KHON KAEN AGR. J. 48 (6): 1374-1383 (2020)./doi:10.14456/kaj.2020.120.

การศึกษาประชากรไส้เดือนฝอยศัตรูข้าวและระดับรุนแรงของโรคในพื้นที่ปลูกข้าวจังหวัดพระนครศรีอยุธยา

Population of rice disease caused by rice nematodes in Phra Nakhon Si Ayutthaya, Thailand

อมรศรี ขุนอินทร์[1]*

Amornsri Khun-in[1]*

บทคัดย่อ: ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* sp. เป็นศัตรูพืชที่สำคัญของข้าวไร่และข้าวนาน้ำฝนมีการแพร่ระบาดในทุกพื้นที่ของประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งภาคกลาง ซึ่งมีพื้นที่การปลูกข้าวสูงเป็นอันดับต้นๆของประเทศ งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาไส้เดือนฝอยในแหล่งพื้นที่ปลูกข้าวของจังหวัดพระนครศรีอยุธยา โดยเก็บตัวอย่างรากและดินจำนวนทั้งสิ้น 40 ตัวอย่างมาแยกไส้เดือนฝอยด้วยเทคนิค Christie and Perry และจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยการทำ perineal pattern สามารถจำแนกไส้เดือนฝอยได้เป็น 3 สกุล คือ *Meloidogyne* sp., *Hirschmanniella* sp. และ *Helicotylenchus* sp. ตามลำดับ จากนั้นทดสอบความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคกับข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี พบว่าไส้เดือนฝอยสกุล *Meloidogyne* sp. สามารถก่อให้เกิดอาการรากปมได้ในระดับสูง (ระดับ 5) และมีรากปมที่แตกต่างกัน เมื่อทำการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและจำแนกสายพันธุ์ พบว่าเป็นไส้เดือนฝอย 2 ชนิด คือ *M. graminicola* มีการสร้างปมบริเวณปลายรากทำให้ปลายรากม้วนงอ และ *M. incognita* การสร้างปมบริเวณทุกส่วนของราก จากข้อมูลดังกล่าวทำให้ทราบถึงสกุลและชนิดของไส้เดือนฝอยที่เข้าทำลายข้าว รวมไปถึงลักษณะอาการที่แตกต่างกัน เพื่อจะนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ประโยชน์ในการศึกษาและหาแนวทางป้องกันได้ต่อไป

คำสำคัญ: ไส้เดือนฝอยศัตรูข้าว, *Meloidogyne* sp., *Hirschmanniella* sp. และ *Helicotylenchus* sp.

ABSTRACT: Root knot nematode, *Meloidogyne* sp. is an important pest of upland and lower land in Thailand, especially center area that is highly yield. The aim of this research was studied and isolated rice nematodes in Phra Nakhon Si Ayutthaya by using Christie and Perry technique. Morphological characteristic using perineal pattern was identified rice nematodes into 3 genus; *Meloidogyne* sp., *Hirschmanniella* sp. and *Helicotylenchus* sp., respectively. Pathogenicity test on rice cv. Supanburi indicated that *Meloidogyne* sp. infected root at highly level (level 5) and differing symptoms. Identification of *Meloidogyne* sp. showed that 2 species as *M. graminicola* infected root in the end of root differing with *M. incognita*. This research was identified root nematode and different symptom for beneficial study and plant protection.

Keywords: rice nematodes, *Meloidogyne* sp., *Hirschmanniella* sp. and *Helicotylenchus* sp.

Reecived May 19, 2020

Accepted October 12, 2020

[1] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

[1] Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

*Corresponding author: agramsk@ku.ac.th

แก่นเกษตร 48 ฉบับที่ 6: 1374-1383 (2563)./doi:10.14456/kaj.2020.120.

บทนำ

จังหวัดพระนครศรีอยุธยาเป็นแหล่งปลูกข้าวที่สำคัญของภาคกลางโดยมีพื้นที่ปลูกเป็นอันดับ 2 รองจากจังหวัดสุพรรณบุรี มีผลิตข้าวรวม 518,775 ตันต่อพื้นที่ผลิต 788,275 ไร่ (Foreign Agricultural Service, 2019) ในปี พ.ศ. 2505 พบการระบาดของไส้เดือนฝอยรากปม *M. exigua* ในข้าวนาน้ำลึก เขตอำเภอบางไทร จังหวัดพระนครศรีอยุธยา (อรุณ, 2505) ต่อมารายงานของสืบศักดิ์และคณะ (2521) มีการตรวจพบไส้เดือนฝอยรากปม *M. incogita* สายพันธุ์รุนแรง (aggressive isolate) ในสภาพดินเหนียวที่ราบลุ่มภาคกลาง โดย *M. incognita* สามารถระบาดทำลายข้าวในภาคตะวันออกเฉียงเหนืออย่างกว้างขวาง และ จากการศึกษาส่วนใหญ่ พบว่าพันธุ์ข้าวเกือบทุกพันธุ์อ่อนแอต่อไส้เดือนฝอย *M. incognita* (สมชาย, 2549) อีกทั้งรายงานของ Ruanpanun and Khun-in (2015) พบการระบาดของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในข้าวไร่ ที่ อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร ในข้าวพันธุ์ดอกขาม ดอกพะยอม เล็บนก และนางดำ การเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยส่งผลให้สูญเสียผลผลิตข้าวถึง 100%

การเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย พบว่าหลังจากไข่ฟักตัวเป็นตัวอ่อนระยะที่ 2 ประมาณ 24 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยจะเข้าไปอยู่ภายในรากข้าวได้และหลังจากฟักเป็นตัวอ่อนระยะที่ 2 จะเจริญครบวงจรชีวิตภายใน 20 วัน และทำให้ผลผลิตลดลง 20-80% (Arayarungsarit, 1987) รากข้าวที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายระบบรากจะมีลักษณะอาการเป็นปุ่มปม เนื่องจากเซลล์พืชมีการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ มีการแบ่งเซลล์มากขึ้นและขยายรวมกันเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ เรียกว่า giant cell เป็นผลให้ปลายรากอ่อนไม่แตกแขนง กุดสั้น ปลายรากม้วนงอ หรือมีลักษณะรากบวมเป็นปุ่มปม หรือมีรูปร่างกลมรีเป็นปมเรียงต่อกันเหมือนลูกโซ่ และพบตัวเต็มวัยเพศเมียฝังตัวประมาณ 5-10 ตัว ภายในราก ปิดทางลำเลียงน้ำและอาหารจากรากที่ส่งไปเลี้ยงลำต้นส่วนบน ส่งผลให้ต้นข้าวเตี้ยแคระแกรน แตกกอน้อยหรือไม่แตกกอ ใบเหลือง ผิวใบด้าน ขอบใบไหม้ ความเสียหายในพืชจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปัจจัยหลักที่มีผลต่อการเกิดโรคได้แก่ ชนิดและปริมาณไส้เดือนฝอย ความอ่อนแอของพันธุ์ข้าว ปริมาณน้ำในนา ประเภทของการทำงานและปริมาณของไส้เดือนฝอย กล่าวคือถ้าตัวไส้เดือนฝอยเข้าไปอาศัยอยู่ในระบบรากได้ก่อนน้ำท่วมขัง ความเสียหายย่อมมีมากเมื่อเข้าฤดูฝน แต่ถ้าเข้าไปอาศัยอยู่ในรากไม่ทันกับเวลาที่น้ำมา ประชากรส่วนใหญ่ของไส้เดือนฝอยที่อยู่ในดินก็ต้องตายไป จุดสำคัญคือเมื่อไส้เดือนฝอยได้เข้าไปอาศัยดูดกินอยู่ในรากแล้ว ปริมาณน้ำในนาไม่ว่ามากหรือน้อยจะไม่มีผลต่อการมีชีวิตอยู่ของศัตรูพืชชนิดนี้ได้เลย (สมชาย, 2549) ปริมาณไส้เดือนฝอยที่สามารถทำให้พืชเกิดความเสียหาย หรือที่เรียกทั่วไปว่าเป็นค่า damage threshold level (DTL) สำหรับไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในข้าวคือ ประมาณ 1,000 ตัว ต่อพืช 1 ต้น และสำหรับไส้เดือนฝอย *M. graminicola* คือ ประมาณ 4,000 ตัวต่อพืช 1 ต้น ซึ่งปริมาณขนาดนี้ทำให้ผลผลิตลดลงได้ถึง 72% สำหรับในประเทศไทยมีรายงานในเรื่องพื้นที่ระบาดที่เกิดจากไส้เดือนฝอยในข้าวค่อนข้างน้อย การเก็บข้อมูลพื้นที่ปลูกที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายในแต่ละพื้นที่จึงมีความสำคัญต่อระบบการปลูกข้าวเพื่อเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาการระจายตัวของไส้เดือนฝอยรากปมได้ในอนาคต ลือชัย และคณะ (2528) พบว่าข้าวหลายสายพันธุ์ทั้งพันธุ์การค้าและพื้นเมืองจำนวน 82 สายพันธุ์ มีความอ่อนแอต่ออาการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม นอกจากนี้ยังพบไส้เดือนฝอยรากแผลอีกหลายชนิดที่มีความสำคัญต่อการปลูกข้าว ได้แก่ *Pratylenchus* sp. และ *Hirschmanniella oryzae* (Mathur and Prasad, 1972) ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดของไส้เดือนฝอยรากปมและสกุลของไส้เดือนฝอยศัตรูข้าว ระดับการเกิดโรครากปมที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม ในพื้นที่ปลูกข้าวจังหวัดพระนครศรีอยุธยาที่เคยมีรายงานว่ามีการระบาดของไส้เดือนฝอยรากปม และเพื่อเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรที่ทำการปลูกข้าวในอนาคตให้สามารถเฝ้าระวัง หลีกเลี่ยงการเกิดโรคที่เกิดจากไส้เดือนฝอยศัตรูข้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น นำไปสู่การควบคุมการแพร่ระบาดของไส้เดือนฝอยได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วิธีการศึกษา

