

อนุกรมวิธานและความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย migratory  
endoparasitic nematodes  
Taxonomy and pathogenicity of migratory endoparasitic nematodes

ไตรเดช ข่ายทอง ธิติยา สารพัฒน์ มนตรี เอี่ยมวิม้งสา  
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ในปี 2554 เก็บตัวอย่างดินบริเวณรากพืชในพื้นที่ปลูกพืชภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้ จำนวน 113 ตัวอย่างตรวจพบไส้เดือนฝอยสกุล *Pratylenchus* จำนวน 34 ตัวอย่าง ในปี 2555 เลี้ยงไส้เดือนฝอยบนรากข้าวโพดในสภาพปลอดเชื้อ ทำการคงสภาพไส้เดือนฝอย ทำสไลด์ถาวรและจำแนกชนิดได้เป็นไส้เดือนฝอย *P. coffeae* จากตัวอย่างดิน 20 แห่ง *P. brachyurus* จากตัวอย่างดิน 1 แห่ง และยังจำแนกชนิดที่ชัดเจนไม่ได้ จากตัวอย่างดิน 2 แห่ง

คำนำ

Migratory endoparasitic nematodes เป็นไส้เดือนฝอยชนิดที่เข้าสู่รากพืช ดูดกินอาหาร และเคลื่อนที่ภายในรากพืช ไส้เดือนฝอยกลุ่มนี้ไม่ชักนำให้เซลล์รากพืชเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นแหล่งอาหาร (Feeding Site) เหมือนกับไส้เดือนฝอยรากปม (Root-knot Nematodes) หรือไส้เดือนฝอยซิสต์ (Cyst Nematodes) แต่จะเข้าทำลายเนื้อเยื่อของรากในส่วน Cortex Parenchyma เป็นหลัก โดยดูดกินอาหารจากเซลล์และเคลื่อนที่ภายในรากพืช การเคลื่อนที่และดูดกินอาหารดังกล่าวทำให้รากเป็นโพรง เกิดแผลสีน้ำตาล ในบางกรณีรากอาจถูกเชื้อโรคอื่นๆ เข้าทำลายซ้ำเติม ต้นพืชที่ระบบรากถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายจะมีอาการแคระแกรน ต้นโทรม ใบเหลือง ผลผลิตลดลง *Pratylenchus* และ *Radopholus* เป็นไส้เดือนฝอยสกุลที่สำคัญของไส้เดือนฝอยกลุ่มนี้ ซึ่งโดยทั่วไปเป็นไส้เดือนฝอยที่มีพืชอาศัยกว้าง อย่างไรก็ตามไส้เดือนฝอยชนิดต่างๆ จะมีความสำคัญ และทำความเสียหายต่อพืชแต่ละชนิดแตกต่างกันออกไป เช่น *P. coffeae* และ *P. goodeyi* เป็นศัตรูที่สำคัญของกล้วย (Gowen et al., 2005) *P. coffeae*, *P. brachyurus*, *P. goodeyi*, *P. pratensis*, *P. loosi*, *P. panamaensis*, *P. zae* and *P. vulnus* เป็นศัตรูของกาแฟ (Campos and Villain, 2005) *P. penetrans* ทำลาย

พืชได้มากถึง 400 ชนิด (Evans et al., 1993) ไส้เดือนฝอยรากโพรง *Radopholus similis* สามารถทำลายพืชได้มากกว่า 250 ชนิด (O'Bannon, 1977) จำนวนไส้เดือนฝอย *R. similis* เริ่มต้น

