รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. **ชุดโครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

2. **โครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาการควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตรโดยชีววิธี

   กิจกรรม : การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมโรคพืช

   กิจกรรมย่อย : การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียในการควบคุมไส้เดือนฝอยโรคพืช

3. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : การคัดเลือกแบคทีเรีย *Pasteuria penetrans* ที่มีศักยภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp.

   ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Screening of potential *Pasteuria penetrans* isolates for controlling of root-knot nematodes *Meloidogyne* spp.

4. **คณะผู้ดำเนินงาน**

   หัวหน้าการทดลอง : ไตรเดช ข่ายทอง รพ. สอพ.

   ผู้ร่วมงาน : มนตรี เอี่ยมวิมังสา รพ. สอพ.
   ธิติยา สารพัฒน์ รพ. สอพ.
   ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ สทช

5. **บทคัดย่อ** : การรวบรวมและทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตไทยในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม ดำเนินงานระหว่างปีงบประมาณ 2554-2558 ในปีงบประมาณ 2554 – 2555 ตรวจพบแบคทีเรีย *Pasteuria penetrans* ในตัวอย่างไส้เดือนฝอยรากปมจากหัวมันฝรั่ง (*Solanum tuberosum* cv. Atlantic) มันขี้หนู (*Coleus parvifolius*) และรากพริก (*Capsicum annuum*) และสามารถเพิ่มจำนวนสปอร์สำหรับใช้ในการทดลองได้ ในปีงบประมาณ 2556 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *P. penetrans* 2 ไอโซเลตที่แยกได้จากมันฝรั่งและพริกอย่างละ 1 ไอโซเลต พบว่าค่าเฉลี่ย

จำนวนปม และจำนวนกลุ่มไข่ ในกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ทั้ง 2 ไอโซเลตและกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสาร carbofuran 3G ต่ำกว่ากรรมวิธีที่ไม่ได้คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรียหรือสารเคมีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* และสาร carbofuran ปีงบประมาณ 2557 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *P. penetrans* 8 ไอโซเลต ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* (ไอโซเลตจากมันฝรั่ง) ในกระถางทดลองพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 นิ้ว บรรจุดินอบฆ่าเชื้อ 200 กรัม โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD 11 กรรมวิธี 5 ซ้ำ โดยใช้แบคทีเรีย *P. penetrans* อัตรา 10^6 สปอร์/กระถาง โดยมีกรรมวิธีคลุกดินด้วยสาร cadosafos 10G อัตรา 0.1 กรัมต่อกระถาง กรรมวิธีใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว และกรรมวิธีไม่ใส่ไส้เดือนฝอยและสารใดๆ เป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ พบว่าแบคทีเรีย *P. penetrans* 5 ไอโซเลต สามารถลดการสร้างกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยบนรากมะเขือเทศต่ำกว่ากรรมวิธีใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว แต่จำนวนตัวอ่อนระยะที่สองในดินระหว่างกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของ *P. penetrans* และกรรมวิธีใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียวไม่แตกต่างกัน จำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียภายในรากในกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตต่างๆ ส่วนใหญ่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ไม่คลุกดินด้วยแบคทีเรีย *P. penetrans* ปีงบประมาณ 2558 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *P. penetrans* 4 ไอโซเลต ที่แยกได้จากมันฝรั่ง มันขี้หนู และพริก ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* (ไอโซเลตจากพริกไทย) พบว่าแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลต PPR70 สามารถลดการสร้างกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ไอโซเลตพริกไทยได้ แต่ปริมาณประชากรตัวอ่อนระยะที่สองในดินในกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของ *P. penetrans* ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว จำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยภายในรากไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว และเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนระยะที่สองที่มีสปอร์ *P. penetrans* เกาะผนังลำตัวมีระดับต่ำ การใช้แบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตไทยในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมมีความเป็นไปได้ อย่างไรก็ตามแบคทีเรีย *P. penetrans* อาจเหมาะสำหรับใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในระยะยาวเมื่อสปอร์ของแบคทีเรียในดินเพิ่มปริมาณถึงระดับที่เพียงพอ และอาจต้องใช้ร่วมกับการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมวิธีอื่นๆ เพื่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมที่มีประสิทธิภาพ

: Collection and screening of endemic antagonistic bacteria *P. penetrans* for root-knot nematodes control was carried

out during 2011-2015. In 2011-2012, *Pasteuria penetrans* was detected in mature female root-knot nematodes from infected tuber of potato *(Solanum tuberosum* cv. Atlantic) and *Coleus parvifolius* as well as from root powder of chili pepper (*Capsicum annuum*) and some isolates were successfully multiplied. In 2013, two *P. penetrans* isolates obtained from potato and chili pepper were tested for the ability to control root-knot nematodes in pot experiment in greenhouse. The results showed that the average number of galls and eggmasses were lower in treatments of soils mixed with *P. penetrans* spores as well as a treatment of soils mixed with carbofuran 3G compare to an inoculated control treatment. In 2014, eight *P. penetrans* isolates were tested for the efficacy against the potato isolate of *M. incognita* in 3-inch-diameter plastic pot containing 200g sterile soil. The experiment was arranged in CRD with 5 replicates. Each isolates of *P. penetrans* was mixed with the soil at a rate of 10^6 spores /pot. The treatment of mixing cadosafos 10G at 0.1 g/pot, inoculated control and non-inoculated control were used as control. The result showed that 5 *P. penetrans* isolates reduced eggmass production on tomato roots lower than the inoculated control. However, the numbers of second stage juveniles in the soil were not significantly different from inoculated control. The numbers of adult females in the root in most of P. penetrans treatments were not different from inoculated control. Percent infected of adult females by *P. penetrans* ranged from 26 to 58 percent. In 2015, four *P. penetrans* isolates obtained from potato, *Coleus parvifolius* and chili pepper were tested for the efficacy against the black pepper isolate of *M. incognita*. The result showed that *P. penetrans* isolates PPR70 from chili pepper significantly reduced number of eggmasses compared to inoculated control. Number of second stage juveniles in the soil was not significantly different. The numbers of adult females in the root in *P. penetrans* treatments were not different from inoculated control. The percentages of spore-encumbered juveniles in all *P. penetrans* treatments were low. Endemic *P.*

penetrans isolates showed promising results in *M. incognita* control. However, *P. penetrans* may suitable for long term root-knot nematode control and should be used with other control strategies.

