รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. **แผนงานวิจัย** : แผนงานวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้ประโยชน์ของชีวภัณฑ์สู่เชิงพาณิชย์

2. **โครงการวิจัย** : โครงการวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ

   กิจกรรม : -

   กิจกรรมย่อย (ถ้ามี) : -

3. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : การผลิตขยายและการใช้แบคทีเรีย *Pasteuria penetrans* ไอโซเลตไทยในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita*

   ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Production and application of endemic *Pasteuria penetrans* isolates for the control of root-knot nematode *Meloidogyne incognita*

4. **คณะผู้ดำเนินงาน**

   หัวหน้าการทดลอง : ไตรเดช ข่ายทอง สังกัด กลุ่มวิจัยโรคพืช สอพ.

   ผู้ร่วมงาน : ธิติยา สารพัฒน์ สังกัด กลุ่มวิจัยโรคพืช สอพ.

   รุ่งนภา ทองเครั่ง สังกัด กลุ่มวิจัยโรคพืช สอพ.

5. **บทคัดย่อ** : การทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง มันขี้หนู และพริก ในการเกาะผนังลำตัวของตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ระยะที่สอง ประชากรจาก จ. ตาก จ.จันทบุรี และ จ. ขอนแก่น และประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ประชากรจาก จ. ตาก ของแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลต พบว่าสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง มันขี้หนู และ พริก สามารถเกาะผนังลำตัวของตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ระยะที่สองประชากรจาก จ.ตาก ได้ดีที่สุด การทดสอบการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ประชากรจาก จ.ตาก ของแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลต ในกระถางทดลอง โดยการคลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรียอัตรา 3,000 10,000 และ 100,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม พบว่าแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง อัตรา 100,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการลดประชากรไส้เดือนฝอยรากปมในดิน และลดการ

สร้างกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมบนรากมะเขือเทศ ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม อย่างไรก็ตามแบคทีเรีย *P. penetrans* ทุกไอโซเลตนั้น มีศักยภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมประชากรจาก จ. ตาก ได้ในระยะยาว เนื่องจากสปอร์ของแบคทีเรียทุกไอโซเลตสามารถเกาะผนังลำตัวของตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมในดินได้ 100 เปอร์เซ็นต์เมื่อมีปริมาณสปอร์ในดินสูง และแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลตมีเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายและสร้างสปอร์ในตัวเต็มวัยเพศเมียสูงเช่นเดียวกัน การทดสอบการใช้แบคทีเรีย *P. penetrans* ร่วมกับสารเคมีโดยวิธีการเคลือบเมล็ด ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita*โดยใช้ polyvinyl pyrrolidone (PVP-K90) เป็นสารเคลือบไม่สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้อย่างมีประสิทธิภาพ อาจเนื่องมาจากจากสารเคลือบ polyvinyl pyrrolidone (PVP-K90) มีความเหนียวเกินไปทำให้สารเคมีและสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไม่สามารถแพร่ลงมากับระบบรากของมะเขือเทศหรือแพร่กระจายลงสู่ดินได้ การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *P. penetrans* ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในระยะยาว โดยการปลูกมะเขือเทศ 3 รอบในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 50 เซนติเมตรในเรือนทดลอง พบว่าการควบคุมโรคจะมีประสิทธิภาพก็ต่อเมื่อมีการใช้สารเคมี การควบคุมโรคโดยใช้สปอร์ของแบคทีเรียเพียงอย่างเดียวหรือใช้ร่วมกับเมล็ดสะเดาบดสามารถลดจำนวนประชากรไส้เดือนฝอยรากปมในดินได้ แต่ไม่สามารถลดระดับความรุนแรงของโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้พบว่าเปอร์เซ็นต์ของตัวอ่อนระยะที่สองที่มีสปอร์ของแบคทีเรียเกาะผนังลำตัวเพิ่มขึ้นในการปลูกมะเขือเทศครั้งที่ 2 ซึ่งบ่งชี้การเพิ่มปริมาณในดินของแบคทีเรีย

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 นอกจากการเขตกรรม และการใช้สารเคมีแล้ว การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมแบบชีววิธีเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีความเป็นไปได้

