

ศักยภาพของเชื้อ *Streptomyces*-PR87 ปฏิปักษ์ และวิธีการใช้ สำหรับควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) ในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

The potential of antagonistic *Streptomyces* -PR87 and application method to control root knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in green house condition

รัตติกาล ยุทธศิลป์¹, เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล^{1,2*} และ อนันต์ หิรัญสาลี¹

Rattikan Yutthasin¹, Petcharat Thummabenjapone^{1,2*} and Anan Hiransalee¹

บทคัดย่อ: ไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) เป็นสาเหตุโรครากปมของพืชเศรษฐกิจหลายชนิด งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ *Streptomyces*- PR87 ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในระดับห้องปฏิบัติการและโรงเรือนปลูกพืชทดลอง ผลการวิจัยพบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces*-PR87 ที่เลี้ยงในอาหาร Arginine glycerol mineral salt broth นาน 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 50, 75 และ 100% สามารถยับยั้งการฟักไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) จำนวนเฉลี่ยของ J2 ต่อ 5 กลุ่มไข่คือ 37.67, 6.67 และ 3.33 ตัว ตามลำดับ เปรียบเทียบกับการฟักไข่ในน้ำมีตัวอ่อน J2 เฉลี่ย 136.33 ตัว ความเข้มข้นของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces*-PR87 ที่ทำให้ตัวอ่อน J2 ตายได้ 100% ภายใน 48 ชั่วโมง คือความเข้มข้น 75 และ 100% ผลการวิจัยในสภาพโรงเรือน พบว่า การใช้เชื้อ *Streptomyces*- PR87 ทุกรูปแบบช่วยลดการเกิดโรครากปมมะเขือเทศและลดจำนวนไข่ต่อระบบรากของมะเขือเทศทั้งสองสายพันธุ์ที่นำมาทดสอบ (พันธุ์สีดาและเพชรลานนา 731) ได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยในมะเขือเทศพันธุ์เพชรลานนา 731 กรรมวิธีที่ใช้เชื้อทั้งในรูปแบบน้ำเลี้ยงเชื้อ หรือ สารแขวนลอยเซลล์ตั้งแต่ระยะกล้าถึงย้ายปลูก หรือใช้หัวเชื้อฟัสมอสตั้งแต่เพาะกล้าและรอกันหลุมปลูก ลดการเกิดโรครากปมได้ 46.80, 20.00 และ 36.00% ตามลำดับ และลดจำนวนไข่ต่อระบบรากได้ 33.36, 19.10 และ 37.36 % ตามลำดับ ซึ่งมีประสิทธิภาพไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้สารเคมีกำจัดไส้เดือนฝอยที่ลดจำนวนไข่ต่อระบบรากได้ 22.73 % ส่วนในมะเขือเทศพันธุ์สีดา พบว่ากรรมวิธีที่ใช้น้ำเลี้ยงเชื้อ หรือ สารแขวนลอยเซลล์ ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงย้ายปลูก ลดการเกิดโรครากปมได้ 46.11 และ 10.18% และลดจำนวนไข่ของไส้เดือนฝอยได้ดีที่สุด คือ 66.88 และ 52.34%

คำสำคัญ: แอคติโนมัยซีด การควบคุมโดยชีววิธี ไส้เดือนฝอยรากปม มะเขือเทศ

¹ สาขาโรคพืชวิทยา ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
Plant Pathology Division, Dept. of Plant Science and Agricultural Resources, Faculty of Agriculture,
Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand.

² ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น
Agricultural Biotechnology Research Center for Sustainable Economy, Khon Kaen University, Khon Kaen
40002, Thailand.

