การพัฒนาชุดตรวจสอบและเทคนิคการแยกไส้เดือนฝอยในรากพืช

Development of Test Kit and Nematode Extraction Technique in Plant Root

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด [1/]

วานิช คำพานิช [1/] ช่อทิพย์ ศัลยพงษ์ [2/]

[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]สำนักควบคุมวัสดุการเกษตร

รายงานความก้าวหน้า

การพัฒนาวิธีการแยกไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* จากรากพรรณไม้น้ำ (*Anubias nana*) โดยวิธีการใช้สาร 3 ชนิด ได้แก่ น้ำเกลือ 0.5 % แอลกอฮอล์ 5 % และคลอร็อกซ์ 0.5 % แช่รากแบบตัดเป็นชิ้นเล็กๆ และรากแบบซอยละเอียด นำมาเขย่าด้วยมือเป็นเวลา 5 นาที พบว่า รากซอยละเอียดที่แช่ในแอลกอฮอล์ 5 % และเขย่า 5 นาที สามารถแยกไส้เดือนฝอย *R. similis* ที่อยู่ในเนื้อเยื่อรากออกมาได้มากที่สุดเท่ากับ 47.2 % ในขณะที่การตัดรากเป็นชิ้นเล็กแช่แอลกอฮอล์ 5 % และเขย่า 5 นาทีเช่นกัน ได้เท่ากับ 17.2 % ซึ่งมีความแตกต่าง 30 % สำหรับการใช้น้ำเกลือ 0.5 % และคลอร็อกซ์ 0.5 % แช่รากซอยละเอียด สามารถแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากได้เท่ากับ 40.7 และ 39.5 % ตามลำดับ ซึ่งดีกว่าการใช้น้ำกลั่นที่สามารถแยกไส้เดือนฝอยได้เท่ากับ 18.5 %

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-03-04-01-54

คำนำ

การตรวจสอบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชมีหลายวิธี แต่ละวิธีตรวจสอบมีขั้นตอนในการปฏิบัติที่แตกต่างกัน ได้แก่ การแยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชออกจากดินนิยมใช้วิธี Cobb's sieving & Baermann funnel method และ Cobb's sieving & Centrifugal flotation การแยกไส้เดือนฝอยออกจากชิ้นส่วนของพืช ได้แก่ ส่วนหัว ราก ใบ ดอก และเมล็ด ใช้วิธีย้อมชิ้นส่วนพืชด้วยสีย้อม หรือใช้วิธี Centrifugal flotation (Barker, 1985) สำหรับในกรณีตรวจแยกไส้เดือนฝอยที่อยู่ในเนื้อเยื่อรากลึก เช่น ไส้เดือนฝอยในกลุ่ม migratory endoparasite (*Hirschmanniella, Radopholus* และ *Pratylenchus*) ใช้วิธีพ่นหมอกหรือ Mist chamber (Hooper, 1970) ซึ่งแต่ละวิธีการตรวจแยกยังมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของไส้เดือนฝอย ชนิดพืชที่ตรวจแยก ตัวอย่างพืชหรือวัสดุที่ใช้ตรวจ จำนวนตัวอย่าง ค่าใช้จ่าย ความยากง่ายในการปฏิบัติหรือตรวจวิเคราะห์ มาตรฐานของเครื่องมือ และผู้ปฏิบัติงาน จึงต้องมีการพิจารณากระบวนการตรวจให้เหมาะสมเพื่อเกิดความแม่นยำและ/หรือคลาดเคลื่อนน้อยที่สุด โดยกรมวิชาการเกษตร เป็นหน่วยงานรับผิดชอบในการตรวจสอบศัตรูพืชและออกใบรับรองพืชนำเข้าและส่งออก ซึ่ง ณ ปัจจุบันการปนเปื้อนของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชกักกันติดไปกับพืชส่งออกของไทย กำลังประสบปัญหาไส้เดือนฝอยศัตรูพืชติดไปกับรากพรรณไม้น้ำส่งออกไปประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป โดยตรวจพบไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* ติดไปกับรากไม้น้ำสกุล *Anubias* spp. ที่ส่งไปยังประเทศเนเธอร์แลนด์ และไส้เดือนฝอย *Hirschmanniella* sp. ติดไปกับไม้น้ำสกุล *Vallisneria* sp. ที่ส่งไปประเทศโปแลนด์ รวมการแจ้งเตือนตลอดปี 2550 จำนวน 5 ครั้ง และในปี 2551 สถานการณ์การส่งออกพรรณไม้น้ำไป EU ยังคงประสบปัญหาการปนเปื้อนไส้เดือนฝอย *R. similis* อย่างต่อเนื่อง มีการแจ้งเตือนและเผาทำลายพรรณไม้น้ำที่มีการปนเปื้อนไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ณ ประเทศปลายทาง จำนวน 11 ครั้ง เรื่องดังกล่าวจึงเป็นผลกระทบต่อการส่งออกพรรณไม้น้ำ รวมไปถึงไม้ดอกไม้ประดับของไทยอีกด้วย โดยทางกลุ่มสหภาพยุโรปได้มีข้อกำหนดให้ประเทศไทยต้องตรวจรับรองพืชปลอดไส้เดือนฝอย *R. similis* ในพรรณไม้น้ำ-ไม้ประดับทุกชนิดในวงศ์ Araceae, Marantaceae, Musaceae และ Strelitziaceae (นุชนารถ, 2553)