6. คำนำ : ไส้เดือนฝอยรากปม (Root-knot nematodes: *Meloidogyne* spp.) มีพืชอาศัยมากกว่า 2,000 ชนิด แพร่ระบาดและทำลายพืชปลูกหลายชนิดในประเทศไทย เช่น พริก, มะเขือเทศ มันฝรั่ง ปทุมมา และฝรั่ง เป็นต้น โดยไส้เดือนฝอยรากปมชนิดที่สำคัญ คือ *M. incognita* และ *M. javanica* แนวทางการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม นอกจากการเขตกรรมและการใช้สารเคมีแล้ว การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมแบบชีววิธีเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีความเป็นไปได้ เชื้อแบคทีเรีย *Pasteuria penetrans* เป็นหนึ่งในศัตรูธรรมชาติที่มีการศึกษามาเป็นระยะเวลานาน และพบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ (Gowen *et al*., 2008) *Pasteuria* spp. เป็นแบคทีเรียปรสิต ที่สร้างเอ็นโดสปอร์ ติดสีแกรมบวก เป็นปรสิตที่ต้องเจริญเติบโตในสิ่งมีชีวิตนั้นๆ เพื่อการครบวงชีวิต (obligate parasite) การจำแนกชนิดของ *Pasteuria* spp. ปัจจุบันยังไม่ชัดเจนแต่มีการแบ่งออกอย่างคร่าวๆ ออกเป็น 6 สปีชีส์ คือ *P. ramosa* เป็นปรสิตของ water flea (*Daphnia magna*) *P. thornei* เป็นปรสิตของไส้เดือนฝอยรากแผล *Pratylenchus penetrans P. nishizawae* เป็นปรสิตของไส้เดือนฝอย *Heterodera* และ *Globodera* spp. *P. usage* เป็นปรสิตของไส้เดือนฝอย *Belonolaimus longicaudatus P. hartismeri* เป็นปรสิตของไส้เดือนฝอยรากปม *M. ardensis* สำหรับ *P. penetrans* เป็นปรสิตของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. (Gowen *et al*., 2008) Chen and Dickson (1998) ได้รวบรวมงานวิจัยเกี่ยวกับ *P. penetrans* ทั้งประวัติของแบคทีเรียชนิดนี้ รวมทั้งชีววิทยา นิเวศวิทยา และการใช้แบคทีเรียชนิดนี้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมแบบชีววิธี *P. penetrans* เข้าทำลายไส้เดือนฝอย โดยสปอร์ที่อยู่ในดินจะเกาะติดกับผนังลำตัวของตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอย เมื่อไส้เดือนฝอยเข้าทำลายรากพืช และเริ่มชักนำเซลพืชเพื่อสร้างแหล่งอาหาร (feeding site) สปอร์ของ *P. penetrans* จะสร้าง germ tube แทงผ่านผนังลำตัวและพัฒนาเป็น dichotomous septate mycelium ในช่องว่างภายในลำตัวของไส้เดือนฝอย ต่อมา mycelium จะเข้าสู่ระยะ sporogenesis และสุดท้ายจะพัฒนาเป็น single sporangia ที่มี endospore อยู่ภายใน การสร้างสปอร์ของ *P. penetrans* ภายในตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอย จะทำลายการสร้างไข่ทำให้ไส้เดือน

ฝอยไม่สามารถขยายพันธุ์ได้ ในระยะยาวจะทำให้ประชากรของไส้เดือนฝอยในดินลดลง ตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมเมื่อถูกสปอร์ของ *P. penetrans* เกาะอยู่ที่ผนังลำตัวจำนวนมาก จะทำให้ความสามารถในการเคลื่อนที่และการเข้าทำลายรากพืชลดลง (Sano and Gaspard, 1995; Adiko and Gowen, 1999) มีรายงานถึงประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมของ *P. penetrans* ในพืชหลายชนิด เช่น มะเขือเทศ พริก ยาสูบ กระเจี๊ยบ องุ่น และข้าวสาลี เป็นต้น (Chen and Dickson, 1998) เอ็นโดสปอร์ของ *P. penetrans* สายพันธุ์ P20 จำนวน 10,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม สามารถควบคุมไส้เดือนฝอย *M. arenaria* race1 ในถั่วลิสงได้ (Chen *et al*., 1996) สปอร์จำนวนน้อยของ *P. penetrans* ในดิน สามารถเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ จนถึงระดับที่สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ (Chen *et al*., 1996; Oostendrop *et al*., 1991) ในการทดลองในกระถางพบว่า *P. penetrans* สามารถเพิ่มปริมาณได้มากกว่า 100 เท่า ภายใน 2-3 รอบของการปลูกพืช (Ali *et al*., 2005)

