การจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus* ทางสัณฐานวิทยาในไม้ประดับส่งออก

ธิติยา สารพัฒน์ ไตรเดช ข่ายทอง
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Research progression

The 900 samples of exporting ornamental plants were used to diagnose plant-parasitic nematodes between October 2017 to September 2018. The results showed that plant-parasitic nematodes : *Radopholus* had been detected in 10 samples. And a systematic study of *Radopholus* in progressing steadily.

Keywords : nematode, exporting ornamental plants

รายงานความก้าวหน้า

ผลการตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในไม้ประดับเพื่อการส่งออกนี้ ระหว่าง ตุลาคม 2560 ถึง กันยายน 2561 รวมทั้งสิ้นจำนวน 900 ตัวอย่าง พบไส้เดือนฝอย *Radopholus* 10 ตัวอย่าง ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ ไส้เดือนฝอย *Radopholus* ที่พบ ยังไม่สามารถระบุชนิดได้ เพราะยังต้องศึกษาในรายละเอียดเพิ่มเติมเนื่องจากยังมีหลายลักษณะที่ยังไม่สามารถมองเห็นได้อย่างชัดเจน ซึ่งอาจจะเกิดจากเทคนิคการเตรียมสไลด์ และการใช้กล้อง ซึ่งผู้วิจัยกำลังปรับปรุง เพื่อให้งานออกมาสมบูรณ์ ส่วนการศึกษา Morphometric ยังไม่สามารถทำได้ เนื่องจากผู้วิจัยพบว่าค่าที่ได้จากการวัดตัวอย่าง โดยโปรแกรมการวัดขนาดมีความผิดปกติ ซึ่งกำลังหาสาเหตุของความผิดปกติ เพื่อปรับแก้ไข

คำหลัก : ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ไม้ประดับส่งออก

รหัสการทดลอง 03-30-60-01-01-02-06-60

คำนำ

ไส้เดือนฝอยสกุล Radopholus เป็นที่รู้จักตั้งแต่ปี 1890 เมื่อ Cobb ได้ทำการอธิบายเชื้อปรสิตที่เข้าทำลายรากกล้วยบนเกาะ Fiji ซึ่งในขณะนั้นได้จัดจำแนกเป็น *Tylenchus similis* (Cobb, 1893) ต่อมาในปี 1949 Thorne ได้จัดจำแนกใหม่อีกครั้ง โดยได้เสนอให้ใช้ชื่อสกุล Radopholus แทน Tylenchus และตั้งชื่อชนิดเป็น *R. similis* (Cobb, (1893) Thorne (1949))จากนั้นมีการตรวจพบการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยชนิดนี้เพิ่มขึ้น ในปี 1915 พบว่าเป็นสาเหตุของการเข้าทำลายอ้อยในรัฐฮาวาย ประเทศสหรัฐฯ และทำให้เกิดโรคในกล้วยของประเทศจาไมก้า ต่อมาได้เกิดเหตุการณ์ทางประวัติศาสตร์ที่สำคัญ ประมาณปี 1928 ไส้เดือนฝอย *R. citrophilus* ทำให้เกิด “spreading decline” ในการปลูกส้มของรัฐฟลอริดา ประเทศสหรัฐฯ โดยทำให้ผลผลิตส้มลดลง 40 ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ และใน grapefruits ซึ่งเป็นพืชในตระกูลส้มอีกชนิดหนึ่งผลผลิตลดลง 50 ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ เหตุการณ์ในครั้งนี้เปรียบเสมือนจุดเริ่มต้นของมาตรการต่าง ๆ ในการควบคุมการระบาดของโรค โดยได้ออกมาตรการกักกันพืช ห้ามนำเข้าพืชที่มี *R. citrophilus* (*R. similis* citrus race) มีการจำกัดพื้นที่ในการแพร่ระบาดและมีความพยายามในการกำจัดไส้เดือนฝอยชนิดนี้ให้หมดไป

