

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. ชุดโครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนารักษาพืช
2. โครงการวิจัย : โครงการวิจัยอนุกรมวิธาน ชีววิทยาและเทคนิคการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
กิจกรรม : อนุกรมวิธาน ชีววิทยาและเทคนิคการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
กิจกรรมย่อย (ถ้ามี) : อนุกรมวิธาน ชีววิทยา นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : อนุกรมวิธานและความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย migratory endoparasitic nematodes
4. ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Taxonomy and pathogenicity of migratory endoparasitic nematodes
5. คณะผู้ดำเนินงาน
หัวหน้าการทดลอง : ไตรเดช ช่างทอง รพ. สอพ.
ผู้ร่วมงาน : อติยา สารพัฒน์ รพ. สอพ.
: มนตรี เอี่ยมวิม้งสา รพ. สอพ.
6. บทคัดย่อ : เก็บตัวอย่างดินบริเวณรากพืชในพื้นที่ปลูกพืชภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้ ตรวจสอบไส้เดือนฝอยสกุล *Pratylenchus* และเลี้ยงเพิ่มจำนวนจากตัวเต็มวัยเพศเมีย 1 ตัวบนรากข้าวโพดในสภาพปลอดเชื้อ ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยการคงสภาพไส้เดือนฝอย ทำสไลด์ถาวร จำแนกชนิดโดยใช้คู่มือการจัดจำแนก ซึ่งจำแนกชนิดได้เป็น *P. coffeae* *P. brachyurus* และ *P. zaei* ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. coffeae* ต่อกาแฟพันธุ์อาราบิก้า วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ใส่ไส้เดือนฝอยรากผล จำนวน 3,000 6,000 9,000 12,000 ตัวตามลำดับเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย พบว่าไส้เดือนฝอย *P. coffeae* ไอโซเลตที่ใช้ในการทดลองไม่สามารถขยายพันธุ์ได้ในกาแฟพันธุ์อาราบิก้า โดยทุกกรรมวิธีมีจำนวนไส้เดือนฝอยเมื่อสิ้นสุดการทดลองอยู่ในระดับต่ำ อย่างไรก็ตามต้นกาแฟที่ใส่ไส้เดือนฝอยมีลักษณะสีใบซีด ขอบใบสีน้ำตาล และรากบางส่วนมีสีน้ำตาลเมื่อเทียบกับต้นกาแฟที่ไม่ได้ใส่ไส้เดือนฝอย การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. brachyurus* ต่อถั่วเหลืองพันธุ์นครสวรรค์ 1 และพันธุ์เชียงใหม่ 60 วางแผนการทดลองแบบ CRD 5 ซ้ำ 5 กรรมวิธี