ในประเทศไทยยังไม่มีการรวบรวมแบคทีเรีย *P. penetrans* และยังไม่มีการศึกษาถึงความสามารถของแบคทีเรียชนิดนี้ในการใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากข้อจำกัดของแบคทีเรียชนิดนี้ที่เป็น obligate parasite ซึ่งต้องการไส้เดือนฝอยอาศัยในการครบวงชีวิต ทำให้การผลิตแบคทีเรียชนิดนี้ในปริมาณมากทำได้ยากและมีต้นทุนสูงจึงไม่เป็นที่สนใจ อย่างไรก็ตามมีรายงานการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชนิดนี้ในห้องปฏิบัติการ (Hewlett *et al*., 2002) และมีการทดสอบ *P. penetrans* ที่ได้จากการเลี้ยงในถังหมักในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในแปลงทดลอง (Hewlett *et al*., 2006) ปัจจุบันมีการผลิตสปอร์ของ *Pasteuria* เป็นการค้าโดยบริษัท Pasteuria Biosciences ซึ่งคาดว่าในอนาคตอาจมีการนำเข้ามาจำหน่ายในประเทศไทย จึงควรรวบรวม *Pasteuria* สายพันธุ์ในประเทศไทย ก่อนที่จะมีการนำเข้าสายพันธุ์จากต่างประเทศมาใช้ ซึ่งจะทำให้การค้นหา *Pasteuria* สายพันธุ์ไทยทำได้ยากขึ้น *Pasteuria* สายพันธุ์ไทยอาจมีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยได้ดีกว่าสายพันธุ์จากต่างประเทศ เนื่องจาก *P. penetrans* เป็นแบคทีเรียที่มีความจำเพาะเจาะจงกับไส้เดือนฝอยอาศัยสูง ดังนั้น *P. penetrans* สายพันธุ์ไทยอาจใช้ควบคุมประชากรไส้เดือนฝอยของไทยได้ดีกว่าสายพันธุ์จากต่างประเทศ

7. วิธีดำเนินการ :

- อุปกรณ์ - อุปกรณ์เก็บตัวอย่างดิน อุปกรณ์สำหรับแยกไส้เดือนฝอยออกจากดินและส่วนของพืช อุปกรณ์สำหรับปลูกพืช กล้องจุลทรรศน์ชนิดหัวกลับ กล้อง

จุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง กล้องจุลทรรศน์ชนิดหัวกลับ คอมพิวเตอร์และอุปกรณ์ถ่ายภาพ เครื่องปั่นเหวี่ยง สไลด์ ถ้วยนับตัวอย่าง สไลด์นับเม็ดเลือด (Haemacytometer) สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช สารกำจัดแมลง ปุ๋ยเคมี

- วิธีการ

การเก็บตัวอย่าง ดิน หัว รากพืช และการตรวจหา *P. penetrans*

เก็บตัวอย่างดิน ราก และหัวพืช ในแปลงปลูกพืชที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอยรากปม เช่น พริก มะเขือเทศ มันฝรั่ง มันขี้หนู เป็นต้น โดยเก็บดินบริเวณรากพืชลึกประมาณ 15-20 เซนติเมตรจำนวน 20 จุดต่อ 1 ตัวอย่างบันทึกพิกัดของจุดที่เก็บตัวอย่าง แยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดิน และตรวจหาตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* เกาะ แล้วนำไปเลี้ยงในรากมะเขือเทศเพื่อเพิ่มจำนวนสปอร์ แยกตัวเต็มวัยเพศเมียจากส่วนหัวของพืช บดในน้ำกลั่น นำของเหลวส่วนบนไปตรวจหา *P. penetrans* โดยการใช้ตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมเป็นเหยื่อล่อ สำหรับตัวอย่างรากพืชจะผึ่งให้แห้งในที่ร่มแล้วบดเป็นผงละเอียด นำตัวอย่างรากบด 0.1 กรัมปั่นเหวี่ยงในน้ำกลั่นที่ 3,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที แล้วนำของเหลวส่วนบนไปตรวจหา *P. penetrans* โดยการใช้ตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมเป็นเหยื่อล่อ

การเตรียมตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปม

เลี้ยงไส้เดือนฝอยรากปมในรากมะเขือเทศในกระถาง เมื่อต้นมะเขือเทศอายุประมาณ 60 วันแยกไข่ไส้เดือนฝอยโดยการตัดรากปมเป็นชิ้นขนาดยาวประมาณ 1 เซนติเมตร และเขย่าใน 0.52 % Sodium Hypochlorite (คลอร็อก 10%) และเก็บไข่ไส้เดือนฝอยโดยการล้างผ่านตะแกรงที่มีขนาดช่อง 25 ไมโครเมตร ด้วยน้ำสะอาด (Hussey and Barker, 1973) นำไข่ไส้เดือนฝอยใส่ลงบนตะแกรงไนลอนขนาดเล็กที่มีขนาดช่องประมาณ 25 ไมโครเมตร ซึ่งวางในจานเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นำตัวอ่อนระยะที่สองซึ่งฟักออกมาจากไข่อายุไม่เกิน 48 ชั่วโมงไปใช้ในการทดลอง

การเตรียมสปอร์ของ *P. penetrans* เพื่อใช้ในการทดลอง

เลี้ยงเพิ่มปริมาณสปอร์ของ *P. penetrans* โดยการนำตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยที่มี สปอร์ของ *P. penetrans* ติดอยู่ที่ผนังลำตัว เลี้ยงในรากมะเขือเทศที่ปลูกใน

ดินอบฆ่าเชื้อ (Stirling and Wachtel, 1980) นำรากผึ่งให้แห้งในที่ร่ม แล้วเก็บใส่ถุงพลาสติกใสเมื่อมะเขือเทศอายุ 60 วัน ตัดรากเป็นท่อนสั้นๆ และบดด้วยเครื่องบดไฟฟ้า นำผงราก 100 มิลลิกรัมบดกับน้ำเล็กน้อยด้วยโกร่งบดตัวอย่าง เติมน้ำลงในตัวอย่างและกรองส่วนบนผ่านตะแกรงขนาดช่อง 38 ไมโครเมตร นำเซลแขวนลอยของ *P. penetrans* ใส่ในบีกเกอร์พลาสติกปรับปริมาตร และวัดความเข้มข้นของเซลแขวนลอยของสปอร์ โดยใช้ Haemacytometer

