

## รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. **ชุดโครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช
2. **โครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาการควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตรโดยชีววิธี  
**กิจกรรม** : การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมโรคพืช  
**กิจกรรมย่อย (ถ้ามี)** : การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียในการควบคุมไส้เดือนฝอยโรคพืช
3. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : การคัดเลือกแบคทีเรีย *Pasteuria* spp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยเรนิฟอรัม *Rotylenchulus* spp
4. **ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ)** : Screening of *Pasteuria* spp. antagonistic bacteria for controlling of reniform nematodes *Rotylenchulus* spp
5. **คณะผู้ดำเนินงาน**  
**หัวหน้าการทดลอง** : ไตรเดช ช่างทอง รพ. สอพ.  
**ผู้ร่วมงาน** : อติยา สารพัฒน์ รพ. สอพ.  
รุ่งนภา ทองเครื่อง รพ. สอพ.
6. **บทคัดย่อ** : การใช้ศัตรูธรรมชาติในการป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอย เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่มีความเป็นไปได้ เป็นวิธีการที่มีความยั่งยืนและไม่เกิดผลเสียต่อสภาพแวดล้อม ไส้เดือนฝอยเรนิฟอรัมเป็นไส้เดือนฝอยชนิดที่สำคัญชนิดหนึ่ง มีพืชอาศัยกว้างและทำความเสียหายแก่พืชเศรษฐกิจได้หลายชนิด มีรายงานว่าแบคทีเรีย *Pasteuria* spp. สามารถเข้าทำลายไส้เดือนฝอยชนิดนี้ได้ และปัจจุบันได้มีการผลิตเป็นการค้า โดยการเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วยสปอร์เพื่อใช้ป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอย *R. reniformis* ของฝ่าย งานวิจัยนี้เป็นการรวบรวมหาแบคทีเรีย *Pasteuria* spp. ไอโซเลตในประเทศไทยที่มีความจำเพาะกับ *Rotylenchulus* spp. เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมไส้เดือนฝอย *Rotylenchulus* spp. การดำเนินงานในปีงบประมาณ 2557 เก็บตัวอย่างดินทั้งสิ้น 167 ตัวอย่าง จากแปลงปลูกมันฝรั่ง ฝรั่ง ถั่วเหลือง ส้ม และมันสำปะหลัง ตรวจพบไส้เดือนฝอย *Rotylenchulus* spp. เฉพาะตัวอย่างดินจากแปลงมันฝรั่งและส้ม แต่ยังไม่พบไส้เดือนฝอย *Rotylenchulus* spp. ที่มีสปอร์ของแบคทีเรีย *Pasteuria* spp. ปีงบประมาณ 2558 เก็บตัวอย่างดินทั้งสิ้น 111 ตัวอย่าง จากแปลงปลูกมันฝรั่ง กัญชง และ หอมแดง ตรวจพบไส้เดือนฝอย

*Rotylenchulus* spp. 46 ตัวอย่าง แต่ไม่พบไส้เดือนฝอย *Rotylenchulus* spp. ที่มีสปอร์ของแบคทีเรีย *Pasteuria* spp. เช่นเดียวกัน

: Using natural enemies to control plant parasitic nematode is a possible mean for nematode management. The method is sustainable and safe to the environment. Reniform nematode is one of important group of nematode. It has wide host range and causes serious damage to several economic crops. *Pasteuria* spp. is a bacterial parasite which has been reported for the ability to control reniform nematode. *Pasteuria* spp. is commercially produced for the control of *R. reniformis* in cotton by coating the seeds with bacterial spores. This research was the collection of endemic *Pasteuria* spp. isolates for using as a biocontrol agent against reniform nematode. In 2014, 167 soil samples were collected from potato guava soybean citrus and cassava field. *Rotylenchulus* spp. was obtained in soils from potato and citrus but there was no *Rotylenchulus* spp. that infected with *Pasteuria* spore. In 2015, 111 soil samples were collected from potato banana and shallot field. *Rotylenchulus* spp. was obtained from 46 samples, however, no infected nematode was found.

