

การคัดเลือกไอโซเลต *Streptomyces* ที่มีศักยภาพสูงในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*)

Selection of high potential *Streptomyces* isolate to control root knot nematode (*Meloidogyne incognita*)

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

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

บทคัดย่อ: ไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) ทำให้เกิดโรครากปมในพืชหลากหลายชนิด การควบคุมโรครากปมโดยชีววิธีเป็นทางเลือกสำหรับกลยุทธ์การควบคุมโรคที่มีประสิทธิภาพและลดการใช้สารเคมี งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ คือ เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* ปฏิบัติการ 6 ไอโซเลต ได้แก่ -PR15-1, -PR15-2, -PR22, -PR78, -PR84 และ -PR87 ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อ (culture filtrate) มาทดสอบกับกลุ่มไข่และตัวอ่อนระยะที่ 2 เปรียบเทียบกับน้ำปลอดเชื้อ และอาหาร AGMB พบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อจากเชื้อ *Streptomyces* 4 ไอโซเลต(-PR15-1, -PR15-2, -PR78 และ -PR87) สามารถยับยั้งการฟักไข่และฆ่าตัวอ่อนระยะที่ 2 (J2) ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดสำหรับยับยั้งการฟักไข่และฆ่าตัวอ่อน J2 คือ *Streptomyces*-PR87 ยับยั้งการฟักไข่ได้ 97.59 % (ได้ J2 เฉลี่ย 7.67 ตัว/ 5 กลุ่มไข่) และฆ่าตัวอ่อน J2 ได้ 100 % ตามลำดับ รองลงมา คือ *Streptomyces*-PR78 ยับยั้งการฟักไข่ได้ 40.06 % (ได้ J2 เฉลี่ย 191 ตัว/ 5 กลุ่มไข่) และมีตัวอ่อนระยะที่ 2 หายไป 82.00 % ขณะที่ในน้ำปลอดเชื้อมีไข่ฟักได้ตามปกติ เฉลี่ย 316.78 J2/ 5 กลุ่มไข่ และเคลื่อนที่ได้ตามปกติทั้งหมด ส่วนเชื้อ *Streptomyces*-PR15 ทั้ง 2 ไอโซเลตไม่สามารถยับยั้งการฟักไข่แต่มีฤทธิ์ฆ่าตัวอ่อนระยะที่ 2 ได้ 74.00% และ 97.00 % ตามลำดับ ส่วน *Streptomyces*-PR22 และ *Streptomyces*-PR84 ไม่สามารถลดการฟักออกจากไข่และการเคลื่อนที่ของตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม

คำสำคัญ: แอคติโนมัยซีส การควบคุมโดยชีววิธี โรครากปม โรคมะเขือเทศ

Abstract: The root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) causes the root knot disease in wide host plants. Biological control is alternative method for high effective and low input of chemicals strategy. This research aims to evaluate the efficacy of 6 isolates of antagonistic *Streptomyces* including the *Streptomyces*-PR15-1, -PR15-2, -PR22, -PR78, -PR84 and -PR87 to control the root knot nematode under laboratory condition. The culture filtrates of 4 isolates of *Streptomyces*(-PR15-1, -PR15-2, -PR78 and -PR87) significantly inhibited egg hatching and killed J2 of *M. incognita* compared to sterile distilled water and AGMB

¹สาขาโรคพืชวิทยา ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002

¹Plant Pathology Division, Dept. of Plant Science and Agricultural Resources, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

²ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002

²Agricultural Biotechnology Research Center for Sustainable Economy, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

* Corresponding author: petsir@kku.ac.th

medium. The isolate *Streptomyces*-PR87 gave the highest inhibition percentage of egg hatching at 97.59 percent (7.67 J2/ 5 egg masses) and killed J2 at 100 percent followed by *Streptomyces*-PR78 which inhibited egg hatching and J2 mortality of 40.06 percent (191 J2/ 5 egg masses) and 82.00 percent, respectively, compared to 316.78 J2/ 5 egg masses and 100% of normal mobility from sterile distilled water treatment. The two isolates of *Streptomyces*-PR15-1 and -PR15-2 had no effect on egg hatching but induced the mortality of J2 at 74.00% and 97.00 %, respectively. Both of the *Streptomyces*-PR22 and -PR84 did not significantly reduce the egg hatching and mobility of J2 root-knot nematode.