การทดสอบประสิทธิภาพของ *P. penetrans* 2 ไอโซเลตที่เลี้ยงเพิ่มปริมาณได้สำเร็จในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* (ปีงบประมาณ 2556)

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 กรรมวิธี 5 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่สารเคมี และ *P. penetrans* (Control)

กรรมวิธีที่ 2 คลุกดินด้วย *P. penetrans* ไอโซเลตจากหัวมันฝรั่ง (PP122) อัตรา 10^6 สปอร์/กระถาง

กรรมวิธีที่ 3 คลุกดินด้วย *P. penetrans* ไอโซเลตจากรากพริก (PPR70) อัตรา 10^6 สปอร์/กระถาง

กรรมวิธีที่ 4 คลุกดินด้วยสาร carbofuran 3G อัตรา 0.1 กรัมต่อกระถาง

ย้ายมะเขือเทศพันธุ์สีดาอายุ 3-4 สัปดาห์ปลูกลงในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 นิ้ว ที่ใส่ดินอบฆ่าเชื้อหนัก 200 กรัมที่คลุกด้วยผงสปอร์ของ *P. penetrans* จำนวน 10^6 สปอร์ต่อกระถางใส่ตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมจำนวน 400 ตัว ลงในกระถาง โดยเจาะดินรอบต้นมะเขือเทศจำนวน 4 ช่อง ใช้ไปเปตหยอดตัวอ่อนไส้เดือนฝอยที่อยู่ในน้ำลงในช่องแล้วกลบดินปิด ตรวจผลการทดลอง 45 วันหลังใส่ไส้เดือนฝอย โดยนับจำนวนปม จำนวนกลุ่มไข่ทั้งหมดบนรากมะเขือเทศ และชั่งน้ำหนักแห้งของต้นมะเขือเทศ

การทดสอบประสิทธิภาพของ *P. penetrans* ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ไอโซเลตจากมันฝรั่ง (ปีงบประมาณ 2557)

วางแผนการทดลองแบบ CRD 11 กรรมวิธี 5 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 *P. penetrans* ไอโซเลต PP121 (มันฝรั่ง) 10^6 สปอร์ต่อกระถาง

กรรมวิธีที่ 2 *P. penetrans* ไอโซเลต PP689 (มันขี้หนู) 10^6 สปอร์ต่อกระถาง

กรรมวิธีที่ 3 *P. penetrans* ไอโซเลต PP695 (มันขี้หนู) 10^6 สปอร์ต่อกระถาง

กรรมวิธีที่ 4 *P. penetrans* ไอโซเลต PP705 (มันขี้หนู) 10^6 สปอร์ต่อกระถาง

กรรมวิธีที่ 5 *P. penetrans* ไอโซเลต PP720 (มันขี้หนู) 10^6 สปอร์ต่อกระถาง

กรรมวิธีที่ 6 *P. penetrans* ไอโซเลต PP722 (มันขี้หนู) 10^6 สปอร์ต่อกระถาง

กรรมวิธีที่ 7 *P. penetrans* ไอโซเลต PP735 (มันขี้หนู) 10^6 สปอร์ต่อกระถาง

กรรมวิธีที่ 8 *P. penetrans* ไอโซเลต PPR70 (พริก) 10^6 สปอร์ต่อกระถาง

กรรมวิธีที่ 9 สาร cadusafos 10 G อัตรา 0.1 กรัมต่อกระถาง

กรรมวิธีที่ 10 ใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว

กรรมวิธีที่ 11 ไม่ใส่ไส้เดือนฝอยและสารใดๆ

ย้ายมะเขือเทศพันธุ์สีดาอายุ 3-4 สัปดาห์ปลูกลงในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 นิ้ว ที่ใส่ดินอบฆ่าเชื้อหนัก 200 กรัมที่คลุกด้วยสปอร์ของ *P. penetrans* อัตรา 10^6 สปอร์ต่อกระถาง ใส่ตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมจำนวน 600 ตัว ลงในกระถาง โดยเจาะดินรอบต้นมะเขือเทศจำนวน 4 ช่อง ใช้ไปเปตหยอดตัวอ่อนไส้เดือนฝอยที่แขวนลอยอยู่ในน้ำลงในช่องแล้วกลบดินปิด ตรวจผลการทดลอง 45 วันหลังใส่ไส้เดือนฝอย โดยชั่งน้ำหนักแห้งต้น น้ำหนักราก นับจำนวนกลุ่มไข่ทั้งหมดบนรากมะเขือเทศ นับจำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียภายในราก นับจำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* โดยสุ่มตัวเต็มวัยเพศเมียจำนวน 20 ตัว แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลาย นับจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองทั้งหมดในดิน และจำนวนตัวอ่อนที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* บนผนังลำตัว

การทดสอบประสิทธิภาพของ *P. penetrans* ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ไอโซเลตจากพริกไทย (ปีงบประมาณ 2558)

ปฏิบัติการทดลองเช่นเดียวกับการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ไอโซเลตจากมันฝรั่ง โดยทดสอบ *P. penetrans* 4 ไอโซเลต และปรับลดอัตราสาร cadusafos 10G ลงเป็น 0.01 กรัมต่อกระถาง เนื่องจากว่าความเข้มข้นของสารในการทดลองในปี 2557 สูงเกินไป ทำให้มีจำนวนไส้เดือนฝอยที่เข้าทำลายรากน้อยมาก วางแผนการทดลองแบบ CRD 5 ซ้ำ โดยมีกรรมวิธีต่างๆ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 *P. penetrans* ไอโซเลต PP122 (มันฝรั่ง) 10^6 สปอร์ต่อกระถาง