7. คำนำ : ไส้เดือนฝอยเรนิฟอร์ม *Rotylenchulus* spp. เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่สำคัญ ที่แพร่กระจายอยู่ทั่วโลกและทำความเสียหายแก่พืชหลายชนิด พืชที่ไส้เดือนฝอยชนิดนี้ทำความเสียหายมากได้แก่ ฝ้าย ชา ยาสูบ ถั่วเหลือง สับปะรด มันเทศ กัญชง พืชผัก และไม้ผลหลายชนิด (Robinson *et al.*, 1997) ในประเทศไทยพบไส้เดือนฝอย *Rotylenchulus* spp. ในตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืชหลายชนิด เช่น ท้อ สับปะรด น้อยหน่า ละมุด กัญชง ฝรั่ง ลิ้นจี่ ลำไย องุ่น เงาะ มะละกอ ส้มโอ กาแฟ ทูเรียน ชมพู่ มังคุด ถั่วเหลือง ฝ้าย ผักบุ้ง มะเขือเทศ หม่อน หมาก ยาสูบ ถั่วเขียว แรดดิซ ละหุ่ง มะเขือเปราะ ถั่วต่างๆ และกะหล่ำปลี (Chunram, 1972) ไส้เดือนฝอย *R. reniformis* จำนวน 5,000 10,000 20,000 และ 40,000 ตัวสามารถทำให้ผลผลิตถั่วเขียวลดลง 8.79 17.94 39.04 และ 43.02 เปอร์เซ็นต์ (สมควร และคณะ, 2538) และน้ำหนักเมล็ดแห้งของทานตะวันลดลง 16.95 17.75 27.10 และ 33.60 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองสภาพกระถางในเรือนทดลอง (สมควร และคณะ, 2537) สารโวจน์ (2517) ทดสอบประชากร *R. reniformis* ที่เข้าทำลายพลูพบว่าไส้เดือนฝอยชนิดนี้มีพืชอาศัย 39 ชนิด จากพืชที่นำมาทดสอบจำนวน 60 ชนิด มนตรีและจรัส (2534) รายงานว่าความเสียหายของผลผลิตพริกพันธุ์ห้วยสีทน-1 เพิ่มมากขึ้นในดินปลูกที่มีไส้เดือน

ฝอย 2 ชนิดคือ *R. reniformis* และ *M. incognita* อยู่ร่วมกัน เมื่อเทียบกับดินที่มีไส้เดือนฝอยเพียงชนิดใดชนิดหนึ่ง ไส้เดือนฝอยเรนิฟอร์มจึงมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และการควบคุมประชากรไส้เดือนฝอยเพื่อเพิ่มผลผลิตเป็นสิ่งจำเป็น