แบคทีเรีย *P. penetrans* เป็นหนึ่งในศัตรูธรรมชาติที่มีการศึกษามาเป็นระยะเวลานาน และพบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ (Gowen *et al*., 2008) *Pasteuria* spp. เป็นแบคทีเรียปรสิต ที่สร้างเอ็นโดสปอร์ ติดสีแกรมบวก เป็นปรสิตที่ต้องเจริญเติบโตในสิ่งมีชีวิตนั้นๆ เพื่อการครบวงชีวิต (obligate parasite) การจำแนกชนิดของ *Pasteuria* spp. ปัจจุบันยังไม่ชัดเจน แต่มีการแบ่งออกอย่างคร่าวๆ เป็น 6 สปีชีส์ คือ *P. ramosa* เป็นปรสิตของ water flea (*Daphnia*

magna) *P. thornei* เป็นปรสิตของไส้เดือนฝอยรากแผล *Pratylenchus penetrans P. nishizawae* เป็นปรสิตของไส้เดือนฝอย *Heterodera* spp. 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 แทงทะลุผ่านผนังลำตัวและพัฒนาเป็น dichotomous septate mycelium ในช่องว่างภายในลำตัวของไส้เดือนฝอย ต่อมา mycelium จะเข้าสู่ระยะ sporogenesis และสุดท้ายจะพัฒนาเป็น single sporangia ที่มี endospore อยู่ภายใน การสร้างสปอร์ของ *P. penetrans* ภายในตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยรากปม จะทำลายการสร้างไข่ ทำให้ไส้เดือนฝอยไม่สามารถขยายพันธุ์ได้ และในระยะยาวจะทำให้ประชากรในดินลดลง ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สอง หากมีสปอร์ของ *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) ในแปลงปลูกยาสูบที่มีการระบาดอย่างรุนแรงของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* race1 และ *M. javanica* แต่ต่อมาพบว่ามีการระบาดลดลง เมื่อนำดินจากแปลงที่มีการระบาดลดลง (suppressive soil) มาวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการพบว่า *P. penetrans* เป็นปัจจัยที่ทำให้การระบาดลดลง (Weibelzahl-Fulton *et al*., 1996) กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ได้รวบรวมและคัดเลือกแบคทีเรียชนิดนี้ในประเทศไทย เพื่อนำมาใช้

ประโยชน์ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม ซึ่งเป็นสาเหตุโรครากปมของพืชหลายชนิด ปัจจุบันได้รวบรวมแบคทีเรียชนิดนี้จากพื้นที่ต่างๆของประเทศไทยได้หลายไอโซเลต (Khaithong *et al.,* 2012) และพบว่าบางไอโซเลตสามารถลดการสร้างกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ได้ (ไตรเดช และคณะ, 2558)

Stiring and Wachtel (1980) เสนอวิธีการผลิตสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* โดยใช้ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. ที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* เกาะบนผนังลำตัว จำนวน 5,000 ตัวต่อกระถางและแนะนำว่าสามารถปรับระดับของ inoculum เพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตสปอร์ได้ Alves *et al*. (2008) ศึกษาปริมาณ inoculum และอายุของต้นมะเขือเทศที่เหมาะสมในการผลิตสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* พบว่าการใช้ต้นมะเขือเทศอายุ 30 และ 45 วันปลูกในกระถางความจุ 4 ลิตร และใส่ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. ที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* เกาะบนผนังลำตัว อัตรา 20,000 ตัวต่อกระถาง สามารถผลิตสปอร์ได้มากกว่าการใส่ไส้เดือนฝอยจำนวน 5,000 ตัวต่อกระถางถึง 19 เท่า Rodrigues *et al*. (2003) ทดสอบพืช 4 ชนิดคือ มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum*), ยาสูบ (*Nicotiana tabacum*) แตงกวาเจอร์กิ้น (*Cucumis anguria*) และโทงเทง (*Physalis angulata*) โดยการปลูกเชื้อด้วย *Meloidogyne* spp. พบว่ามะเขือเทศและโทงเทงเป็นพืชที่เหมาะสมกับการเพิ่มปริมาณสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* มากที่สุด