กรรมวิธีที่ 2 *P. penetrans* ไอโซเลต PP705 (มันขี้หนู) 10^6 สปอร์ต่อกระถาง

กรรมวิธีที่ 3 *P. penetrans* ไอโซเลต PP720 (มันขี้หนู) 10^6 สปอร์ต่อกระถาง

กรรมวิธีที่ 4 *P. penetrans* ไอโซเลต PPR70 (พริก) 10^6 สปอร์ต่อกระถาง

กรรมวิธีที่ 5 สาร cadusafos 10 G อัตรา 0.01 กรัมต่อกระถาง

กรรมวิธีที่ 6 ใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว

กรรมวิธีที่ 7 ไม่ใส่ไส้เดือนฝอยและสารใดๆ

ย้ายมะเขือเทศพันธุ์สีดาอายุ 3-4 สัปดาห์ปลูกลงในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 นิ้ว ที่ใส่ดินอบฆ่าเชื้อหนัก 200 กรัมที่คลุกด้วยสปอร์ของ *P. penetrans* อัตรา 10^6 สปอร์ต่อกระถาง ใส่ตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมจำนวน 600 ตัว ลงในกระถาง โดยเจาะดินรอบต้นมะเขือเทศจำนวน 4 ช่อง ใช้ไปเปตหยอดตัวอ่อนไส้เดือนฝอยที่แขวนลอยอยู่ในน้ำลงในช่องแล้วกลบดินปิด ตรวจผลการทดลอง 45 วันหลังใส่ไส้เดือนฝอย โดยชั่งน้ำหนักแห้งต้น น้ำหนักราก นับจำนวนกลุ่มไข่ทั้งหมดบนรากมะเขือเทศ นับจำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียภายในราก นับจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองทั้งหมดในดิน และจำนวนตัวอ่อนที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* บนผนังลำตัว

วิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT แปลงข้อมูลจำนวนนับให้อยู่ในรูป log (x+1) ก่อนวิเคราะห์ข้อมูล

- เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2558

กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

ปีงบประมาณ 2554–2555 ตรวจพบแบคทีเรีย *P. penetrans* ในตัวอย่างไส้เดือนฝอยรากปมที่ได้จาก หัวมันฝรั่ง (*Solanum tuberosum* cv. Atlantic) มันขี้หนู (*Coleus parvifolius*) และรากพริก (*Capsicum annuum*) (ตารางที่ 1) และสามารถเพิ่มจำนวนสปอร์สำหรับใช้ในการทดลองได้บางไอโซเลต

ปีงบประมาณ 2556 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *P. penetrans* 2 ไอโซเลตที่แยกได้จากหัวมันฝรั่ง (PP122) และพริก (PPR70) อย่างละ 1 ไอโซเลต เปรียบเทียบกับการใช้สาร carbofuran 3G พบว่าน้ำหนักแห้งของต้นมะเขือเทศไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่าเฉลี่ยจำนวนปม และจำนวนกลุ่มไข่ ในกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ทั้ง 2 ไอโซเลตและกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสาร carbofuran 3G ต่ำกว่ากรรมวิธีที่ไม่ได้คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรียหรือสารเคมีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* หรือสาร carbofuran 3G (ตารางที่ 2)

ปีงบประมาณ 2557 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *P. penetrans* 8 ไอโซเลต ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ไอโซเลตจากมันฝรั่ง ได้ผลการทดลองดังนี้

น้ำหนักแห้งต้น

พบว่ากรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยรากปม และกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว (inoculated control) มีน้ำหนักแห้งต้นเฉลี่ยสูงสุด คือ 0.75 กรัม ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของ *P. penetrans* ไอโซเลต PP121 PP695 PP705 PP720 PP722 และ PPR70 แต่แตกต่างกับกรรมวิธีที่คลุกดินด้วย *P. penetrans* ไอโซเลต PP689 และ PP735 กรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสาร cadusafos และกรรมวิธีที่ไม่ใส่ไส้เดือนฝอยและสารใดๆ (non-inoculated control) (ตารางที่ 3)

น้ำหนักราก

กรรมวิธีที่คลุกดินด้วย *P. penetrans* ไอโซเลต PP121 มีน้ำหนักรากเฉลี่ยสูงสุดคือ 1.64 กรัม ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่คลุกดินด้วย *P. penetrans* ไอโซเลต PP689 PP705 PP722 PP735 และ PPR70 แต่แตกต่างกับกรรมวิธีที่คลุกดินด้วย *P. penetrans* ไอโซเลต PP695 PP720 กรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสาร cadusafos กรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว (inoculated control) และกรรมวิธีที่ไม่ใส่ไส้เดือนฝอยและสารใดๆ (non-inoculated control) (ตารางที่ 3)

จำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียภายในรากและเปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยเพศเมียที่มีสปอร์ของ P. penetrans

กรรมวิธีที่คลุกดินด้วย *P. penetrans* มีจำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียภายในรากไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว ยกเว้นกรรมวิธีที่คลุกดินด้วย *P. penetrans* ไอโซเลต PP735 มีจำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียภายในรากมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว (inoculated control) กรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสาร cadusafos 10G มีจำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียภายในรากน้อยที่สุด (ตารางที่ 3) กรรมวิธีที่มีเปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยเพศเมียที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* สูงที่สุดคือ กรรมวิธีที่คลุกดินด้วย *P. penetrans* ไอโซเลต PP705 และ PP722 โดยมีเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลาย 58.0 และ 52.5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