การควบคุมไส้เดือนฝอยศัตรูพืชโดยชีววิธีเป็นแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากมีความปลอดภัยต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม *Pasteuria* เป็นแบคทีเรียที่เป็นปฏิปักษ์กับไส้เดือนฝอยหลายชนิด (Chen and Dickson, 1998) ข้อมูลของแบคทีเรีย *Pasteuria* spp. ที่เป็นปรสิตของไส้เดือนฝอยเรนิฟอร์มมีน้อยมาก เมื่อเทียบกับ *P. penetrans* ที่เป็นปรสิตของไส้เดือนฝอยรากปมที่มีการศึกษากันมาก (Chen et al., 1997) Ko et al. (1995) รายงานการเกาะของสปอร์ *Pasteuria*-like organism บนผนังลำตัวของ *R. reniformis* เป็นครั้งแรก แต่ไม่ได้รายงานการเข้าทำลายไส้เดือนฝอย ซึ่งในระยะแรกยังไม่แน่ใจว่าสปอร์ดังกล่าวใช่ *Pasteuria* spp. หรือไม่ จนกระทั่งมีการพิสูจน์การเข้าทำลายไส้เดือนฝอยของสปอร์ และการเปรียบเทียบลำดับ nucleotides ของยีน *spoIIAB*, *atpA*, *atpF* และ 16s rDNA ในเวลาต่อมา ซึ่งพบว่ามี ความคล้ายคลึงกับ *Pasteuria* spp. (Hewlett et al., 2009) การศึกษาการเข้าทำลายไส้เดือนฝอยเรนิฟอร์มของ *Pasteuria* spp. โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าแบคทีเรียสามารถสร้างสปอร์และครบวงจรชีวิตได้ในตัวอ่อน ตัวเต็มวัยเพศผู้ และตัวเต็มวัยเพศเมีย (Schmidt et al., 2010) *Pasteuria* spp. เป็น obligate parasite ซึ่งต้องการไส้เดือนฝอยอาศัยในการครบวงจรชีวิต ทำให้มีข้อจำกัดในการผลิตเชิงการค้า จนกระทั่งมีรายงานว่าสามารถผลิตสปอร์ของแบคทีเรียชนิดนี้ในถังหมักเป็นผลสำเร็จ (Hewlett et al., 2002) และได้ใช้วิธีนี้ผลิตสปอร์ของ *Pasteuria* spp. สำหรับควบคุมไส้เดือนฝอยเรนิฟอร์มได้เป็นผลสำเร็จ และสามารถผลิตเป็นการค้าในรูปแบบเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย หรือรูปแบบการปั้นเม็ด ซึ่งจากการทดสอบเบื้องต้นพบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอย *R. reniformis* (Schmidt et al., 2010) ปัจจุบันในประเทศไทยยังไม่มี การรวบรวม *Pasteuria* spp. ของ *Rotylenchulus* spp. แต่มีการรวบรวม *P. penetrans* แบคทีเรียปฏิปักษ์ของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. โดยกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ซึ่งสามารถรวบรวมได้หลายไอโซเลต และอยู่ระหว่างการคัดเลือกไอโซเลต ที่มีประสิทธิภาพ (Khaitong et al., 2012) การทดลองนี้เป็นการสำรวจหาแบคทีเรีย *Pasteuria* spp. ที่มีความจำเพาะกับ *Rotylenchulus* spp. เพื่อนำมาใช้ในการควบคุมไส้เดือนฝอย *Rotylenchulus* spp.

## 8. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

อุปกรณ์เก็บตัวอย่างดิน อุปกรณ์สำหรับแยกไส้เดือนฝอยออกจากดินและส่วนของพืช  
อุปกรณ์สำหรับปลูกพืช กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงชนิดหัวกลับ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและ  
กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ คอมพิวเตอร์และอุปกรณ์ถ่ายภาพ เครื่องปั่นเหวี่ยง สไลด์ ถ้วยนับ  
ตัวอย่าง สไลด์นับเม็ดเลือด (Haemocytometer) สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช สารกำจัดแมลง  
ปุ๋ยเคมี

#### - วิธีการ

การเก็บตัวอย่างดิน

สุ่มเก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืชชนิดที่มีรายงานการแพร่กระจายของไส้เดือนฝอยเรนิ  
ฟอร์ม โดยเก็บตัวอย่างจำนวน 20 จุดต่อแปลง ความลึก ประมาณ 15-20 เซนติเมตรโดยใช้ท่อเก็บ  
ตัวอย่างดิน เส้นผ่าศูนย์กลาง 1 นิ้ว ให้ได้ตัวอย่างดินอย่างน้อยแปลงละ 1 กิโลกรัม ใส่ในถุงพลาสติก  
บันทึกพิกัดทางภูมิศาสตร์ และชนิดพืชปลูก

การตรวจหา *Pasteuria* spp.