โดยใส่ไส้เดือนฝอยจำนวน 500 1,000 3,000 5,000 ตัวต่อกระถางตามลำดับ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย พบว่าในถั่วเหลืองพันธุ์นครสวรรค์ 1 น้ำหนักแห้งของต้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ปริมาณไส้เดือนฝอยเมื่อสิ้นสุดการทดลองแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่มีไส้เดือนฝอยเริ่มต้น 3,000 และ 5,000 ตัวต่อกระถางมีจำนวนประชากรไส้เดือนฝอยเมื่อสิ้นสุดการทดลองมากกว่ากรรมวิธีที่มีไส้เดือนฝอยเมื่อเริ่มทดลอง 500 ตัวต่อกระถาง อัตราการขยายพันธุ์ในแต่ละกรรมวิธีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 น้ำหนักแห้งของต้นในกรรมวิธีที่ไม่ใส่ไส้เดือนฝอยน้อยกว่ากรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ น้ำหนักแห้งของต้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยจำนวนประชากรไส้เดือนฝอยเมื่อสิ้นสุดการทดลองในกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กรรมวิธีที่มีไส้เดือนฝอยเริ่มต้น 500 ตัวต่อกระถางมีอัตราการขยายพันธุ์สูงที่สุด การทดลองความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. zeae* ต่อข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 1 และข้าวโพดหวาน วางแผนการทดลองแบบ CRD 5 ซ้ำ 5 กรรมวิธี โดยใส่ไส้เดือนฝอยจำนวน 1,000 3,000 6,000 และ 9,000 ตัวต่อกระถางตามลำดับ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย พบว่าในข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 1 น้ำหนักต้นและน้ำหนักรากไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกรรมวิธีที่ใส่และไม่ใส่ไส้เดือนฝอย ปริมาณไส้เดือนฝอยเมื่อสิ้นสุดการทดลองในกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเริ่มต้น 6,000 ตัวต่อกระถาง มากกว่ากรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเริ่มต้น 1,000 ตัวต่อกระถางอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อัตราการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในข้าวโพดหวานผลการทดลองพบว่าน้ำหนักต้นในกรรมวิธีที่ใส่และไม่ใส่ไส้เดือนฝอยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่น้ำหนักรากในกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยต่ำกว่าน้ำหนักรากในกรรมวิธีที่ไม่ใส่ไส้เดือนฝอยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อัตราการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอย *P. zeae* ในข้าวโพดหวานเป็นศูนย์ทุกกรรมวิธี แสดงว่าข้าวโพดหวานเป็นพืชอาศัยที่ไม่ดีของไส้เดือนฝอย *P. zeae* ไอโซเลตที่ใช้ในการทดลอง อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้ปริมาณไส้เดือนฝอยเมื่อเริ่มทดลองเพียงพอที่จะทำลายรากของข้าวโพดหวานจนเกิดความเสียหายได้

: Rhizosphere soil samples were collected from fields in northern central and southern part of Thailand. Soil samples were extracted and examined for the lesion nematode *Pratylenchus* spp. The nematodes were reared on excised corn root culture from single female. Morphological study was carried out and the nematodes were identified as *P. coffeae* *P. brachyurus* and *P. zeae*. The pathogenicity test of *P. coffeae* on *Coffeae arabica* was carried out. Plants were inoculated with 3000 6000 9,000 and 12,000 nematodes respectively and a non-

inoculated treatment was used as control. *P. coffeae* population used in this experiment could not reproduce on *C. arabica*. The nematode population in all treatments was low. However, inoculated plants showed chlorosis brown lesion at the edge of the leaves and brown lesion in the root. Pathogenicity test of *P. brachyurus* on *Glycine max* cv. Chiang Mai 60 and *G. max* cv. Nakhon Sawan 1 were carried out. Plants were inoculated with 500 1,000 3,000 and 5,000 nematodes respectively and the non-inoculated treatment were used as control. In *G. max* cv. Nakhon Sawan 1 plant weight was not significantly different in all treatments. The final nematode population was significantly different. The final nematode population in plants inoculated with 3,000 and 5,000 nematodes/plant was higher than the final population of plants inoculated with 500 nematodes/plant. The reproductive factor was not significantly different. In *G. max* cv. Chiang Mai 60 plant weight was significantly lower in non-inoculated treatment compared to inoculated treatment. The plant dry weight and the final nematode population were not significantly different among inoculated treatments. Plants inoculated with 500 nematodes/plant had the highest reproduction factor. The pathogenicity test of *P. zae* on *Zea mays* cv. Suwan 1 and sweet corn was carried out. Each plant was inoculated with 1,000 3,000 6,000 and 9,000 nematode/plant respectively and the non-inoculated treatment were used as control. In *Zea mays* cv. Suwan 1, Plant and root weight were not significantly different in inoculated treatments and the non-inoculated control. The final population of plants inoculated with 6,000 nematodes was higher than plants inoculated with 1,000 nematodes. The nematode reproduction factor was not significantly different. In sweet corn, plant weight was not different between inoculated treatments and non-inoculated control. Root weight in inoculated treatments was significantly lower than non-inoculated control. The nematode reproduction factor was 0 in all inoculated treatments. Therefore, sweet corn was not a good host for *P. zae* used in this experiment. However, the amount of inoculums in the beginning of the experiment could damage the roots.