การสำรวจและสุ่มเก็บตัวอย่าง ในพื้นทีจังหวัดพระนครศรีอยุธยา

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงนาข้าวในพื้นที่ในจังหวัดพระนครศรีอยุธยา โดยเลือกเก็บตัวอย่างต้นข้าวที่แสดงอาการต้นแคระแกรนและ เหลืองเป็นหย่อมๆ ในช่วงเดือนตุลาคม โดยขุดรากข้าวและดินบริเวณรอบรากเป็นจำนวน 4 จุดรอบโคนต้นข้าว ที่ระดับความลึกจากผิวดินประมาณ 10 ซม. เปิดหน้าดินที่ลึกประมาณ 5 ซม. ออกแล้วนำตัวอย่างดินใส่ถุงพลาสติกประมาณ 500 กรัม ใช้วิธีการสุ่มเก็บดินและรากแบบซิกแซ็ก (Ravichandra, 2010) พร้อมระบุตำแหน่งของพื้นที่เก็บตัวอย่างโดย application compass ระบบ iOS กำหนดพื้นที่เก็บที่มีการปลูกข้าวในระยะอายุข้าว 30 วันหลังจากปลูกหรืออายุใกล้เคียงกัน ใน 2 อำเภอ คือ อำเภอมหาราช (ตำบลมหาราชและตำบลกะทุ่ม) อำเภอบางซ้าย (ตำบลปลายกลัดและบางซ้าย) ในแต่ละอำเภอแบ่งเป็น 2 ตำบล รวม 40 ตัวอย่าง

การแยกไส้เดือนฝอยจากดินและรากข้าว

ทำการแยกไส้เดือนฝอยศัตรูข้าวจากดิน โดยประยุกต์ใช้ตามวิธี Christie and Perry นำดินตัวอย่างดินทั้ง 40 ตัวอย่างจากแปลงข้าวมาชั่งตัวอย่างละ 300 กรัม ใส่ตัวอย่างลงในกะละมังเติมน้ำให้ท่วมดิน คนให้น้ำและเนื้อดินละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำน้ำล้างดินมาร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 60 100, 200 และ 325 mesh ตามลำดับ เทน้ำล้างดินที่ได้ใส่แก้วพลาสติกใสแล้ววางพักทิ้งไว้ให้ดินตกตะกอนจนน้ำในแก้วใส นำน้ำและดินในแก้วมาเทใส่กรวยแก้ว ที่วางกระดาษทิชชูบนตะแกรงเพื่อป้องกันดินร่วงลงไปในกรวยแก้ว จากนั้นเมื่อครบ 48 ชั่วโมง ให้ไขน้ำล้างดินไปแช่ตู้เย็น จากนั้นนำน้ำล้างดินที่ได้มาทำการตรวจสอบชนิดและสกุลภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง Stereo microscope และ Compound microscope ต่อมาทำการย้อมสีรากเพื่อตรวจหาไส้เดือนฝอยรากแผลด้วยสีย้อม acid fuchsin ตามวิธีของ Ravichandra (2010) นำรากข้าวมาหั่นเป็นท่อนๆ ละ 2-3 ซม. แช่ในคลอร็อกซ์ 3% นาน 25 นาที และแช่ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 15-30 นาที นำรากขึ้นมาซับให้แห้ง แล้วแช่ในสารละลายสี acid fuchsin in acetic acid ให้ความร้อนประมาณ 80 °C เป็นเวลา 1 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วล้างสีส่วนเกินออกด้วยน้ำไหล ซับรากพืชให้แห้งแล้วแช่รากใน glycerine เติม 5 N HCl 2 หยด เพื่อให้รากข้าวใสมองเห็นตัวไส้เดือนฝอยที่ติดสีได้ชัดเจน สำหรับตัวเต็มเพศเมียของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* sp. จะใช้เทคนิคการผ่าโดยตรงเพื่อแยกตัวเต็มวัยเพศเมียออกจากรากพืช จากนั้นนำตัวเมียที่ได้ไปใช้ในการศึกษาการจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* sp. โดยศึกษาลักษณะรูปร่างและอวัยวะต่างๆ ของไส้เดือนฝอยตามหลักทางสัณฐานวิทยาของ De Man (1884) พร้อมนับจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ประเมินระดับการเกิดโรครากปมและไส้เดือนฝอยศัตรูข้าว ความเสียหาย โดยวิธี Schematic of a root-knot nematode gall rating system (Starr et al., 2002)