R. similis sensu lato ยังเป็นศัตรูสำคัญในการปลูกกล้วยในทวีป แอฟริกา ออสเตรเลีย อเมริกากลางและอเมริกาใต้ หมู่เกาะในทะเลแคริเบียน ซึ่งทำให้เกิดโรคตายพรายกล้วย ที่เรียกว่า “blackhead banana disease” หรือ “banana toppling disease” ทำให้เกิดการโค่นล้มของกล้วยในขณะออกเครือเพราะเหง้าและระบบรากได้ถูก ไส้เดือนฝอยเข้าทำลาย ทำให้ไม่สามารถรับน้ำหนักของเครือกล้วยได้จึงโค่นล้มก่อนที่จะเก็บผลผลิตและด้วยเหตุของการแพร่กระจายเชื้อไปกับหน่อกล้วยทำให้แทบทุกภูมิภาคมีไส้เดือนฝอยชนิดนี้อีกทั้งไส้เดือนฝอยสกุล Radopholus มีพืชอาศัยมากกว่า 250 ชนิด ยกตัวอย่างเช่น กล้วย ส้ม ขิง ปาล์ม กาแฟ พริกไทย อ้อย ชา ไม้ดอกไม้ประดับ เช่นหน้าวัว ฟิโลเดนดรอน (Haegman *et. al*., 2010)

ในปี 1953 มีการระบาดครั้งใหญ่ของโรคเหลืองพริกไทย (yellow disease of *Piper nigrum*) ซึ่งเกิดจาก *R. similis* ในการปลูกพริกไทยของประเทศอินโดนีเซียโดยเกิดความเสียหายเกือบ 90 เปอร์เซ็นต์ของการผลิตทั้งประเทศซึ่งความเสียหายครั้งนี้ได้สูญเสียต้นพริกไทยกว่า 22 ล้านต้น และมีการรายงานว่าแพร่กระจายไปในแหล่งปลูกพริกไทยอื่น ๆ ได้แก่ อินเดีย พบว่า *R. similis* เป็นสาเหตุของโรค slow wilt ที่ทำให้ผลผลิตของพริกไทยลดลง (Roland,N.P and Maurice,M., 2006) (Ramana *et.al*, 1987)

แม้ว่าประเทศไทยไม่มีรายงานความเสียหายของพืชที่เกิดจากไส้เดือนฝอยสกุล Radopholus แต่พบว่าได้เกิดปัญหาการส่งออกพืชไปยังสหภาพยุโรป ถูกปฏิเสธการนำเข้าเนื่องจากมีการตรวจพบ *R. similis* ในพรรณไม้น้ำ *Anubias* spp. ในระหว่างปี พ.ศ 2550 ถึง 2551 ไม้น้ำจากประเทศไทยถูกเผาทำลายไป 11 ครั้ง ทำให้มีผลกระทบต่อผู้ส่งออกพรรณไม้น้ำของไทย (นุชนารถ, 2551)

ด้านการจัดจำแนกชนิดนั้นไส้เดือนฝอยเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง มีรูปร่างคล้ายหนอนพยาธิตัวกลมเจริญเติบโตโดยการลอกคราบ มีทั้งการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กมาก ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ต้องมองภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และไส้เดือนฝอยสกุลนี้ ยังมีความหลากหลายของชนิดมากปัจจุบันพบว่ามี 30 ชนิด ซึ่งประเทศออสเตรเลียมีความหลากหลายมากถึง 25 ชนิด (Luc, 1987) จากการศึกษาของ Quénéhervé (2009) และ Tan *et. al.*

(2010) คาดว่าความหลากหลายของไส้เดือนฝอย Radopholus ในออสเตรเลียมีสาเหตุเนื่องจากมีการแลกเปลี่ยนและเคลื่อนย้ายพืชที่ติดเชื้อมาจากภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และเป็นที่น่าสังเกตว่าในช่วงทศวรรษ ที่ผ่านมาได้มีรายงานในการพบชนิดใหม่ของไส้เดือนฝอยสกุลนี้หลายชนิด โดยพบว่า มีการพบชนิดใหม่ในเวียดนาม 3 ชนิด นิวซีแลนด์ 1 ชนิด ออสเตรเลีย 2 ชนิด และอินโดนีเซีย 1 ชนิด (Volcy, 2011)

