

การประเมินชีวภัณฑ์เชื้อรา *Pochonia chlamydosporia* YT008 ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม

Evaluation granule formulations of *Pochonia chlamydosporia* YT008 for biological root-knot nematode control

ยุวดี ชูประภาวรรณ^{1*} และ สุภาวดี แก้วระหัน¹

Yuwadee Chuprapawan^{1*} and Supawadee Kaewrahn¹

บทคัดย่อ: เชื้อรา *Pochonia chlamydosporia* ไอโซเลต YT008 (PC YT008) เป็นราปฏิปักษ์ต่อไส้เดือนฝอยรากปม การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินชีวภัณฑ์เชื้อรา PC YT008 ที่เก็บรักษาไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4 °ซ นาน 1 และ 4 เดือน ต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ที่ทำลายพริกชี้ฟ้าผลใหญ่ สายพันธุ์หัวเรือ ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง ในอัตรา 0, 10, 20, 40 กรัม/กระถาง วางแผนการทดลองแบบ 4 x 4 factorial in CRD ประเมินผลหลังราดไข่ *M. incognita* จำนวน 4,000 ไข่/กระถาง เป็นเวลา 60 วัน พบว่า ชีวภัณฑ์ทั้ง 4 สูตรที่อายุเก็บรักษา 1 เดือนที่อุณหภูมิ 4 °ซ มีดัชนีการเกิดปมที่ระบบราก พริก (ระดับ 1-2) น้อยกว่าชีวภัณฑ์ที่อายุเก็บรักษา 4 เดือน (ระดับ 1.4 - 3.6) การใช้ชีวภัณฑ์สูตร 3 (แป้งสาลี, ข้าวโพด, kaolin, PVP- K30, yeast extract และ เชื้อราปฏิปักษ์ในอัตรา 16:16:6:2:6:20) อายุเก็บรักษา 1 เดือน อัตรา 10 กรัม/กระถาง พบจำนวนไข่ในระบบรากพริกน้อย (log 4.92 cfu/กรัม) เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (log 6.04 cfu/กรัม) การเพิ่มอัตราการใช้ชีวภัณฑ์มีแนวโน้มพบเชื้อราปฏิปักษ์ PC YT008 รอดชีวิตในดินมากขึ้น โดยชีวภัณฑ์อายุเก็บรักษา 1 เดือน มีเชื้อราปฏิปักษ์รอดชีวิตในดินมากกว่าการใช้ชีวภัณฑ์ที่เก็บรักษา 4 เดือน

คำสำคัญ: ชีวภัณฑ์เชื้อราปฏิปักษ์, ไส้เดือนฝอยรากปม, การควบคุมโดยชีววิธี

ABSTRACT: *Pochonia chlamydosporia* YT008 (PC YT008) has demonstrated its efficacy as a biological control agent against root knot nematode. In this study, granule formulations with PC YT008, after storage for 1 and 4 months, were evaluated for efficacy to control root-knot nematode on chili “Hua Rua” under greenhouse condition, at 0, 10, 20 and 40 gram granules/pot. The experiment was 4x4 factorial in CRD. Sixty days after inoculation with 4,000 eggs of *M. incognita* were determined. The result showed that lower root-gall indexes were found on 1-month storage formulations (level 1-2) compared to those of 4-month storage formulations (level 1.6-3.4). The highest biocontrol efficacy against root knot disease of chili was found in 1-month storage granule formulation 3 (wheat flour: corn starch: Kaolin: PVP K30: yeast extract: inoculum at ratio 16:16:6:2:6:20) at 10 gram granules/pot, which produced the low number of eggs (log₁₀ 4.92 cfu/gram granule). Meanwhile, number of eggs in control treatment was log₁₀ 6.04 cfu/gram granule. Increasing in application rates of granule formulations tended to increase population densities of PC YT008 in soil. Moreover, the survival densities of the soil fungus from the treatments applied with 1-month storage granule formulations were higher than those with 4-month storage granule formulations.

Keywords: granule formulation, root-knot nematode, biological control

¹ ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี 34190
National Biological Control Research Center, Lower Northeastern Regional Center, Ubon Ratchathani University 34190.