ปี 2551 กรมวิชาการเกษตร ได้ออกแบบเครื่อง Mist chamber ที่ประกอบจากวัสดุในประเทศ มีราคาถูก โดยใช้หลักการพ่นน้ำให้เป็นฝอยตกกระทบไปบนรากพืชที่ตั้งอยู่บนกรวย ความชื้นจากการพ่นน้ำตลอด 48 ชม. จะทำให้ไส้เดือนฝอยที่อาศัยอยู่ภายในราก (endoparasite) โดยเฉพาะไส้เดือนฝอย *R. similis* และ *Hirschmanniella* sp. เคลื่อนที่ออกจากเนื้อเยื่อพืชและลงสู่ปลายกรวย จากนั้นทำการไขน้ำจากปลายกรวยนำไปตรวจไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งการใช้เทคนิค Mist chamber จะสามารถแยกได้ไส้เดือนฝอยที่มีชีวิต ทำให้มองเห็นรูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอยได้อย่างชัดเจน จึงจำแนกชนิดได้ง่ายและแม่นยำกว่าวิธีย้อมสีราก ซึ่งสีย้อมจะติดทั้งลำตัวไส้เดือนฝอยทำให้ยากต่อการจำแนกชนิด หรือวิธีเขย่ารากในน้ำบนเครื่องเขย่าอาจต้องใช้เวลา

นานมากกว่า 3-5 วัน จึงจะทำให้ไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกมาจากรากหรือไส้เดือนฝอยอยู่ในรากลึก อาจไม่เคลื่อนที่ออกมา ทำให้การตรวจแยกผิดพลาดขาดความแม่นยำ (นุชนารถ และ วานิช, 2551)

ปี 2552 นุชนารถ และวราภรณ์ ได้ทดสอบการใช้คลื่นเหนือเสียง (Ultrasonic) ที่ความถี่ 50/60 kHz. เป็นเวลา 10 นาที สามารถแยกไส้เดือนฝอย *R. similis* ออกจากรากไม้น้ำสกุล *Anubias* sp. โดยผ่านน้ำเป็นตัวกลางได้จำนวนเฉลี่ย 26.4 ตัว ในขณะที่ใช้วิธีพ่นหมอกด้วยเครื่องพ่นหมอก เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แยกได้เท่ากับ 8.2 ตัว เมื่อทำการทดสอบระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่รากไม้น้ำในเครื่อง Ultrasonic ที่ 5 10 20 40 และ 60 นาที พบว่าการแช่รากเป็นเวลา 20 นาที สามารถแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากได้เฉลี่ย 38.3 ตัว ซึ่งเป็นระยะเวลาที่คลื่นเสียงไม่ทำความเสียหายให้กับรากไม้น้ำสามารถนำกลับไปปลูกต่อได้ จากผลการทดสอบเปรียบเทียบ วิธีการต่างๆ ในการแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากพืช พบว่าการใช้คลื่นเสียงมีประสิทธิภาพในการแยกไส้เดือนฝอยได้ดีกว่าวิธีพ่นหมอก และวิธี Sucrose Centrifuge Method โดยวิธีแยกด้วยคลื่นเสียงใช้เวลาเพียง 20 นาที ในขณะที่วิธีพ่นหมอกใช้เวลานานกว่า 48 ชั่วโมง ตลอดจนการเตรียมตัวอย่างรากพืชไม่ยุ่งยาก ประหยัดเวลา แรงงาน และค่าใช้จ่ายกว่าวิธี Centrifuge floating method รวมทั้งการใช้คลื่นเสียงแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากพืช ยังสามารถรองรับการตรวจพืชส่งออกในปริมาณมากกว่า 100 ตัวอย่าง/วัน