นอกจากนี้พืชอาศัยที่แตกต่างกันก็พบว่าเป็นไส้เดือนฝอยสกุล Radopholus ต่างชนิดกัน เช่น พบว่า *R. musicola* เป็นศัตรูพืชสำคัญของการปลูกกล้วยในออสเตรเลีย *R. citri* และ *R. bridge* ทำให้เกิดต้นโทรมในส้ม *R. duriophilus* สาเหตุต้นโทรมของทุเรียนและ *R. arabacoffece* เป็นสาเหตุของต้นโทรมของกาแฟอาราบิก้า ซึ่งทั้งสองชนิดเป็นชนิดใหม่ (Trinh *et.al,*2004)

ในไทยในปี 2556 (ค.ศ. 2013) นุชนารถ และ ช่อทิพย์ ได้ศึกษาอนุกรมวิธานของ Radopholus ในพรรณไม้น้ำสกุล Anubias พบเพียงชนิดเดียวคือ *R. similis* จากการศึกษาของ Nguyen และคณะในปี 2003 ได้รายงานว่าพบไส้เดือนฝอยสกุล Radopholus ชนิดใหม่ในทุเรียน คือ *R. duriophilus* ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายกับ *R. similis* เป็นอย่างมากแต่แตกต่างในรายละเอียดทางสัณฐานวิทยา เช่นตำแหน่งของ excretory pore ลักษณะของ phasmid ลักษณะของ bursa เป็นต้น และมีความแตกต่างอย่างชัดเจนทางชีวโมเลกุล และเป็นที่น่าสังเกตว่าเวียดนามเป็นประเทศเพื่อนบ้านของไทย แต่ไม่เคยมีรายงานว่าพบ *R. similis*

จากข้อมูลของ EPPO quarantine Pest ประเทศที่พบ *R. similis* ในเอเชีย ได้แก่ ประเทศบรูไน อินเดีย (บางรัฐ) อินโดนีเซีย ญี่ปุ่น (ไม่มีการยืนยัน) มาเลย์เซีย (รัฐ Peninsular) โอมาน ปากีสถาน ฟิลิปปินส์ ศรีลังกา เยเมน และรวมทั้งประเทศไทย

ซึ่งจะเห็นได้ว่าไส้เดือนฝอยสกุลนี้มีความเชื่อมโยงกับชนิดของพืชอาศัย ดังนั้นพืชต่างชนิดกันอาจจะพบไส้เดือนฝอยสกุล Radopholus ต่างชนิดกันได้ ซึ่งในประเทศไทยยังไม่ได้มีการสำรวจไส้เดือนฝอยสกุลนี้ในพืชที่หลากหลาย ดังนั้นงานวิจัยการจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอย สกุล Radopholus ในไม้ประดับส่งออกมีประโยชน์อย่างยิ่งต่อการตรวจรับรองการปลอดภัยจากศัตรูพืช โดยเฉพาะไส้เดือนฝอยศัตรูพืช และ เป็นฐานข้อมูลอ้างอิงของประเทศไทยที่เป็นมาตรฐานสามารถสร้างความเชื่อมั่นให้แก่ประเทศผู้นำเข้าได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ไม้ประดับส่งออก
2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างพืชในไม้ประดับส่งออก เช่น พืชวงศ์กก พืชวงศ์บอน ไม้สกุลดราซีน่า ลิ้นมังกร โป๊ยเซียน หยก กวักมรกรต ลีลาวดี ชวนชม พรรณไม้น้ำ เป็นต้น ซึ่งการเก็บตัวอย่างพืชมีเอกสารรับรองกำกับ (voucher specimens) ตาม ISPM No.6 อาทิ ชื่อวิทยาศาสตร์ของพืช สถานที่เก็บตัวอย่าง จำนวนต้นพืช พิกัดทางภูมิศาสตร์วันเดือนปีที่เก็บและชื่อผู้เก็บ เป็นต้น

1.1 ตัวอย่างต้นพืชเก็บต้วอย่างต้นพืชใส่ถุงพลาสติกรัดปากถุงให้แน่นนำกลับมาตรวจที่ห้องปฏิบัติการ

1.2 ตัวอย่างดินปลูกเก็บตัวอย่างดินบริเวณทรงพุ่มความลึกอยู่ในช่วงประมาณ 0-25 เซนติเมตร จำนวน 10 จุดต่อต้นคลุกเคล้ารวมกันแล้วเก็บตัวอย่าง500 กรัมนำใส่ถุงพลาสติกรัดปากถุงให้แน่นนำกลับมาตรวจที่ห้องปฏิบัติการ

