายกับอาการของโรคและนำมาตรวจสอบ
ยืนยันผลด้วยเทคนิค nested PCR ในห้องปฏิบัติการ

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย *Ca. L. solanacearum*
ที่อาจปนเปื้อนมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า ดำเนินการ
ด้วยเทคนิค nested-PCR ตามวิธีการที่จัดทำโดย
หน่วยงาน Subcommittee on Plant Health Diagnostic
Standards (2017) ประเทศออสเตรเลีย การตรวจ
วินิจฉัยด้วยเทคนิคนี้มีความไวสูง (sensitivity of detection)
สามารถตรวจหาเชื้อสาเหตุได้ในระดับความเข้มข้นต่ำ
ถึง 10^{-6} (Figure 3)

เนื่องจากเชื้อ *Ca. L. solanacearum* เป็นศัตรูพืช
ที่ยังไม่ปรากฏในประเทศไทย แต่มีความเสี่ยงสูงต่อ
การปนเปื้อนจากหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจาก 7 ประเทศที่
ได้รับการอนุญาต จึงได้ใช้ดีเอ็นเอสังเคราะห์ของเชื้อที่
เลียนแบบลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อสาเหตุโรค เป็น
positive control แทนเชื้อสาเหตุจากธรรมชาติ โดยอ้างอิง
ลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูล NCBI (EU935004.1)
ของ *Ca. L. solanacearum* ซึ่งครอบคลุมยีน 16S ribosomal
RNA และ 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer
(บางส่วน) รวมถึงยีน tRNA-Ile และ tRNA-Ala รวมความยาว
ทั้งสิ้น 2,049 bp

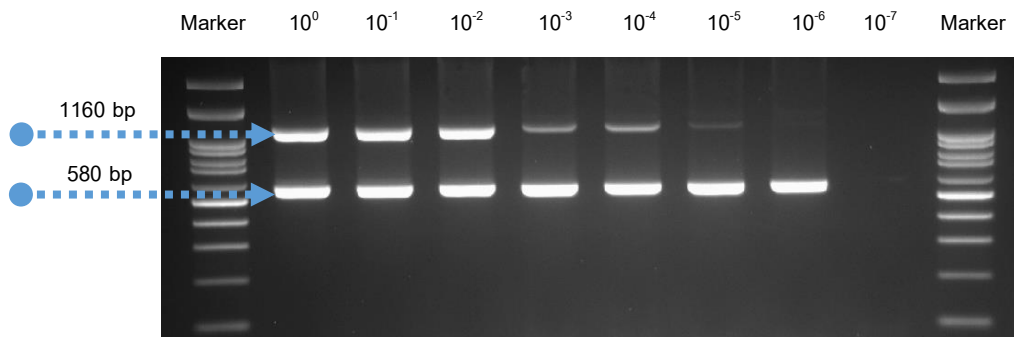


Figure 3. The sensitivity of the nested-PCR assay for detecting *Candidatus Liberibacter solanacearum* was determined using a serial dilution of a synthesized positive control DNA

จากการสุ่มตัวอย่างและตรวจสอบลักษณะอาการของโรคด้วยการผ่าดูเนื้อเยื่อภายในหัวมันฝรั่ง ไม่พบอาการของโรค zebra chip และได้ตัดเนื้อเยื่อภายในหัวมันฝรั่งที่ไม่แสดงอาการอย่างน้อย 25 หัว จากหัวพันธุ์ 600 หัวต่อครั้ง ภายใต้เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์รวมทั้งหมด 134 ตัวอย่าง เพื่อตรวจยืนยันเชื้อสาเหตุด้วยเทคนิค nested PCR ผลการตรวจไม่พบเชื้อสาเหตุ *Ca. L. solanacearum* (Table 1)

การติดตามตรวจสอบภายหลังการนำเข้า โดยทำการติดตามตรวจสอบในแปลงของบริษัทที่นำเข้าจำนวน 23 แปลง ได้แก่ อำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเวียงป่าเป้า อำเภอเทิง จังหวัดเชียงราย อำเภอเชียงคำ จังหวัดพะเยา อำเภอพังโคน อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร และอำเภอดงยาว จังหวัดนครพนม ผลการติดตามในแปลงปลูกไม่พบลักษณะของอาการโรค zebra chip ในพื้นที่ปลูก จึงไม่มีตัวอย่างสำหรับนำมาตรวจสอบยืนยันด้วยเทคนิค nested PCR (Table 2)