โดยทั่วไปแบคทีเรีย *P. penetrans* จะมีความจำเพาะเจาะจงในการเข้าทำลายต่อไส้เดือนฝอยแต่ละสกุล Tzortzkakis *et al*. (1996) ทดสอบศักยภาพของ แบคทีเรีย *P. penetrans* ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม พบว่าการเกาะของสปอร์แบคทีเรียบนผนังลำตัวของไส้เดือนฝอยรากปมมีความแปรปรวนที่เกิดจากความหลากหลายของ biotypes ของประชากรไส้เดือนฝอยรากปม ความสัมพันธ์ของอัตราการเกาะของสปอร์ กับความเข้มข้นของสปอร์ไม่เป็นลักษณะเชิงเส้นตรง (linear) ถึงแม้ว่าจะใช้สปอร์ที่ความเข้มข้นสูง ก็ไม่สามารถมั่นใจได้ว่าสปอร์จะเกาะและเข้าทำลายไส้เดือนฝอยทุกตัว นอกจากนี้ยังพบว่าการที่มีตัวอ่อนระยะที่สองที่มีสปอร์ของแบคทีเรียติดอยู่จำนวนมาก ไม่ได้ลดการสร้างกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยได้มากขึ้นเสมอไป ทั้งนี้เป็นผลจากความแตกต่างของ biotypes ของไส้เดือนฝอยรากปม ตัวอ่อนระยะที่สองที่อาศัยอยู่ในดินหรือตัวอ่อนที่ใส่ลงในดินโดยการปลูกเชื้อ จะมีโอกาสสัมผัสกับสปอร์ของแบคทีเรียมากกว่าตัวอ่อนไส้เดือนฝอยที่ฟักออกจากกลุ่มไข่ที่อยู่ภายในหรือติดอยู่กับราก เนื่องจากตัวอ่อนที่ฟักออกมาจากกลุ่มไข่มีระยะทางในการเคลื่อนที่เข้าทำลายรากสั้นกว่า (Stirling, 1984) คุณสมบัติเหล่านี้จึงเป็นข้อจำกัดของการใช้แบคทีเรีย *P. penetrans* ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม เนื่องจากไส้เดือนฝอยรากปมมีความหลากหลายของ

ชนิดและ biotypes ทำให้บางครั้งการใช้แบคทีเรีย *P. penetrans* เพียงอย่างเดียวในการควบคุมอาจไม่เพียงพอ (Tzortzakakis, *et al*., 1997; Cetintas and Dickson, 2004) แบคทีเรีย *P. penetrans* สามารถลดการสร้างกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยได้ แต่ไม่สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้อย่างสมบูรณ์ (Darban *et al*., 2005) เนื่องจากตัวอ่อนที่รอดจากการเข้าทำลายของแบคทีเรียยังคงสามารถเข้าทำลายรากและสร้างไข่ได้ในเวลาอันรวดเร็ว การใช้แบคทีเรีย *P. penetrans* ให้มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมจึงควรใช้ร่วมกับวิธีการอื่นๆ (Tzortzakakis and Gowen, 1994) ซึ่งสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* นั้นสามารถใช้ร่วมกับสารป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอย (Daudi and Gowen, 1992) ร่วมกับอินทรียวัตถุชนิดต่างๆ ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม (Chaudhary and Kaul, 2013) หรือร่วมกับจุลินทรีย์ปฏิปักษ์อื่นๆ ของไส้เดือนฝอยรากปมได้ (Frans *et al*., 1992)

7. วิธีดำเนินการ :

- อุปกรณ์

อุปกรณ์ในการปลูกพืช ปุ๋ย สารกำจัดศัตรูพืช อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย กล้องจุลทรรศน์ สารเคมี

- วิธีการ

การเตรียมตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปม

เลี้ยงไส้เดือนฝอยรากปมในรากมะเขือเทศในกระถาง โดยเริ่มจาก 1 กลุ่มไข่ เพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่บริสุทธิ์สำหรับการทดลอง ขยายเพิ่มปริมาณในรากมะเขือเทศพันธุ์สีดา แยกไข่ไส้เดือนฝอยจากรากโดยการตัดรากปมเป็นชิ้นขนาดยาวประมาณ 1 เซนติเมตร และเขย่าใน 0.52 % Sodium Hypochlorite (คลอร็อก 10%) และเก็บไข่ไส้เดือนฝอยโดยการล้างผ่านตะแกรงที่มีขนาดช่อง 25 ไมโครเมตร ด้วยน้ำสะอาด (Hussey and Barker, 1973) นำไข่ไส้เดือนฝอยใส่ลงบนตะแกรงไนลอนขนาดเล็กที่มีขนาดช่องประมาณ 25 ไมโครเมตร ซึ่งวางในจานเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เก็บตัวอ่อนระยะที่สอง ซึ่งฟักออกมาจากไข่และอยู่ในน้ำในจานเลี้ยงเชื้อไปใช้