การทดสอบความสามารถในการก่อโรครากปมเข้าทำลายในข้าว

แยกไส้เดือนฝอยให้บริสุทธิ์ (pure culture) โดยนำรากข้าวตัวอย่างที่เก็บมา แยกเอากลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมแต่ละลักษณะอาการๆ ละ 1 กลุ่มไข่แล้วนำกลุ่มไข่ไปฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยคลอร็อกซ์ 10% แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง บ่มกลุ่มไข่ไว้ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อกลุ่มไข่ฟักตัวนำตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยไปเลี้ยงในต้นข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี อายุ 15 วัน ที่บรรจุด้วยดินผสมทรายจากนั้นทำการสังเกตอาการปมที่เกิด จากนั้นทดสอบมาทดสอบความสามารถในการเข้าทำลายข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี โดยนำตัวอ่อนระยะที่ 2 ปริมาณจำนวน 300 ตัว/ซ้ำ ไปใส่ในต้นกล้าข้าวในกระถางขนาด 6 นิ้ว ที่บรรจุดินที่อบฆ่าเชื้อ (autoclave) เมื่อครบ 30 วันหลังจากใส่ไส้เดือนฝอยแล้ว นำรากข้าวมาตรวจสอบลักษณะอาการปมที่เกิดจากการเข้าทำลาย ตามวิธีของ Bellafiore et al. (2015) - คือไม่พบ ปม, + คือ 1-2 ปม (low infection), ++ คือ 2 – 10 ปม (mild infection), +++ คือมากกว่า 10 ปม ขึ้นไป (heavy infection) ศึกษากลไกการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยโดยการสุ่มตัวอย่างปมรากละ 10 ปม มาตัดตามยาวและตามขวางของเนื้อเยื่อโดยเทคนิค free hand section แล้วนำไปย้อมสีราก ตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ประเภท Stereo microscope และ Compound microscope เพื่อศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์พืช

แก่นเกษตร 48 ฉบับที่ 6: 1374-1383 (2563)./doi:10.14456/kaj.2020.120.

ผลการศึกษา

การสำรวจและสุ่มเก็บตัวอย่าง ในพื้นที่จังหวัดพระนครศรีอยุธยา

จากการเก็บตัวอย่างดินและต้นข้าวที่แสดงอาการด้วยวิธีสุ่มเก็บแบบซิกแซ็กในพื้นที่แปลงปลูกข้าว พบว่ารากข้าวมีลักษณะอาการเหนือพื้นดินคือ ต้นข้าวเตี้ยแคระ และแตกกอช้ากว่าปกติ เมื่อนำรากข้าวมาตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงประเภท Stereo microscope พบว่าบริเวณปลายรากมี 2 ลักษณะอาการคือ อาการรากแผล ปลายรากมีแผลสีน้ำตาลเป็นแนวยาว (Fig. 1A) และอาการเป็นปุ่มปม โดยปมที่พบมี 2 แบบคือ ปมที่เรียงต่อกันเป็นลูกโซ่ ลักษณะกลมรี (Fig. 1B) และปมเดี่ยว ลักษณะกลม พบกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยยื่นออกมาจากปม (Fig. 1C)

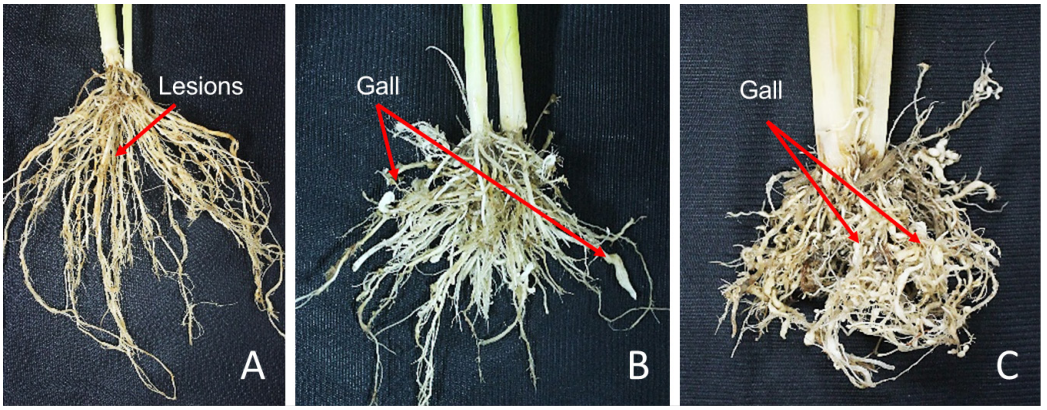

Figure 1 Symptom disease of rice caused by plant nematodes. (A) lesion diseases, (B) gall-pattern diseases caused by *M. graminicola* and (C) gall-pattern diseases caused by *M. incognita*

การแยกไส้เดือนฝอยจากดินและรากข้าว

จากการตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ Compound microscope สามารถแยกไส้เดือนฝอยได้เป็น 2 กลุ่ม ตามลักษณะของการเกิดโรคในรากข้าว คือ กลุ่มที่ 1 ทำให้รากข้าวมีลักษณะอาการรากปม เกิดจากไส้เดือนฝอยในสกุล *Meloidogyne* sp. ซึ่งนอกจากจะทำให้รากข้าวเกิดปมแล้ว ยังส่งผลให้รากสูญเสียความสามารถในการลำเลียงน้ำและธาตุอาหาร ส่งผลให้ต้นข้าวแคระแกรน อีกทั้งจากการสำรวจยังพบไส้เดือนฝอยสกุลนี้มากที่สุดในทุกพื้นที่การสำรวจ (Table 1-2; Fig. 2A) และกลุ่มที่ 2 ทำให้รากข้าวเกิดแผลในลักษณะแนวยาว เกิดจากไส้เดือนฝอยสกุล *Helicotylenchus* sp. (Fig. 2B) และ *Hirschmanniella* sp. (Fig. 2C) นอกจากนี้ยังส่งให้ต้นข้าวโตช้ากว่าปกติ เนื่องจากระบบรากที่ถูกทำลายสอดคล้องกับรายงานของ Arayarungsarit (1987) ที่พบไส้เดือนฝอยกลุ่มนี้ในนาข้าวเขตภาคกลางของประเทศไทยและจากรายงานของ Swarup and Koshy (1965) ยังพบว่าไส้เดือนฝอยรากปมและรากแผลจัดเป็นไส้เดือนฝอยศัตรูข้าวที่สำคัญในประเทศอินเดีย ญี่ปุ่น และแอฟริกา และแหล่งปลูกข้าวอื่น ๆ ที่สำคัญ