* Corresponding author: yuwadee_c@windowslive.com

บทนำ

เชื้อรา *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare and Gams เป็นราปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในสภาพห้องปฏิบัติการ เรือนปลูกพืชทดลอง และในสภาพไร่ (De Leij et al., 1993; Tobi et al., 2008) สำหรับประเทศไทย พบเชื้อรา *P. chlamydosporia* YT008 (PC YT008) ซึ่งแยกได้จากกลุ่มไส้เดือนฝอยรากปมที่ทำลายพริกในพื้นที่จังหวัดยโสธร ทำลายไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ในสภาพห้องปฏิบัติการ ได้ 97.4 % และควบคุมประชากรไส้เดือนฝอยรากปมในพริกขี้หนูพันธุ์หัวเรือ ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและแปลงทดสอบย่อยได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบกับวิธีที่ไม่มีการควบคุม (ยุวดี และคณะ, 2554) การนำไปทดสอบการควบคุมโรครากปมในระดับแปลงเกษตรกรต้องคำนึงถึงความสะดวกในการปฏิบัติ โดยเชื้อปฏิปักษ์ยังคงมีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม จึงได้พัฒนาเป็นชีวภัณฑ์เชื้อราปฏิปักษ์ PC YT008 แบบเม็ด การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความสามารถของชีวภัณฑ์ต่อการควบคุมโรครากปมพริกขี้หนูผลใหญ่สายพันธุ์หัวเรือ ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง เพื่อให้

ได้ชีวภัณฑ์ที่ดีที่เหมาะสมสำหรับนำไปใช้ควบคุมโรครากปมในสภาพแปลงเกษตรกรอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การผลิตสูตรสำเร็จเชื้อรา *Pochonia chlamydosporia* YT008 ชนิดเม็ด

เตรียมชีวภัณฑ์แบบเม็ดโดยวิธี wet granulation ตามวิธีการของ Chumthong และคณะ (2008) โดยนำผงเชื้อรา PC YT008 ที่เลี้ยงบนเมล็ดข้าวฟ่าง (เข้มข้น 1.83×10^6 cfu/กรัม) จำนวน 20 กรัม ผสมกับ แป้งสาลี แป้งข้าวโพด, yeast extract, kaolin, lactose monohydrate, glycerol และ polyvinylpyrrolidone (PVP K-30) ในอัตราส่วนต่างๆ (Table 1) จำนวน 4 สูตร นำส่วนผสมและน้ำกลั่นหนึ่งขวด คนให้เข้ากันดีจนเป็นก้อน กดผ่านตะแกรงขนาด 16 mesh ผึ่งให้แห้งในอากาศ นำไปร่อนผ่านตะแกรงขนาด 18 mesh อีกครั้ง และผลิตชีวภัณฑ์เม็ดแบบเดียวกันแต่ไม่ใส่ผงเชื้อรา PC YT008 เพื่อเป็นชีวภัณฑ์ชนิดควบคุม นำชีวภัณฑ์ที่ผลิตขึ้น (Figure 1) บรรจุในถุงพอยด์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 1 และ 4 เดือน ก่อนนำไปประเมินประสิทธิภาพการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลองต่อไป

Table 1 Ingredient materials of four *Pochonia chlamydosporia* YT008 granule formulations.

Ingredients	Granule Formulations			
	1	2	3	4
wheat flour	16	16	16	16
Corn starch	16	16	16	16
Kaolin	4	6	6	6
Polyvinylpyrrolidone	2	2	2	2
Yeast extract	6	-	6	-
Lactose monohydrate	5	5	-	-
Glycerol	-	-	-	2
Antagonistic fungus	20	20	20	20

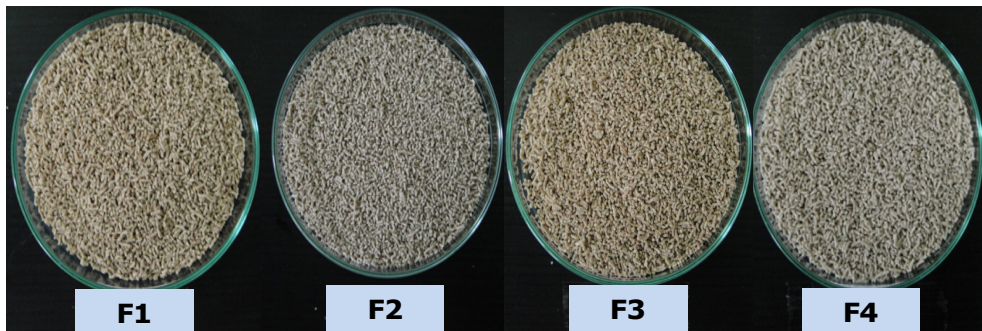


Figure 1. Four granule formulations of nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* YT008.

2. การทดสอบการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

นำชีวภัณฑ์เชื้อรา *PC* YT008 อายุเก็บรักษา 1 และ 4 เดือนที่อุณหภูมิ 4 °ซ อัตรา 0, 10, 20 หรือ 40 กรัม/กระถาง ใส่ลงในดินปลูก (ดินร่วน: ดินทราย: ปุ๋ยคอก ในอัตรา 1 : 2 : 1 ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว) โดยผสมให้เข้ากันกับดินก่อนย้ายต้นกล้าพริกขึ้นผลใหญ่พันธุ์หัวเรือ อายุ 4 สัปดาห์ลงปลูก หลังย้ายปลูกพืช 1 สัปดาห์ให้ใส่ไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* จำนวน 4,000 ไข่/กระถาง ดูแลต้นพืชโดยนำเข้าไปไว้ในเรือนปลูกพืชทดลอง วางแผนทดลองแบบ 4 x 4 factorial in CRD รวม 16 กรรมวิธีฯ 4 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยโดย Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติสำเร็จรูป (SPSS 16)

ประเมินผลการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมหลังรอดไข่ 60 วัน โดยประเมินดัชนีการเกิดปมที่ระบบรากพริก (Galling index) โดยดัดแปลงจากวิธีการของ (Hussey และ Janssen, 2002) ซึ่งแบ่งเป็น 5 ระดับ (ระดับ 0 ไม่พบปมในระบบราก ระดับ 1 เกิดปมที่ระบบรากน้อยกว่าหรือเท่ากับ 25 % ระดับ 2 เกิดปมที่ระบบรากจำนวน 26-50 % ระดับ 3 เกิดปมที่ระบบรากจำนวน 51-75 % ระดับ 4 เกิดปมที่ระบบรากมากกว่า 75-100 %) จำนวนไข่/ระบบรากพริก และจำนวนเชื้อราปฏิบัณ์ *PC* YT008 ในชีวภัณฑ์ที่รอดชีวิตในดิน

ผลและวิจารณ์

1. การทดสอบการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

ชีวภัณฑ์อายุเก็บรักษา 1 เดือน

การทดสอบใช้ชีวภัณฑ์ อัตรา 0, 10, 20 และ 40 กรัม/กระถาง พบว่าการใส่ชีวภัณฑ์ในอัตราที่สูงขึ้น มีแนวโน้มลดปมที่ระบบรากพริกมากขึ้น ชีวภัณฑ์สูตรสำเร็จที่ 1 อัตรา 40 กรัม/กระถาง ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ดีที่สุด มีดัชนีการเกิดปมที่รากพริกต่ำสุดคือระดับ 1 มีจำนวนไข่/ระบบรากน้อยที่สุด (log 4.67 cfu/กรัม) รองลงมาได้แก่ชีวภัณฑ์สูตรที่ 3 อัตรา 10 กรัม/กระถาง และ ชีวภัณฑ์สูตรที่ 4 อัตรา 40 กรัม/กระถาง ที่มีดัชนีการเกิดปมที่รากพริก 1.6 และ 1.2 และมีจำนวนไข่/ระบบราก log 4.92 และ 4.72 cfu/กรัม ตามลำดับ (Figure 2 A,C)

ชีวภัณฑ์อายุเก็บรักษา 4 เดือน

พบว่าชีวภัณฑ์สูตรทั้ง 4 สูตร อัตรา 10 และ 20 กรัม/กระถาง ไม่สามารถลดการสร้างไข่ในระบบรากได้ มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่ควบคุม แต่ที่อัตรา 40 กรัม/กระถางพบว่า ชีวภัณฑ์สูตรที่ 1,2,3 และ 4 ลดจำนวนไข่ในระบบรากพริก (log 4.21, 4.24, 4.27 และ 4.35 cfu/กรัม ตามลำดับ) ได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับกรรมวิธีไม่ควบคุม (log 4.95 cfu/กรัม) (Figure 2 B,D)