ปี 2554 กรมวิชาการเกษตร ได้พัฒนาชุดตรวจสอบภาคสนามโดยการใช้คลื่นเสียงชนิด Ultrasonic เป็นเครื่องมือในการแยกไส้เดือนฝอยออกจากราก ใช้เวลา 20 นาที พร้อมติดตั้งกล้องจุลทรรศน์ขนาดเล็ก (mini microscope) กำลังขยาย 50 เท่า ใช้ส่องตรวจไส้เดือนฝอยที่แยกได้ทันที ซึ่งเป็นชุดสำเร็จรูปที่เจ้าหน้าที่ตรวจพืช และเกษตรกร สามารถพกพาไปใช้ในภาคสนามได้ด้วยตนเอง (Tangchitsomkid, 2012)

อย่างไรก็ตามเครื่อง Ultrasonic ยังมีราคาค่อนข้างสูง จึงควรพัฒนาเทคนิคอื่นๆ ในการแยกไส้เดือนฝอย เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของเกษตรกรหรือเจ้าหน้าที่ตรวจรับรองพืชนำเข้า-ส่งออกภาคสนาม สามารถนำไปใช้ปฏิบัติในแปลงปลูกได้อย่างมีประสิทธิภาพและเหมาะสม

ดังนั้น การตรวจสอบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่อาจติดมากับพืชที่นำเข้าหรือส่งออกไปยังประเทศคู่ค้า จึงเป็นเรื่องที่มีความสำคัญและมีผลกระทบต่อการส่งออกของประเทศไทยในขณะนี้เป็นอย่างยิ่ง การพัฒนาเครื่องมือและเทคนิคการตรวจแยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ให้ได้เครื่องมือและเทคนิคที่สามารถรองรับการทำงานกับตัวอย่างพืชจำนวนมากในคราวเดียวกัน เพื่อประหยัดเวลาและแรงงาน มุ่งเน้นการใช้วัสดุ-อุปกรณ์ในการสร้างเครื่องมือที่มีราคาถูก หาได้ง่ายในประเทศ สะดวกในการใช้งาน และมีประสิทธิภาพ รวมถึงผู้ปฏิบัติหรือเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชสามารถตรวจสอบได้ด้วยตนเอง ซึ่งถือเป็นเรื่องเร่งด่วนและสอดคล้องกับความต้องการในการใช้ตรวจพืชที่นำเข้าและส่งออกของประเทศไทยเป็นอย่างยิ่ง

วัตถุประสงค์ของการทดลอง เพื่อพัฒนาเครื่องมือและเทคนิคการตรวจแยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่เข้าทำลายราก ให้เป็นวิธีการตรวจอย่างง่าย มีความแม่นยำ ได้เป็นชุดตรวจสอบมีราคาถูกและมีประสิทธิภาพ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารเคมีชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำเกลือ แอลกอฮอล์ คลอร็อกซ์ และน้ำกลั่น
2. ไส้เดือนฝอย *R. similis* ที่ใช้ในการทดสอบ เพาะเลี้ยงจากชิ้นแครอทในสภาพปลอดเชื้อ
3. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (Stereo microscope) และกำลังขยายสูง (Compound microscope) พร้อมกล้องถ่ายภาพดิจิตอล
4. พืชทดสอบ ได้แก่ รากพรรณไม้น้ำ (*Anubias nana*)
5. วัสดุ-อุปกรณ์ และเครื่องแก้วสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย

วิธีการ

1. การเพิ่มไส้เดือนฝอย *R. similis* ในชิ้นแครอท

- เตรียมหัวเชื้อไส้เดือนฝอย *R. similis* ทำการล้างฆ่าเชื้อที่ผิวโดยแช่ในสาร 0.1% hyamine เป็นเวลา 15 นาที และแช่ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำ 2 ครั้ง
- เตรียมวุ้น 1.5 % (วุ้นผง 15 กรัม + น้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร) นึ่งฆ่าเชื้อ นำไปเทลงในจานเพาะเลี้ยง (Petri dish) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ปริมาตรวุ้นเท่ากับ 1 ใน 4 ของความสูงจานเพาะ ในสภาพปลอดเชื้อ
- เตรียมชิ้นส่วนพืช (แครอท) โดยนำหัวแครอทปอกเปลือกให้สะอาด และหั่นตามขวางของหัวให้เป็นชิ้นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร ทำการล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70 % โดยวิธีการจุ่ม และจุ่มล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำ 2 ครั้ง วางผึ่งชิ้นแครอทให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อประมาณ 30 นาที จากนั้นใช้ปากคีบฆ่าเชื้อ คีบชิ้นแครอทวางลงบนอาหารวุ้นบริเวณกลางจาน ได้เป็นจานอาหารเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย
- การเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยในชิ้นแครอท นำหัวเชื้อไส้เดือนฝอยจำนวน 100+10 ตัว/น้ำกลั่น 50 ไมโครลิตร หยดลงบนชิ้นแครอทในจานอาหารเพาะเลี้ยงที่เตรียมไว้ โดยปฏิบัติในตู้ปลอดเชื้อ จากนั้นหุ้มจานเพาะเลี้ยงด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟรอยด์ เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง

2. การเตรียมรากพรรณไม้น้ำที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลาย

นำต้นพรรณไม้น้ำ *Anubias nana* ที่มีหน่อและราก ปลูกลงในกระบะทรายหยาบ 20 ต้น/กระบะขนาด 30 x 45 ซม. เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำไส้เดือนฝอย *R. similis* ที่เพาะเลี้ยงได้จากชิ้น

แครอท จำนวน 200 ตัว/ต้น หยดลงบริเวณโคนต้น จากนั้นปลูกเลี้ยงพืชเป็นเวลา 2 เดือน ได้รากพืชทดสอบที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายสำหรับใช้ในการทดลอง

3. การทดสอบแยกไส้เดือนฝอยออกจากราก

3.1 ตัดรากเป็นชิ้นเล็กๆ ทดสอบแช่รากพรรณไม้น้ำในสาร 3 ชนิด ได้แก่ น้ำเกลือ 0.5% แอลกอฮอล์ 5% คลอร็อกซ์ 0.5% เขย่าเป็นเวลา 5 นาที โดยมีการแช่รากในน้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบ

นำรากพรรณไม้น้ำที่ถูกไส้เดือนฝอย *R. similis* เข้าทำลาย จำนวน 5 กรัม/ซ้ำ ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ แช่ในสารต่างๆ ตามกรรมวิธี โดยใส่ในขวด flask ขนาด 250 มล. ปริมาตร 100 มล. ทำการเขย่าด้วยมือเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเทน้ำผ่านตะแกรงหยาบ 20 mesh ได้ชิ้นส่วนรากบนตะแกรงหยาบ นำน้ำที่ได้ผ่านตะแกรงละเอียดขนาด 400 mesh แยกได้ไส้เดือนฝอยที่อยู่บนตะแกรง เก็บน้ำและไส้เดือนฝอยบนตะแกรงละเอียดนำไปตรวจนับจำนวน สำหรับชิ้นส่วนรากที่อยู่บนตะแกรงหยาบนำไปปั่นละเอียดเพื่อแยกไส้เดือนฝอยที่เหลืออยู่ในรากเพื่อตรวจนับ โดยการกรองแยกเศษเนื้อเยื่อรากผ่านตะแกรงหยาบและตะแกรงละเอียดตามลำดับ

บันทึกผล นับจำนวนของไส้เดือนฝอย *R. similis* ที่แยกได้จากการเขย่าในสารแต่ละชนิดและไส้เดือนฝอยที่คงเหลือในรากปั่นละเอียด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ออกจากรากหลังการเขย่าด้วยมือ 5 นาที

3.2 ซอยรากให้ละเอียด ปฏิบัติเช่นเดียวกับวิธีการในข้อ 3.1 แต่ใช้กรรไกรซอยรากให้ละเอียดก่อนนำไปแช่สารและเขย่าด้วยมือในเวลา 5 นาทีเท่ากัน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา 1 ปี เริ่มตั้งแต่เดือนตุลาคม 2553 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2554