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-09-54

เพียง 10 ตัว สามารถสร้างความเสียหายแก่ต้นหน้าวัวได้ (Sipes and Lichty, 2002) การทดลองนี้เป็นการรวบรวมไส้เดือนฝอยสกุล *Pratylenchus* เป็นหลัก ปัจจุบันไส้เดือนฝอยรากแผลได้ถูกจำแนกแล้วมากกว่า 60 ชนิด มีรายงานการพบไส้เดือนฝอยรากแผล *P. brachyurus*, *P. coffeae*, *P. zaeae*, *P. vulnus*, *P. minyus*, *P. delattrei*, *P. nongkiensis*, *P. sudanensis*, *P. thornei* และ *Pratylenchus* spp. ในแหล่งปลูกพืชของประเทศไทย (Chunram, 1972; Pliansinchai and Boonduang, 1978; Pliansinchai and Boonduang, 1986) ข้อมูลของไส้เดือนฝอยรากแผลในประเทศไทยค่อนข้างเก่า ซึ่งปัจจุบันการจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยรากแผลได้เปลี่ยนไป ทำให้ชนิดของไส้เดือนฝอยรากแผลในปัจจุบันแตกต่างจากข้อมูลในอดีต การศึกษาการจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยกลุ่มนี้จึงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อปรับปรุงฐานข้อมูลให้มีความทันสมัย นอกจากนี้ข้อมูลด้านผลกระทบต่อพืชของไส้เดือนฝอยกลุ่มนี้ยังมีไม่มากนัก การศึกษาถึงความสามารถในการทำให้เกิดโรคต่อพืชของไส้เดือนฝอยสกุล *Pratylenchus* ทำให้ทราบถึงข้อมูลในการเข้าทำลายพืช ความเสียหายที่ไส้เดือนฝอยกระทำต่อพืช ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อใช้ในการจัดการไส้เดือนฝอยในสกุลนี้ต่อไป

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์และวิธีการ

การดำเนินงานในปีงบประมาณ 2554 เป็นการเก็บตัวอย่างดิน จากแหล่งปลูกพืชชนิดต่างๆ ในประเทศไทย เพื่อตรวจหาไส้เดือนฝอย ทำการคงสภาพไส้เดือนฝอย และทำสไลด์ถาวร จำแนกชนิดของไส้เดือนฝอย รวมทั้งเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอยในพืชอาศัย เพื่อให้ได้จำนวนประชากรของไส้เดือนฝอยมากพอในการศึกษาด้านชีววิทยาต่อไป การดำเนินงานในปีงบประมาณ 2555 ทำการจำแนกไส้เดือนฝอยรากแผล *Pratylenchus* spp. โดยใช้ลักษณะทางสัณฐาน เพื่อทราบชนิดของไส้เดือนฝอยที่ชัดเจน

### การเก็บตัวอย่างดิน

เก็บตัวอย่างดินและรากพืชจากแปลงปลูกพืชในจังหวัดต่างๆ โดยใช้ท่อเก็บตัวอย่างดินขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 นิ้ว เก็บดินลึกประมาณ 20 เซนติเมตร โดยสุ่มเก็บจำนวน 20 จุดต่อ 1 ตัวอย่าง บันทึกวันที่เก็บตัวอย่าง ชนิดพืช บันทึกพิกัดทางภูมิศาสตร์

### การแยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดินและการเลี้ยงเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอย

แยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่างดินโดยวิธีการล้างตัวอย่างดิน และกรองน้ำส่วนบนผ่านตะแกรงโลหะที่มีขนาดช่อง 850 ไมโครเมตร วางบนตะแกรงที่มีขนาดช่อง 38 ไมโครเมตร ล้างตัวอย่างดินที่ค้างอยู่บนตะแกรงอันล่าง และนำตัวอย่างใส่ลงบนกระดาษกรอง ที่วางอยู่บนตะแกรงไนลอน วางลงในจานรองที่มีน้ำสะอาด (Decanting and Sieving with Baermann's Tray Technique) ตรวจไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ โดยการเขี่ยตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยที่มีไข่ใส่ลงใน streptomycin sulfate ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทิ้งไว้ 3

ชั่วโมง จากนั้นใช้เข็มเย็บที่สะอาด เขี่ยตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอย 1 ตัว วางลงบนรากข้าวโพดที่เลี้ยงบนอาหาร B5 ในจานเลี้ยงเชื้อ เลี้ยงเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอยจนได้ไส้เดือนฝอยจำนวนมาก และแยกไส้เดือนฝอยโดยการแช่รากข้าวโพดในน้ำกลั่น นำไส้เดือนฝอยที่ได้ไปคงสภาพและทำสไลด์ถาวร