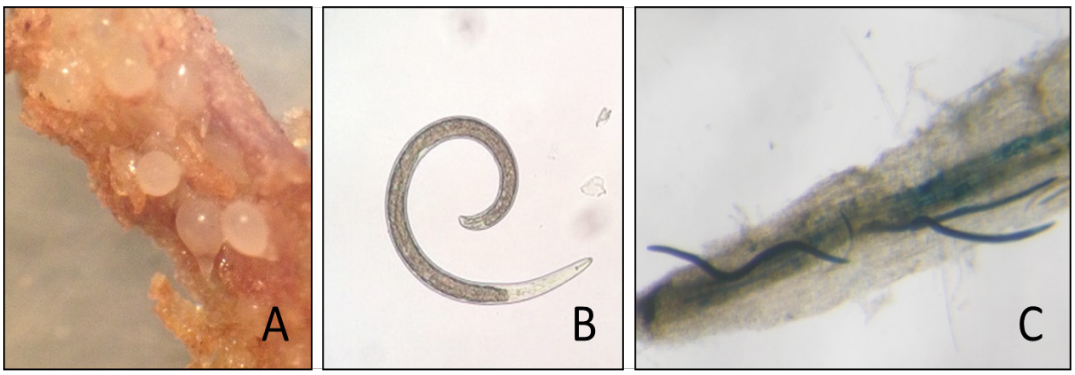

Figure 2 Plant nematode in rice root collected from field: (A)Female of *Meloidogyne* sp., (B) *Helicotylenchus* sp. and (C) *Hirschmanniella* sp. inside root system

Table 1 Population densities of rice nematode in soil and root of paddy rice cultivated in Maharaj and Bang Sai District, Phra Nakhon Sri Ayutthaya Province

District	Maharaj Sub-district	Krathum Sub-district
	Parasite	Parasite
Maharaj	*Hischmaniella* and *Meloidogyne* (J2)	*Hischmaniella* and *Meloidogyne* (J2)
Maharaj	*Hischmaniella* and *Meloidogyne* (J2)	*Hischmaniella* and *Meloidogyne* (J2)
Maharaj	*Hischmaniella* and *Meloidogyne* (J2)	*Hischmaniella* and *Meloidogyne* (J2)
Maharaj	*Hischmaniella* and *Meloidogyne* (J2)	*Hischmaniella* and *Meloidogyne* (J2)
Maharaj	*Hischmaniella* and *Meloidogyne* (J2)	*Hischmaniella* and *Meloidogyne* (J2)
Maharaj	*Hischmaniella* and *Meloidogyne* (J2)	*Hischmaniella* and *Meloidogyne* (J2)
Maharaj	*Hischmaniella* and *Meloidogyne* (J2)	no
Maharaj	*Hischmaniella* and *Meloidogyne* (J2)	no
Maharaj	*Hischmaniella* and *Meloidogyne* (J2)	*Meloidogyne* (J2)
Maharaj	*Hischmaniella* and *Meloidogyne* (J2)	no

แก่นเกษตร 48 ฉบับที่ 6: 1374-1383 (2563)./doi:10.14456/kaj.2020.120.

Table 2 Population densities of rice nematode in soil and root of paddy rice cultivated in Bang Sai District, Phra Nakhon Sri Ayutthaya Province

District	Bang Sai Sub-district	Plai Klat Sub-district
	Parasite	Parasite
Bang Sai	*Meloidogyne* (J2)	*Helicotylenchus* sp.
Bang Sai	*Meloidogyne* (J2)	*Hischmaniella* sp.
Bang Sai	*Meloidogyne* (J2)	*Meloidogyne* (J2)
Bang Sai	no	*Meloidogyne* (J2)
Bang Sai	no	*Helicotylenchus* sp.
Bang Sai	*Meloidogyne* (J2)	*Hischmaniella* sp.
Bang Sai	*Meloidogyne* (J2)	no
Bang Sai	*Meloidogyne* (J2)	no
Bang Sai	*Meloidogyne* (J2)	*Meloidogyne* (J2)
Bang Sai	no	*Helicotylenchus* sp.