* Corresponding author: petsir@kku.ac.th

ABSTRACT: The root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) caused root knot disease of several economic crops. This research aims to evaluate the potential of antagonistic *Streptomyces*-PR87 to control root knot nematode under laboratory condition and determines the suitable application to tomato root knot disease on under green house condition. The results showed that the culture filtrate of *Streptomyces*-PR87 obtained from 7 days old culture in Arginine glycerol mineral salt broth at concentration of 50, 75 and 100% significantly inhibited egg hatching of *M. incognita* at average of the number of second-stage juvenile (J2) larvae per 5 egg masses with 37.67, 6.67 and 3.33 larvae of J2 per 5 egg masses, respectively compared of 136.33 J2 from 5 egg masses in distilled water. The J2 larvae were completely killed within 48 hours by the 75 and 100% of *Streptomyces*-PR87 culture filtrate solutions. In green house condition, all application methods of antagonistic *Streptomyces*-PR87 significantly reduced root gall index and number of egg per root system of two varieties of tomato (Sida and Petlanna 731) compared to disease control treatment. For variety Petlanna 731, all application methods including drenching with culture filtrate, or drenching with cell suspension or using Strep-peat moss mixed in medium and before transplanting were decreased the severity of root knot disease by 46.80 20.00 and 36.00%, respectively, and number of root knot nematode eggs retrieved per root of tomato plant were decreased by 33.36, 19.10 and 37.36%, respectively, compared to disease control which as well as chemical nematicide treatment was decreased 22.73%. For tomato var. Sida, the most appropriate application method to control root knot disease was drenching with culture filtrate or drenching with cell suspension decreased root knot disease by 46.11 and 10.18% and decreased eggs per root system by 66.88 and 52.34% compared to disease control.

Keywords: Actinomycetes, biocontrol, root-knot nematode, tomato nematode

บทนำ

ไส้เดือนฝอยรากปมทำความเสียหายแก่พืชปลูกที่สำคัญหลายชนิด ทั้งพืชผัก ไม้ผล และไม้ดอก ที่ปลูกในเขตร้อน เขตอบอุ่นและเขตหนาว (Eisenback and Triantaphyllou, 1991) การควบคุมไส้เดือนฝอยศัตรูพืชไม่ให้เกิดความเสียหายกับพืชจนถึงระดับทางเศรษฐกิจ (economic threshold) สามารถปฏิบัติได้หลายวิธี แต่เนื่องจากไส้เดือนฝอยรากปมมีพืชอาศัยกว้าง ลักษณะการเข้าทำลายอยู่ที่ส่วนของพืชใต้ดิน ไส้เดือนฝอยรากปมเพิ่มจำนวนได้ครั้งละมาก ๆ และรวดเร็ว ทำให้การจัดการโรครากปมทำได้ยากกว่าการจัดการศัตรูพืชชนิดอื่นๆ การใช้สารเคมีกำจัดไส้เดือนฝอยรากปมเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพ สะดวก ใช้ง่าย และได้ผลเร็ว แต่ก็เป็นอันตรายต่อสุขภาพของเกษตรกร ผู้บริโภคผลผลิตจากพืชเหล่านั้นและเป็นอันตรายต่อสภาพแวดล้อม จึงจำเป็นต้องหาแนวทางการจัดการไส้เดือนฝอยรากปมที่ปลอดภัยและเป็นมิตรต่อสภาพแวดล้อม แนวทางการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกซึ่งจากรายงานการวิจัยต่างๆ พบว่ามีแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพสูงควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ เช่น *Streptomyces*, *Pasteuria*, *Pseudomonas* และ *Bacillus* (Dicklow

et al., 1993; Siddiqui and Mahmood, 1999) อย่างไรก็ตามในประเทศไทยยังไม่มีมีการวิจัยด้านการใช้เชื้อ *Streptomyces* ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการนำเชื้อปฏิปักษ์ *Streptomyces* PR-87 ที่มีคุณสมบัติเด่นในด้านการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญหลายชนิด (เพชรรัตน์, 2545) มาประเมินประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ในสภาพห้องปฏิบัติการและโรงเรือนปลูกพืชทดลอง และศึกษารูปแบบที่เหมาะสมของชีวภัณฑ์ *Streptomyces*-PR87 เพื่อลดการเกิดโรครากปมโดยใช้มะเขือเทศเป็นพืชต้นแบบ

วิธีการศึกษา

ประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces*-PR87 ต่อการฟักไข่และตัวอ่อนระยะที่ 2 (J2) ของไส้เดือนฝอยรากปม (*M. incognita*)

การเตรียมเชื้อและน้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces*: นำเชื้อ *Streptomyces* -PR87 มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร Arginine glycerol mineral salt agar (AGMA) 7 วัน แล้วไปเลี้ยงต่อในอาหารเหลว Arginine glycerol mineral salt broth (AGMB) เขย่าด้วยเครื่องเขย่า

ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง นาน 7 วัน นำมากรองแยกส่วนของเซลล์และน้ำเลี้ยงเชื้อ โดยใช้กระดาษกรอง Whatman #1 ที่ปลอดเชื้อ ส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อนำมากรองผ่านเครื่องกรองแบคทีเรียขนาด 0.45 ไมครอน สำหรับใช้ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการฟักออกจากไข่และการฆ่า J2 ของไส้เดือนฝอยรากปม

การเตรียมกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita*: นำรากปมของมะเขือเทศ อายุ 60 วัน มาล้างดินออกให้สะอาด ตัดให้มีขนาด 3-5 ซม. นำไปแช่ในสารละลายคลอรีน 7.5 % (sodium hypochlorite 0.45%) 2 นาที แล้วนำไปล้างด้วยน้ำปลอดเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที จากนั้นนำไปแช่ใน H_2O_2 3 % 10 นาที เพื่อกำจัดปรสิตของไข่ไส้เดือนฝอย แล้วเทผ่านตะแกรงขนาด 25 ไมครอน (500 เมช) เปิดน้ำล้างเป็นเวลา 3 นาที ใช้คีมคีบ (forceps) และเขี่ยเมล็ดเชื้อ แยกกลุ่มไข่ออกจากรากภายใต้กล้องสเตอริโอกำลังขยาย 40 เท่า นำกลุ่มไข่ที่ได้แช่ในสารสเตรปโตมัยซิน ซัลเฟต ความเข้มข้น 1 มก./ล. บ่มข้ามคืนที่อุณหภูมิ 10 °ซ (ตามวิธีการของ McSorley, 2008)

ผลกระทบของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces*- PR87 ในการยับยั้งการฟักไข่ไส้เดือนฝอยรากปม: คัดเลือกกลุ่มไข่ที่มีขนาดเท่ากัน จำนวน 5 กลุ่มไข่ แล่งลงในน้ำเลี้ยงเชื้อที่ระดับเข้มข้น 25, 50, 75 และ 100% ปริมาตร 5 มล./จานปลอดเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 ซม. เปรียบเทียบกับการแช่กลุ่มไข่ในน้ำปลอดเชื้อและอาหาร AGMB นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 25 °ซ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นับจำนวน J2 ที่ฟักจากไข่ภายใต้กล้องสเตอริโอ วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้โปรแกรม Statistic Analysis System (SAS)

ผลกระทบของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces*- PR87 ต่อการมีชีวิตของตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม: นำกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยรากปมมาแช่ในน้ำปลอดเชื้อปริมาตร 20 มล. บ่มที่อุณหภูมิ 25 °ซ 72 ชั่วโมง แล้วใช้เข็มเขี่ย J2 ที่ฟักออกจากไข่ย้ายไปแช่ในน้ำเลี้ยงเชื้อที่ระดับเข้มข้น 25, 50, 75 และ 100% ใน

ปริมาตร 4 มล./จานเลี้ยงเชื้อ โดยใส่จำนวน 50 ตัว/จานเลี้ยงเชื้อ เปรียบเทียบกับน้ำปลอดเชื้อและอาหาร AGMB นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 °ซ ตรวจนับจำนวน J2 ที่หยุดการเคลื่อนที่หลังจากแช่ นาน 24 และ 48 ชั่วโมง จากนั้นย้าย J2 ที่หยุดนิ่งมาแช่ในน้ำปลอดเชื้อ และตรวจนับจำนวน J2 ที่กลับมาเคลื่อนที่ภายหลังจากแช่ นาน 24 และ 48 ชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้โปรแกรม Statistic Analysis System (SAS)

ประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces*- PR87 ในการควบคุมโรครากปม จาก *M. incognita* ในระดับโรงเรือน:

การเตรียมไข่ไส้เดือนฝอย: นำรากปมมะเขือเทศ จากต้นอายุ 60-90 วัน มาล้างด้วยน้ำให้สะอาด จากนั้นตัดให้มีขนาด 3-5 ซม. แช่ในสารละลายคลอรีน 20% (sodium hypochlorite 1.0%) นำไปกวนด้วยเครื่องกวนราก 4 นาที เพื่อแยกไข่ออกจากราก แล้วรินผ่านตะแกรงหยาบ 32 เมช ชีบน้ำไล่ไข่ที่อยู่บนตะแกรงลงในกะละมัง เติมน้ำลงในกะละมังเพื่อเจือจางคลอรีน จากนั้นเทผ่านตะแกรง 500 เมช ชีบน้ำไล่ไข่ไส้เดือนฝอยรากปมที่อยู่บนตะแกรงลงในกะละมังอีกครั้ง ทำเช่นนี้ 3 ครั้ง ในครั้งสุดท้ายชีบน้ำไล่ไข่ที่อยู่บนตะแกรงลงในบีกเกอร์ สุ่มตรวจนับความหนาแน่นของไข่ไส้เดือนฝอยรากปมที่แขวนลอยในน้ำ โดยสุ่มจากบีกเกอร์ครั้งละ 5 มล. เทใส่ภาदनับพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด 6x6 ซม. ซึ่งมีขีดเป็นช่องสี่เหลี่ยมเล็กๆขนาดเท่ากันที่ก้นภาด ตรวจนับภายใต้กล้องสเตอริโอ ทำซ้ำ 3 ครั้ง แล้วคำนวณปรับความหนาแน่นของไข่ให้มีความหนาแน่นประมาณ 5,000 ไข่ในน้ำ 20 มล.

ประสิทธิภาพการควบคุมโรครากปมของมะเขือเทศ: นำเมล็ดมะเขือเทศพันธุ์สีดำ และเพชรลานนา 731 มาฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิว ตามวิธีการของ Mohammed et al. (2008) จากนั้นนำเมล็ดไปเพาะในภาดเพาะขนาด 35x55 ซม. (72 หลุม) เพื่อเตรียม

ต้นกล้า 4 รูปแบบ ได้แก่ ต้นกล้าเพาะในพีทมอสปกติ ต้นกล้าในพีทมอสแต่ราดโคนต้นกล้าด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces*-PR87 ทุก 7 วัน ต้นกล้าที่เพาะในพีทมอสแต่เติมสารแขวนลอยเซลล์เชื้อ *Streptomyces*-PR87 OD2 ทุก 7 วัน และต้นกล้าที่เพาะในพีทมอสผสมหัวเชื้อ *Streptomyces*-PR87 (อัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร) รดน้ำในตอนเช้าทุกวัน หลังเพาะ 21 วัน คัดเลือกต้นกล้าที่มีการเจริญเติบโตสม่ำเสมอ ย้ายมาปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 นิ้ว ที่บรรจุดินผสมทรายและปุ๋ยคอก (1:2:1) ปลอดเชื้อ และเติมไข่ไส้เดือนฝอยจำนวน 5,000 ไข่/กระถาง โดยรองกันหลุมต้นกล้าปกติด้วย Furadan (carbofuran 3%) 2.5 กรัม (FD) ราดโคนต้นกล้าที่ใช้น้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces*-PR87 ด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อ จำนวน 50 มล. และราดโคนต้นเพิ่มทุก 7 วัน จำนวน 6 ครั้ง (CFD) ราดโคนต้นกล้าที่ใช้สารแขวนลอยเซลล์เชื้อ *Streptomyces* -PR87 ด้วยสารแขวนลอยเซลล์จำนวน 50 มล. และราดโคนต้นเพิ่มทุก 7 วัน จำนวน 6 ครั้ง (SCD) รองกันหลุมต้นกล้าที่เพาะในวัสดุผสมหัวเชื้อด้วยหัวเชื้อพีทมอส *Streptomyces* -PR87 จำนวน 100 มล. (SPD) เปรียบเทียบกับต้นกล้าปกติที่ไม่เติมไข่ไส้เดือนฝอย (normal control ,N) และ เติมน้ำไส้เดือนฝอย (disease control, D) นำกระถางมาจัดเรียงบนโต๊ะที่อยู่ในโรงเรือน ตามแผนการทดลองแบบ Randomized complete block design กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ หลังย้ายปลูก 45 วัน ประเมินระดับความรุนแรงของโรค (disease severity) ที่เกิดขึ้นกับระบบรากโดยแบ่งเป็น 0-5 rating scale (0 = 0-10% galled root, 1 = 11- 20% galled root, 2 = 21- 50% galled root, 3 = 51- 80% galled root, 4 = 81- 90% galled root, 5= 91- 100% galled root) โดย Barker (1985) ตรวจนับจำนวนไข่/ระบบรากในแต่ละกระถาง วัดความสูงของต้น ซึ่งน้ำหนักสดของต้นและราก