*การคงสภาพไส้เดือนฝอยทำสไลด์ถาวร และจำแนกชนิดไส้เดือนฝอย*

ทำการคงสภาพไส้เดือนฝอยและทำสไลด์ถาวร โดยวิธีของ Ryss (2003) จำแนกชนิดไส้เดือนฝอย *Pratylenchus* spp. โดยใช้คู่มือการจัดจำแนกของ Castillo, P., and N. Vovlas (2007)

### เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2558

กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในปี 2554 ทำการเก็บตัวอย่างดินจำนวนทั้งสิ้น 113 ตัวอย่าง ตรวจสอบไส้เดือนฝอยสกุล *Pratylenchus* 34 ตัวอย่าง เลี้ยงไส้เดือนฝอยจากตัวเต็มวัยเพศเมียที่มีไข่ 1 ตัวบนชิ้นแครอทได้สำเร็จ 6 ตัวอย่าง ซึ่งการเลี้ยงไส้เดือนฝอยบนชิ้นแครอทประสบปัญหาในการเตรียมชิ้นแครอทที่ปลอดเชื้อ เนื่องจากแครอทที่ซื้อมาจากตลาดส่วนใหญ่มีแบคทีเรียอยู่ภายใน ทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อขึ้นในภายหลัง นอกจากนี้การเลี้ยงไส้เดือนฝอยจากตัวเต็มวัยเพียง 1 ตัว ใช้เวลานาน สภาพของชิ้นแครอทที่อยู่ในจานเลี้ยงเชื้ออาจเปลี่ยนไป ซึ่งอาจไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอย ทำให้ไส้เดือนฝอยตายในที่สุด การเลี้ยงไส้เดือนฝอยบนชิ้นแครอทตรวจสอบการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยได้ยาก ต้องรอจนกระทั่งไส้เดือนฝอยมีจำนวนมากพอที่จะสังเกตเห็นได้ ได้แก่ปัญหาโดยการเลี้ยงไส้เดือนฝอยบนรากข้าวโพด บนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งประสบผลสำเร็จมากกว่า และสามารถตรวจสอบการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยและ sub-culture ได้ง่าย

ในปี 2555 ได้เลี้ยงไส้เดือนฝอย *Pratylenchus* บนรากข้าวโพด แยกไส้เดือนฝอยจากรากข้าวโพด ทำการคงสภาพไส้เดือนฝอยและทำสไลด์ถาวร จำแนกไส้เดือนฝอยโดยใช้คู่มือการจัดจำแนกของ Castillo, P., and N. Vovlas (2007) โดยจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยจากผลจากตัวอย่างดิน 23 แห่ง (38 ตัวอย่าง) จำแนกได้ไส้เดือนฝอย *P. coffeae* จากตัวอย่างดิน 20 แห่ง *P. brachyurus* จากตัวอย่างดิน 1 แห่ง และยังมีจำแนกชนิดที่ชัดเจนไม่ได้จากตัวอย่างดิน 2 แห่ง (ตารางที่ 1)

### สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จำแนกชนิดไส้เดือนฝอยจากผลจากตัวอย่างดิน 23 แห่ง (38 ตัวอย่าง) จำแนกได้ไส้เดือนฝอย *P. coffeae* จากตัวอย่างดิน 20 แห่ง *P. brachyurus* จากตัวอย่างดิน 1 แห่ง และยังมีจำแนกชนิดที่ชัดเจนไม่ได้ จากตัวอย่างดิน 2 แห่ง