<u>จำนวนกลุ่มไข่ต่อราก</u>

กรรมวิธีที่คลุกดินด้วย *P. penetrans* ไอโซเลต PP689 PP695 PP705 PP720 PP722 และกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสาร cadusafos มีจำนวนกลุ่มไข่ต่อรากน้อยกว่ากรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว (inoculated control) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3) ส่วนกรรมวิธีที่คลุกดินด้วย *P. penetrans* ไอโซเลต PP121 PP735 และ PPR70 มีจำนวนกลุ่มไข่ต่อรากไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว (inoculated control)

<u>จำนวนตัวอ่อนระยะที่สองในดิน</u>

จำนวนตัวอ่อนระยะที่สองในดิน ในกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของ *P. penetrans* ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว (inoculated control) (ตารางที่ 3) ส่วนกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสาร cadusafos ไม่พบตัวอ่อนระยะที่สองในดิน

<u>เปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนระยะที่สองที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* เกาะบนผนังลำตัว</u>

พบว่ากรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของ *P. penetrans* ไอโซเลต PP705 มีเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนระยะที่สองที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* เกาะบนผนังลำตัวมากที่สุดคือ 36.04% แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกรรมวิธีที่คลุกดินด้วย *P. penetrans* ไอโซเลตอื่นๆ (ตารางที่ 3)

ปีงบประมาณ 2558 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *P. penetrans* 4 ไอโซเลต ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ไอโซเลตจากพริกไทย ได้ผลการทดลองดังนี้

น้ำหนักต้น

พบว่ากรรมวิธีที่ไม่ใส่ไส้เดือนฝอยและสารใดๆ (non-inoculated control) มีน้ำหนักตันเฉลี่ยสูงที่สุด ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลต PP705 PPR70 และกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว (inoculated control) กรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสาร cadusafos มีน้ำหนักต้นต่ำที่สุดแต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลต PP122 PP720 PPR70 และกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว (inoculated control) (ตารางที่ 4)

น้ำหนักราก

น้ำหนักรากมะเขือเทศในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4)

จำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียภายในราก

จำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียภายในรากในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4)

จำนวนกลุ่มไข่ต่อราก

จำนวนกลุ่มไข่ต่อรากในกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว (inoculated control) มากที่สุดแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลต PP122 PP705 และ PP720 จำนวนกลุ่มไข่ต่อรากในกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสาร cadusafos น้อยที่สุด จำนวนกลุ่มไข่ต่อรากในกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลต PPR70 มากกว่ากรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสาร cadusafos แต่น้อยกว่ากรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลต PP122 PP705 และ PP720 และกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว (inoculated control) (ตารางที่ 4)

จำนวนตัวอ่อนระยะที่สองในดิน

จำนวนตัวอ่อนระยะที่สองในดินในกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสาร cadusafos อยู่ในระดับต่ำที่สุด จำนวนตัวอ่อนระยะที่สองในดินในกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว (inoculated control) (ตารางที่ 4)

<u>เปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนระยะที่สองที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* เกาะบนผนังลำตัว</u>

พบว่าเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนระยะที่สองที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* เกาะบนผนังลำตัวอยู่ในระดับที่ต่ำมากในทุกกรรมวิธี โดยในกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลต PP122 มีเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนระยะที่สองที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* เกาะบนผนังลำตัวมากที่สุดคือ 2.63% (ตารางที่ 4)

จากผลการทดลองที่ได้พบว่าการคลุกดินด้วยสปอร์ของ *P. penetrans* สามารถลดการสร้างกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมได้ อย่างไรก็ตามจำนวนประชากรตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมในดินในกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของ *P. penetrans* และกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว (inoculated control) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนระยะที่สองในดินที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* เกาะบนผนังลำตัวค่อนข้างต่ำ อย่างไรก็ตามการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมด้วยแบคทีเรีย *P. penetrans* เป็นการควบคุมในระยะยาว ตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยรากปมที่ถูกเข้าทำลายจะผลิตสปอร์ของ *P. penetrans* ภายในตัวประมาณตัวละ 2×10^6 สปอร์ต่อตัวโดยเฉลี่ย ซึ่งสปอร์เหล่านี้จะลงสู่ดินเมื่อรากย่อยสลาย และเกาะผนังลำตัวของตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองที่อยู่ในดินและเข้าทำลายต่อไป ปริมาณสปอร์ของ *P. penetrans* ในดินจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึงระดับที่สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยได้ จากผลการทดลองถึงแม้ว่าจำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียภายในรากจะไม่แตกต่างกันระหว่างกรรมวิธีที่คลุกดินและไม่คลุกดินด้วย *P. penetrans* แต่ในกรรมวิธีที่คลุกดินด้วย *P. penetrans* มีจำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียที่ถูกเข้าทำลายมากกว่า 50% ในบางไอโซเลต ซึ่งตัวเต็มวัยที่ถูกเข้าทำลายเหล่านี้มีสปอร์ของ *P. penetrans* เจริญอยู่ภายในตัวและจะถูกปล่อยลงสู่ดินต่อไป ในการทดลองนี้พบว่าจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองในดินที่มีสปอร์เกาะบนผนังลำตัวค่อนข้างน้อย ซึ่งอาจเป็นเพราะสปอร์ของ *P. penetrans* รุ่นใหม่ที่ผลิตในตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยรากปมยังไม่ถูกปล่อยลงสู่ดิน แต่สปอร์ที่เกาะบนผนังลำตัวไส้เดือนฝอยคือสปอร์ที่คลุกดินเมื่อเริ่มทดลองที่ยังอยู่ในดิน