ตรวจหา *Pasteuria* spp. โดยตรวจหาจากไส้เดือนฝอยเรนิฟอร์มในตัวอย่างดิน ผสม  
ตัวอย่างดินให้เข้ากัน แยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่างดินหนัก 250 กรัม โดยวิธีการล้างตัวอย่างดิน  
และกรองน้ำส่วนบนผ่านตะแกรงโลหะที่มีขนาดช่อง 850 ไมโครเมตร วางบนตะแกรงที่มีขนาดช่อง  
38 ไมโครเมตร ล้างตัวอย่างดินที่ค้างอยู่บนตะแกรงอันล่าง และนำตัวอย่างไส้ลงบนกระดาษกรอง ที่  
วางอยู่บนตะแกรงในลอน วางลงในจานรองที่มีน้ำสะอาด (Decanting and Sieving with  
Baermann's Tray Technique) ตรวจหาไส้เดือนฝอยเรนิฟอร์มที่มีสปอร์เกาะภายใต้กล้อง  
จุลทรรศน์แบบหัวกลับ

#### - เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2556 สิ้นสุด กันยายน 2558

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย

### 9. ผลการทดลองและวิจารณ์ (เป็นส่วนสำคัญของการทำงานวิจัย)

การดำเนินงานในงบประมาณปี 2557 เก็บตัวอย่างดินทั้งสิ้น 167 ตัวอย่าง จากแปลงปลูก  
มันฝรั่ง ฝรั่ง ถั่วเหลือง ส้ม และมันสำปะหลัง ตรวจพบไส้เดือนฝอย *Rotylenchulus* spp. เฉพาะ  
ตัวอย่างดินจากแปลงมันฝรั่งและส้ม แต่ยังไม่พบไส้เดือนฝอย *Rotylenchulus* spp. ที่มีสปอร์  
ของแบคทีเรีย *Pasteuria* spp. เกาะบนผนังลำตัว (ตารางที่ 1) ในปีงบประมาณ 2558 เก็บตัวอย่าง  
ดินทั้งสิ้น 111 ตัวอย่าง จากแปลงปลูกมันฝรั่ง กล้วย และ หอมแดง ตรวจพบไส้เดือนฝอย  
*Rotylenchulus* spp. 46 ตัวอย่าง แต่ยังไม่พบไส้เดือนฝอย *Rotylenchulus* spp. ที่มีสปอร์  
ของแบคทีเรีย *Pasteuria* spp. (ตารางที่ 1)

## 10. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การเก็บตัวอย่างดินรวม 278 ตัวอย่าง ระหว่างเดือนตุลาคม 2556 ถึงกันยายน 2558 เพื่อตรวจหาแบคทีเรีย *Pasteuria* spp. ในไส้เดือนฝอยเรนิฟอรัม *Rotylenchulus* spp. ผลการตรวจยังไม่พบแบคทีเรีย *Pasteuria* spp. ในทุกตัวอย่าง

## 11. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ :-

## 12. คำขอขอบคุณ (ถ้ามี) :-

## 13. เอกสารอ้างอิง

มนตรี เอี่ยมวิม้งสา และจรัส ชื่นราม. 2534. ความสัมพันธ์ระหว่างไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* และไส้เดือนฝอยเรนิฟอรัม *Rotylenchulus reniformis* กับพริก ห้วยสีทัน-1. หน้า 68-74. ใน: รายงานผลงานวิจัย 2534. กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

สมควร ศิริวัลย์ นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และปัญญา ชินศรี. 2537. ความสามารถในการทำให้เกิดโรคของ *Rotylenchulus reniformis* ในทานตะวัน. หน้า 54-59. ใน: รายงานผลงานวิจัย 2537. กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

สมควร ศิริวัลย์ นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และปัญญา ชินศรี. 2538. ความสามารถในการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *Rotylenchulus reniformis* กับถั่วเขียว. หน้า 26-29. ใน: รายงานผลงานวิจัย 2538. กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

สาโรจน์ ประชาศรัยสรเดช. 2517. การศึกษาอนุกรมวิธานและพืชอาศัยของไส้เดือนฝอยเรนิฟอรัมของพลู. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาโรคพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 69 หน้า.