Key words: actinomycetes, biocontrol, root-knot disease, tomato disease

บทนำ

ไส้เดือนฝอยรากปมเป็นศัตรูพืชที่มีพืชอาศัยกว้าง สามารถเข้าทำลายพืชได้มากกว่า 2,500 ชนิด (สืบศักดิ์, 2525) ทำให้ความเสียหายให้กับพืชทั่วโลก โดยเฉพาะพืชผักที่ปลูกในเขตร้อนและเขตอบอุ่น (Sikora and Fernandez, 2005, อ้างตาม Singh and Khurma, 2007) การควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมที่มีรายงาน คือการใช้สารเคมีกลุ่ม aldicarb และ oxamyl แต่สารดังกล่าวมีความเป็นพิษสูงและมีการใช้ติดต่อกันมานานจนถึงระดับที่เป็นอันตรายต่อสภาพแวดล้อม และสุขภาพของมนุษย์ (Ragsdale and Seiber, 1999, อ้างตาม Faske and Starr, 2006) แนวทางการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่จะนำมาใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมเพื่อทดแทนสารเคมีดังกล่าว การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการนำไอโซเลตของเชื้อ *Streptomyces* ปฏิปักษ์ ที่มีความสามารถพื้นฐานในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญหลายชนิด (เพชรรัตน์, 2545 เมธาวิและคณะ, 2549) มาทดสอบกับไส้เดือนฝอยรากปมเพื่อคัดเลือกหาไอโซเลตที่มีศักยภาพสูงในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม สำหรับนำไปสู่การพัฒนาชีวภัณฑ์ *Streptomyces* ปฏิปักษ์ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมร่วมกับการควบคุมโรคที่สำคัญทางดิน

วิธีการศึกษา

การเตรียมเชื้อและน้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces*

นำเชื้อ *Streptomyces*-PR15-1, -PR15-2, -PR22, -PR78, -PR84 และ -PR87 มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร AGMA ได้ 5 วันจึงนำไปเลี้ยงต่อในอาหารเหลว AGMB เขย่าที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วัน จึงนำมากรองเอาเซลล์เชื้อออกไปโดยใช้กระดาษกรอง Whatman #1 ที่ปลอดเชื้อ แล้วนำส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อที่ได้มากรองผ่านเครื่องกรองแบคทีเรียขนาด 0.45 ไมครอน สำหรับใช้ในการทดสอบกับไส้เดือนฝอยรากปม

การเตรียมกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita*

นำรากของมะเขือเทศที่เป็นโรครากปมหลังจากที่มีการใส่ตัวอ่อน J2 ของไส้เดือนฝอยรากปมลงไปในช่วงย้ายปลูกจนถึงอายุ 60 วัน หลังจากย้ายปลูกมาล้างดินออกให้สะอาดจากนั้นคัดให้มีขนาด 3-5 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารละลาย Clorox 7.5 % (0.45% sodium hypochlorite) 2 นาทีแล้วนำไปล้างด้วยน้ำปลอดเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที จากนั้นนำไปแช่ใน 3 % H₂O₂ 10 นาทีเพื่อกำจัด egg parasite แล้วเทผ่าน sieve ขนาด 25 um (500 mesh) เปิดน้ำล้างเป็นเวลา 3 นาที แยกกลุ่มไข่ออกจากรากด้วย forceps และเขี่ยเขี่ยปลอดเชื้อภายใต้กล้องสเตอริโอกำลังขยาย 40 เท่า นำกลุ่มไข่ที่ได้แช่ในสาร streptomycin sulfate ที่ความเข้มข้น 1 มก./ล. บ่มข้ามคืนที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส (ตาม Protocol ของ McSorley, 2008)

ผลกระทบของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces* ในการยับยั้งการฟักไข่ไส้เดือนฝอยรากปม

คัดเลือกกลุ่มไข่ที่มีขนาดเท่ากัน จำนวน 5 กลุ่มไข่ แช่ลงในน้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces* แต่ละไอโซเลต ซึ่งใส่ไว้ในจานปลอดเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ซม. ในปริมาตร 5 ml เปรียบเทียบกับการแช่กลุ่มไข่ในน้ำปลอดเชื้อและอาหาร AGMB นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นับจำนวน J2 ที่ฟักจากไข่ภายใต้กล้องสเตอริโอ วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้โปรแกรม Statistic Analysis System (SAS)

ผลกระทบของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces* ต่อการมีชีวิตของตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม

ทำการฟักไข่ไส้เดือนฝอยรากปมโดยการนำกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยรากปมมาแช่ในน้ำปลอดเชื้อ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 72 ชั่วโมง แล้วใช้เข็มเย็บดักตัวอ่อนระยะ J2 ย้ายไปแช่ในน้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces* แต่ละไอโซเลตในปริมาตร 4 มล./จานเลี้ยงเชื้อ โดยใส่จำนวน 50 ตัว/plate เปรียบเทียบกับน้ำปลอดเชื้อ และอาหาร AGMB นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ตรวจสอบจำนวน J2 ที่หยุดการเคลื่อนที่หลังจากแช่อยู่ในน้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces* แต่ละไอโซเลตเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงย้าย J2 ที่หยุดนิ่งไม่เคลื่อนที่มาแช่ในน้ำปลอดเชื้อเพื่อประเมินระดับการยับยั้ง J2 ตรวจสอบจำนวน J2 ที่ฟักคืนกลับมาเคลื่อนที่ได้อีกครั้งภายหลังจากแช่ในน้ำปลอดเชื้อนาน 24 และ 48 ชั่วโมง วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้โปรแกรม Statistic Analysis System (SAS) วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี

ผลการศึกษา

น้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces* แต่ละไอโซเลตมีผลกระทบต่อเปอร์เซ็นต์การฟักออกจากไข่ของตัวอ่อน J2 และทำให้ตัวอ่อน J2 ตาย โดยสังเกตจากการหยุดการเคลื่อนที่ภายใน 24-48 ชั่วโมงหลังบ่มไว้ในน้ำเลี้ยงเชื้อทดสอบ และไม่ฟื้นคืนชีพเมื่อย้ายลงไปแช่ในน้ำนิ่งมาเชื้อ ซึ่งเชื้อ *Streptomyces* แต่ละไอโซเลตส่งผลกระทบต่อไส้เดือนฝอยรากปมได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ดังแสดงไว้ใน Table 1 สามารถจัดแบ่งกลุ่มเชื้อ *Streptomyces* ที่มีศักยภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้เป็น 3 กลุ่ม เรียงจากประสิทธิภาพสูงไปหาต่ำ คือ กลุ่มที่ 1 คือ *Streptomyces*-PR87 สามารถยับยั้งทั้งการฟักไข่ได้ 97.59 % และส่งผลทำให้ตัวอ่อน J2 ตายทั้งหมดได้ในเวลา 24-48 ชั่วโมง กลุ่มที่ 2 ได้แก่ ไอโซเลต *Streptomyces* -PR78 น้ำเลี้ยงเชื้อที่ได้สามารถยับยั้งการฟักออกจากไข่ได้ 40.06 % แต่ฆ่าตัวอ่อนได้ 66.00 % (ที่ 48 ชั่วโมง ตัวอ่อน J2 หยุดเคลื่อนที่ 82.00 % และฟื้นกลับมาเคลื่อนที่หลังจากแช่ในน้ำ 16.00%) และ กลุ่มที่ 3 คือ *Streptomyces*-PR 15-1 และ -PR15-2 ยับยั้งการฟักไข่ได้บางส่วน (18.72% และ 32.64% ตามลำดับ) แต่ทำให้ตัวอ่อน J2 ตายได้มากกว่า 74.00 % และ 97.00 % ตามลำดับเมื่อประเมินที่ 48 ชั่วโมง ในขณะที่น้ำเลี้ยงเชื้อจากไอโซเลต *Streptomyces*-PR22 และ *Streptomyces*-PR84 ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการฟักไข่และฆ่าตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* (Table 1)

สรุปและวิจารณ์

เชื้อ *Streptomyces* PR-87 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ในระดับห้องปฏิบัติการ สามารถสร้างสาร secondary metabolites ที่มีฤทธิ์ทั้งในการยับยั้งการฟักไข่และฆ่าตัวอ่อนระยะที่ 2 ได้ดีมากอยู่ในระดับ 97.59 % และ 100 % ตามลำดับ ซึ่งมีโอกาสที่จะนำไปใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้เช่นเดียวกับ ที่มีรายงาน