นำรากพืชที่ย้อมสีรากมาผ่าโดยตรง แล้วตักตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยที่ติดสีมาศึกษาทางสัณฐานวิทยาโดยตรวจลักษณะรอยย่นส่วนก้น (perineal pattern) พบว่ามีลักษณะสอดคล้องกับไส้เดือนฝอยรากปมชนิด *M. incognita* ซึ่งมีลักษณะรอยย่นส่วนก้น เส้นรอบลำตัวเรียบ เส้นด้านข้างมีรอยขาดสั้นๆ ขยุกขยิก (Fig. 3A) และ *M. graminicola* มีลักษณะรอยหยักส่วนก้นของไส้เดือนฝอย เป็นรูปกลมรี (oval shape) เส้นขอบมีลักษณะเรียบ ไม่พบ lateral lines (Fig. 3B-3C) สอดคล้องกับรายงานของ Salalia et al. (2017) ที่รายงานว่าลักษณะดังกล่าวเป็นลักษณะของไส้เดือนฝอย *M. graminicola*

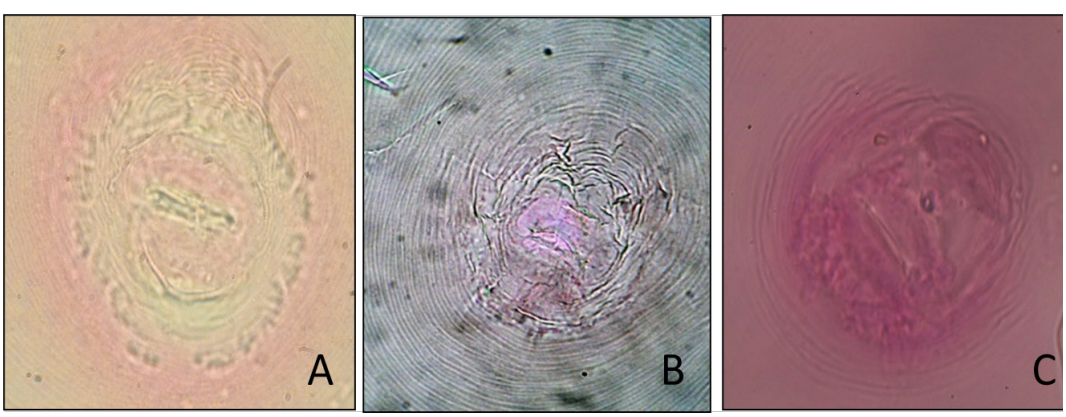

Figure 3 Perineal patterns of *Meloidogyne incognita* (A), and *M. graminicola* (B, C). Nematodes were isolated from soil collected from paddy field soil under irrigation area of Thailand

การศึกษาดัชนีการเกิดโรค โดยตรวจนับปริมาณปมและจำนวนกลุ่มไข่รวม 40 ตัวอย่าง พบว่ามีค่าเฉลี่ยของจำนวนปมมากที่สุดคือ 623.8 ปม ระดับการเกิดโรคสูงสุดคือ 5.0 ดังแสดงใน **Table 3** ระดับความรุนแรงในการเกิดโรคแบ่งออกเป็น 2 คือ ระดับเหนือพื้นดิน ต้นข้าวแสดงอาการแคระแกรน เหลือง ไม่แตกกอ และระดับราก พบว่าบริเวณรอบรากข้าวแสดงลักษณะอาการรากปมและรากแผลสีน้ำตาลเข้ม เมื่อนำรากไปย้อมสีและตรวจภายในรากพบว่า ภายในรากมีตัวอ่อนและตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยรากปม

Table 3 The average of population densities of *Meloidogyne* sp. in the soil and root and root gall index in Maharaj and Bang Sai District, Phra Nakhon Sri Ayutthaya Province

Location	Root-gall	Egg mass	J2/plant	Female	degree of galling
1. Maharaj	14.8	2.5	13.4	10.0	2.4
2. Maharaj	18.6	3.0	16.1	11.1	2.6
3 Maharaj	12.8	3.4	31.3	16.0	2.2
4. Maharaj	14.4	4.2	38.0	17.0	2.2
5 Maharaj	35.0	18.2	35.1	32.0	3.2
6 Maharaj	7.8	1.8	11.8	9.0	1.2
7. Maharaj	6.4	2.2	21.2	7.0	1.2
8. Maharaj	13.8	3.4	19.6	13.0	2.4
9. Maharaj	22.0	8.2	47.5	21.0	2.8
10. Maharaj	31.2	14.4	35.4	33.0	3.2
11 Maharaj	7.4	2.2	11.8	9.0	1.2
12. Maharaj	9.2	3.2	15.3	11.0	1.2
13. Maharaj	24.6	12.0	24.8	23.0	3.2
14. Maharaj	6.2	1.2	10.9	7.0	1.2
15. Maharaj	24.6	13.2	44.1	26.0	2.8
16. Maharaj	10.6	5.0	36.3	14.0	1.6
17. Maharaj	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
18. Maharaj	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
19. Maharaj	14.6	6.4	28.2	20.0	1.2
20. Maharaj	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

[1]Roots were scored for degree of galling: 1= less than 25%, 2= 25-50, 3= 51-75% and 4= >75% of total root system galled. (Barker, 1985)

แก่นเกษตร 48 ฉบับที่ 6: 1374-1383 (2563)./doi:10.14456/kaj.2020.120.