## เอกสารอ้างอิง

- Campos, V.P., and L. Villain. 2005. Nematode parasites of coffee and cocoa. Pp. 529-579. in Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture, 2<sup>nd</sup> edition. M. Luc, R.A. Sikora and J. Bridge, eds. CAB International.
- Castillo, P., and N. Vovlas. 2007. *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): Diagnosis, Biology, Pathogenicity and Management. Brill Leiden, Boston.
- Chunram, C. 1972. A list of plant parasitic nematodes in Thailand. Plant Protection Service Technical Bulletin No.1 Pp. 23-26. The Plant Industry Division. Ministry of Agriculture, Thailand.
- Evans, K., D.L. Trudgill, and J.M. Webster. 1993. Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture. Pp. 648. CAB International. Wallingford, UK.
- Gowen, R.S., P. Quénéhervé, and R. Fogain. 2005. Nematode parasites of bananas and plantains. Pp. 611-643. in Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture, 2nd edition. M. Luc, R.A. Sikora and J. Bridge, eds. CAB International.
- O'Bannon, J.H. 1977. Worldwide dissemination of *Radopholus similis* and its importance in crop production. *Journal of Nematology* 9:16-25.
- Pliansinchai, U., and A. Boonduang. 1978. A systematic study of plant parasitic nematodes of Black pepper in Thailand. *Nematology Section Technical Bulletin No.2* Pp. 22-30. Plant Pathology Division, Department of Agriculture, Thailand.
- Pliansinchai, U., and A. Boonduang. 1986. A systematic study of plant parasitic nematodes of Sugarcane in Thailand. *Nematology Section Technical Bulletin No.5* Pp. 48-61. Plant Pathology and Microbiology Division, Department of Agriculture, Thailand.
- Ryss A.Y. 2003. Express technique to prepare permanent collection slides of nematodes. *Zoosystematica Rossica* 11(2): 257-260.
- Sipes, B.S., and J.S. Lichty. 2002. *Radopholus similis* damage to *Anthurium andraeanum*. *Nematropica* 32:77-81.

ตารางที่ 1 ชนิดไส้เดือนฝอยรากแผลที่จำแนกได้จากตัวอย่างดินจากพืชและสถานที่ต่างๆ

ลำดับที่	ชื่อตัวอย่าง	พืช	สถานที่เก็บตัวอย่าง	จำแนกชนิดได้เป็น
1	P200	กล้วย	อ.สวี จ.ชุมพร	<i>P. coffeae</i>
2	P263	กล้วย	อ.แมริม เชียงใหม่	<i>P. coffeae</i>
3	P171	ข้าวโพด	อ.อุ้มทอง จ.สุพรรณบุรี	-
4	P258	กล้วย	อ.แมริม เชียงใหม่	<i>P. coffeae</i>
5	PKK	กล้วย	อ. คลองขลุง จ. กำแพงเพชร	<i>P. coffeae</i>
6	P148	กล้วย	อ.สรรพยา จ.ชัยนาท	<i>P. coffeae</i>
7	P272	กล้วย	อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่	<i>P. coffeae</i>
8	P268	กล้วย	อ.แมริม จ.เชียงใหม่	<i>P. coffeae</i>
9	PTS	มะเขือเปราะ	อ. สามพราน จ. นครปฐม	<i>P. coffeae</i>
10	P177	กล้วย	อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี	<i>P. coffeae</i>
11	P247	กล้วย	จ. สิงห์บุรี	<i>P. coffeae</i>
12	PCR	กาแฟ	อ.สวี จ.ชุมพร	<i>P. coffeae</i>
13	P181	กล้วย	อ.บ้านนาเดิม จ.สุราษฎร์ธานี	<i>P. coffeae</i>
14	P226	กล้วย	อ.แมริม เชียงใหม่	<i>P. coffeae</i>
15	P262	กล้วย	อ.แมริม เชียงใหม่	<i>P. coffeae</i>
16	P252	กล้วย	จ. เชียงราย	<i>P. coffeae</i>
17	P227	ข้าวโพด	อ.แมริม เชียงใหม่	-
18	P192	กล้วย	อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา	<i>P. coffeae</i>
19	P193	กล้วย	อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา	<i>P. brachyurus</i>
20	P271	กล้วย	อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่	<i>P. coffeae</i>
21	P154	กล้วย	อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่	<i>P. coffeae</i>
22	P265	กล้วย	อ.แมริม เชียงใหม่	<i>P. coffeae</i>
23	P233	กล้วย	อ.แมริม เชียงใหม่	<i>P. coffeae</i>