การควบคุมไส้เดือนฝอยโดย *Streptomyces griseus* subsp. *griseus* ทำให้ตัวอ่อนตาย 98.20% และ *Streptomyces* isolate N0035 ยับยั้งการฟักไข่ได้ 98.8% ซึ่งเมื่อทดสอบในระดับกระถาง พบว่า *Streptomyces griseus* subsp. *griseus* สามารถลดจำนวนปมและกลุ่มไข่ต่อ 1 กรัมของรากมะเขือเทศได้ 68.0 % และ 76.8% ตามลำดับ(Sousa et al., 2006) และเมื่อเปรียบเทียบข้อมูลกับผลการทดลองที่ใช้น้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces avermitilis* 12 isolates (Jayakumar, 2009) มีแนวโน้มว่าเชื้อ *Streptomyces* -PR87 สามารถยับยั้งการฟักไข่และฆ่าตัวอ่อน J2 ได้ดีกว่า เมื่อเปรียบเทียบลักษณะการตายของตัวอ่อนที่แช่อยู่ในน้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces* -PR87 นาน 48 ชั่วโมง ที่ลำตัวเหี่ยวโดยตรงและส่วนของลำไส้โปร่งใส ผนังลำตัวไม่ย่อยสลายแตกต่างจากการตายของไส้เดือนฝอย J2 ที่แช่อยู่ในน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. RH219 โดยผนังลำตัวถูกย่อยจากเอนไซม์ protease ที่อยู่ในน้ำเลี้ยงเชื้อหลังจากแช่ไว้ 24 ชั่วโมง (Lian et al., 2007) ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่สารจากน้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces*-PR-87 ที่ทำให้ตัวอ่อน J2 ตายเป็นสารเคมีในกลุ่มที่เป็น toxin ที่เป็นพิษต่อตัวอ่อน ส่วนสารที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการฟักไข่เมื่อพิจารณาจากองค์ประกอบของเปลือกไข่ไส้เดือนฝอยรากปมที่มีอยู่ 3 ชั้น คือ vitelline, chitin และ lipid layers (Zdarska et al., 2001 อ้างโดย Terefe et al., 2009) จึงเป็นไปได้ที่ในน้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces*-PR87 จะมีสารในกลุ่มเอนไซม์ chitinase หรือ lipase อยู่ในสัดส่วนที่มาก ซึ่งควรต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงการมีอยู่ของเอนไซม์เหล่านี้ในน้ำเลี้ยงเชื้อ ในการนำเชื้อ *Streptomyces*-PR87 ไปใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* จึงมีความเป็นไปได้มาก โดยใส่ให้เข้าไปอยู่กับรากพืชตั้งแต่ระยะเตรียมต้นกล้าและใส่เพิ่มเติมในช่วงหลังย้ายปลูกเป็นระยะ ทั้งเพื่อป้องกันรากและกำจัดตัวอ่อน J2 ที่มีอยู่ในดินและลดการฟักออกจากไข่ของตัวอ่อน J2 ซึ่งจะส่งผลให้การเกิดโรครากปมลดลงได้ นอกจากนี้ยังอาจช่วยเสริมประสิทธิภาพการควบคุมโรคเหี่ยว

เหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ได้มากขึ้นเพราะไส้เดือนฝอยรากปมเป็นปัจจัยเสริมทำให้เกิดการเกิดโรคเหี่ยวเหี่ยวรุนแรงมากขึ้น ถึงแม้ว่าโดยความสามารถของเชื้อ *Streptomyces*-PR87 เองมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวได้ดี (เมธาวิและคณะ, 2549) และช่วยลดการเกิดโรคเหี่ยวเหี่ยวในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลองได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลการวิจัยครั้งนี้ทำให้ได้ข้อมูลที่บ่งชี้ว่า เชื้อ *Streptomyces*-PR87 มีศักยภาพสูงมากสำหรับนำไปพัฒนาชีวภัณฑ์ควบคุมโรคทางดินที่สำคัญทั้งโรครากปมและโรคเหี่ยวเหี่ยวของพริกและมะเขือเทศต่อไปได้

คำขอบคุณ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น ร่วมกับมหาวิทยาลัยขอนแก่น (ทุนวิจัยอุดหนุนทั่วไปและทุนวิจัยในโครงการมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประจำปีงบประมาณ 2553)