Table 4 The average of population densities of *Meloidogyne* sp. in the soil and root and root gall index in Maharaj and Bang Sai District, Phra Nakhon Sri Ayutthaya Province (Cont.)

Location	Root-gall	Egg mass	J2/plant	Female	degree of galling [1/]
21. Bang Sai	24.6	13.0	21.0	32.2	3.2
22 Bang Sai	623.8*	156.0	342.0	540.0	5.0
23. Bang Sai	492.4	120.0	224.0	421.0	5.0
24. Bang Sai	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
25. Bang Sai	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
26. Bang Sai	70.8	24.4	37.0	45.0	4.0
27. Bang Sai	102.4	45.0	59.0	78.0	5.0
28. Bang Sai	92.8	48.0	35.0	58.2	4.6
29. Bang Sai	398.6	145.0	255.2	302.2	5.0
30. Bang Sai	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
31. Bang Sai	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
32. Bang Sai	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
33. Bang Sai	63.0	32.0	45.0	80.2	3.8
34. Bang Sai	102.4	45.2	28.4	118.2	5.0
35. Bang Sai	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
36. Bang Sai	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
37. Bang Sai	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
38. Bang Sai	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
39. Bang Sai	325.2	189.2	102.2	289.0	5.0
40. Bang Sai	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

[1]Roots were scored for degree of galling: 1= less than 25%, 2= 25-50, 3= 51-75% and 4= >75% of total root system galled. (Barker, 1985)

การทดสอบความสามารถในการก่อโรครากปมเข้าทำลายในข้าว

จากการศึกษาการเข้าทำลายในข้าว สายพันธุ์สุพรรณบุรี ของไส้เดือนฝอยรากปม 2 ชนิด คือ ไส้เดือนฝอยรากปม *M. graminicola* และ *M. incognita* โดยไส้เดือนฝอยรากปมทั้ง 2 ชนิดนี้มีความสามารถในการเข้าทำลายรากข้าวได้ในระดับสูง (Fig. 4A) ลักษณะการเกิดโรครากปมจะแตกต่างกันโดยอาการที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม *M. graminicola* บริเวณปมจะเกิดที่ปลายรากทำให้ปลายรากม้วนงอ ไม่พบการสร้างกลุ่มไข่ยื่นออกมาบริเวณปม ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Padgham et al. (2004) ที่ได้ระบุว่าข้าวเป็นพืชอาศัยของ *M. graminicola* แต่

หากเป็นไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* การเกิดปมจะเกิดได้ทุกส่วนของราก และเมื่ออายุพืชครบ 25-30 วัน บริเวณปมจะพบการสร้างกลุ่มไข่สีน้ำตาลยื่นออกมาซึ่งสอดคล้องกับ ดรุณี และคณะ (2530) ที่อธิบายความแตกต่างของอาการรากปมที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม *M. graminicola* และ *M. incognita* โดยระดับความรุนแรงที่เกิดจากไส้เดือนฝอยทั้ง 2 ชนิดนี้อาจขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมได้อีกด้วย นอกจากนี้เมื่อทำการสุ่มตัวอย่างรากปมโดยเทคนิค free hand section ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope พบว่าภายในรากพืชมีการแบ่งเซลล์มากกว่าปกติ โดยเซลล์บริเวณที่ถูกหลอดดูดอาหารของไส้เดือนฝอยรากปมแทง ผนังเซลล์มีการเชื่อมติดกัน กลายเป็นเซลล์ยักษ์ (giant

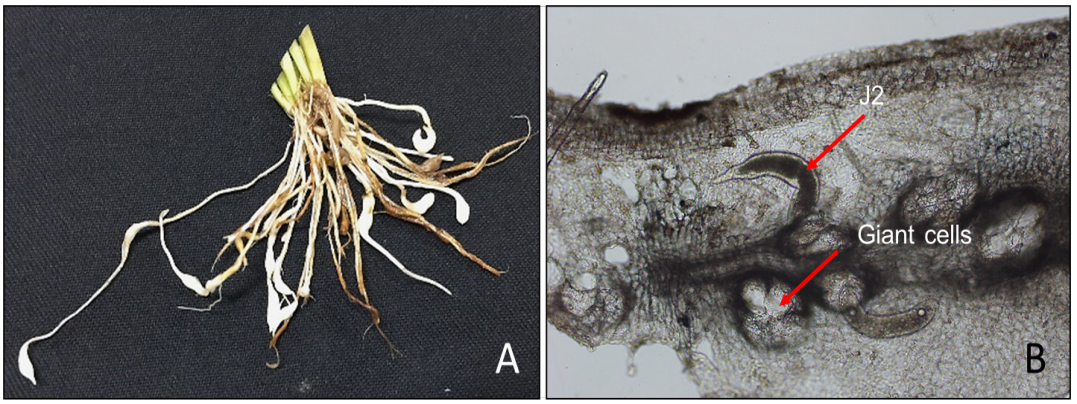

Figure 4 Heavy infection level of rice root caused by plant nematode (A) and (B) The root-knot nematode feeding site and secretions cause dramatic physiological changes in the parasitized cells, transforming them into giant-cells