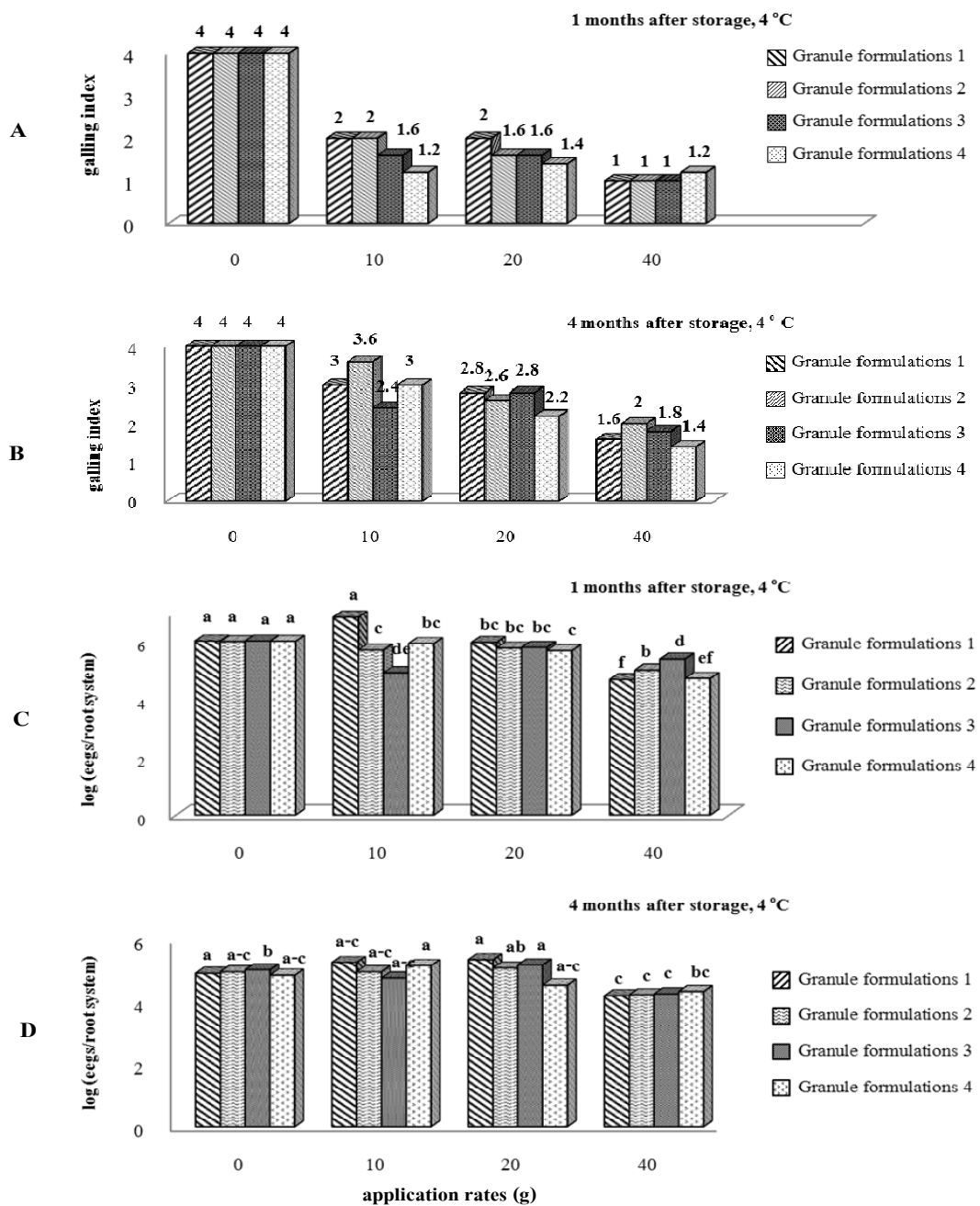


Figure 2. Effect of application rates of granule formulations of *Pochonia chlamydosporia* YT008 after stored for 1 and 4 months on rate of root gall index (A,B) and eggs per root system (C,D) in chili infected with root-knot nematode for 60 days under greenhouse condition. Treatments with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

