

การศึกษาการเข้าทำลายรากมันสำปะหลังของไส้เดือนฝอยรากปม
Meloidogyne incognita ที่แยกจากพืชอาศัยต่างชนิดกัน
Study of Cassava Root Penetration of Root-knot Nematode,
Meloidogyne incognita Isolated from Different Plant Hosts

พรทิพย์ เรือนปานันท์

ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จังหวัดนครปฐม

Email: fagrptr@ku.ac.th

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการก่อโรคของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* สาเหตุโรครากปมของ มันสำปะหลังในพืชชนิดอื่น ได้แก่ ข้าว พริก มะเขือเทศ ขึ้นฉ่ายและถั่วเขียว พบว่าตัวอ่อนระยะที่ 2 ของ *M. incognita* จากมันสำปะหลัง (ไอโซเลต RKN1) สามารถก่อให้เกิดรากปมใน ข้าว พริก มะเขือเทศ ขึ้นฉ่ายและถั่วเขียว ในตรงกันข้ามไส้เดือนฝอย *M. incognita* ที่เข้าทำลายพริก (*M. incognita* ไอโซเลต RKN2) และข้าว (*M. incognita* ไอโซเลต RKN3) ไม่ก่อให้เกิดรากปมในมันสำปะหลัง และเมื่อนำตัวอ่อน ระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปมไอโซเลต RKN1 รุ่นที่ 2 ที่แยกจากข้าว พริก มะเขือเทศ ขึ้นฉ่ายและถั่วเขียว ไปปลูกในมันสำปะหลังกลับอีกครั้งพบว่าไส้เดือนฝอยดังกล่าวไม่เข้าทำลายมันสำปะหลัง ในขณะที่ตัวอ่อนระยะที่ 2 ที่เจริญในรากมันสำปะหลังในทุกๆรุ่นยังคงความสามารถในการเข้าทำลายมันสำปะหลัง ได้ดังเดิม ผลการวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่า ข้าว พริก มะเขือเทศ ขึ้นฉ่ายและถั่วเขียวซึ่งเป็นพืชอาศัยของไส้เดือนฝอย *M. incognita* มีผลต่อความสามารถในการเข้าทำลายรากมันสำปะหลังของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ไอโซเลต RKN1 และไส้เดือนฝอยไอโซเลตที่เข้าทำลายพริก (RKN2) และข้าว (RKN3) ไม่ก่อให้เกิดโรครากปมในมันสำปะหลัง ผลการทดลองนี้ถือเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในการนำไปใช้เพื่อการควบคุมและจัดการไส้เดือนฝอยรากปมในแปลงเกษตรต่อไป

คำสำคัญ: ไส้เดือนฝอยรากปม พืชอาศัย การก่อโรค มันสำปะหลัง

Abstract

Parthenogenesis of root-knot nematode (RKN), *Meloidogyne incognita* was investigated on cassava. Hatching infective-second stage juveniles of RKN, pathogen of cassava (*M. incognita* isolate RKN1) caused root gall on chili, tomato, rice, celery and mungbean. While, RKN, pathogen of chili (*M. incognita* isolate RKN2) and rice (*M. incognita* isolate RKN3) did not cause root gall on cassava. Moreover, *M. incognita* isolate RKN1 generation 2 which separated from chili, tomato, rice, celery and mungbean did not cause root gall when inoculated back into cassava. Whereas, all generation of *M. incognita* isolate RKN1 which grew on cassava still caused root knot disease on cassava. The results indicated that chili, tomato, rice, celery and mungbean had influence on cassava root penetration ability of *M. incognita* isolate RKN1.

Additionally, *M. incognita* isolate RKN2 and RKN3 did not cause root gall on cassava. These data will be useful in control and management RKN in agricultural field in the future.

Keywords: Root-knot nematode, Host plant, Parthenogenesis, Cassava

บทนำ

ไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne* spp.) เป็นศัตรูพืชที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจโดยเข้าทำลายพืชได้ในวงกว้างทั้งพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ (Das et al., 2008; Stirling et al., 2006) มูลค่าความเสียหายที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปมทั่วโลกมากกว่า 78 ล้านเหรียญสหรัฐ (Sun et al., 2006) ทั้งนี้ไส้เดือนฝอยรากปมจะเข้าทำลายระบบรากพืชโดยการดูดกินน้ำเลี้ยงในเซลล์รากและทำให้เซลล์รากขยายใหญ่ผิดปกติซึ่งเรียกว่าเซลล์ยักษ์ (giant cell) เกิดเป็นรากปมซึ่งส่งผลต่อระบบการลำเลียงน้ำและอาหารของพืช ในกรณีที่มีการเข้าทำลายอย่างรุนแรงรากของพืชจะถูกทำลายมากจนพืชไม่สามารถให้ผลผลิตได้และตายในที่สุด (Favary et al., 2016) มากกว่านั้นการที่ไส้เดือนฝอยเข้าทำลายพืชยังเป็นตัวเปิดทางให้เกิดการเข้าทำลายจากเชื้อก่อโรคชนิดอื่น โดยเฉพาะเชื้อราในกลุ่ม *Fusarium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* และ *Sclerotium* ซึ่งมีผลทำให้เกิดความเสียหายต่อพืชมากยิ่งขึ้น (Johnson, 1998)