1.3 ตัวอย่างวัสดุปลูกในตัวอย่างพืชที่เป็นไม้ประดับปลูกในวัสดุปลูก นำวัสดุปลูกคลุกเคล้ารวมกันแล้วเก็บตัวอย่าง 500 กรัม นำใส่ถุงพลาสติกรัดปากถุงให้แน่นนำกลับมาตรวจที่ห้องปฏิบัติการ

2. การแยกเชื้อไส้เดือนฝอย

2.1 ตัวอย่างต้นพืชใช้ Ultrasonicatorหรือ Baerman funnel method หรือ mist chamber method

2.2 ตัวอย่างดินและตัวอย่างวัสดุปลุกใช้วิธี Cobb sieving และ Baerman funnel method

3. การตรวจหาไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและหรือกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง

4. การเพาะเลี้ยงและเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอย

4.1 เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในชิ้นแครอท

เมื่อตรวจพบไส้เดือนฝอยแล้วใช้เข็มเขี่ยขนาดเล็กหรือไม้ไผ่เหลาให้ปลายเล็ก เขี่ยไส้เดือนฝอยแต่ละตัวลงในจานเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อและ streptomycin sulfate0.1% หลังจากนั้น เขี่ยไส้เดือนฝอยแต่ละตัวลงในอาหารแครอท โดยใช้ระยะเวลาในการบ่มที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1 เดือนเพื่อให้ไส้เดือนฝอยเจริญครบวงชีวิต 1รอบการเตรียมอาหารแครอท ฆ่าเชื้อผิวเปลือกของแครอท โดยการจุ่มลงในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์แล้วเผาไฟจากนั้นปลอกเปลือกแครอทที่ไหม้ออก ตัดเป็นชิ้นหนาประมาณ 1 เซนติเมตร ใส่ในจานเลี้ยงเชื้อที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ทุกขั้นตอนทำงานอยู่ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ รอให้เกิดแคลลัสบนชิ้นแครอท ประมาณ 1-2 สัปดาห์จึงนำมาใช้ได้

4.2 เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในพืชอาศัย

นำไส้เดือนฝอยที่ได้ เพาะเลี้ยงในพืชอาศัยเดิมเช่น พบในกล้วยนำมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในกล้วยพบในหน้าวัวนำมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในหน้าวัว เป็นต้น

5. การทำสไลด์ไส้เดือนฝอย

ทำสไลด์ถาวรของไส้เดือนฝอยอย่างรวดเร็วตามวิธีการของ Alexander Y. Ryss ดังนี้บรรจุไส้เดือนฝอยลงในหลอด microcentrifuge ซึ่งบรรจุในน้ำปริมาตร 10 µl และเตรียมหลอดบรรจุ formalin ปริมาตร 10 µl แช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 95 ^{o}C แล้วถ่ายลงในหลอดที่บรรจุไส้เดือนฝอยนำหลอดไส้เดือนฝอยที่ได้แช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 80 ^{o}C เป็นเวลา 20-40 นาที จากนั้นนำออกมาไว้ที่อุณหภูมิห้องแล้วย้ายไส้เดือนฝอยใส่ในถ้วยนับตัวอย่าง จากนั้นเขี่ยไส้เดือนฝอยแต่ละตัวจากถ้วยนับตัวอย่างใส่ลงในสารละลาย glycerin + distilled water (1:20) บนสไลด์หลุมแล้วนำสไลด์ที่ได้วางบน hotplate ที่ 70^{o}C นาน 15-20 นาที เมื่อน้ำระเหยหมดผิวของสารละลายจะเรียบและจะได้ไส้เดือนฝอยที่อยู่ใน anhydrous glycerinตรวจดูไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เมื่อไม่พบการหดตัวของผนังลำตัวไส้เดือนฝอย ก็สามารถนำไส้เดือนฝอยไปใช้ในการทำสไลด์ถาวรได้