สรุป

จากการแยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดินและรากจากแปลงนาข้าวในพื้นที่จังหวัดพระนครศรีอยุธยาโดยวิธี Christie and Perry technique จำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยการทำ perineal pattern สามารถจำแนกไส้เดือนฝอยได้เป็น 3 สกุล คือ *Meloidogyne* sp., *Hirschmanniella* sp. และ *Helicotylenchus* sp. ทดสอบความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคกับข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี พบว่าไส้เดือนฝอยสกุล *Meloidogyne* sp. สามารถก่อให้เกิดอาการรากปมได้ในระดับสูง (ระดับ 5) และมีรากปมที่แตกต่างกัน เมื่อทำการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและจำแนกสายพันธุ์ พบว่าเป็นไส้เดือนฝอย 2 ชนิด คือ *M. graminicola* มีการสร้างปมบริเวณปลายรากทำให้ปลายรากม้วนงอ และ *M. incognita* การสร้างปมบริเวณทุกส่วนของราก

เอกสารอ้างอิง

ดรุณี รัตนประภา, อานนท์ บุญดวง และจรัส ชื่นราม. 2530. ความแตกต่างทางพฤติกรรมของไส้เดือนฝอยรากปมข้าว *Meloidogyne graminicola* (Golden and Birchfield) และไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* (Kafoid and Whitehead) ที่มีต่อข้าว. น. 537-545. ใน: ประชุมวิชาการสาขาพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 25 เรื่อง Boletes of Thailand 3-6 กุมภาพันธ์ 2530. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ลือชัย อารยะสฤษฏ์, สืบศักดิ์ สนธิรัตน์, ประชา ลี้ประเสริฐ และประพาส วีระแพทย์. 2528. ความต้านทานของข้าวบางพันธุ์ต่อไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne graminicola* (Gloden and Birchfield). วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สมชาย สุขะกูล. 2549. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชและการควบคุม. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน, เกษกานดา สิทธิสุข, วัฒนะ นรสิงห์, สุทิน ราชธา และชัลวาล สุวรรณสาร. 2521. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. ใน: เอกสารงานวิจัย ฉบับที่ 3. สำนักงานเกษตรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ท่าพระ, ขอนแก่น.

อรุณ จันทนโอ. 2505. รายงานการสำรวจไส้เดือนฝอยศัตรูข้าวและชนิดอื่นบางชนิดในประเทศไทย. ใน: เอกสารทางวิชาการฉบับที่ 1. แผนกกีฏวิทยาและโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. โรงพิมพ์สำนักทำเนียบนายกรัฐมนตรี. กรุงเทพฯ.

Arayarungsarit, L. 1987. Yield ability of rice varieties in fields infested with root-knot nematode. IRRI. 12(5): 14.

Bellafiore, S., C. Jougla, E. Chapuis, G. Besnard, M. Suong, P. N. Vu, D. De Waele, P. Gantet, and X. N. Thi. 2015. Intraspecific variability of the facultative meiotic parthenogenetic root-knot nematode (*Meloidogyne graminicola*) from rice fields in Vietnam. Comptes Rendus Biologies. 338(7): 471-483.

De Man, J.G. 1884. Die frei in der reinen Erde und im süssen-Wasser lebenden Nematoden der niederländischen fauna. Eine systematische-faunistische Monographie (Vol. 1). EJ Brill, South Holland.

Foreign Agricultural Service. 2019. Report: Situation of World Rice Production and Marketing in 2018/2019. Washington, DC.

Mathur, V.K. and S.K. Prasad. 1972. Role of the rice root nematode, *Hirschmanniella oryzae* in rice culture. Indian Journal of Nematology. 2(2): 158-160.

Padgham, J. L., J. M. Duxbury, A. M. Mazid, G. S. Abawi, and M. Hossain. 2004. Yield Loss Caused by *Meloidogyne graminicola* on lowland rainfed rice in bangladesh. Journal of Nematology. 36(1): 42-48.

Ravichandra, N.G. 2010. Methods and Techniques in Plant Nematology. Department of Plant Pathology. University of Agricultural Sciences Bangalore, India.

Ruanpanun, P. and A. Khun-in. 2015. First report of *Meloidogyne incognita* caused root knot disease of upland rice in Thailand. J. ISSAAS. 21(1): 68-77.

Salalia, R., R. K. Walia, S. V. Somvansh, P. Kumar, and A. Kumar. 2017. Morphological, morphometric, and molecular characterization of intraspecific variations within Indian populations of *Meloidogyne graminicola*. Journal of nematology. 49(3): 254-267.

Starr, J. L., R. Cook, and J. Bridge. 2002. Resistance to plant-parasitic nematodes: history, current use and future potential. In: J. L. Starr, R. Cook, and J. Bridge. Plant resistance to parasitic nematodes. CABI Publishing, UK.

Swarup, G., and P.K. Koshk. 1965. A review of waked nematology in India. Plant protection committee the South East Asia and Pacific Region. Tech. Doc.