ในประเทศไทยพบว่ามีการระบาดของไส้เดือนฝอยรากปมชนิด *Meloidogyne incognita* มากที่สุดโดยพบการระบาดทั่วทุกภาคของประเทศไทย (Ruanpanun et al., 2010; Ruanpanun and Khun-In, 2015) ในปี พ.ศ. 2550 สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4 ได้รายงานถึงปัญหาการแพร่ระบาดของโรครากปมในพื้นที่การปลูกพริกจังหวัดอุบลราชธานีและพื้นที่ใกล้เคียงทำให้เกิดความเสียหายกว่า 1,629 ไร่ เป็นสาเหตุทำให้พริกมีผลผลิตและคุณภาพลดลงร้อยละ 50-100 คิดเป็นมูลค่าความเสียหายมากถึง 50-80 ล้านบาท ต่อมาในปี พ.ศ. 2554 สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 ได้รายงานความเสียหายของพริกจากการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปมในเขตพื้นที่อำเภอสารภีและอำเภอแม่วางจังหวัดเชียงใหม่ถึงร้อยละ 30 ของพื้นที่เพาะปลูก (ลาภิสรา วงศ์แก้ว และคณะ, 2554) และ Ruanpanun and Khun-In (2015) รายงานการเข้าทำลายข้าวไร่ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* เป็นครั้งแรกในประเทศไทย

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยและเป็นพืชอาศัยของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* การระบาดของไส้เดือนฝอยรากปมในระดับรุนแรงทำความเสียหายให้กับมันสำปะหลังได้ถึงร้อยละ 87-98 ของพื้นที่ที่พบการระบาด (Cavenes 1982; Theberge 1985) และหากโรคนี้อระบาดในพื้นที่เพาะปลูกมันสำปะหลังในประเทศไทยเพียงร้อยละ 10 ของพื้นที่ปลูกทั้งหมดทั่วประเทศจะทำให้รายได้ลดลงถึง 10,950 ล้านบาท จากการรายงานของบริษัทแห่งหนึ่งที่ จ. ชัยภูมิ พบความเสียหายของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 ถึงร้อยละ 50 ของพื้นที่ปลูกทั้งหมดจำนวน 6 ไร่ (Lertsuchatavanich, 2011)

การปลูกพืชหมุนเวียนเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถช่วยลดจำนวนประชากรของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในดินได้โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมรวมถึงสุขภาพของผู้บริโภค อีกทั้งสามารถก่อให้เกิดรายได้ให้แก่เกษตรกรไปพร้อม ๆ กัน แต่ในการปลูกพืชหมุนเวียนเพื่อควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมนั้นเป็นไปได้

ยากเนื่องจากไส้เดือนฝอยรากปมมีพีชอาศัยกว้างและสามารถปรับตัวได้ดี (Caillaud et al., 2008) อย่างไรก็ตามหากมีพีชที่สามารถตัดวงจรการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปมได้และเป็นพีชที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจจะเป็นประโยชน์แก่เกษตรกร (Devran and Söğüt, 2011) ในปี 2008 Das et al. ได้รายงานการปลูกถั่วเหลืองหลังจากการปลูกอ้อยสามารถลดจำนวนไส้เดือนฝอย *M. incognita* ในแปลงอ้อยได้ อีกทั้งยังช่วยเพิ่มผลผลิตของอ้อยด้วย

ในระหว่างที่ผู้วิจัยทำการศึกษาวิธีการในการควบคุมโรครากปมของมันสำปะหลังที่เกิดจากไส้เดือนฝอย *M. incognita* พบว่าไส้เดือนฝอยชนิดดังกล่าวที่แยกได้จาก ข้าว และพริกซึ่งเตรียมสำหรับปลูกในมันสำปะหลังนั้นไม่สามารถเข้าทำลายมันสำปะหลังได้ ทั้งที่มันสำปะหลังนั้นเป็นพันธุ์อ่อนแอต่อไส้เดือนฝอยรากปมชนิดดังกล่าว ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาความสามารถในการเข้าทำลายมันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* (L.) Crantz) ของไส้เดือนฝอยรากปมที่ก่อโรคในพืชอาศัยต่างชนิดกัน เป็นที่น่าสนใจที่เมื่อนำไส้เดือนฝอยรากปมที่ก่อโรคกับมันสำปะหลังไปปลูกกับพืชชนิดอื่นแล้วทำให้พืชชนิดอื่นเกิดโรคแต่เมื่อแยกไส้เดือนฝอยรากปมไอโซเลตเดิมรุ่นที่ 2 จากพืชอาศัยอื่นปลูกกลับเข้าไปในมันสำปะหลังพบว่าไส้เดือนฝอยนั้นไม่ทำให้มันสำปะหลังเกิดโรค ซึ่งข้อมูลนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญสำหรับใช้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในแปลงมันสำปะหลังในประเทศไทยต่อไป

วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

1. เก็บตัวอย่างดินที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอยรากปมจากแปลงมันสำปะหลังซึ่งเป็นดินร่วนปนทราย (อ. หนองบุญมาก จ. นครราชสีมา) (RKN1) ในเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2557 จากแปลงพริกซึ่งเป็นดินร่วนปนทราย (อ.เมือง จ.นครปฐม) (RKN2) ในเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2557 และจากแปลงข้าวซึ่งเป็นดินเหนียว (อ.อุททอง จ.สุพรรณบุรี) (RKN3) ในเดือนมกราคม พ.ศ. 2558 จากนั้นนำดินตัวอย่างมาปลูกในพีชเดิมที่เก็บมาจากแปลงนั้น ในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 นิ้ว เพื่อเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอยสำหรับการทดลอง โดยเพาะปลูกในโรงเรือน รดน้ำวันละ 1 ครั้ง ช่วงเช้าเป็นเวลา 45 วัน ตามวิธีการของ Ruanpanun et al. (2010)

2. ตรวจสอบชนิดของไส้เดือนฝอยรากปมจากพีชโดยการดูลักษณะ perineal pattern ของตัวเต็มวัยเพศเมียตามวิธีการของ Hunt and Handoo (2009)