ผลการตรวจสอบเชื้อ *Ca. L. solanacearum* ในหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าและตัวอย่างจากแปลงปลูก

ด้วยเทคนิค nested PCR ไม่พบเชื้อสาเหตุ ซึ่งสะท้อนถึงความไวสูงของเทคนิค nested PCR แม้ว่าการสกัดดีเอ็นเอจะใช้วิธี CTAB ที่ให้ปริมาณดีเอ็นเอสูง แต่คุณภาพอาจต่ำกว่า Magnetic particle processor ตามรายงานของ Donna *et al.* (2005) ที่ว่า Magnetic particle processor ให้คุณภาพดีเอ็นเอสูงที่สุดและเหมาะสมสำหรับ PCR หรือ qPCR มากกว่า CTAB และวิธีคอลัมน์ แม้ว่าวิธี CTAB จะให้ปริมาณดีเอ็นเอสูงกว่า อย่างไรก็ตามการเลือกใช้วิธีการสกัดด้วยวิธี Magnetic particle processor ต้องใช้เครื่องสกัดอัตโนมัติมูลค่าสูงและสารเคมีราคาต่อหน่วยสูงต่อการสกัดในแต่ละตัวอย่าง ทั้งนี้ การตรวจสอบลักษณะอาการของโรคยังคงจำเป็นเป็นขั้นตอนคัดกรองเบื้องต้น หากพบอาการสงสัย ควรยืนยันด้วย nested PCR เสมอ เพื่อให้ผลการตรวจสอบมีความน่าเชื่อถือสูงสุด นอกจากนี้ เพื่อเพิ่มความสะดวกและลดเวลาในการตรวจสอบตัวอย่างจำนวนมาก ควรพัฒนาอุปกรณ์เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อหัวมันฝรั่งที่รวดเร็วและสะดวกกว่าใบมีดผ่าตัด พร้อมทั้งพัฒนาวิธีสกัดดีเอ็นเอที่มีประสิทธิภาพสูงและใช้เวลาเฉลี่ยน้อยลง

Table 1. Result for first examination for inspection the zebra chip disease in imported seed potatoes samples from various country from 2021-2023 years.

Importing country	Sample number (tuber)				Quantity (Ton)	Evidence of zebra chip disease by nested PCR
	2021	2022	2023	Total		
Australia	16	22	11	49	4,316.32	not detected
Canada	2	3	5	10	2,349.00	not detected
Netherlands	3	2	2	7	3,37.50	not detected
Scotland	22	24	16	62	12,344.59	not detected
New Zealand	0	1	2	3	175.00	not detected
United States of America	0	2	1	3	0.39	not detected
Total	43	54	37	134	19,522.80	

Table2. Field inspection for zebra chip disease following the planting of imported seed potatoes in farmer fields.

No.	ID samples	Year of monitoring	Location		Location (X,Y: GPS)	Area (rai)	Symptom of zebra chip
			District	Province			
1	PVP1	2022	Wiang Pa Pao	Chiang Rai	19.209906,99.524330	15	no symptom
2	PVP2	2022	Wiang Pa Pao	Chiang Rai	19.212894,99.533905	11	no symptom
3	PMC1	2022	Mae Chaem	Chiang Mai	18.505785,98.348495	1.6	no symptom
4	PMC2	2022	Mae Chaem	Chiang Mai	18.516085,98.356354	2	no symptom
5	PMC3	2022	Mae Chaem	Chiang Mai	18.516088,98.356400	3	no symptom
6	PMC4	2022	Mae Chaem	Chiang Mai	18.503693,98.355118	4	no symptom
7	PCH1	2022	Chiang Kham	Phayao	19.460657,100.336754	7.5	no symptom
8	PCH2	2022	Chiang Kham	Phayao	19.458719,100.336143	17.5	no symptom
9	PCH3	2022	Chiang Kham	Phayao	19.463728,100.340408	6	no symptom
10	PCH4	2022	Chiang Kham	Phayao	19.470993,100.337334	20	no symptom
11	PTT1	2022	Thoeng	Chiang Rai	19.680710,100.264610	8.3	no symptom
12	PTT2	2022	Thoeng	Chiang Rai	19.707636,100.286598	2.8	no symptom
13	PPT1	2022	Phop Phra	Tak	16.593417,98.776481	9.5	no symptom
14	PPT2	2022	Phop Phra	Tak	16.593586,98.775317	2.3	no symptom
15	PPT3	2022	Phop Phra	Tak	16.529611,98.746911	10	no symptom
16	PPT4	2022	Phop Phra	Tak	16.554108,98.823697	18	no symptom
17	SKH1	2023	Mueang	Sakon-Nakhon	17.125953,104.290058	1	no symptom
18	SKH2	2023	Mueang	Sakon-Nakhon	17.131453,104.287633	3	no symptom
19	SKH3	2023	Mueang	Sakon-Nakhon	17.131328,104.302286	9	no symptom
20	SKH4	2023	Mueang	Sakon-Nakhon	17.131447,104.287642	1	no symptom
21	SKH5	2023	Phang Khon	Sakon-Nakhon	17.354119,103.760042	7	no symptom
22	NKH1	2023	Wang Yang	Nakhon Phanom	17.063889,104.368097	1.2	no symptom
23	NKH2	2023	Wang Yang	Nakhon Phanom	17.062417,104.373553	5	no symptom