5.1 การเตรียมสไลด์ถาวร

หลังจากผ่านการเตรียมตัวอย่างไส้เดือนฝอยแล้วนำมาวางลงในสไลด์โดยหยด glycerol ลงบนสไลด์แก้วเขี่ยไส้เดือนฝอยที่เตรียมไว้จัดเรียงเป็นแถวโดยใช้ไม้เขี่ยกดให้ทุกตัวติดกับผิวสไลด์อย่าให้ตัวลอยจัดเรียงให้สวยงามง่ายแก่การดูรายละเอียดต่างๆภายใต้กล้อง ก่อนปิดcover slipวางglass rod ที่มีขนาดเท่าขนาดไส้เดือนฝอยไว้ขอบสไลด์แล้วปิดcover slip ยาแนวขอบด้วยยาทาเล็บให้สนิท

6. การเก็บรักษาสไลด์ถาวร

ควรเก็บไว้ในกล่องสไลด์ แยกแต่ละชนิดไว้โดยแต่ละกล่องมีป้ายบอกชนิดติดอยู่บนสันกล่อง ก่อนนำสไลด์เก็บควรแน่ใจว่ายาแนวขอบสไลด์แห้งสนิทดีแล้ว มิฉะนั้นเมื่อวางแนวตั้งจะทำให้ไส้เดือยฝอยไหลไปอยู่ที่ขอบสไลด์ ซึ่งจะทำให้เห็นรายละเอียดไม่ชัดเจน

7. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus*

โดยเปรียบเทียบกับเอกสารการจัดจำแนกชนิด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง โดยมีลักษณะสำคัญที่ต้องบันทึก อาทิ ความยาวและเส้นผ่านศูนย์กลาง ลำตัว ความสูงบริเวณริมฝีปาก เส้นผ่านศูนย์กลางของริมฝีปาก ความยาวของ stylet ความกว้างของฐานของ stylet ความยาวและเส้นผ่านศูนย์กลางของ oesophagus ค่า De Man's ratios เช่น ค่า a (อัตราส่วนของความยาวลำตัวต่อเส้นผ่านศูนย์กลางลำตัว) ค่า b (อัตราส่วนของความยาวลำตัวต่อความยาวของ oesophagus) ค่า c (อัตราส่วนของความยาวลำตัวต่อความกว้างของหาง) ค่า c$^{\prime}$(อัตราส่วนของความกว้างของหางต่อความกว้างลำตัว)เป็นต้น

8. เก็บสไลด์ถาวรของไส้เดือนฝอยสกุล*Radopholus* และมีเอกสารรับรองกำกับ (voucherspecimens)ตาม ISPM No.6 ซึ่งมีรายละเอียด เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ของศัตรูพืชและพืชอาศัย สถานที่เก็บตัวอย่าง พิกัดทางภูมิศาสตร์วันเดือนปีที่เก็บและชื่อผู้เก็บ วันเดือนปีที่จำแนกชนิดและชื่อผู้จำแนกชนิดวันเดือนปีการพิสูจน์ยืนยันและชื่อผู้พิสูจน์ยืนยัน เป็นต้น

9. บันทึกถ่ายภาพลักษณะทางสัณฐานของไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus*ที่สำคัญภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง

10. วิเคราะห์ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานของไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus* เพื่อจัดจำแนกชนิด

เวลาและสถานที่

ระหว่าง ตุลาคม 2559 ถึง กันยายน 2561

กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในไม้ประดับเพื่อการส่งออกนี้ ระหว่าง ตุลาคม 2560 ถึง กันยายน 2561 รวมทั้งสิ้นจำนวน 900 ตัวอย่าง พบไส้เดือนฝอย *Radopholus* 10 ตัวอย่าง ซึ่งในการวินิจฉัยเบื้องต้น สามารถระบุได้เพียงระดับสกุล ดังแสดงใน ภาพที่ 1-3 ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ ไส้เดือนฝอย *Radopholus* ที่พบ ยังไม่สามารถระบุชนิดได้ เพราะยังต้องศึกษาในรายละเอียดเพิ่มเติมเนื่องจากยังมีหลายลักษณะที่ยังไม่สามารถมองเห็นได้อย่างชัดเจน ซึ่งอาจจะเกิดจากเทคนิคการเตรียมสไลด์ และการใช้กล้อง ซึ่งผู้วิจัยกำลังปรับปรุง เพื่อให้งานออกมาสมบูรณ์