3. เตรียมตัวอ่อนระยะที่ 2 (J2) ของไส้เดือนฝอยรากปมไอโซเลต RKN1 RKN2 และ RKN3 โดยใช้ 1 กลุ่มไข่ (มีตัวอ่อน 200-300 ตัว) ต่อพีช 1 ต้น ตามวิธีการของ Ruanpanun et al. (2010) โดยเขี่ยกลุ่มไข่จากรากพีชนำมาล้างด้วยการแช่ใน 1% NaOCl นาน 2 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาดโดยการแช่น้ำ 3 ครั้งๆละ 2 นาที จนไข่หลุดออกจากกันเป็นฟองเดี่ยวๆ จากนั้นเติมน้ำกลั่นเพื่อให้ไข่ฟัก โดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง (25 ± 5 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 48 ชั่วโมงหรือจนกระทั่งไข่เริ่มฟัก ปรับจำนวนตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยรากปมในน้ำกลั่นเป็น 1000 ตัว/มิลลิลิตร

จากนั้นนำตัวอ่อนระยะที่ 2 ซึ่งเป็นระยะเข้าทำลายพืชปลูกลงไปที่รากพืชทดสอบ ดังนี้ ไส้เดือนฝอยรากปมไอโซเลต RKN1 ปลูกในมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 อายุ 25 วัน ไส้เดือนฝอยรากปม

ไอโซเลต RKN2 ปลูกในต้นกล้าพริกบางช่วงอายุ 14 วัน และ ใส้เดือนฝอยรากปมไอโซเลต RKN3 ปลูกในข้าวพันธ์นางดำ ในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 นิ้ว ดินร่วนปนทราย ในสภาวะโรงเรือน รดน้ำวันละ 1 ครั้งช่วงเช้า เป็นเวลา 60 วัน ทดสอบเดือนมกราคม-มิถุนายน พ.ศ. 2558

4. ทดสอบประสิทธิภาพการก่อโรคของใส้เดือนฝอยรากปมไอโซเลต RKN1 RKN2 และ RKN3 ในพืชพันธ์อ่อนแอต่อใส้เดือนฝอยรากปมทั้งหมด 6 ชนิด ประกอบด้วย 1) มันสำปะหลังพันธ์ห้วยบง 80 2) พริกบางช่วง 3) มะเขือเทศสีดา 4) ข้าวพันธ์นางดำ 5) ขึ้นฉ่าย และ 6) ถั่วเขียวพันธ์กำแพงแสน 2 ในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 นิ้ว ดินร่วนปนทราย ในสภาวะโรงเรือน โดยการทดลอง 7 ซ้ำ/ใส้เดือนฝอย 1 ไอโซเลต/1 พืช รวมทั้งหมด 126 กระถาง (ใส้เดือนฝอย 3 ไอโซเลต x พืช 6 ชนิด x จำนวน 7 ซ้ำ) โดยวางกระถางแบบสุ่ม ตามวิธีการดังต่อไปนี้

4.1 นำรากพืชที่เป็นปมและมีกลุ่มไข่มาล้างด้วยน้ำสะอาดอย่างเบามือเพื่อกำจัดเศษดินออก โดยไม่ให้กลุ่มไข่หลุดจากราก จากนั้นนำรากมาเชื่อมกลุ่มไข่บริเวณผิวรากภายใต้กล้องสเตอริโอ นำกลุ่มไข่มาใส่น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว ตั้งทิ้งไว้ 48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง (25 ± 5 องศาเซลเซียส) ให้ไข่ฟักเป็น J2 เพื่อนำไปปลูกลงในต้นพืช

4.2 เตรียมต้นกล้าพืชทั้ง 6 ชนิดในดินร่วนปนทรายในกระถางขนาด 6 นิ้ว ยกเว้นมันสำปะหลังใช้กระถางขนาด 12 นิ้ว ในดินร่วนปนทรายที่มีผ่านการอบฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมงปลูก J2 บริเวณรอบรากพืช โดยใช้ใส้เดือน J2 จำนวน 1,000 ตัว/ต้น (Ruanpanun and Chamswang, 2016) ยกเว้นมันสำปะหลังใช้ J2 3,000 ตัว/ต้น อายุของพืชแต่ละชนิดสำหรับใช้ปลูกใส้เดือนฝอยลงไป คือ 1) มันสำปะหลังพันธ์ห้วยบง 80 อายุ 25 วัน 2) พริกบางช่วง อายุ 14 วัน 3) มะเขือเทศสีดา อายุ 14 วัน 4) ข้าวพันธ์นางดำ อายุ 30 วัน 5) ขึ้นฉ่าย อายุ 14 วัน และ 6) ถั่วเขียวพันธ์กำแพงแสน 2 อายุ 25 วัน ซึ่งอายุพืชที่ให้ทดสอบเป็นช่วงอายุที่ใส้เดือนฝอยรากปมเข้าทำลายในแปลงเพาะปลูก ปลูกพืชในโรงเรือนต่อไปอีก 14 วัน แล้วนำรากพืชแต่ละชนิด ชนิดละ 3 ซ้ำมาย้อม ด้วย NaOCl-acid fuchsin ตามวิธีการของ Byrd et al. (1983) เพื่อตรวจดูการเจริญของใส้เดือนฝอยในรากภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สำหรับตัวอย่างพืชที่ใช้ทดสอบอีก 5 ซ้ำของแต่ละชนิดปลูกต่อไปอีก 31 วัน รดน้ำวันละ 1 ครั้งช่วงเช้า การทดลองในชุดควบคุมคือต้นพืชแต่ละชนิดที่ไม่มีกรปลูก J2 ลงไป

4.3 ประเมินผลการเกิดโรครากปมของพืชจากระดับการเกิดปมและจำนวนกลุ่มไข่และตรวจดูใส้เดือนฝอยในรากพืชโดยการย้อมสีราก

1) ประเมินระดับการเกิดปม นำรากพืชมาล้างผ่านน้ำไหลให้สะอาด ดูการเกิดปมและนับจำนวนกลุ่มไข่ภายใต้กล้องสเตอริโอโดยสังเกตจุดสีน้ำตาลเกาะบริเวณปมราก ประเมินระดับความรุนแรงตามดัชนีการเกิดโรคดังนี้ ระดับ 0 คือไม่เกิดปม ระดับ 1 คือ เกิดปมตั้งแต่ 1-25% ของระบบราก ระดับ 2 คือ เกิดปมตั้งแต่ 26-50% ของระบบราก ระดับ 3 คือ เกิดปมตั้งแต่ 51-75% ของระบบราก และระดับ 4 คือ เกิดปมมากกว่า 75% ของระบบราก (Barker, 1985) จากนั้นใช้ปลายเข็มฉีดยาเชื่อมกลุ่มไข่ใส่น้ำกลั่นสำหรับใช้ในการทดลองข้อที่ 5