ผลการศึกษา

ผลกระทบของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces*- PR87 ในการยับยั้งการฟักไข่และการตายของ J2 ไส้เดือนฝอยรากปม

น้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces*-PR87 ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 50, 75 และ 100% สามารถยับยั้งการฟักออกจากไข่ของ J2 ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จำนวนเฉลี่ยของ J2 ต่อ 5 กลุ่มไข่คือ 37.67, 6.67 และ 3.33 ตัว ตามลำดับ ในขณะที่การฟักไข่ในน้ำนิ่งฆ่าเชื้อมี J2 จำนวน 136.33 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการฟักไข่ พบว่ากรรมวิธีใช้น้ำเลี้ยงเชื้อเข้มข้น 50% ขึ้นไป มีประสิทธิภาพยับยั้งการฟักไข่ได้ 72.37-95.35% ส่วนน้ำเลี้ยงเชื้ออัตรา 25% มีผลต่อการฟักออกจากไข่ของ J2 เช่นกัน ถึงแม้ว่าไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ) โดยมีจำนวน J2 เฉลี่ย 93.33 ตัว น้ำเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้น 75 และ 100 % ทำให้ตัวอ่อน J2 ตาย ภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 25 และ 50% ทำให้ตัวอ่อน J2 ตายบางส่วน และมีบางส่วนที่สลบและสามารถฟื้นคืนได้ตามปกติเมื่อย้ายไปแช่ในน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ (% ฟื้นคืนชีพ 83.10 และ 74.40% ตามลำดับ) (Table 1)

ประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces*-PR87 ในรูปแบบต่างๆ ต่อการควบคุมโรครากปมมะเขือเทศ:

จากการทดสอบในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลองพบว่า เชื้อ *Streptomyces*-PR87 ทั้งในรูปแบบของน้ำเลี้ยงเชื้อ สารแขวนลอยเซลล์ หรือหัวเชื้อพีทมอส เมื่อนำมาใช้ในการควบคุมโรครากปมของมะเขือเทศพันธุ์สีดา และพันธุ์เพชรลานนา 731 สามารถลดความรุนแรงของโรครากปม และลดจำนวนไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมต่อระบบรากได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ disease control และประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากปมไม่แตกต่างกับการใช้สารเคมีกำจัดไส้เดือนฝอยศัตรูพืช แต่อาจมีความผันแปรไปตามพันธุ์มะเขือเทศ (Table 2, 3)

ในมะเขือเทศพันธุ์สีดา พบว่าการใช้ส่วนของน้ำเลี้ยงเชื้อ หรือสารแขวนลอยเซลล์ของ *Streptomyces*-PR87 ตั้งแต่ระยะเพาะกล้าจนถึงย้ายปลูก ภาควิชาโรคพืช ทุกสัปดาห์ 6 ครั้งติดต่อกัน ลดการเกิดโรครากปม และลดจำนวนไข่ต่อระบบรากได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งในทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ disease control การใช้ส่วนของน้ำเลี้ยงเชื้อลดการเกิดโรครากปม และจำนวนไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุดไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้สารเคมีฟูราดาน รอกันหูลมปลูก ส่วนวิธีการที่มีประสิทธิภาพควบคุมโรครากปมของมะเขือเทศพันธุ์สีดาได้รองลงมาคือ การใช้สารแขวนลอยเซลล์ *Streptomyces*-PR87 นอกจากนี้มีข้อสังเกตว่าน้ำหนักรากของส่วนลำต้นมะเขือเทศในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อ *Streptomyces*-PR87 ทั้งสองรูปแบบมีน้ำหนักมากกว่าต้นที่ได้จากกรรมวิธีใช้สารเคมีกำจัดไส้เดือนฝอย

มะเขือเทศพันธุ์เพชรลานนา 731 มีความอ่อนแอต่อไส้เดือนฝอยรากปมมากกว่ามะเขือเทศพันธุ์สีดา การใช้เชื้อ *Streptomyces*-PR87 ตั้งแต่การเตรียมต้นกล้าและหลังย้ายปลูกในกระถางติดต่อกันจำนวน 6 ครั้ง ทั้งรูปแบบน้ำเลี้ยงเชื้อ หรือ สารแขวนลอยเซลล์