7. คำนำ : Migratory endoparasitic nematodes เป็นไส้เดือนฝอยชนิดที่เข้าสู่รากพืช ดูดกินอาหาร และเคลื่อนที่ภายในรากพืช ไส้เดือนฝอยกลุ่มนี้ไม่ชักนำให้เซลล์รากพืชเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นแหล่งอาหาร (Feeding Site) เหมือนกับไส้เดือนฝอยรากปม (Root-knot Nematodes) หรือไส้เดือนฝอยซีสต์ (Cyst Nematodes) แต่จะเข้าทำลายเนื้อเยื่อของรากในส่วน Cortex Parenchyma เป็นหลัก โดยดูดกินอาหารจากเซลล์และเคลื่อนที่ภายในรากพืช การเคลื่อนที่และดูดกินอาหารภายในรากของไส้เดือนฝอยทำให้รากเป็นโพรง เกิดแผลสีน้ำตาล ในบางกรณีรากอาจมีเชื้อสาเหตุโรคชนิดอื่นๆ เข้าทำลายซ้ำเติมได้ ต้นพืชที่ระบบรากถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายจะมีอาการแคระแกรน ต้นโทรม ใบเหลือง ผลผลิตลดลง *Pratylenchus* และ *Radopholus* เป็นไส้เดือนฝอยสกุลที่สำคัญของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชกลุ่มนี้ 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* และ *P. vulnus* เป็นศัตรูของกาแฟ (Campos and Villain, 2005) *P. penetrans* ทำลายพืชได้มากถึง 400 ชนิด (Evans et al., 1993) ไส้เดือนฝอยรากโพรง *Radopholus similis* สามารถทำลายพืชได้มากกว่า 250 ชนิด (O'Bannon, 1977) ไส้เดือนฝอย *R. similis* เริ่มต้นเพียง 10 ตัว สามารถสร้างความเสียหายแก่ต้นหน้าวัวได้ (Sipes and Lichty, 2002) งานวิจัยนี้เป็นการรวบรวมไส้เดือนฝอยรากแผลสกุล *Pratylenchus* เป็นหลัก ปัจจุบันได้มีการจำแนกไส้เดือนฝอยรากแผลแล้วมากกว่า 60 ชนิด ในประเทศไทยมีรายงานการพบไส้เดือนฝอยรากแผล *P. brachyurus*, *P. coffeae*, *P. zae*, *P. vulnus*, *P. minyus*, *P. delattrei*, *P. nongkiensis*, *P. sudanensis*, *P. thornei* และ *Pratylenchus* spp. ในพื้นที่ปลูกพืช (Chunram, 1972; Pliansinchai and Boonduang, 1978; Pliansinchai and Boonduang, 1986) ข้อมูลของไส้เดือนฝอยรากแผลในประเทศไทยค่อนข้างเก่า ปัจจุบันการจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยรากแผลได้มีการเปลี่ยนแปลง และมีชนิดของไส้เดือนฝอยรากแผลเพิ่มขึ้นมาก การรวบรวม จำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยกลุ่มนี้ รวมทั้งการศึกษาถึงความสามารถในการทำให้เกิดโรคต่อพืช จะเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อใช้ในการจัดการไส้เดือนฝอยในสกุลนี้ต่อไป

8. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

อุปกรณ์เก็บตัวอย่างดิน อุปกรณ์สำหรับแยกไส้เดือนฝอยออกจากดินและส่วนของพืช อุปกรณ์สำหรับปลูกพืช กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงชนิดหัวกลับ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ คอมพิวเตอร์และอุปกรณ์ถ่ายภาพ เครื่องปั่นเหวี่ยง สไลด์ ถ้วยนับ

ตัวอย่าง สไลด์นับเม็ดเลือด (Haemocytometer) สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช สารกำจัดแมลง
ปุ๋ยเคมี