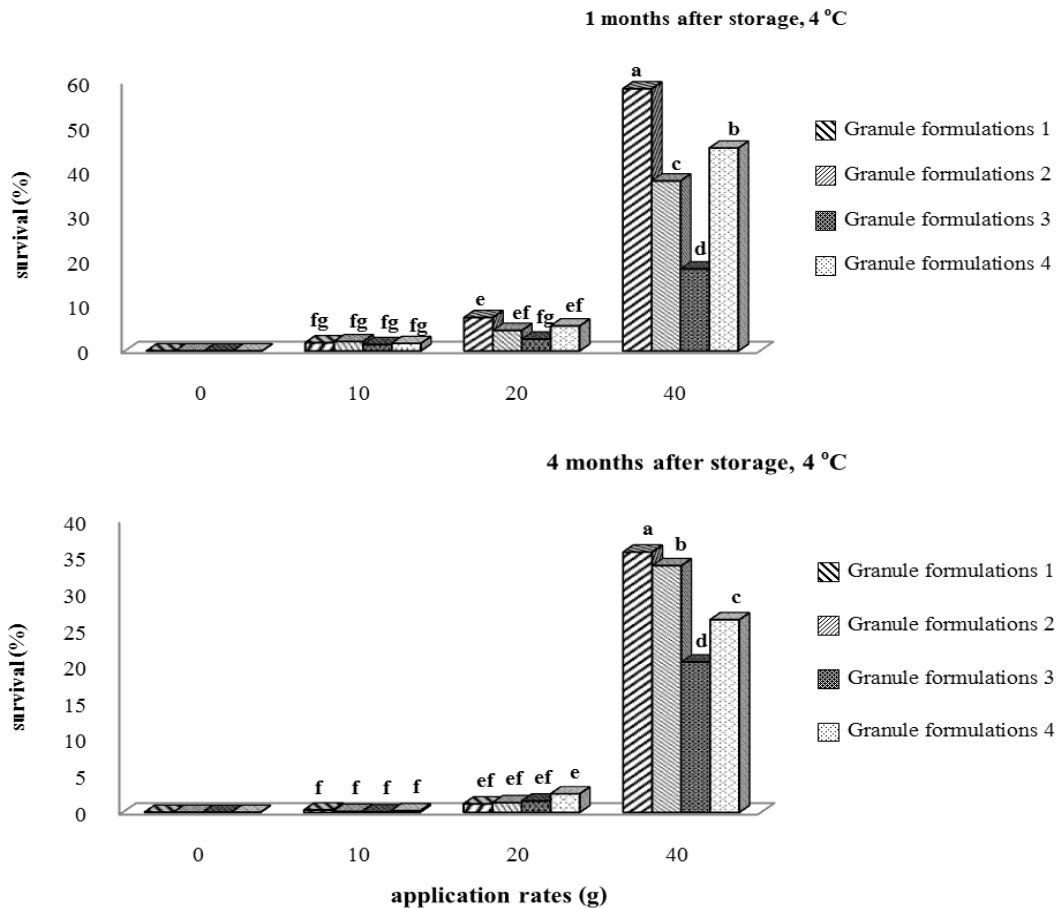


Figure 3. *Pochonia chlamydosporia* YT008 populations survival in soil after nematode infected chili under greenhouse condition at day 60 after applying 1 or 4 months storage granule formulations at 4 °C . Treatments with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

การตรวจสอบการรอดชีวิตของเชื้อราปฏิภาณในดิน

ผสมดินบริเวณเขตรากพริกจากกระถางทดสอบเพื่อตรวจการรอดชีวิตของเชื้อ *PC* YT008 จากชีวภัณฑ์ที่ใส่ลงไปดินหลังราดไข่ได้เดือนฝอยรากปมนาน 60 วัน พบเชื้อราปฏิภาณรอดชีวิตในดินได้ในปริมาณแตกต่างกัน ขึ้นกับชีวภัณฑ์และอัตราที่ใช้ การใช้ชีวภัณฑ์ที่อัตรา 40 กรัม พบเชื้อราปฏิภาณรอดชีวิตในดินมากกว่าในอัตราอื่นๆ และชีวภัณฑ์อายุเก็บรักษา 1 เดือน พบเชื้อราปฏิภาณรอดชีวิตในดินมากกว่าชีว