ส่วนการศึกษา Morphometric ยังไม่สามารถทำได้ เนื่องจากผู้วิจัยพบว่าค่าที่ได้จากการวัดตัวอย่าง โดยโปรแกรมการวัดขนาดมีความผิดปกติ ซึ่งกำลังหาสาเหตุของความผิดปกติ เพื่อปรับแก้ไข

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการตรวจตัวอย่างพืชส่งออกจากแหล่งปลูกไม้ประดับส่งออก กรุงเทพฯ จังหวัดนครราชสีมา และจังหวัดฉะเชิงเทรา ทั้งหมด 900 ตัวอย่าง พบไส้เดือนฝอย *Radopholus* 10 ครั้ง นำไส้เดือนฝอยดังกล่าวเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณในอาหารแครอท ทำสไลด์ไส้เดือนฝอย ตรวจวินิจฉัยภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง เปรียบเทียบกับ เอกสารคำนิยามชนิดของไส้เดือนฝอยในสกุล *Radopholus* ที่มี 8 ชนิด จากไส้เดือนฝอยในสกุล *Radopholus* ที่มีทั้งสิ้น 30 ชนิด ได้แก่ 1. *Radopholus similis* 2. *R. citrophilus* 3. *R. duriophilus* 4. *R. allius* 5. *R. brassicae* 6. *R. nativus* 7. *R. arabocoffeae* และ 8. *R. musicola* แต่ยังไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นชนิดใด เนื่องจากเนื่องจากยังมีหลายลักษณะที่ยังไม่สามารถมองเห็นได้อย่างชัดเจน ซึ่งอาจจะเกิดจากเทคนิคการเตรียมสไลด์ และการใช้กล้อง ซึ่งผู้วิจัยกำลังปรับปรุง เพื่อให้งานออกมาสมบูรณ์ และในส่วนการศึกษา Morphometric ยังไม่สามารถทำได้ เนื่องจากผู้วิจัยพบว่าค่าที่ได้จากการวัดตัวอย่าง โดยโปรแกรมการวัดขนาดมีความผิดปกติ ซึ่งกำลังหาสาเหตุของความผิดปกติ เพื่อปรับแก้ไขจากช่างเทคนิคของบริษัท

คำขอบคุณ

-

เอกสารอ้างอิง

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2551. Burrowing Nematode ศัตรูพืชกักกันของไม้น้ำส่งออก. *ข่าวอารักขาพืช*. 3(3): 3.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และ ช่อทิพย์ ศัลยพงษ์. 2556. อนุกรมวิธานและชีววิทยาของไส้เดือนฝอยสกุล Radopholus. หน้า 2485-2489. *ใน : รายงานผลการวิจัยประจำปี 2556*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

Cobb, N.A. 1915. *Tylenchulus similis*, the cause of a root disease of sugarcane and banana. *J. Agric. Res*. 4: 561-568.

Haegeman, A., A. Elsen, D. Dewaele and G. Gheysen. 2010. Emerging molecular knowledge on *Radopholus similis*.an important nematode pest of banana. *Mol. Plant Pathol*. 11(3): 315-323.

Hooper, D.J. and K. Evans. 1993. Extraction identification and control of plant parasitic nematodes, pp.1-59. *In* : K. Evans, D.L. Trudgill and J.M. Webster., eds. *Plant parasitic nematodes in temperate agriculture.* CAB International, Wallingford, UK.

Luc, M. 1987. A reappraisal of Tylenchina (Nemata). 7. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. (Online). Available. http://www.freshfromflorida.com/pi/enpp/nema/nemacirc/nem093.pdf; (November 22, 2011).

Nguyen, N.C., S.A. Subbotin, M. Madani, P. Trinh, and M. Qandmoens. 2003. *Radopholus duriophilus*sp.n. (Nematoda: Pratylenchidae) from Western Highland of Vietnam. *International Journal of Nematology*. 5(4): 549-558.

Quénéhervé, P. 2009. Integrated management of banana nematodes, pp.3-61. *In* : A. Ciancio and K.G.Mukerji., eds. ***I****ntegrated managementof fruit crop sand forest nematodes****.*** Springer, Dordrecht, Netherlands.

Ramana, K.V., C. Mohandas and R. Balakrishan. 1987. Role of plant parasitic nematodes in the slow wilt disease Complex of black pepper (*Piper nigrum* L.) in Kerala. *Indian Journal of Nematology*. 17: 225-230.