- วิธีการ

การเก็บตัวอย่างดิน

เก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืชในจังหวัดต่างๆ โดยใช้ท่อเก็บตัวอย่างดินขนาด
เส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 นิ้ว เก็บดินลึกประมาณ 20 เซนติเมตร โดยสุ่มเก็บจำนวน 20 จุดต่อ 1 ตัวอย่าง
บันทึกวันที่เก็บตัวอย่าง ชนิดพืช บันทึกพิกัดทางภูมิศาสตร์

การแยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดิน การเลี้ยงเพิ่มจำนวน การคงสภาพ การทำสไลด์ถาวร
และจำแนกชนิดไส้เดือนฝอย

ไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่างดินโดยการกวนตัวอย่างดินในน้ำ ทิ้งไว้ 3 นาที และกรองน้ำ
ส่วนบนผ่านตะแกรงโลหะที่มีขนาดช่อง 850 ไมโครเมตร ซึ่งวางอยู่บนตะแกรงที่มีขนาดช่อง 38
ไมโครเมตร ล้างตัวอย่างดินที่ค้างอยู่บนตะแกรงอันล่าง และนำตัวอย่างไส้ลงบนกระดาษกรอง ที่วาง
อยู่บนตะแกรงในลอน วางลงในจานรองที่มีน้ำสะอาด (Decanting and Sieving with Baermann's
Tray Technique) ทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง เก็บน้ำในจานรองไปตรวจหาไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์
เตรียมรากข้าวโพดในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช Gamborg's B5 ในจานเลี้ยงเชื้อเพื่อใช้เลี้ยง
ไส้เดือนฝอย นำไส้เดือนฝอยที่ได้ไปฆ่าเชื้อที่ผิว โดยการแช่ตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยที่มีไข่ใส่
ลงใน streptomycin sulfate ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทิ้งไว้ 3 ชั่วโมง จากนั้นใช้เข็มเข็ม
ที่สะอาดแช่ตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยที่มีไข่ ใส่ลงบนรากข้าวโพดที่เตรียมไว้ จำนวน 1 ตัวต่อ
จานเลี้ยงเชื้อ เมื่อได้ประชากรไส้เดือนฝอยที่เลี้ยงจากตัวเต็มวัย 1 ตัวแล้วนำไส้เดือนฝอยที่เลี้ยงได้ไป
ทำสไลด์ถาวร เพื่อใช้ในการจำแนกชนิดไส้เดือนฝอย ทำการคงสภาพไส้เดือนฝอยและทำสไลด์ถาวร
โดยวิธีของ Ryss (2003) จำแนกชนิดไส้เดือนฝอย *Pratylenchus* spp. โดยใช้คู่มือการจัดจำแนก
ของ Castillo, P., and N. Vovlas (2007)

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. coffeae* ต่อกาแฟพันธุ์อา
ราบิก้า

ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. coffeae* ต่อกาแฟพันธุ์อารา
บิก้า โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ปลูกต้นกล้ากาแฟอายุ 5 เดือน ลงใน
กระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 นิ้ว บรรจุดินอบฆ่าเชื้อ ใส่ไส้เดือนฝอยลงในกระถางตาม
กรรมวิธีทดลองดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย

กรรมวิธีที่ 2 ใส่ไส้เดือนฝอย 3,000 ตัว/กระถาง

กรรมวิธีที่ 3 ใส่ไส้เดือนฝอย 6,000 ตัว/กระถาง

กรรมวิธีที่ 4 ใส่ไส้เดือนฝอย 9,000 ตัว/กระถาง

กรรมวิธีที่ 5 ใส่ไส้เดือนฝอย 12,000 ตัว/กระถาง

ตรวจผลการทดลอง 6 เดือนหลังจากใส่ไส้เดือนฝอย โดยวัดน้ำหนักต้น น้ำหนักราก จำนวนไส้เดือนฝอยในดินและราก แยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่างดินโดยวิธี Decanting and Sieving with Baermann's Tray Technique และแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากพืชโดยใช้ Mistifier ตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. brachyurus* ต่อถั่วเหลือง พันธุ์นครสวรรค์1 และพันธุ์เชียงใหม่ 60

ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. brachyurus* ต่อถั่วเหลือง พันธุ์นครสวรรค์1 และพันธุ์เชียงใหม่ 60 โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD 5 ซ้ำ 5 กรรมวิธี เพาะเมล็ดถั่วเหลืองลงในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 นิ้ว บรรจุดินอบฆ่าเชื้อ เมื่อต้นกล้าอายุ 14 วันใส่ไส้เดือนฝอยลงในกระถางตามกรรมวิธีทดลองดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย

กรรมวิธีที่ 2 ใส่ไส้เดือนฝอย 500 ตัว/กระถาง

กรรมวิธีที่ 3 ใส่ไส้เดือนฝอย 1,000 ตัว/กระถาง

กรรมวิธีที่ 4 ใส่ไส้เดือนฝอย 3,000 ตัว/กระถาง

กรรมวิธีที่ 5 ใส่ไส้เดือนฝอย 5,000 ตัว/กระถาง

ตรวจผลการทดลอง 3 เดือนหลังจากใส่ไส้เดือนฝอย โดยชั่งน้ำหนักแห้งต้น จำนวนไส้เดือนฝอยในดินและราก แยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่างดินโดยวิธี Decanting and Sieving with Baermann's Tray Technique และแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากพืชโดยใช้ Mistifier ตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. zeae* ต่อข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 1 และข้าวโพดหวาน

วางแผนการทดลองแบบ CRD 5 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคในข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ1 และข้าวโพดหวาน ปลุกพืชทดสอบลงในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 นิ้ว บรรจุดินอบฆ่าเชื้อ ใส่ไส้เดือนฝอยลงในกระถางตามกรรมวิธีทดลองดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย

กรรมวิธีที่ 2 ใส่ไส้เดือนฝอย 1,000 ตัว/กระถาง

กรรมวิธีที่ 3 ใส่ไส้เดือนฝอย 3,000 ตัว/กระถาง

กรรมวิธีที่ 4 ใส่ไส้เดือนฝอย 6,000 ตัว/กระถาง

กรรมวิธีที่ 5 ใส่ไส้เดือนฝอย 9,000 ตัว/กระถาง

ตรวจผลการทดลองเมื่อพืชอายุ 100 วัน โดยวัดน้ำหนักต้น น้ำหนักราก จำนวนไส้เดือนฝอยในดินและราก แยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่างดินโดยวิธี Decanting and Sieving with Baermann's Tray Technique และแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากพืชโดยใช้ Mistifier ตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์

วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธี Analysis of variance แปลงข้อมูลจำนวนไส้เดือนฝอยให้อยู่ในรูป $\log(x+1)$ ก่อนวิเคราะห์ข้อมูล

- เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2558

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย

9. ผลการทดลองและวิจารณ์ (เป็นส่วนสำคัญของการทำงานวิจัย)

เก็บตัวอย่างดิน ตรวจหาไส้เดือนฝอย *Pratylenchus* และเลี้ยงบนรากข้าวโพดในสภาพปลอดเชื้อ แยกไส้เดือนฝอยจากรากข้าวโพด ทำการคงสภาพไส้เดือนฝอยและทำสไลด์ถาวร จำแนกชนิดได้เป็น *P. coffeae* 20 ไอโซเลต *P. brachyurus* 1 ไอโซเลต และ *P. zae* 2 ไอโซเลต (ตารางที่ 1)