2) ตรวจดูใส้เดือนฝอยรากปมในรากพืชโดยการย้อมสีรากด้วย NaOCl-acid fuchsin ตามวิธีการของ Byrd et al. (1983) โดยตัดรากพืชเป็นท่อนๆละ 2-3 เซนติเมตร แช่ใน 3% NaOCl นาน 5 นาที (รากข้าวและมันสำปะหลังแช่ 25 นาที) แล้วนำไปแช่ในน้ำสะอาด 30 นาที จากนั้นชันรากให้แห้ง

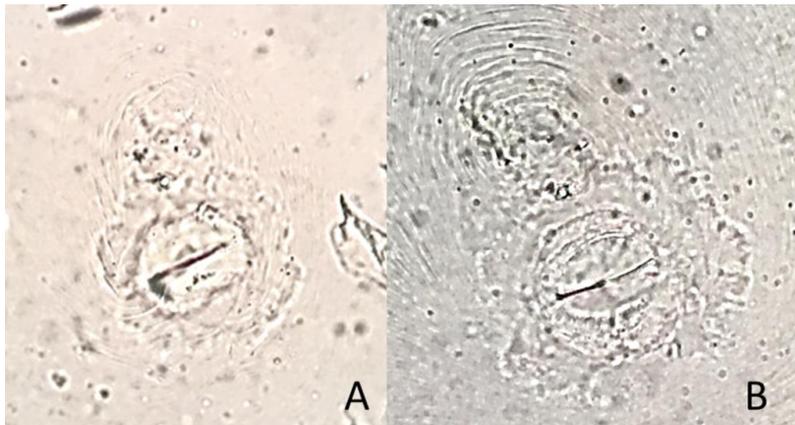
และนำไปต้มใน acid fuchsin ในกรดอะซิติก ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที จากนั้นล้างผ่านน้ำไหลจนกระทั่งไปเห็นสีอื่นไหลออกมา ชั้บรากให้แห้งแช่ใน 100% กลีเซอรินแล้วหยด 5N HCl ลงไป 2-3 หยด นำรากไปตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อตรวจดูไส้เดือนฝอย

5. ทดสอบการเข้าทำลายรากพืชของ *M. incognita* ไอโซเลต RKN1 รุ่นที่ 2 จากมันสำปะหลังพริก มะเขือเทศ ข้าว ขึ้นฉ่าย ถั่วเขียว ที่เตรียมไว้จากข้อ 1) มาปลูกลงในรากมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 ด้วยวิธีการดังแสดงในข้อที่ 4.2 และประเมินผลตามวิธีการในข้อ 4.3

ผลการวิจัย

การจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยรากปม

จากตรวจสอบชนิดของไส้เดือนฝอยรากปมโดยการดูจากลักษณะของ perineal pattern ของตัวเต็มวัยเพศเมียพบว่าตัวอย่างของไส้เดือนฝอยรากปมที่แยกจากมันสำปะหลัง พริกและข้าว มีลักษณะคล้ายกันคือรูปร่าง perineal pattern เป็นรูปวงรีค่อนข้างกลม ส่วนของ dorsal arch เป็นสี่เหลี่ยมยกสูงลายเส้น (striae) หยักเป็นคลื่น และไม่พบเส้นด้านข้าง (lateral line) ดังแสดงในภาพที่ 1 ซึ่งตรงกับลักษณะของไส้เดือนฝอยรากปมชนิด *Meloidogyne incognita*

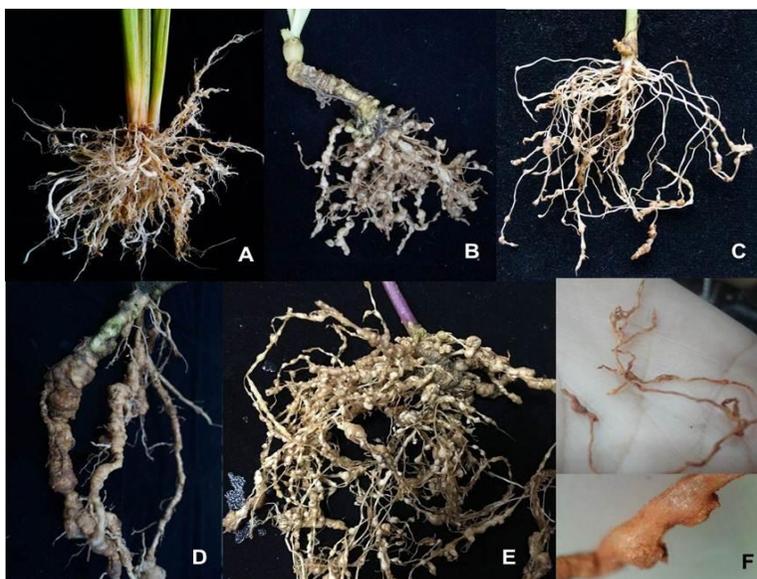


ภาพที่ 1 ลักษณะ perineal pattern ของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* ไอโซเลต RKN1 และ ไอโซเลต RKN2

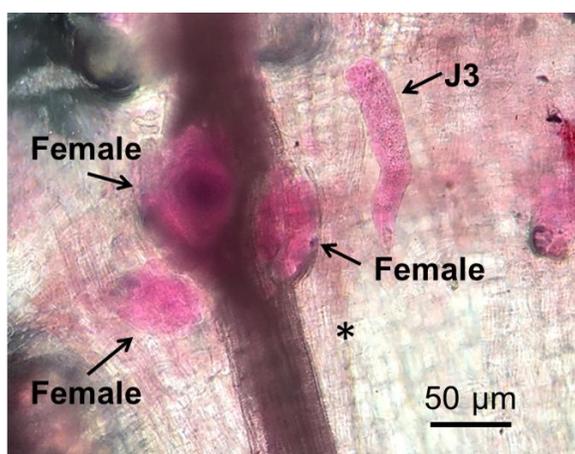
การประเมินการก่อโรคของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ในพืชอาศัย