ผลการทดลองที่ได้จากการใช้ *P. penetrans* ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ไอโซเลตจากมันฝรั่งและพริกไทยให้ผลที่ค่อนข้างแตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับ Tzortzkakis et al. (1996) ซึ่งทดสอบศักยภาพของ แบคทีเรีย *P. penetrans* ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม พบว่าการเกาะของสปอร์แบคทีเรียบนผนังลำตัวของไส้เดือนฝอยรากปมมีความแปรปรวนที่เกิดจากความหลากหลายของ biotypes ของประชากรไส้เดือนฝอยรากปม ความสัมพันธ์ของอัตราการเกาะของสปอร์ กับความเข้มข้นของสปอร์ไม่เป็นลักษณะเชิงเส้นตรง (linear) ถึงแม้ว่าจะใช้สปอร์ที่ความเข้มข้นสูง ก็ไม่สามารถมั่นใจได้ว่าสปอร์จะเกาะและเข้าทำลายไส้เดือนฝอยทุกตัว นอกจากนี้ยังพบว่าการที่มีตัวอ่อนระยะที่สองที่มีสปอร์ของแบคทีเรียติดอยู่จำนวนมาก ไม่ได้ลดการสร้างกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยได้มากขึ้นเสมอไป ทั้งนี้เป็นผลจากความแตกต่างของ biotypes ของไส้เดือนฝอยรากปม ดังนั้นการใช้แบคทีเรีย *P. penetrans* ให้มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมจึงควรใช้ร่วมกับวิธีการอื่นๆ (Tzortzakakis and Gowen, 1994) และการใช้ *P. penetrans* หลายไอโซเลตร่วมกันอาจทำให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น ซึ่งควรมีการทดลองต่อไป

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ : ในการทดลองนี้สามารถรวบรวมแบคทีเรียปฏิปักษ์ *P. penetrans* ไอโซเลตไทยจากหัวมันฝรั่ง มันขี้หนูและรากพริก และทดสอบความสามารถในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในการทดลองในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 นิ้ว บรรจุดิน 200 กรัม โดยการคลุกดินด้วยสปอร์อัตรา 10^6 สปอร์/กระถาง พบว่าบางไอโซเลตสามารถลดการสร้างกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมได้ แต่ประชากรตัวอ่อนระยะที่สองในดินไม่แตกต่างกับกรรมวิธีควบคุม แบคทีเรียปฏิปักษ์ *P. penetrans* ทุกไอโซเลตสามารถเข้าทำลายและครบวงชีวิตและสร้างสปอร์ในไส้เดือนฝอยรากปม การใช้แบคทีเรียชนิดนี้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม อาจเหมาะสำหรับการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในระยะยาวเมื่อปริมาณสปอร์ของแบคทีเรียในดินสะสมจนมีปริมาณมากพอ การใช้แบคทีเรียหลายไอโซเลตร่วมกันอาจมีประสิทธิภาพมากขึ้น เนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้มีความจำเพาะกับไส้เดือนฝอยรากปมค่อนข้างสูง ซึ่งในสภาพธรรมชาติจะมีไส้เดือนฝอยรากปมหลายชนิดอยู่ปะปนกัน การใช้แบคทีเรีย *P. penetrans* ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมควรใช้ร่วมกับวิธีการอื่นๆ ด้วย เนื่องจากอาจมีไส้เดือนฝอยรากปมบางส่วนที่หลุดรอดจากการเข้าทำลายของแบคทีเรีย สามารถครบวงชีวิตและขยายพันธุ์ได้เป็นปกติ จึงควรมีการทดลองการใช้แบคทีเรียชนิดนี้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมใน

ระยะยาว และการใช้ร่วมกับวิธีการอื่นๆ เพื่อให้ได้วิธีการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมที่มีประสิทธิภาพต่อไป

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ :

- นำเสนอผลงานในการประชุมวิชาการในภาคบรรยายและแผ่นภาพ
- นำแบคทีเรีย *P. penetrans* ที่ได้ไปศึกษาต่อด้านการผลิตขยายและการนำไปใช้

11. คำขอบคุณ (ถ้ามี) : -

12. เอกสารอ้างอิง

Adiko, A. and S.R. Gowen. 1999. Effects of spores of *Pasteuria penetrans* on the motility of second-stage juveniles of *Meloidogyne incognita*. Russian Journal of Nematology 7:5–6.

Ali D.D., P.M. Ali, B.A. Ghaffar and M.S. Ahmed. 2005. The effect of different initial densities of nematode (*Meloidogyne javanica*) on the build-up of *Pasteuria penetrans* population. Journal of Zhejiang University SCIENCE 6B:113-118.

Chen, Z.X., D.W. Dickson, R. McSorley, D.J. Mitchell, and T.E. Hewlett. 1996. Suppression of *Meloidogyne arenaria* race 1 by soil application of endospores of *Pasteuria penetrans*. Journal of Nematology 28:159-168.

Chen, Z.X. and D.W. Dickson. 1998. Review of *Pasteuria penetrans*: Biology,Ecology, and Biological Control Potential. Journal of Nematology 30:313-340.

Gowen, S, K.G. Davies and B. Pembroke. 2008. Potential use of *Pasteuria* spp. in the management of plant parasitic nematodes. Pp. 205-219 *in* Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crops nematodes. Ciancio, A. and K.G. Mukerji, eds. Springer, Dordrecht, The Netherlands.

Hewlett, T. E., J. F. Gerber, K. S. Smith, and J.H. White. 2002. *In Vitro* Culture of *Pasteuria penetrans*. Nematology 4:152-153.

Hewlett, T.E., S.T. Griswold, and K.S. Smith. 2006. Biological control of *Meloidogyne incognita* using in-vitro produced *Pasteuria penetrans* in a microplot study. Journal of Nematology 38:274 (Abstract).