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเขย่ารากที่ตัดเป็นชิ้นๆ ด้วยมือเป็นเวลา 5 นาที ในสารชนิดต่างๆ พบว่าแอลกอฮอล์ 5 % สามารถแยกไส้เดือนฝอย *R. similis* ออกจากรากได้ดีที่สุด เท่ากับ 17.2 % รองลงมาคือน้ำเกลือ 0.5 % และคลอร็อกซ์ 0.5 % ไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกจากรากเท่ากับ 6.1 และ 5.9 % ตามลำดับ ในขณะที่การเขย่ารากในน้ำกลั่นที่เวลา 5 นาทีเท่ากัน พบไส้เดือนฝอยเพียง 1.9 % (ตารางที่ 1)

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารที่ใช้ทดสอบชนิดต่างๆ มีผลต่อการเคลื่อนที่ออกจากรากพืชของไส้เดือนฝอย *R. similis* โดยเฉพาะแอลกอฮอล์ซึ่งสามารถซึมเข้าเนื้อเยื่อรากและขับไล่ไส้เดือนฝอยให้เคลื่อนตัวออกมาได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับสารอื่นๆ แต่อย่างไรก็ตาม การแยกโดยตัดรากเป็นชิ้นเล็กๆ และแช่สารนำไปเขย่า 5 นาที ไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกมานอกรากมากที่สุดเพียง 17.2 %

หากทำการซอยรากให้ละเอียดก่อนนำไปแช่สารและเขย่าด้วยมือ 5 นาทีเช่นกัน พบว่าสามารถแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากได้เพิ่มขึ้นในทุกๆ สารที่แช่ โดยการเขย่ารากซอยละเอียดในแอลกอฮอล์ 5 % แยกไส้เดือนฝอยได้ 47.2 % รองลงมาคือน้ำเกลือ 0.5 % และคลอร็อกซ์ 0.5 % แยกได้ 40.7 และ 39.5 % ตามลำดับ ในขณะที่การแช่รากซอยละเอียดในน้ำกลั่นพบไส้เดือนฝอย 18.5 % (ตารางที่ 2)

ดังนั้น การซอยรากให้ละเอียด ช่วยให้สารชนิดต่างๆ ซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อได้ทั่วถึงกว่าการตัดรากเป็นชิ้นๆ และช่วยให้ไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกมาได้จำนวนมากเพียงพอที่จะตรวจสอบได้อย่างรวดเร็วภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ สามารถนำวิธีการดังกล่าวมาปรับใช้ตรวจรับรองพืชเพื่อการปลูกต่อในแหล่งผลิต โดยตรวจพบไส้เดือนฝอยเพียง 1 ตัวของการสุ่มตรวจพืชในบ่อปลูกหรือโรงเรือนปลูก จะไม่สามารถส่งออกได้ และบ่อปลูกหรือโรงเรือนนั้นๆ ต้องมีมาตรการป้องกันกำจัดให้หมดไป แล้วทำการตรวจสอบรากใหม่ จึงจะผ่านการตรวจออกใบรับรองเพื่อการส่งออกต่อไป

อย่างไรก็ตาม ยังมีสารอีกหลายชนิดที่สามารถดูดซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อรากเพื่อไปรบกวนหรือเป็นพิษต่อไส้เดือนฝอย *R. similis* ซึ่งอาศัยของในเซลล์ชั้นในของรากพืช ให้เคลื่อนที่ออกมาอย่างรวดเร็ว จึงควรทำการทดสอบสารกำจัดศัตรูพืชประเภทดูดซึม ได้แก่ ฟิโปรนิล อิมิดาโคลพริด และอะบาเม็กติน เพื่อเป็นทางเลือกใช้แยกไส้เดือนฝอยออกจากราก และสารในกลุ่มดังกล่าวจะใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนการป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยในกลุ่ม migratory endoparasite ต่อไป

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์ของไส้เดือนฝอย *Raopholus similis* ที่เคลื่อนที่ออกจากรากพรรณไม้น้ำ (*Anubias nana*) ที่ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปแช่ด้วยสารชนิดต่างๆ และเขย่าด้วยมือเป็นเวลา 5 นาที