จากผลการทดลองการก่อโรคของไส้เดือนฝอยรากปมที่แยกจากแปลงเพาะปลูกพืชต่างชนิดกันได้แก่ ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ไอโซเลต RKN1 จากแปลงมันสำปะหลัง ไอโซเลต RKN2 จากแปลงพริก และไอโซเลต RKN3 จากนาข้าว กับพืช 6 ชนิดได้แก่ 1) มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 2) พริกบางช้าง 3) มะเขือเทศสีดา 4) ข้าวพันธุ์นางดำ 5) ขึ้นฉ่าย และ 6) ถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 โดยพืชทั้ง 6 ชนิดเป็นพันธุ์อ่อนต่อไส้เดือนฝอย *M. incognita* พบว่าไส้เดือนฝอยไอโซเลต RKN 1 สามารถเข้าทำลายพืชได้ทั้ง 6 ชนิดโดยทำให้รากพืชทั้งหมดเกิดปมในระดับรุนแรง (ภาพที่ 2) เมื่อนำรากพืชทั้งหมดมาย้อมดูตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยในราก ณ วันที่ 14 หลังจากที่มีการปลูกไส้เดือนฝอยลงไปในนั้น พบตัวอ่อน

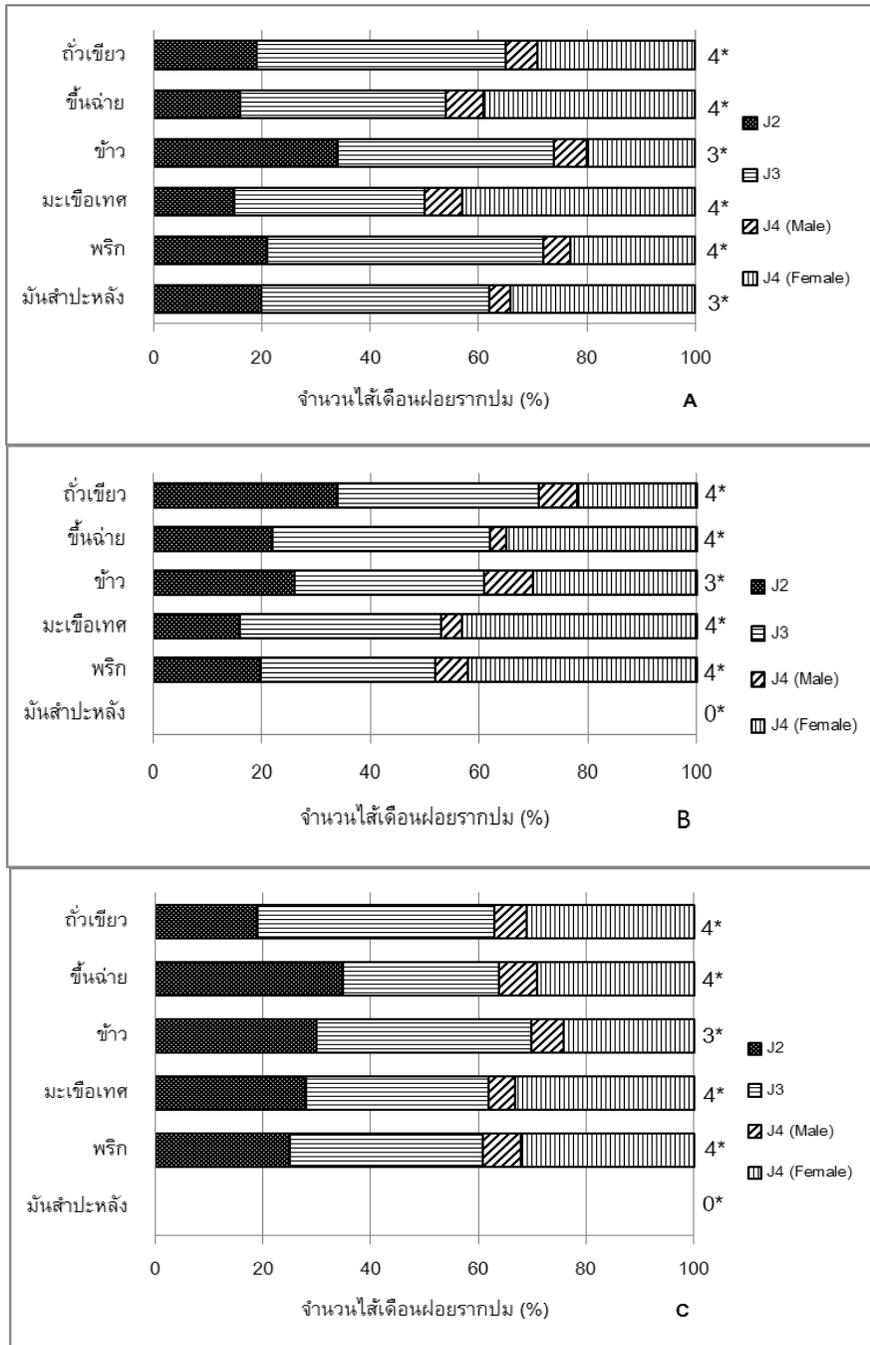
ของไส้เดือนฝอยตั้งแต่ระยะที่ 2 จนถึงระยะที่ 4 ในพืช (ภาพที่ 3) โดยที่จำนวนของไส้เดือนฝอย *M. incognita* แต่ละระยะของแต่ละพืชไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการพัฒนาของตัวอ่อน *M. incognita* ไอโซเลต RKN1 ไม่มีความแตกต่างในพืชอาศัยที่ต่างกัน (ภาพที่ 4A) ในขณะที่ไส้เดือนฝอย รากปมไอโซเลต RKN2 และ RKN3 เข้าทำลายและก่อโรคใน พริก มะเขือเทศ ข้าว ขึ้นฉ่าย และ ถั่วเขียว แต่ไม่ก่อให้เกิดโรคกับมันสำปะหลัง ดังแสดงในภาพที่ 4B และ 4C