Oostendrop, M., D.W. Dickson and D.J. Mitchell. 1991. Population development of *Pasteuria penetrans* on *Meloidogyne arenaria*. Journal of Nematology 23:58-64.

Sano, Z. and J.T. Gaspard. 1995. Differences in mortality and reproduction of *Meloidogyne incognita* infected with varied amounts of *Pasteuria penetrans*. Japanese Journal of Nematology 25:129.

Tzortzakakis, E. A. and S.R. Gowen. 1994. Resistance of a Population of *Meloidogyne* spp. to Parasitism by the Obligate Parasite *Pasteuria penetrans*. Nematologica 40:258-266.

Tzortzakakis, E. A., A. G. D. R. Channer, S. R. Gowen and R. Ahmed. 1997. Studies on the Potential Use of *Pasteuria penetrans* as a Biocontrol Agent of Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.). Plant Pathology 46:44–55.

13. ภาคผนวก

Table 1 Detection of *P. penetrans* in *Meloidogyne* spp. adult females from *S. tuberosum* cv. Atlantic *and C. parvifolius* and from root powder of *C. annuum*

Plant species	Sample type	No. of sample	No. of positive detection	%
S. tuberosum	Adult females	632	21	3.3
C. parvifolius	Adult females	105	88	83.8
C. annuum	Root powder	95	5	5.3

Table 2 Average shoot dry weight, galls and eggmasses number

Treatments	Plant dry weight	No. of galls†	No. of eggmass †
Control	2.06	49b	14b
PP122 (*S. tuberosum*)	1.63	16a	3a
PPR70 (*C. annuum*)	1.79	16a	3a
Carbofuran 3G	1.53	12a	4a
F-Test	ns	*	*
CV (%)	29.64	79.49	48.91

† Numbers in the same column with the same letter are not significantly different at 95% level by DMRT

* = Significantly different at 95% level

Table 3 Average shoot dry weight, root weight, number of adult females in the root, percent infected females, number of eggmasses on the root, number of spore encumbered second stage juveniles on *Solanum lycopercicum* cv. Sida 45 days after inoculated with 600 second stage juveniles of *M. incognita* (Potato isolate)

Treatment	Shoot dry weight (g)†	Root weight (g)†	No. of adult females in the root	Percent infected females (%)	No. of eggmasses on the root†	No. of second stage juveniles in the soil†	Percent encumbered second stage juveniles (%)†
PP121 (*S. tuberosum*)	0.51 abc	1.64 a	219 ab	46.0 ab	63 ab	12,754 ab	14.5 b
PP689 (*C. parvifolius*)	0.41 bc	1.28 ab	123 bc	26.2 b	48 bc	7,915 ab	3.1 bcd
PP695 (*C. parvifolius*)	0.53 abc	1.03 b	152 bc	35.0 ab	48 bc	15,312 a	1.4 cd
PP705 (*C. parvifolius*)	0.62 abc	1.60 a	181 abc	58.0 a	35 bc	8,645 ab	25.8 a
PP720 (*C. parvifolius*)	0.48 abc	1.05 b	110 bc	38.0 ab	29 c	5,052 b	9.0 bc
PP722 (*C. parvifolius*)	0.59 abc	1.29 ab	124 bc	52.5 a	55 bc	16,460 a	6.6 bc
PP735 (*C. parvifolius*)	0.40 c	1.29 ab	292 a	39.0 ab	84 ab	6,432 ab	4.2 bc
PPR70 (*C. annuum*)	0.72 ab	1.35 ab	192 abc	38.0 ab	69 ab	6,416 ab	10.2 b
Cadusafos 10G	0.32 c	0.54 cd	2 d	0.0 c	0 d	0 c	-
Inoculated	0.75 a	0.99 bc	131 bc	0.0 c	125 a	9,108 ab	0.0 d
Non-inoculated	0.39 c	0.47 d	-	-	0 d	0 c	-

F -test	*	**	**	**	**	**	**
C.V. (%)	28.41	32.24	13.41	27.77	18.80	20.66	27.12

†Numbers in the same column with the same letter are not significantly different at 95% level by DMRT

* = Significantly different at 95% level

** = Significantly different at 99% level

Table 4 Average shoot weight, root weight, number of adult females in the root, number of eggmasses on the root, number of spore encumbered second stage juveniles on *Solanum lycopercicum* cv. Sida 45 days after inoculated with 600 second stage juveniles of *M. incognita* (Black Pepper Isolate)

Treatment	Shoot weight (g)†	Root weight (g)†	No. of adult females in the root	No. of eggmasses on the root†	No. of second stage juveniles in the soil†	Percent encumbered second stage juveniles (%)†
PP122 (*S. tuberosum*)	18.2 bc	3.2	388	99 ab	10,176 a	2.63 a
PP705 (*C. parvifolius*)	20.8 ab	3.3	376	141 a	18,496 a	0.20 c
PP720 (*C. parvifolius*)	18.3 bc	3.0	275	135 a	16,888 a	0.49 b
PPR 70 (*C. parvifolius*)	19.4 abc	3.3	270	62 b	18,748 a	0 c
Cadusafos 10G	16.3 c	2.6	198	45 c	6,488 b	0 c
Inoculated	19.1 abc	3.5	426	160 a	20,752 a	0 c
Non-inoculated	21.6 a	3.0	-	-	-	-
F -test	*	ns	ns	**	**	**
C.V. (%)	50.27	41.93	13.41	11.73	12.09	15.56

†Numbers in the same column with the same letter are not significantly different at 95% level by DMRT

* = Significantly different at 95% level

** = Significantly different at 99% level

Fig 1 *P. penetrans* spores attach to the second stage juvenile cuticle (A), the uninfected female produces eggs inside the eggmass but the *P. penetrans*-infected female is unable to produce eggs (B), but approximately 2X10^6 *P. penetrans* spores (C) are produced inside the body.