เอกสารอ้างอิง

- เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. 2545. *Streptomyces* อีกมิติหนึ่งของการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. แก่นเกษตร 30 : 20-27.
- เมธาวิธิมาศ, เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล, และ อัครนิปาจินบุรวรรณ์. 2549. ความผันแปรทางฟีโนไทป์ และ ความสามารถของเชื้อ *Streptomyces* spp. ในการยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum*. บทคัดย่อการประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 6 ณ โรงแรมโดคัสปางสวนแก้ว. 7-10 พฤศจิกายน 2549. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. หน้า 358.

- สืบศักดิ์ สนธิรัตน์. 2525. ไล่เดือนฝอยรากปม-ปัญหา
ระดับโลก. วารสารโรคพืช 2 : 23-26.
- Faske, T.R., and J. L. Starr. 2006. Sensitivity of
Meloidogyne incognita and *Rotylenchulus*
reniformis to abamectin. Nematology 38 :
240–244.
- Jayakumar, J. 2009. Bio-efficacy of *Streptomyces*
avermitilis culture filtrates against root knot
nematode, *Meloidogyne incognita* and
reniform nematodes, *Rotylenchulus*
reniformis. Karnataka Journal of
Agricultural Sciences 22 : 567-571.
- Lian L.H., B.Y. Tian, R. Xiong, M.Z. Zhu, J. Xu, and
K.Q. Zhang. 2007. Proteases from *Bacillus*:
a new insight into the mechanism of action
for rhizobacterial suppression of nematode
population. The Society for Applied
Microbiology. Letters in Applied
Microbiology 45 : 262–269.
- McSorley, R., K.H. Wang, and G. Church. 2008.
Suppression of root-knot nematodes in
natural and agricultural soils. Applied Soil
Ecology 39 : 291-298.
- Singh, S.K. and U.R. Khurma. 2007. Susceptible of
six tomato cultivars to the root knot
nematode, *Meloidogyne incognita*. The
South Pacific Journal of Natural Science 13
: 73-77.
- Sousa, C.S.da, A.C.F. Soares, M.S. Garrid.da, and
G.M.C.O. Almeida.de. 2006. *Streptomyces*
in the control of *Meloidogyne iniconita* in
tomato plants. Pesquisa Agropecuária
Brasileira 41 : 1759-1766.
- Terefe M., T.Tefera, and P.K. Sakhuja. 2009. Effect
of a formulation of *Bacillus firmus* on root-
knot nematode *Meloidogyne incognita*
infestation and the growth of tomato plants
in the greenhouse and nursery. Invertebrate
Pathology 100 : 94–99.

Table 1 Effects of culture filtrate from 6 isolates of *Streptomyces* to percentage of *Meloidogyne incognita* egg hatch inhibition and J2 mortality.

Treatment	Egg hatch		J2 Mortality (%) after		J2 recovery (%) after		Efficacy to control RKN
	No. J2 / 5 egg mass ¹	Hatch inhibition After 3 days (%)	24 (hr) ¹	48 (hr) ¹	24 (hr) ¹	48 (hr) ¹	
dH2O	318.67 a	-	2.00c	2.00d	0.00c	0.00c	
AGMB	105.33 d	66.95	0.00c	0.00d	0.00c	0.00c	
Strep.-PR 15-1	259.00 abc	18.72	66.00b	74.00b	1.00c	2.00c	kill J2>inhibit hatching
Strep.-PR15-2	214.67 bc	32.64	77.00b	97.00a	2.00bc	0.00c	kill J2>inhibit hatching
Strep. -PR22	296.67 ab	6.90	4.00c	22.00c	22.00a	20.00a	Low activity to inhibit hatching and no kill J2
Strep. -PR78	191.00 cd	40.06	70.00b	82.00b	6.00b	16.00b	Moderate inhibit hatching , strong kill J2
	325.00 a	-1.99					No inhibit hatching, no kill J2
Strep. -PR-84			5.00c	1.00d	0.00c	0.00c	
Strep.- PR87	7.67 e	97.59	94.00a	100.00a	0.00c	0.00c	Strong inhibit hatching and strong kill J2
%CV	23.54	-	13.43	13.63	46.52	29.77	

% 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 by DMRT (P < 0.01)