Chen, Z. X., D. W. Dickson, L. G. Freitas and J. F. Preston. 1997. Ultrastructure morphology, and sporogenesis of *Pasteuria penetrans*. *Phytopathology* 87:273-283. Chen, Z.X. and D.W. Dickson. 1998. Review of *Pasteuria penetrans*: Biology, Ecology, and Biological Control Potential. *Journal of Nematology* 30:313-340.

- Chunram, C. 1972. A list of plant parasitic nematodes in Thailand. Plant Protection Service. Tech. Bull. No. 1. The Plant Industry Division, Ministry of Agriculture and Co-operatives. Bangkok. 44 p.
- 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.R. Stetina, L.M. Schmidt, J.P. Waters, L.J. Simmons and J.R. Rich. 2009. Identification of *Pasteuria* spp. that parasitize *Rotylenchulus reniformis*. Journal of Nematology. 41:338.
- Khaithong, T., M. Iemwimungsa, T. Sarapat and P. Thammakijawat. 2012. Collection of *Pasteuria penetrans* in Thailand. Page 133. In : The International Conference on Tropical and Sub-tropical Plant Diseases. Feb. 7-10, 2012. Chiang Mai, Thailand.
- Robinson, A.F., R.N. Inerra, E.P. Caswell-Chen, N. Vovlas and A. Troccoli. 1997. *Rotylenchulus* species: identification, distribution, host ranges, and crop plant resistance. Nematropica 27 (2): 127-180.
- Schmidt, L.M., T.E. Hewlett, A. Green, L.J. Simmons, K. Kelley, M. Doroh and S.R. Stetina. 2010. Molecular and morphological characterization and biological control capabilities of a *Pasteuria* spp. parasitizing *Rotylenchulus reniformis* the reniform nematode. Journal of Nematology. 42:207-217.
- Stirling G.R. and M.F. Wachtel. 1980. Mass production of *Bacillus penetrans* for the biological control of root-knot nematodes. Nematologica 26:308-312.

ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจหาแบคทีเรีย *Pasteuria* spp. ในไส้เดือนฝอย *Rotylenchulus* spp. ที่แยกได้จากตัวอย่างดินจากแหล่งต่างๆ ในปี 2557

ชนิดพืช	สถานที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่พบไส้เดือนฝอยเรนิฟอร์ม	จำนวนตัวอย่างที่พบไส้เดือนฝอยเรนิฟอร์มที่มีสปอร์ของ <i>Pasteuria</i> spp.
มันฝรั่ง	จ. ตาก	36	6	0
ฝรั่ง	จ. นครปฐม	27	0	0
ถั่วเหลือง	จ. นครสวรรค์	7	0	0
ส้ม	จ. เชียงใหม่	39	27	0
มันสำปะหลัง	จ. กำแพงเพชร	58	0	0
รวม		167	33	0

ตารางที่ 2 แสดงผลการตรวจหาแบคทีเรีย *Pasteuria* spp. ในไส้เดือนฝอย *Rotylenchulus* spp. ที่แยกได้จากตัวอย่างดินจากแหล่งต่างๆ ในปี 2558

สถานที่เก็บตัวอย่างดิน	พืช	จำนวนตัวอย่างดิน	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ <i>Rotylenchulus</i> spp.	ปริมาณไส้เดือนฝอยที่พบในตัวอย่างดิน 250 กรัม			ตัวอย่างที่ตรวจพบ <i>Rotylenchulus</i> spp. ที่มีสปอร์ของ <i>Pasteuria</i> spp.
				1 - 49	50 -100	> 100	
จ. ตาก	มันฝรั่ง	65	41	28	7		0
จ. สกลนคร	มันฝรั่ง	30	0	0	0	0	0
จ. เชียงใหม่	กล้วย	6	1	1	0	0	0
จ. ศรีสะเกษ	หอมแดง	10	4	4	0	0	0
รวม		111	45	33	0	0	0