ชนิดสารและความเข้มข้น	จำนวนไส้เดือนฝอย (ตัว) [1/]		ผลรวม	% ไส้เดือนฝอยหลังการเขย่า[2/]
	หลังการเขย่า	คงเหลือในราก		
น้ำเกลือ 0.5 %	24.4	381.4	405.8	6.0
แอลกอฮอล์ 5 %	73.4	352.8	426.2	17.2
คลอร็อกซ์ 0.5 %	21.2	335.6	356.8	5.9
น้ำกลั่น (Control)	4.2	216.4	220.6	1.9

[1/] ค่าเฉลี่ย 5 ซ้ำ

[2/] % ไส้เดือนฝอยหลังการเขย่า $= \frac{\text{จำนวนไส้เดือนฝอยหลังการเขย่า}}{\text{ผลรวมของไส้เดือนฝอย}} \times 100$

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ของไส้เดือนฝอย *Raopholus similis* ที่เคลื่อนที่ออกจากรากพรรณไม้น้ำ (*Anubias nana*) ซอยรากละเอียด นำไปแช่ด้วยสารชนิดต่างๆ และเขย่าด้วยมือเป็นเวลา 5 นาที

ชนิดสารและความเข้มข้น	จำนวนไส้เดือนฝอย (ตัว) [1/]		ผลรวม	% ไส้เดือนฝอยหลังการเขย่า[2/]
	หลังการเขย่า	คงเหลือในราก		
น้ำเกลือ 0.5 %	13.2	19.2	32.4	40.7
แอลกอฮอล์ 5 %	17.0	19.0	36.0	47.2
คลอร็อกซ์ 0.5 %	12.4	19.0	31.4	39.5
น้ำกลั่น (Control)	5.6	24.6	30.2	18.5

[1/] ค่าเฉลี่ย 5 ซ้ำ

[2/] % ไส้เดือนฝอยหลังการเขย่า = $\frac{\text{จำนวนไส้เดือนฝอยหลังการเขย่า}}{\text{ผลรวมของไส้เดือนฝอย}} \times 100$

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การย่อยรากให้ละเอียดและนำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 5 % เขย่าด้วยมือเป็นเวลา 5 นาที สามารถแยกไส้เดือนฝอย *R. similis* ออกจากรากพรรณไม้น้ำได้ดีที่สุด คิดเป็น 47.2 % ในขณะที่การตัดรากเป็นชิ้นๆ แยกได้เท่ากับ 17.2 % และการใช้น้ำเกลือ 0.5 % และคลอร็อกซ์ 0.5 % เป็นสารแช่ ช่วยให้ไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกจากรากได้เช่นกัน โดยการเขย่ารากย่อยละเอียดดีกว่ารากตัดเป็นชิ้นๆ คิดเป็น 40.7 และ 39.5 % ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำกลั่นแยกได้เพียง 18.5 %

เอกสารอ้างอิง

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2553. การจัดการศัตรูพืชในพรรณไม้น้ำเพื่อการส่งออก. *ใน* เอกสารประกอบการฝึกอบรมโครงการพัฒนาการผลิตสัตว์น้ำสวยงามและพรรณไม้น้ำส่งออก. วันที่ 17-18 มิถุนายน 2553. สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและพรรณไม้น้ำ สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรุงเทพฯ. 29 หน้า.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และ วราภรณ์ ประกอบ. 2552. การใช้คลื่นเสียงตรวจแยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชจากรากพรรณไม้น้ำเพื่อการส่งออก. *ใน* การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 9 จ. อุบลราชธานี.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และ วานิช คำพานิช 2551. การพัฒนาเครื่องมือและเทคนิคการแยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้าและส่งออก. ผลงานวิจัยฉบับเต็ม กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 26 หน้า.

Barker, K.R. 1985. Nematode extraction and bioassays, Pages 19-35. *In* : K.R. Barker, C.C. Carter, and J.N. Sasser, eds. An Advanced Treatise on *Meloidogyne*, Vol. II Methodology. North Carolina State University Graphics, Raleigh, NC.

Hooper, D.J. 1970. Extraction of nematodes from plant material, Pages 34-38. In : J.F. Southey, ed. Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. Ministry of Agriculture, Fishery, and Food Technology Bulletin 2, Her Majesty's Stationery Office, London.

Tangchitsomkid, N. 2012. A new technology of nematode extraction kit for field work. Pages. 109. *In* The International Conference on Tropical and Sub-tropical Plant Diseases 2012. February 7-10, 2012 The Empress Hotel, Chiang Mai.