หรือ การใช้หัวเชื้อพีทมอสตั้งแต่ระยะกล้าและรอกันหูลมปลูกเพียงครั้งเดียว สามารถลดการเกิดโรครากปมและจำนวนไข่ต่อระบบรากของมะเขือเทศพันธุ์เพชรลานนา 731 ได้เป็นอย่างมาก ไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้สารเคมีกำจัดไส้เดือนฝอยรอกันหูลม แต่เมื่อพิจารณาจากการลดจำนวนไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมต่อระบบรากแล้วการใช้ *Streptomyces*-PR87 ในทุกรูปแบบมีแนวโน้มดีกว่าการใช้สารเคมี (Table 2)

ผลกระทบของไส้เดือนฝอยรากปมต่อการเจริญเติบโตทางความสูง มวลของลำต้นและระบบรากของต้นมะเขือเทศ อายุ 45 วันหลังย้ายปลูก ยังไม่มีความแตกต่างทางสถิติในมะเขือเทศพันธุ์เพชรลานนา 731 แต่มีความแตกต่างทางสถิติในส่วนช่อดอกของมวลต้นในมะเขือเทศพันธุ์สีดาของกรรมวิธีที่ใช้เชื้อ *Streptomyces*-PR87 มีค่าสูงกว่ากรรมวิธีที่มีไส้เดือนฝอยรากปมเพียงอย่างเดียว ส่วนมวลรากไม่สามารถนำมาใช้ประเมินประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อ *Streptomyces*-PR87 ได้ เนื่องจากระบบรากที่มีไส้เดือนฝอยรากปมเข้าทำลายมากมีน้ำหนักรากของรากสูงกว่าในกรรมวิธีอื่นๆ (Table 3)

Table 1 Effects of culture filtrate from *Streptomyces* -PR87 to percentage of *Meloidogyne incognita* egg hatching and J2 mortality.

Treatment	Hatched egg		J2 paralyzed (%) after		J2 recovery (%) after	
	No. J2 / 5 egg mass ¹	Hatch inhibition after 3 days (%)	24 (hr) ¹	48 (hr) ¹	24 (hr) ¹	48 (hr) ¹
CF 0 % (dH ₂ O)	136.33 a	0	1.10c	1.10d	0.00d	0.00c
CF 25 %	92.33 a	32.27	22.20b	33.30b	77.20b	83.10b
CF 50 %	37.67 b	72.37	94.40a	100.00a	24.40c	74.40b
CF 75 %	16.00 bc	88.26	97.80a	100.00a	0.00d	0.00c
CF 100 %	6.33 c	95.35	100.00a	100.00a	0.00d	0.00c
AGMB	105.33a	22.74	0.00c	16.70c	100.00a	100.00a
CV %	22.84	-	8.96	9.66	23.43	18.10

% Hatch inhibition = {(No. of J2 hatch in dH₂O - No. of J2 hatch in Treatment.) / No. J2 hatch in Treatment} x 100

% J2 Mortality = {No. of mortal J2 / total number of J2} x 100

% J2 Recovery = {No. of recovered J2 / total number of J2} x 100

¹Means within the same column with a common letter are not significantly different at P < 0.01 by DMRT.

Table 2 Effects of *Streptomyces* -PR87 on infestation of *Meloidogyne incognita* in two varieties of tomato plant.

Treatment	var. Sida				var. Petlanna 731			
	Root gall index ¹	Reduction of root gall over D (%)	No. egg/root system ¹	Reduction of eggs over D (%)	Root gall index ¹	Reduction of root gall over D (%)	No. egg/root system ¹	Reduction of eggs over D (%)
CD	1.10 cd	34.13	6.59 x 10 ³ c	77.99	1.78 bc	28.80	1.79 x 10 ⁴ cb	22.73
CFD	0.90 d	46.11	9.92 x 10 ³ bc	66.88	1.33 c	46.80	1.45 x 10 ⁴ c	37.36
SCD	1.50 bc	10.18	1.46 x 10 ⁴ b	51.34	2.00 ab	20.00	1.87 x 10 ⁴ b	19.10
SPD	2.10 a	-25.75	2.35 x 10 ⁴ a	21.47	1.60 bc	36.00	1.45 x 10 ⁴ c	37.36
N	0.00 e	0.00	0.00 d	0.00	0.00 e	0.00	0.00 d	0.00
D	1.67 ab	-	3.00 x 10 ⁴ a	-	2.50 a	-	2.31 x 10 ⁴ a	-
C.V. (%)	15.45	-	17.86	-	13.65	-	10.28	-

¹Means within the same column with a common letter are not significantly different at P < 0.01 by DMRT.