ภัณฑ์ที่อายุเก็บรักษา 4 เดือน (Figure 3) โดยที่ชีวภัณฑ์สูตรที่ 1 อายุเก็บรักษา 1 และ 4 เดือน ที่อัตรา 40 กรัม/กระถาง พบเชื้อราปฏิภาณรอดชีวิตในดินมากกว่าชีวภัณฑ์สูตรอื่นๆ คือ 58.51% และ 35.70% ตามลำดับ (Figure 3) ในขณะที่ชีวภัณฑ์สูตรที่ 3 พบเชื้อราปฏิภาณรอดชีวิตต่ำกว่า 10 % แต่ยังสามารถควบคุมการสร้างไข่ได้เดือนฝอยรากปมได้ดี แสดงให้เห็นว่าจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตในชีวภัณฑ์สูตรที่ 3 เป็นจำนวนเชื้อราปฏิภาณที่สามารถรอดชีวิตได้ในดินแต่ไม่เพิ่มปริมาณในดิน สอดคล้องกับการศึกษาของ (Stiring

และคณะ.,1998) ที่ใช้สูตรสำเร็จชนิดเม็ดเชื้อรา *Verticillium chlamydosporium* อัตรา 10 กรัม/ดิน 1 กิโลกรัม ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica* ที่ทำลายมะเขือเทศในสภาพโรงเรือน พบว่าเชื้อราปฏิชีวนะรอดชีวิตได้ในดินแต่ไม่เพิ่มปริมาณ และสามารถทำลายกลุ่มไข่ของ *M. javanica* ได้

ผลการประเมินประสิทธิภาพชีวภัณฑ์ 4 สูตรสำเร็จ ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง สรุปได้ว่า ชีวภัณฑ์อายุเก็บรักษา 1 เดือนที่อุณหภูมิ 4 °ซ ให้ประสิทธิภาพควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมดีกว่าชีวภัณฑ์อายุเก็บรักษา 4 เดือน อายุการเก็บรักษาชีวภัณฑ์เป็นสิ่งสำคัญอย่างหนึ่งของการผลิตชีวภัณฑ์ควบคุมศัตรูพืช ที่มักประสบปัญหาที่สำคัญคือมีอายุเก็บรักษาสั้นกว่าชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรีย โดยเฉพาะเชื้อ *Bacillus* spp. เนื่องจากไม่มีโครงสร้างที่ปกป้องเชื้อจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการเก็บรักษาชีวภัณฑ์สูตรสำเร็จในถุงพอยด์ซึ่งสามารถป้องกันการซึมผ่านของไขมันน้ำมันและน้ำได้ดีซึ่งถุงพอยด์ที่มีความหนาประมาณ 0.001 นิ้วขึ้นไปจะมีสมบัติในการป้องกันการไหลผ่านของตัวกลางได้ดีช่วยให้เชื้อลดการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษาซึ่งมีผลต่อการรอดชีวิตของเชื้อราปฏิชีวนะ (วุฒิชัย, 2540)

ชีวภัณฑ์ที่อัตรา 40 กรัม/กระถาง ลดประชากรไส้เดือนฝอยรากปม (ดัชนีการเกิดปมที่ระบบรากและจำนวนไข่/ระบบราก) ดีกว่าการใช้ในอัตราอื่นๆ (Figure 2) รวมทั้งตรวจพบเชื้อราปฏิชีวนะ *PC* YT008 รอดชีวิตในดินมากที่สุด (Figure 3) โดยเฉพาะชีวภัณฑ์สูตรที่ 1 และ 4 แต่ถ้าต้องการลดอัตราการใช้ชีวภัณฑ์ ลดต้นทุนค่าใช้จ่ายในการควบคุมโรค ชีวภัณฑ์สูตรที่ 3 (มีส่วนผสมของ แป้งสาลี, ข้าวโพด, kaolin, PVP- K30, yeast extract และ ผงเชื้อราในอัตรา 16:16:6:2:6:20) อายุเก็บรักษา 1 เดือนที่ 4 °ซ ใน อัตรา 10 กรัม/กระถาง ก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะสามารถนำไปใช้ในแปลงเกษตรกรได้ เนื่องจากสามารถลดประชากรไส้เดือนฝอยรากปมได้ดีมีประสิทธิภาพเท่าเทียมชีวภัณฑ์สูตร