Roland, N.P and M. Moens. 2006. *Plant Nematode*. CABI. 447p.

Ryss, A.Y. 2003. Taxonomy, evolution and phylogeny of the genus *Radopholus* (didelphic species) according to morphological data, with a keytospecies (Nematoda: Tylenchida). *Zoo systematica Rossica* 11: 243–256.

Siddiqi, M. R. 1986. *Tylenchida: Parasites of plant sand insects.* Slough, UK, Commonw. Inst. Parasitol., *ix.* 645 p.

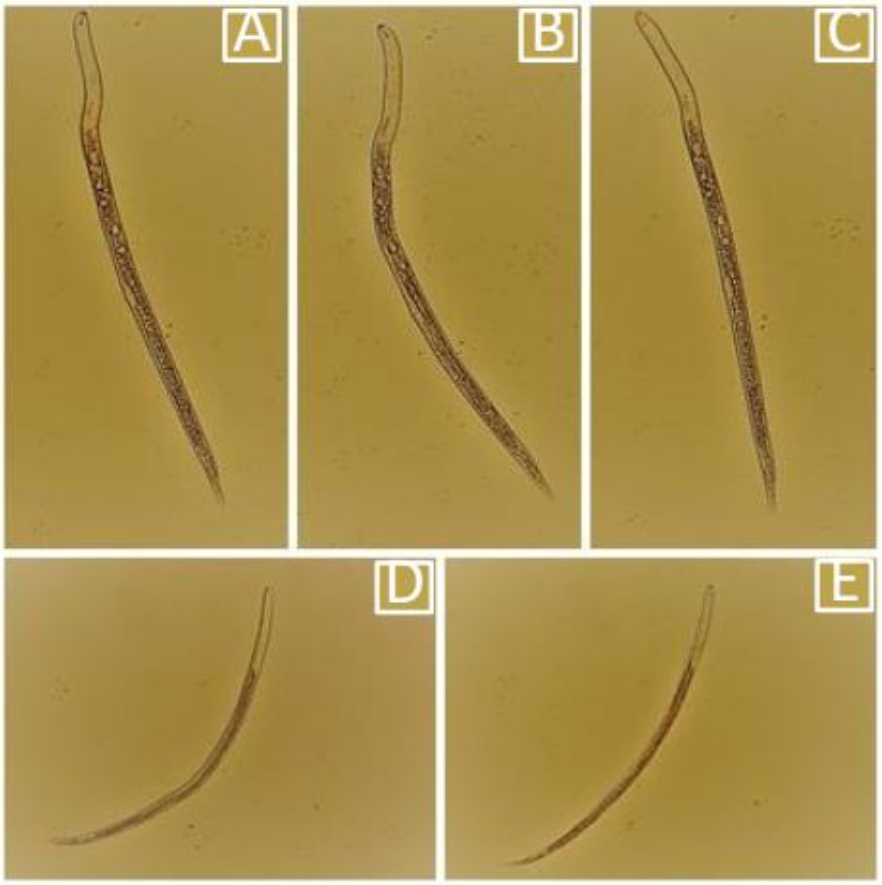
_____. 2000. Tylenchida*:* parasites of plant sand insects. 2nd ed. CABI Publishing Wallingford, UK. 852 p.

Tan, M., J. Cobon, E. Aitken and L.G.Cook. 2010. *Support for the"out-of-South east Asia" hypothesis for the origin of Australian populations of Radopholus similis (Cobb, 1893) Nematoda: Pratylenchidae. Syst. Parasitol*. 77(3): 175-183.