D = disease control

Table 3 Effects of *Streptomyces* -PR87 on growth in two varieties of tomato plant.

Treatment	var. Sida			var. Petlanna 731		
	Plant height (cm) ¹	Fresh shoot weight (g) ¹	Fresh root weight (g) ¹	Plant height (cm) ¹	Fresh shoot weight (g) ¹	Fresh root weight (g) ¹
CD	92.30 ^{ns}	31.50 b	3.12 b	93.70 ^{ns}	32.00 ^{ns}	4.22 ab
CFD	94.20	38.50 ab	6.11 ab	97.20	40.00	6.42 a
SCD	84.70	48.00 a	5.37 ab	92.75	35.00	2.93 b
SPD	89.45	41.00 ab	7.96 a	89.50	38.00	4.07 ab
N	95.30	40.00 ab	3.23 b	82.95	31.50	2.54 b
D	85.50	32.00 b	5.51 ab	97.30	41.00	5.99 ab
%C.V.	6.90	14.63	30.55	12.19	24.59	29.38

¹Means within the same column with a common letter are not significantly different at P < 0.01 by DMRT.

สรุปและวิจารณ์

เชื้อ *Streptomyces* PR-87 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการฟักออกจากไข่และฆ่าตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปมได้อย่างชัดเจน ซึ่งอาจเนื่องมาจากสาร secondary metabolites ที่เชื้อปลดปล่อยออกมาออกเซลล์ในระหว่างการเพาะเลี้ยงในอาหาร AGMB ที่อาจเป็นทั้งเอนไซม์ซึ่งมีผลต่อการฟักออกจากไข่ และสารพิษที่มีฤทธิ์ฆ่าตัวอ่อน J2 ได้โดยตรง คล้ายกับที่รายงานใน *Streptomyces avermitilis* (Jayakumar, 2009) ซึ่งส่งผลต่อจำนวนของตัวอ่อน

J2 ของไส้เดือนฝอยรากปมที่จะเข้าทำลายระบบรากพืช จึงทำให้ลดระดับการเกิดโรครากปมของมะเขือเทศ และลดจำนวนไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมต่อระบบรากได้ดีไม่แตกต่างจากการใช้สารเคมีกำจัดไส้เดือนฝอยรากปมที่นำมาเปรียบเทียบ การที่กรรมวิธีใช้น้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces*-PR87 รางโค่นต้นของมะเขือเทศมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากปมได้ดีกว่ารูปแบบอื่นๆ อาจเนื่องมาจากในส่วนของน้ำเลี้ยงเชื้อมีสาร secondary metabolites เหล่านี้ในปริมาณมากพร้อมใช้อยู่แล้ว จึงมีผลกระทบต่อ การฟักออกจากไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม และฆ่าตัวอ่อนระยะที่ 2