ที่ 1 และ 4 (Figure 2 C) แต่ใช้สูตรสำเร็จปริมาณที่น้อยกว่า

สรุป

ชีวภัณฑ์แบบเม็ดเชื้อราปฏิชีวนะ *Pochonia chlamydosporia* YT008 ที่มีส่วนผสมของแป้งสาลี แป้งข้าวโพด yeast extract, kaolin, lactose monohydrate, glycerol และ polyvinylpyrrolidone (PVP K-30) จำนวน 4 สูตรสำเร็จ อายุเก็บรักษา 1 เดือน และ 4 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 °ซ นำมาทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมประชากรไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ที่ทำลายพริกชี้ฟ้าผลใหญ่ พันธุ์หัวเรือในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง ในอัตรา 0, 10, 20 และ 40 กรัม /กระถาง พบว่าชีวภัณฑ์ที่อายุเก็บรักษา 1 เดือนให้ประสิทธิภาพควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ดีกว่าอายุเก็บรักษา 4 เดือน อัตราการใช้ชีวภัณฑ์ที่ 40 กรัม/กระถางมีแนวโน้มควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ดีที่สุด และพบเชื้อราปฏิชีวนะรอดชีวิตในดินมากที่สุด ทั้งนี้ได้คัดเลือกชีวภัณฑ์สูตร 3 ที่อัตรา 10 กรัม/กระถาง ที่มีอายุเก็บรักษานาน 1 เดือน ที่ 4 °ซ สำหรับนำไปใช้ควบคุมประชากรไส้เดือนฝอยรากปมในสภาพแปลงเกษตรกรต่อไป เนื่องจากมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับชีวภัณฑ์สูตร 1 และ 4 ที่อัตรา 40 กรัม/กระถางซึ่งพบการสร้างไข่ในระบบรากพริกน้อยที่สุด

เอกสารอ้างอิง

- ยุวดี ชูประภาวรรณ สุภาวดี แก้วระหัน และอรุณรัตน์ อนันต์ทัศน. 2554. การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Pochonia chlamydosporia* ต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ในพริก. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ปี 2553. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ กรุงเทพฯ.
- วุฒิชัย นาครักษา. 2540. หลักการบรรจุ. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ฯ กรุงเทพฯ.

- Chumthong, A., M. Kanjanamaneesathian, A. Pengnoo and R. Wiwattanapatapee. 2008. Water-solubles containing *Bacillus megaterium* for biological control of rice sheath blight: formulation, bacterial viability and efficacy testing. *World Journal of Microbiology Biotechnology* 24 : 2499-2507.
- De Leij, F.A.A.M., B.R. Kerry and J.A. Dennehy. 1993. *Verticillium chlamydosporium* as a biological control agent for *Meloidogyne incognita* and *M. hapla* in pot and micro-plot tests. *Nematologica* 39: 115-126.
- Hussey, R. S. and G. J. W. Janssen. 2002. Root-knot nematode: *Meloidogyne* species. P.43-70 In: Starr, J.L., R. Cook and Bridge (eds). *Plant Resistance to parasitic nematodes*. Wallingford, UK: CAB International
- Stirling, G.R., K.A. Licastro, L.M. West and L.J. Smith. 1998. Development of commercially acceptable formulations of the nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium*. *Biological control* 11:217-223.
- Tobin, J.D., P.P.J. Haydock, M.C. Hare, S.R. Woods and D.H. crump. 2008. Effect of the fungus *Pochonia chlamydosporia* and fosthiazate on the multiplication rate of potato cyst nematodes (*Globodera pallida* and *G. rostochiensis*) in potato crops grown under UK field condition. *Biological control* 46:194-201.