ภาพที่ 2 ลักษณะรากปมที่เกิดจากการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ไอโซเลต RKN1 ในข้าว(A) ขึ้นฉ่าย(B) พริก(C) มะเขือเทศ(D) ถั่วเขียว(E) และมันสำปะหลัง(F)



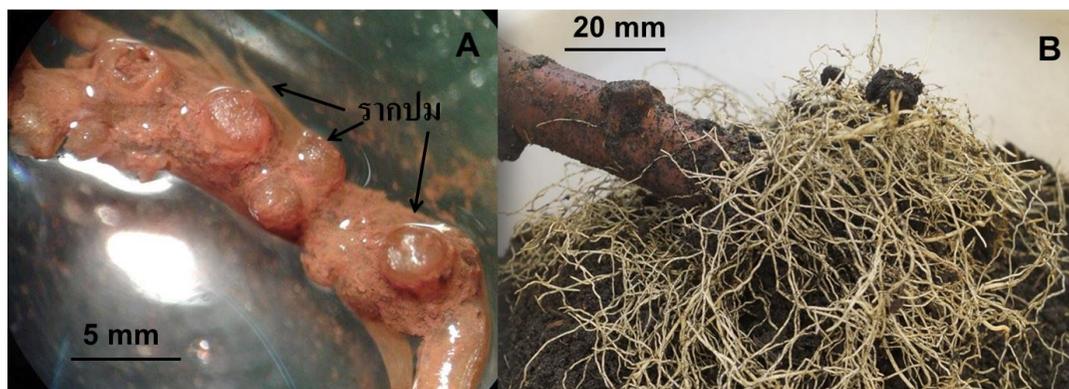
ภาพที่ 3 ลักษณะตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ในรากถั่วเขียวเมื่อย้อมด้วย NaOCl-acid fuchsin * คือเซลล์พืช J3 คือตัวอ่อนระยะที่ 3 และ Female คือตัวอ่อนระยะที่ 4 เพศเมีย



ภาพที่ 4 แสดงร้อยละจำนวนของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ไอโซเลต RKN1(A) RKN2 (B) และ RKN3 (C) ระยะเวลาในรากพืชอาศัย ณ วันที่ 14 หลังจากการปลูกไส้เดือนฝอยลงไป J2 คือตัวอ่อนระยะที่ 2 J3 คือตัวอ่อนระยะที่ 3 J4 (male) คือ ตัวอ่อนเพศผู้ระยะที่ 4 J2 (Female) คือตัวอ่อนเพศเมียระยะที่ 4 *ดัชนีการเกิดปมของพืช ณ วันที่ 45 หลังจากการปลูกไส้เดือนฝอยลงไป

การประเมินการก่อโรคต่อมันสำปะหลังของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* ไอโซเลต RKN1 รุ่นที่ 2

จากผลการทดสอบการก่อโรคของ J2 ของไส้เดือนฝอย *M. incognita* ไอโซเลต RKN1 รุ่น 2 ต่อ มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 80 โดยแยกไส้เดือนฝอยรากปม RKN1 รุ่นที่ 2 จาก มันสำปะหลัง พริก มะเขือเทศ ข้าว ขึ้นฉ่าย และ ถั่วเขียว ซึ่งเป็นพืชอาศัยของไส้เดือนฝอยรากปมไอโซเลต RKN1 รุ่น 1 พบว่ามีเพียง J2 ของไส้เดือนฝอย *M. Incognita* รุ่นที่ 2 ที่แยกได้จากมันสำปะหลังเท่านั้นที่ทำให้รากของมันสำปะหลังเกิดปม (ภาพที่ 5) ในขณะที่ J2 ที่แยกจาก พริก มะเขือเทศ ข้าว ขึ้นฉ่าย และ ถั่วเขียว ไม่ทำให้มันสำปะหลังเกิดรากปมได้และไม่พบตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยรากปมในรากมันสำปะหลัง



ภาพที่ 5 ลักษณะรากปมของมันสำปะหลังเมื่อถูกไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* ไอโซเลต RKN1 รุ่นที่ 2 ที่แยกจากมันสำปะหลังเข้าทำลาย (A) และลักษณะของรากมันสำปะหลังหลังจากมีการปลูกไส้เดือนฝอยไอโซเลต RKN1 รุ่นที่ 2 ที่แยกจากพริกลงไป (B)

อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการระบุชนิดของไส้เดือนฝอยรากปมทั้ง 3 ไอโซเลต ได้แก่ ไอโซเลต RKN1 จากมันสำปะหลัง ไอโซเลต RKN2 จากพริกและ ไอโซเลต RKN3 จากข้าว โดยการดูลักษณะของ perineal pattern พบว่าตรงกับไส้เดือนฝอยรากปมชนิด *Meloidogyne incognita* ซึ่งข้อมูลลักษณะของ perineal pattern เพียงพอและเป็นที่ยอมรับในการระบุชนิดของไส้เดือนฝอยรากปมตามมาตรฐานงานทางไส้เดือนฝอยแล้ว (Eisenback and Triantaphyllou, 1991; Hunt and Handoo, 2009) ไส้เดือนฝอยรากปมชนิดนี้เป็นไส้เดือนฝอยรากปมเขตร้อนและเป็นไส้เดือนฝอยชนิดที่พบมากที่สุดในโลกรวมถึงประเทศไทยด้วย ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* สามารถเข้าทำลายพืชได้ในวงกว้างทั้งพืชใบเลี้ยงคู่ และพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ในงานวิจัยนี้ได้ใช้พืชทดสอบที่เป็นตัวแทนของพืชทั้งในกลุ่มใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่เพื่อยืนยันข้อมูลดังกล่าวและใช้ดินร่วนปนทรายที่มีคุณลักษณะเหมาะต่อการเจริญของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ทั้ง 3 ไอโซเลตเพื่อลดปัจจัยที่อาจจะส่งผลต่อการก่อโรคของไส้เดือนฝอยไอโซเลตต่าง ๆ

ผลจากการทดสอบการทำลายรากของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ไอโซเลต RKN1 ซึ่งแยกจากมันสำปะหลังในการเข้าทำลายพืชอื่นได้แก่ พริก มะเขือเทศ ข้าว ขึ้นฉ่าย และถั่วเขียว พบว่าสามารถเข้าทำลายและก่อโรคในพืชดังกล่าวได้ทั้งหมด ในขณะที่ไส้เดือนฝอยรากปม ไอโซเลต RKN2 ซึ่งเป็นไส้เดือนฝอยก่อโรคในพริก และไส้เดือนฝอยรากปมไอโซเลต RKN3 ซึ่งเป็นไส้เดือนฝอยก่อโรคข้าวสามารถก่อโรคใน พริก มะเขือเทศ ข้าว ขึ้นฉ่ายและถั่วเขียว แต่ไม่ก่อโรครากปมในมันสำปะหลังและเมื่อย้อมรากมันสำปะหลังและตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์ปรากฏว่าไม่พบตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยในรากแสดงว่าไส้เดือนฝอยรากปมไม่เข้ารากของมันสำปะหลังซึ่งเป็นไปได้ว่าไอโซเลต RKN1 มีความแตกต่างจากไอโซเลต RKN2 และไอโซเลต RKN3 ในด้านความสามารถในการก่อโรคของมันสำปะหลังเนื่องจากไส้เดือนฝอยรากปมไอโซเลต RKN1 เป็นสายพันธุ์ (race) ที่ต่างกับไอโซเลต RKN2 และ/หรือ ไอโซเลต RKN3 (Devran and Söğüt, 2011) ซึ่งในงานวิจัยนี้ไม่ได้ทำการระบุสายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยเนื่องจากในการระบุสายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยรากปมนั้นในงานทางด้านไส้เดือนฝอยจะใช้วิธีการใช้พืชทดสอบของ “North Carolina Differential Host Test” (Hartman and Sasser, 1985; Netscher and Sikora, 1990, Decker and Fritzsche, 1991; Robertson et al., 2009) โดยจะดำเนินการศึกษาต่อไป แต่ข้อจำกัดของวิธีการนี้คือสายพันธุ์ของพืชทดสอบที่จะต้องนำเข้ามาจากต่างประเทศและใช้เวลาในการทดสอบนานอีกทั้งพื้นที่ที่ทำการทดสอบอาจมีผลต่อการเจริญของพืชทดสอบ อย่างไรก็ตามวิธีการนี้ยังคงเป็นที่ยอมรับและสามารถระบุสายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยได้แม่นยำในขณะนี้ (Robertson et al., 2009) ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่นักวิจัยประเทศไทยจะต้องค้นหาพืชทดสอบที่สามารถเจริญได้ดีในประเทศและสามารถทดสอบสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยรากปมในไทย ทั้งนี้การทราบถึงสายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยจะเป็นประโยชน์อย่างมากในแง่ของการควบคุมไส้เดือนฝอยในแปลงโดยวิธีการปลูกพืชหมุนเวียน รวมถึงการใช้สายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยเพื่อการคัดพันธุ์พืชต้านทานต่อไส้เดือนฝอยรากปม (Devran and Söğüt, 2011) ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างมากต่อการเกษตรของไทย

จากการทดสอบการเข้าทำลายรากของมันสำปะหลังของไส้เดือนฝอยรากปมไอโซเลต RKN1 รุ่นที่ 2 ซึ่งเกิดจากการขยายพันธุ์ในพืชอาศัย 6 ชนิด คือ มันสำปะหลังพันธุ์หัวยวง 80 พริกบางช้าง มะเขือเทศสีดา ข้าวพันธุ์นางดำ ขึ้นฉ่าย และถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 พบว่าไส้เดือนฝอยรากปมไอโซเลต RKN1 รุ่นที่ 2 ที่เจริญในมันสำปะหลังเท่านั้นที่ยังคงความสามารถในการก่อโรคในมันสำปะหลังได้ในขณะที่ตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยที่เจริญในพืชอื่นสูญเสียความสามารถในการเข้ารากและการก่อโรคในมันสำปะหลัง เป็นไปได้ว่าพืชอาศัยอื่นมีผลต่อกระบวนการในการก่อโรคของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ไอโซเลต RKN1 อย่างไรก็ตามข้อมูลนี้ยังขาดหลักฐานชี้ชัดในการระบุถึงสาเหตุของผลดังกล่าว อีกทั้งกระบวนการในการเข้าทำลายพืชของไส้เดือนฝอยบางอย่างยังคงอยู่ในระหว่างการวิจัยเพื่อยืนยันสมมติฐานในหลาย ๆ จุดซึ่งต้องทำการศึกษาในเชิงลึกต่อไป (Favery et al., 2016) แต่ข้อมูลเบื้องต้นที่ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นอีกส่วนหนึ่งคือการใช้พืชได้แก่ พริกบางช้าง มะเขือเทศสีดา ข้าวพันธุ์นางดำ ขึ้นฉ่าย และถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 ปลูกเป็นพืชหมุนเวียนในพื้นที่ที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอยรากปมในแปลงมันสำปะหลังสามารถช่วยตัดวงจรของไส้เดือนฝอยรากปมได้ แต่เนื่องจากการทดลองต่าง ๆ ยังเป็นผลการทดสอบในระดับโรงเรือนอาจจะยังไม่เพียงพอต่อการนำไปใช้ดังนั้นเพื่อให้เกิดความถูกต้องแม่นยำในการนำไปใช้ประโยชน์อย่างมีประสิทธิภาพจึงควรต้องมีการศึกษาในระดับแปลงเพาะปลูก ทำการ