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. coffeae* ต่อกาแฟพันธุ์อาราบิก้าพบว่าไส้เดือนฝอย *P. coffeae* ไอโซเลตที่ใช้ทดสอบ ไม่สามารถขยายพันธุ์ในกาแฟพันธุ์อาราบิก้าได้โดยไม่พบประชากรไส้เดือนฝอยในดินในทุกกรรมวิธี และพบประชากรไส้เดือนฝอยในรากหนัก 5 กรัมเฉลี่ย 8 5 17 และ 12 ตัว ในกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเมื่อเริ่มทดลอง 3,000 6,000 9,000 และ 12,000 ตัวตามลำดับ และไม่พบความแตกต่างของน้ำหนักต้นในทุกกรรมวิธี (ตารางที่ 1) อย่างไรก็ตามพบว่าต้นกาแฟที่ใส่ไส้เดือนฝอยรากแผล มีสีใบซีด ขอบใบไหม้ และรากมีสีน้ำตาล เมื่อเทียบกับต้นที่ไม่ได้ใส่ไส้เดือนฝอย (ภาพที่ 1) ซึ่งอาจเกิดจากการเข้าทำลายรากของไส้เดือนฝอยเมื่อเริ่มทดลองไส้เดือนฝอย *P. coffeae* ที่ใช้ในการทดลองเป็นไอโซเลตที่แยกได้จากกล้วย จึงอาจทำให้ไม่สามารถขยายพันธุ์และทำให้เกิดโรคได้ในกาแฟ

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. brachyurus* ต่อถั่วเหลืองพันธุ์นครสวรรค์ 1 พบว่าน้ำหนักแห้งของต้นไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ปริมาณไส้เดือนฝอยเมื่อสิ้นสุดการทดลองแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่มีไส้เดือนฝอยเริ่มต้น 3,000 และ 5,000 ตัวต่อกระถางมีจำนวนประชากรไส้เดือนฝอยเมื่อสิ้นสุดการทดลองมากกว่ากรรมวิธีที่มีไส้เดือน

ฝอยเมื่อเริ่มทดลอง 500 ตัวต่อกระถาง อัตราการขยายพันธุ์ในแต่ละกรรมวิธีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3)

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. brachyurus* ต่อถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 พบว่าน้ำหนักแห้งของต้นในกรรมวิธีที่ไม่ใส่ไส้เดือนฝอยน้อยกว่ากรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ น้ำหนักแห้งของต้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอย จำนวนประชากรไส้เดือนฝอยเมื่อสิ้นสุดการทดลองในกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กรรมวิธีที่มีไส้เดือนฝอยเริ่มต้น 500 ตัวต่อกระถางมีอัตราการขยายพันธุ์สูงสุด (ตาราง 4)

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. zae* ต่อข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 1 พบว่าน้ำหนักต้นและน้ำหนักรากไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกรรมวิธีที่ใส่และไม่ใส่ไส้เดือนฝอย ปริมาณไส้เดือนฝอยเมื่อสิ้นสุดการทดลองในกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเริ่มต้น 6,000 ตัวต่อกระถาง มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเริ่มต้น 1,000 ตัวต่อกระถาง อัตราการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตาราง 5)

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. zae* ต่อข้าวโพดหวาน พบว่าน้ำหนักต้นของข้าวโพดหวาน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในกรรมวิธีที่ใส่และไม่ใส่ไส้เดือนฝอย แต่น้ำหนักรากในกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยจะต่ำกว่าน้ำหนักรากในกรรมวิธีที่ไม่ใส่ไส้เดือนฝอยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามอัตราการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอย *P. zae* ที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นศูนย์ในทุกกรรมวิธี (ตาราง 6) ซึ่งแสดงว่าข้าวโพดหวานเป็นพืชอาศัยที่ไม่ดีของไส้เดือนฝอย *P. zae* ประชากรที่ใช้ในการทดลอง อย่างไรก็ตามไส้เดือนฝอย *P. zae* ที่ใช้ในการทดลอง สามารถทำลายรากของข้าวโพดหวานให้เกิดความเสียหายได้

10. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การเก็บตัวอย่างดิน ตรวจหา จำนวนชนิด และทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคในพืชชนิดต่างๆ คือ กาแฟ ถั่วเหลือง และข้าวโพด ในสภาพเรือนทดลอง ระหว่างปี 2554 – 2558 พบไส้เดือนฝอย *P. coffeae* *P. brachyurus* และ *P. zae* จากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคในพืชชนิดต่างๆ พบว่าไส้เดือนฝอยรากพลั่วรวบรวมได้ ส่วนมากเป็นไอโซเลตที่ทำให้เกิดโรคไม่รุนแรงหรือบางครั้งไม่สามารถทำให้พืชทดสอบเกิดโรคและเกิดความเสียหายได้

11. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ :-

12. คำขอบคุณ (ถ้ามี) :-

13. 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, 2nd edition. M. Luc, R.A. Sikora and J. Bridge, eds. CAB International.
- 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. Quénehervé, 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.
- Sipes, B.S., and J.S. Lichty. 2002. *Radopholus similis* damage to *Anthurium andraeanum*. Nematropica 32:77-81.

ภาคผนวก : -

ตารางที่ 1 ชนิดไส้เดือนฝอยรากแผลที่จำแนกได้จากตัวอย่างดินจากพืชและสถานที่ต่างๆ

ลำดับ	ชื่อตัวอย่าง	พืช	สถานที่เก็บตัวอย่าง	การจำแนกชนิด
1	P200	กล้วย	อ.สวี่ จ.ชุมพร	<i>P. coffeae</i>
2	P263	กล้วย	อ.แมริม เชียงใหม่	<i>P. coffeae</i>
3	P171	ข้าวโพด	อ.อุ้มทอง จ.สุพรรณบุรี	<i>P. zae</i>
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.สวี่ 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	<i>P. zae</i>
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>

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. coffeae* ต่อกาแฟพันธุ์อาราบิก้า แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักต้น น้ำหนักราก จำนวนไส้เดือนฝอยทั้งหมดในดิน และจำนวนไส้เดือนฝอยต่อราก 5 กรัม

กรรมวิธี	น้ำหนักต้น	น้ำหนักราก	จำนวนไส้เดือน ฝอยในดิน	จำนวนไส้เดือน ฝอยในราก 5 กรัม
ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย	40.23	33.41	0	0
3000 ตัว	40.74	27.33	0	8
6000 ตัว	40.37	28.71	0	5
9000 ตัว	36.50	30.81	0	17
12000 ตัว	42.14	31.04	0	12
F - test	ns	ns	-	ns
C.V. (%)	13.15	30.55	-	90.32

ภาพที่ 1 ลักษณะใบของต้นกาแฟพันธุ์อาราบิก้า กระถางที่ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย (ก) และใส่ไส้เดือนฝอย (ข)
กระถางที่ใส่ไส้เดือนฝอยใบมีสีซีด และขอบใบไหม้ และลักษณะรากของกาแฟกระถางที่ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย (ค)
และใส่ไส้เดือนฝอย (ง) ในกระถางที่ใส่ไส้เดือนฝอยรากบางส่วนมีสีน้ำตาล



ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. brachyurus* ต่อถั่วเหลือง พันธุ์นครสวรรค์ 1 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต้น ปริมาณไส้เดือนฝอยในดิน ปริมาณไส้เดือนฝอยในราก ปริมาณไส้เดือนฝอยหลังปลูกทั้งหมด (*Pf*) อัตราการขยายพันธุ์ (*Pf/Pi*)

กรรมวิธี	น้ำหนักแห้ง ต้น (กรัม)	ปริมาณไส้เดือน ฝอยในดิน	ปริมาณไส้เดือน ฝอยในราก	ปริมาณไส้เดือนฝอย หลังปลูกทั้งหมด (<i>Pf</i>)	อัตราการ ขยายพันธุ์ (<i>Pf/Pi</i>)
0 ตัว	1.7	0 c	0 c	0 c	-
500 ตัว	2.3	51 b	1,916 b	1,967 b	3.9
1000 ตัว	1.7	198 a	10,240 ab	8,390 ab	8.4
3000 ตัว	1.9	314 a	11,450 a	11,764 a	3.9
5000 ตัว	2.2	357 a	19,080 ab	19,437 a	3.9
F - test	ns	**	**	**	ns
C.V. (%)	35.61	22.59	19.21	25.65	21.96

† ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ns = ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. brachyurus* ต่อถั่วเหลือง พันธุ์เชียงใหม่ 60 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต้น ปริมาณไส้เดือนฝอยในดิน ปริมาณไส้เดือนฝอยในราก ปริมาณไส้เดือนฝอยหลังปลูกทั้งหมด (*Pf*) อัตราการขยายพันธุ์ (*Pf/Pi*)

กรรมวิธี	น้ำหนักแห้ง ต้น (กรัม)	ปริมาณไส้เดือน ฝอยในดิน [†]	ปริมาณไส้เดือน ฝอยในราก [†]	ปริมาณไส้เดือนฝอย หลังปลูกทั้งหมด (<i>Pf</i>) [†]	อัตราการ ขยายพันธุ์ (<i>Pf/Pi</i>)
0 ตัว	1.0 b	0 c	0 b	0 b	-
500 ตัว	1.7 a	113 b	11,916 a	12,029 a	24.0
1000 ตัว	1.1 a	317 ab	7,070 a	7,387 a	7.4
3000 ตัว	1.8 a	128 ab	21,522 a	21,650 a	7.2
5000 ตัว	2.0 a	495 a	15,070 a	15,565 a	3.1
F - test	*	**	**	**	**
C.V. (%)	38.53	41.32	23.88	23.58	24.11

† ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ns = ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. zeae* ต่อข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 1 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักต้น น้ำหนักราก ปริมาณไส้เดือนฝอยในดิน ปริมาณไส้เดือนฝอยในราก ปริมาณไส้เดือนฝอยหลังปลูกทั้งหมด (*Pf*) และอัตราการขยายพันธุ์ (*Pf/Pi*)

กรรมวิธี	น้ำหนักต้น (กรัม)	น้ำหนักราก (กรัม)	ปริมาณไส้เดือน ฝอยในดิน	ปริมาณไส้เดือน ฝอยในราก	ปริมาณไส้เดือนฝอย หลังปลูกทั้งหมด (<i>Pf</i>)	อัตราการ ขยายพันธุ์ (<i>Pf/Pi</i>)
0 ตัว	61.3	14.4	0 c	0 c	0 c	-
1000 ตัว	62.1	10.8	319 b	11,855 b	12,174 b	12.2
3000 ตัว	63.9	11.5	2,648 a	28,510 ab	31,158 ab	10.4
6000 ตัว	59.1	10.2	2,168 a	56,669 a	58,838 a	9.8
9000 ตัว	57.9	14.9	5,064 a	16,945 ab	22,009 ab	2.4
F - test	ns	ns	**	**	**	ns
C.V. (%)	10.40	24.98	19.06	30.75	25.30	47.25

† ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ns = ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *P. zeae* ต่อข้าวโพดหวาน แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักต้น น้ำหนักราก ปริมาณไส้เดือนฝอยในดิน ปริมาณไส้เดือนฝอยในราก ปริมาณไส้เดือนฝอยหลังปลูกทั้งหมด (*Pf*) และอัตราการขยายพันธุ์ (*Pf/Pi*)

กรรมวิธี	น้ำหนักต้น (กรัม)	น้ำหนักราก (กรัม)	ปริมาณไส้เดือน ฝอยในดิน [†]	ปริมาณไส้เดือน ฝอยในราก [†]	ปริมาณไส้เดือนฝอย หลังปลูกทั้งหมด (<i>Pf</i>) [†]	อัตราการ ขยายพันธุ์ (<i>Pf/Pi</i>)
0 ตัว	51.0	16.1 a	0 d	0 b	0 c	-
1000 ตัว	47.8	10.2 b	746 c	246 a	992 b	0
3000 ตัว	48.6	11.1 b	2,233 a	361 a	2,594 a	0
6000 ตัว	42.5	9.7 b	953 bc	326 a	1,279 b	0
9000 ตัว	46.8	10.0 b	1,620 ab	947 a	2,567 a	0
F - test	ns	*	**	**	**	-
C.V. (%)	98.28	90.12	13.42	54.63	11.53	-

† ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ns = ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

