

จากการเก็บตัวอย่างดินในแหล่งปลูกพืชชนิดต่างๆใน 6 จังหวัดของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ ขอนแก่น, ร้อยเอ็ด, เลย, หนองบัวลำภู, อุดรธานี และอุบลราชธานี แล้วนำมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยรากปมกับมะเขือเทศพันธุ์สิดา พบไส้เดือนฝอยรากปมรวมทั้งหมด 24 ตัวอย่าง ซึ่งส่วนใหญ่เป็นตัวอย่างในพื้นที่ที่มีการปลูกผัก เมื่อนำไส้เดือนฝอยรากปมไปตรวจสอบชนิด (species) โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรูปแบบรอยย่นส่วนก้น (perineal pattern) ของตัวเต็มวัยเพศเมีย สามารถจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยรากปมได้ 2 ชนิด คือ *Meloidogyne javanica* และ *M. incognita* พบว่าในหลายพื้นที่มีไส้เดือนฝอย *M. incognita* และ *M. javanica* อาศัยอยู่ปะปนกัน (mixed population) และมีสัดส่วนของจำนวนประชากร *M. incognita* มากกว่า *M. javanica* ยกเว้นหนึ่งตัวอย่างจาก จ. อุบลราชธานี ในบางพื้นที่พบไส้เดือนฝอยรากปมเพียงชนิดเดียว (single population) ซึ่งส่วนใหญ่เป็น *M. incognita* รูปแบบรอยย่นส่วนก้นของตัวอย่างที่เป็นประชากร *M. incognita* มีความแปรปรวนค่อนข้างมาก

จากการทำ single egg-mass inoculation แล้วตรวจสอบรอยย่นส่วนก้นได้ประชากรไส้เดือนฝอยรากปมบริสุทธิ์ทั้งหมด 11 ประชากร เป็นกลุ่ม *M. incognita* 8 ประชากร และเป็นกลุ่ม *M. javanica* 3 ประชากร ซึ่งใช้เป็นตัวแทนของประชากรไส้เดือนฝอยรากปมไปทดสอบกับพืชจำเพาะ (differential host) และใช้วิธีการทางชีวโมเลกุลในการจำแนก species และ race เมื่อนำไส้เดือนฝอยรากปมบริสุทธิ์ทั้ง 11 ประชากร ไปทดสอบกับพืชทดสอบจำเพาะ 8 สายพันธุ์ คือ ยาสูบ พันธุ์ Burley Ky14, ฝ้ายพันธุ์ Deltapine, พริกพันธุ์ KKU และพันธุ์ Yellow Star 1500, แตงโมพันธุ์ Ban Phai 999, ถั่วลิสงพันธุ์ KK 4 และพันธุ์ Tainan 9 และมะเขือเทศพันธุ์ Sida โดยประเมินความรุนแรงของการเกิดรากปมในพืชทดสอบ เมื่อเปรียบเทียบกับตารางปฏิบัติการตอบสนองของพืชมาตรฐานของ North Carolina Differential Host Test ปรากฏว่าทั้ง 3 ประชากร ของกลุ่ม

*M. javanica* (KK101S, Lo101S และ RE205S) และ 3 ประชากรของกลุ่ม *M. incognita* (RE204S, RE302S และ KK201S) ให้ผลสอดคล้องกับชุดพืชทดสอบของ North Carolina ขณะที่ 5 ประชากรของกลุ่ม *M. incognita* (NB102S-1, NB102S-2, RE203S-1, RE203S-2 และ RE203S-3) ให้ปฏิกิริยาแตกต่างจากชุดพืชทดสอบของ North Carolina ในสายพันธุ์พริกทั้ง 2 สายพันธุ์ที่ใช้ (ให้ปฏิกิริยาเป็นลบ แทนที่จะเป็นบวกสำหรับ *M. incognita*) ในกลุ่มประชากร *M. incognita* ที่ได้ผลสอดคล้องกับพืชจำเพาะมาตรฐาน (ให้ปฏิกิริยาเป็นบวกกับพริก) สามารถจัดจำแนกได้เป็น *M. incognita* race 2 จำนวน 2 ประชากร คือ RE302S กับ KK201S ส่วน *M. incognita* race 4 มี 1 ประชากร คือ RE204S

จากการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอในตัวอ่อนระยะที่ 2 และตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยรากปมอย่างละ 1 ตัว ด้วยเทคนิค RAPD เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPA-01 สามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่เป็น *M. javanica* และไม่ใช่อันได้ โดยพบว่าลายพิมพ์ดีเอ็นเอในกลุ่มที่เป็น *M. javanica* ทั้ง 3 ประชากรมีลักษณะเหมือนกันทุกประการ และในกลุ่มที่ไม่ใช่ *M. javanica* สามารถแยกได้เป็น 2 กลุ่มย่อย ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบด้วยพันธุ์พืชจำเพาะ คือ มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ให้ผลบวก (+) ในพริก (ประชากร RE204S, RE302S และ KK201S) กับกลุ่มที่ให้ผลเป็นลบ (-) ในพริก (ประชากร NB102S-1, NB102S-2, RE203S-1, RE203S-2 และ RE203S-3) เทคนิค RAPD-PCR ที่ใช้ไพรเมอร์ OPA-01 นี้จึงสามารถแยกความแตกต่างระหว่าง species ได้ แต่ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่าง race ที่จำแนกด้วยพืชทดสอบจำเพาะได้

Twenty-four soil samples collected from growing fields in 6 northeast provinces namely Khon Kaen, Roi Et, Loei, Nong Bua Lam Phu, Udon Thani, and Ubon Ratchathani were potted and planted to tomato for multiplication of root-knot nematode (RKN) females. Initial identification of the nematode species by using perineal pattern morphology of adult females, found that there were two root-knot nematode species, *Meloidogyne javanica* (MJ) and *M. incognita* (MI). In 13 soil samples the two nematode species were present in mixed populations, in which population of MI was predominant. From 11 soil samples containing single species, eight samples were MI and 3 samples were MJ. There were some degrees of variations in perineal pattern morphology of MI populations.

Eleven pure (single) populations of the two species were prepared with single egg-mass inoculations on tomato and identified with perineal patterns. The single populations: 8 populations of MI and 3 populations of MJ, were reproduced on tomato for differential host test and molecular identification. Eight plant varieties, namely tobacco cv. Burley Ky14, cotton cv. Deltapine, pepper cv. KKU and cv. Yellow Star 1500, watermelon cv. Ban Phai 999, peanut cv. KK4 and cv. Tainan 9 and tomato cv. Sida were selected for evaluation of root galling responses to nematode populations, compared with North Carolina differential host standard. The three populations of MJ (KK 101S, Lo 101S and RE 205S) and 3 populations of MI (RE204S, RE302S and KK201S) resulted in similar responds as North Carolina differential host test, whereas 5 populations of MI (NB102S-1, NB102S-2, RE203S-1, RE203S-2 and RE203S-3) differed on pepper responses (negative). The three population of MI with positive responses on pepper were separated into 2 races: population RE302S and KK201S were race 2 and population RE204S was race 4.

Single juveniles (stage 2) and adult females of 8 single populations of MI and 3 single populations of MJ were used for DNA identification. The random amplified polymorphic DNA-PCR (RAPD-PCR) using primer OPA-01 was performed for DNA fingerprint. DNA fingerprints from single juveniles of 3 populations of MJ were identical, and different from those of 8 populations of MI. Those of MI were also separated into 2 subgroups, corresponding to 2 subgroups producing different responses on pepper varieties of differential host test. In this study RAPD-PCR with primer OPA-01 could be used to differentiate root-knot nematode species, but not races.