ประเมินจำนวนประชากรของไส้เดือนฝอยหลังจากปลูกพืชเหล่านี้ลงไปแปลงมันสำปะหลังว่าลดลงในระดับที่ไม่มีผลต่อพืชในฤดูปลูกถัดไปหรือไม่ และทดลองทำในหลายๆซ้ำ อีกทั้งยังต้องศึกษาในระดับภูมิภาคต่างๆให้ครอบคลุมพื้นที่เกษตรในประเทศไทยรวมถึงในฤดูกาลที่ต่างกันต่อไปว่ามีผลต่อการเข้าทำลายพืชของไส้เดือนฝอยหรือไม่ เพื่อประโยชน์สูงสุดในการจัดการปัญหาไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในระบบเกษตรไทยต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- ลาภิสรา วงศ์แก้ว สุทธิณี ลิขิตตระกูลรุ่ง นิสิต บุญเป็ง และสตรียรัตน์ ไหม่ดา. (2554). ตามรอยอียูพบปม. สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 www.oard1.org (28 มกราคม 2560)
- Barker, K.R. (1985). Nematode extraction and bioassays. In: Barker, K.R., Carter, C.C., Sasser, J.N. (eds), An advanced treatise on *Meloidogyne*, vol II., North Carolina State University Graphics Raleigh, NC, 29–30.
- Byrd, D.W.J, Kirkpatrick, T., Barker, K.R. (1983). An improved technique for clearing and staining plant tissue for detection of nematodes. *J Nematol.* 14: 142-143.
- Caveness, F.E. (1982). Root-knot nematodes as parasites of cassava. *IITA Research Briefs*, 3, 2-3.
- Caillaud, M.C., Dubreuil, G., Quentin, M., Perfus-Barbeoch, L., Lecomte, P. et al. (2008). Root-knot nematodes manipulate plant cell functions during a compatible interaction. *J Plant Physiol.* 165: 104-113.
- Das, S., DeMason, D.A., Ehlers, J.D., Close, T.J., Roberts, P.A. (2008). Histological characterization of root-knot nematode resistance in cowpea and its relation to reactive oxygen species modulation. *J Exp Bot.* 59: 1305-1313.
- Decker, H., Fritzsche, R. (1991). Resistenz von Kulturpflanzen gegen Nematoden. Akademie Verlag, Berlin
- Devran, Z., Söğüt, M.A. (2011). Characterizing races of *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria* in the West Mediterranean region of Turkey. *Crop Prot.* 30: 451-455.
- Eisenback, D.E., Triantaphyllou, H.H. (1991). Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species and races. In: Nickle, W.R. (ed.), *Manual of agricultural nematology.* 191-274.
- Fervary, D., Quentin, M., Jaubert-Possamai, S., Abad, P. (2016). Gall-forming root-knot nematodes hijack key plant cellular functions to induce multinucleate and hypertrophied feeding cells. *J Insect Physiol.* 84: 60-69.
- Hartman, K.M., Sasser, J.N. (1985). Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal pattern morphology. In: Barker, K.R., Carter, C.C.,

- Sasser, J.N. (eds.), An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. Methodology, vol. II. North Carolina State University Graphics, North Carolina, 69-77.
- Hunt, D.J., Handoo, Z.A. (2009). Taxonomy identification and principal species. In: Perry, R.N., Moens, M., Starr, J.L. (eds), Root-knot nematodes. CABI publishing, Wallingford 55-97.
- Johnson, C.S. (1998). Tobacco. In: Barker, K.R., Pederson, G.A., Windham, G.L. (eds), Plant and nematode interactions. American Society of Agronomists, Madison, 487-521.
- Lertsuchatavanich, U. (2011). Root gall disease: another important threat in cassava plantation. Kahakaset (House Agricultural Magazine) 35: 99-101.
- Netscher, C., Sikora, R.A. (1990). Nematode parasites of vegetables. In: Luc, M., Sikora, R.A., Bridge, J. (eds.), Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. CAB International, Wallingford, Oxon, 237-283.
- Robertson, L., Díez-Rojo, M.A., López-Pérez, J.A., Piedra Buena, A., Escuer, M., López Cepero, J., Martínez, C., Bello, A. (2009). A. New host races of *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita* and *M. javanica* from horticultural regions of Spain. Plant Dis. 93: 180-184.
- Ruanpanun, P., Khun-In, A., 2015. First report of *Meloidogyne incognita* caused root knot disease of upland rice in Thailand. J ISSAAS. 21: 68-77.
- Ruanpanun, P., Chamswarnng, C. (2016). Potential of actinomycetes isolated from earthworm castings in controlling root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. J Gen Plant Pathol. 82: 43-50.
- Ruanpanun, P., Tangchitsomkid, N., Hyde, K.D., Lumyong, S. (2010). Actinomycetes and fungi isolated from plant-parasitic nematode infested soils: screening of the effective biocontrol potential, indole-3-acetic acid and siderophore production. World J Microbiol Biotechnol. 26: 1569-1578.
- Stirling, G.R., Berthelsen, J.E., Garside, A.L., James, A.T. (2006). The reaction of soybean and other legume crops to root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.), and implications for growing these crops in rotation with sugarcane. Australas Plant Pathol. 35: 707-714.
- Sun, M.H., Gao, L., Shi, Y.X., Li. B., Liu, X.Z. (2006). Fungi and actinomycetes associated with *Meloidogyne* spp. eggs and females in China and their biocontrol potential. J Invertebr Pathol. 93: 22-28.
- Theberge, R. L. (1985). Common African pests and disease of cassava, yam sweet potato, cocoyam. International Institute of Tropical Agriculture Ibadan, Nigeria. 108p.