สรุป

การตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Ca. L. solanacearum* สาเหตุโรค zebra chip ด้วยเทคนิค nested PCR มีความรวดเร็ว แม่นยำ และมีความไวสูง ผลการตรวจหาวัยพันธุ์นำเข้ามาในช่วงปี พ.ศ. 2564-2566 ไม่พบการติดเชื้อและไม่พบอาการของโรค ข้อมูลดังกล่าวสามารถใช้เป็นหลักฐานเชิงวิชาการในการพิจารณาปรับปรุงเงื่อนไขการอนุญาตนำเข้าหวัพันธุ์นำเข้ามาจากแหล่งเดิมหรือแหล่งใหม่ และการตรวจสอบเช่นนี้ช่วยสกัดกั้นศัตรูพืชกักกันไม่ให้เข้ามาระบาดในประเทศ และทำให้เกษตรกรที่ใช้หวัพันธุ์จากบริษัทผู้นำเข้าได้รับหวัพันธุ์ที่สะอาด ปลอดภัยต่อพืช ลดความเสี่ยงต่อการสูญเสียผลผลิต และช่วยลดต้นทุนการจัดการศัตรูพืชในระยะต้นกล้า

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ด้านตรวจพืชลาดกระบ้ง และด้านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่อำนวยความสะดวกในการสุ่มตรวจตัวอย่างในเบื้องต้นและนำส่งตัวอย่างมายังห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืชและอนุเคราะห์ให้ข้อมูลการนำเข้าหวัพันธุ์นำเข้ามา และขอขอบคุณผู้ร่วมงานวิจัยทุกท่านที่อนุเคราะห์อุปกรณ์ สถานที่และให้คำปรึกษาข้อมูลด้านศัตรูพืชและวิธีการตรวจสอบได้จนสำเร็จครบตามวัตถุประสงค์ของโครงการ

เอกสารอ้างอิง

Department of Agriculture. 2015. Notification of the Department of Agriculture: Conditions for the importation of fresh chili from New Zealand B.E. 2558. Royal Thai Government Gazette 132 (267 Ng), 132 52-58 p. (in Thai)

Donna, S.S., P.W. Maxwell and S.H. De Boer. 2005. Comparison of several methods for the extraction of DNA from potatoes and potato-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(26): 9848-9859.

European and Mediterranean Plant Protection Organization Global Database. 2024. *Candidatus Liberibacter solanacearum*. (Online). Available: <https://gd.eppo.int/taxon/LIBEPS> (March 31, 2024).

International Plant Protection Convention. 2008. Methodologies for sampling of consignments. 2008. ISPM No. 31, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 24 p.

Liefting, L.W., B.S. Weir, S.R. Pennycook and G.R.G. Clover. 2009. '*Candidatus Liberibacter solanacearum*', associated with plants in the family Solanaceae. *International Journal of Systematics and Evolutionary Microbiology* 59(9): 2274-2276.

Munyaneza, J.E., T.W. Fisher, V.G. Sengoda, S.F. Garczynski, A. Nissinen and A. Lemmetty. 2010. First report of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' associated with psyllid-affected in carrots in Europe. *Plant Disease Journal* 94(5): 639. doi:10.1094/PDIS-94-5-0639A.

Subcommittee on Plant Health Diagnostic Standards. 2017. Diagnostic protocol for the identification and detection of *Candidatus Liberibacter solanacearum*, the causal agent of zebra chip of potatoes. The Australian Government Department of Agriculture. 38 p.