ในรุ่นแรกที่ใส่ลงไปในการทดสอบได้รวดเร็วกว่ากรรมวิธีที่ใช้เซลล์เชื้อหรือใช้มวลเชื้อที่อยู่ในหัวเชื้อฟัทมอส ที่ต้องอาศัยช่วงเวลาหนึ่งในการปรับตัวเจริญเพิ่มปริมาณในสภาพแวดล้อมรอบรากพืชและปลดปล่อยสาร secondary metabolites ออกมาในระดับที่มีความเข้มข้นเพียงพอต่อการยับยั้งการฟักไข่และฆ่าตัว J2 เช่นเดียวกับที่มีรายงานการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* โดยใช้สารแขวนลอยเซลล์ของ *Streptomyces griseus* subsp. *griseus* ผสมกับวัสดุปลูก แล้วบ่มทิ้งไว้นาน 30 วัน สามารถลดจำนวนปมและกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม ต่อ 1 กรัมของรากมะเขือเทศได้ 68.0 และ 76.8% ตามลำดับ (Sousa et al., 2006) อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาถึงความยั่งยืนของการควบคุมโรครากปมในมะเขือเทศ การใช้เชื้อที่มีชีวิตในรูปแบบสารแขวนลอยเซลล์หรือรูปแบบฟัทมอสมีแนวโน้มที่ดีกว่าการใช้รูปแบบน้ำเลี้ยงเชื้อ เนื่องจากเชื้อ *Streptomyces*-PR87 สามารถเพิ่มจำนวนต่อไปได้เมื่ออยู่ในดินและรอบรากพืช สามารถผลิตสาร secondary metabolites ที่มีผลกระทบต่อไส้เดือนฝอยรากปมได้อย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้ยังอาจปลดปล่อยสารปฏิชีวนะ และ เอนไซม์อื่นๆ ที่มีผลต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชที่สำคัญและสารที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชออกมามีด้วย (เพชรรัตน์, 2545) เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรคอื่นๆ นอกเหนือจากการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศ จากผลการวิจัยที่ได้ร่วมกับความรู้เกี่ยวกับไส้เดือนฝอย *M. incognita* มีชีพจักรประมาณ 1 เดือน แนวทางการใช้เชื้อ *Streptomyces*-PR87 ควบคุมโรครากปมของมะเขือเทศในสภาพแปลงปลูกจึงควรดำเนินการตั้งแต่ระยะกล้าโดยการใส่สารแขวนลอยเซลล์ของเชื้อ *Streptomyces*-PR87 ที่มีค่า OD มากกว่า 2 ซึ่งมีความเข้มข้นประมาณ 10^5 โคโลนี/มล. ราวโคนต้นกล้าทุก 7 วัน และราวโคนต้นหลังย้ายปลูกไปแล้วทุกสัปดาห์จนครบ 6 สัปดาห์ เพื่อให้มีปริมาณของเชื้อ *Streptomyces* เพียงพอที่จะปลดปล่อยสาร secondary metabolites ออกมาลดจำนวนของไส้เดือนฝอยรากปมที่จะเข้าทำลายพืชในช่วงการเจริญเติบโต (vegetative stage) หรือการเพาะกล้าในหัวเชื้อฟัทมอสผสมกับ

วัสดุเพาะกล้าร่วมกับการใช้หัวเชื้อฟัทมอสรองกันหลุมปลูกตอนย้ายปลูก และ ใส่เชื้อ *Streptomyces*-PR87 ในรูปแบบของสารแขวนลอยเซลล์ราวโคนต้นเพิ่มในทุก 3 สัปดาห์ ส่วนในแปลงที่ยังไม่มีการใช้เชื้อ *Streptomyces*-PR87 แต่มีปัญหาไส้เดือนฝอยรากปมควรใช้น้ำเลี้ยงเซลล์เชื้อ *Streptomyces*-PR87 ราวโคนต้นก่อนแล้วจึงเพิ่มเชื้อเป็นระยะทุกสัปดาห์โดยใช้รูปแบบสารแขวนลอยเซลล์เชื้อ *Streptomyces*-PR87

คำขอบคุณ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่นร่วมกับ โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและการพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ ของสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

เอกสารอ้างอิง

- เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. 2545. *Streptomyces* อีกมิติหนึ่งของการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. แก่นเกษตร 30: 20-27.
- Dicklow, M.B., N. Acosta and B.M. Zuckerman. 1993. A novel *Streptomyces* species for controlling plant parasitic nematodes. Chem. Ecol. 19: 59-173.
- Eisenback, J.D. and H.H. Triantaphyllou. 1991. Root-knot nematode: *Meloidogyne* species and races. P. 191-274. In: W.R. Nickle(ed). Manual of Agriculture Nematology. Marcel Dekker, Inc, New York.
- Jayakumar, J. 2009. Bio-efficacy of *Streptomyces avermitilis* culture filtrates against root knot nematode, *Meloidogyne incognita* and reniform nematodes, *Rotylenchulus reniformis*. Karnataka J. Agric. Sci. 22: 567- 571.
- McSorley, R., K.H. Wang and G. Church. 2008. Suppression of root-knot nematodes in natural and agricultural soils. Appl. Soil Ecol. 39: 291-298.
- Siddiqui, Z.A. and I. Mahmood. 1999. Role of bacteria in the management of plant parasitic nematode. A review Bioresour. Technol. 69: 167-179.
- Sousa, C.S.da, A.C.F. Soares, M.S. Garrido.da and G.M.C.O. Almeida.de. 2006. *Streptomyces* in the control of *Meloidogyne incognita* in tomato plants. Pesquisa Agropecuária Brasileira 41: 1759-1766.