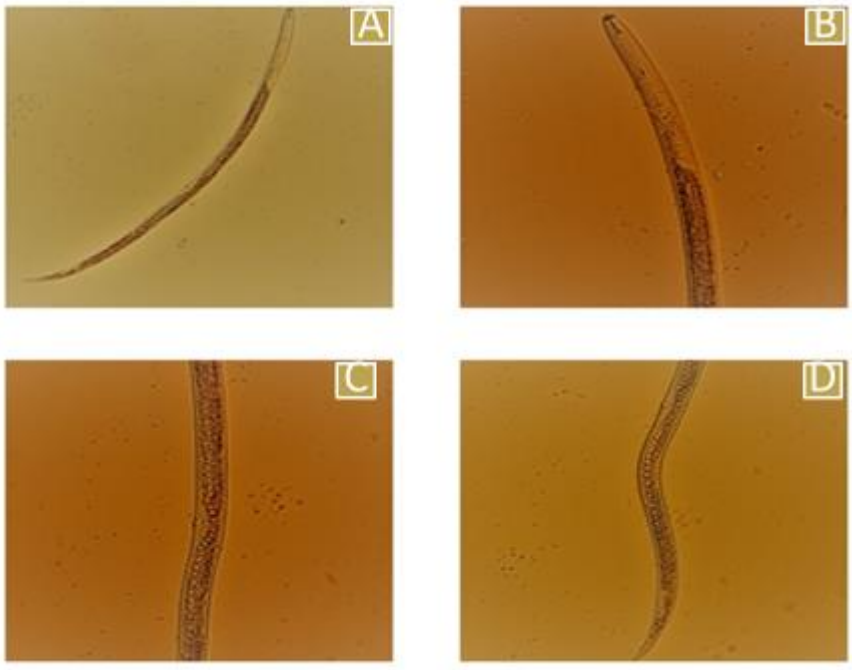
Thorne, G. 1961. *Principles of nematology.* McGraw-HillBook Company, New York. 553 p.

Trinh, P.Q., N.C. Nguyen, L. Waeyenberge, S.A. Subbotin, G. Karssen, and M. Moens. 2004. *Radopholus arabocoffeae* sp. n. (Nematoda: Pratylenchidae), a nematode pathogenic to Coffea arabica in Vietnam, and additional data on *R. duriophilus*. *International Journal of Nematology* 6(5): 681-693.

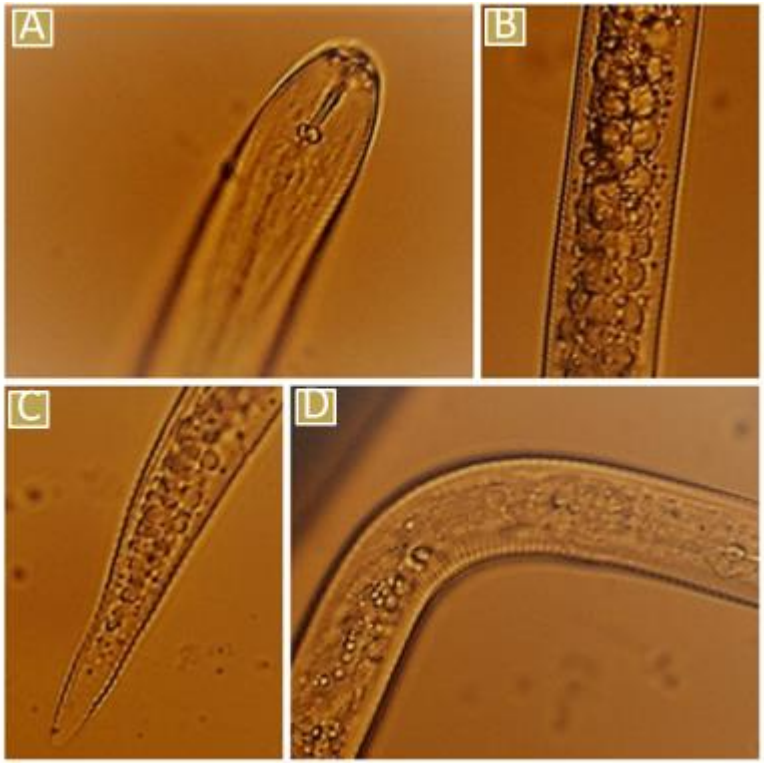
Volcy, C. 2011. Past and present of the nematode *Radopholus similis* (Cobb) Thorne with emphasis on Musa. *A review, Agron. Colomb*. 29(3).



ภาพที่ 1 A-E ไส้เดือนฝอย *Radopholus* spp.



ภาพที่ 2 ไส้เดือนฝอย *Radopholus* spp. : A- ทั้งตัว B-ส่วนหัว C-ส่วนกลางลำตัว D-ส่วนหาง



ภาพที่ 3 ไส้เดือนฝอย *Radopholus* spp. : A-ส่วนหัว B-ลำตัว C-หาง D-ลำตัว