การเตรียมสปอร์ของ *P. penetrans* เพื่อใช้ในการทดลอง

นำตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* ติดอยู่ที่ผนังลำตัวโดยวิธีปั่นเหวี่ยง (Hewlett and Dickson, 1994) ไปเลี้ยงในต้นมะเขือเทศพันธุ์สีดาอายุ 30 วันที่ปลูกในดินอบฆ่าเชื้อ เก็บรากมะเขือเทศ 60 วันหลังใส่เชื้อ ล้างน้ำให้สะอาด แยกตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยรากปมที่ถูกเข้าทำลายใส่ในหลอด microcentrifuge tube ในน้ำกลั่น บดด้วยแท่งพลาสติก ปรับความเข้มข้นของสปอร์ที่ได้ด้วยน้ำกลั่น

การย้อมรากเพื่อตรวจนับกลุ่มไข่

ย้อมรากโดยการแช่รากในสาร Phloxine B ความเข้มข้น 15 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 15 – 20 นาที ล้างด้วยน้ำสะอาด ตรวจนับจำนวนกลุ่มไข่บนรากด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope)

การตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยภายในราก จำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียที่ถูกเข้าทำลาย และจำนวนสปอร์ภายในตัวเต็มวัยเพศเมียที่ถูกเข้าทำลาย

ย้อมรากด้วย acid fuchsin โดยแช่รากในสารละลาย chlorox 10% 4 นาที ล้างผ่านน้ำ 45 วินาที แล้วแช่น้ำทิ้งไว้ 15 นาทีเพื่อล้างคลอร็อกซ์ออกให้หมด นำรากใส่ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำ 30-50 มิลลิลิตร ใส่สีย้อมราก acid fuchsin 1 มิลลิลิตร (เตรียมจาก acid fuchsin 3.5 กรัม + acetic acid 250 มิลลิลิตร + น้ำกลั่น 750 มิลลิลิตร) ต้มรากเป็นเวลา 30 วินาทีในเตาไมโครเวฟจนเดือด ตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำรากไปล้างน้ำให้สะอาด นำรากใส่ลงในบีกเกอร์ที่มี acidified glycerine 20-30 มิลลิลิตร นำไปต้มในเตาไมโครเวฟอีกครั้งจนเดือด ทิ้งไว้ให้เย็น ตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยภายในรากโดยใช้เข็มเขี่ยแยกไส้เดือนฝอยออกจากราก และวัดเปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยเพศเมียที่ถูกแบคทีเรีย *P. penetrans* เข้าทำลาย โดยสุ่มตัวเต็มวัยเพศเมียจำนวน 20 ตัว วางลงบนสไลด์แก้วปิดทับด้วยสไลด์แก้วอีกแผ่นแล้วตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงชนิดหัวกลับ (inverted microscope) ตรวจนับจำนวนสปอร์ภายในตัวเต็มวัยเพศเมีย โดยนำตัวเต็มวัยเพศเมียที่ถูกเข้าทำลาย บดในน้ำ 0.5 มิลลิลิตร ดูดใส่ลงในหลอดทดลองแล้วเติมน้ำ 9.5 มิลลิลิตร เขย่าให้ทั่วโดยใช้เครื่องผสมสารนาน 30 วินาที ตรวจนับจำนวนสปอร์โดยใช้ Haemacytometer

การแยกตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมจากตัวอย่างดิน

แยกไส้เดือนฝอยจากตัวอย่างดินโดยคลุกเคล้าตัวอย่างดินให้ทั่ว ชั่งน้ำหนัก และกวนในน้ำ 2 ลิตร กรองน้ำส่วนบนผ่านตะแกรงโลหะที่มีขนาดช่อง 850 ไมโครเมตร วางบนตะแกรงที่มีขนาดช่อง 38 ไมโครเมตร ล้างตัวอย่างดินที่ค้างอยู่บนตะแกรงอันล่าง และนำตัวอย่างใส่ลงบนกระดาษกรอง ที่วางอยู่บนตะแกรงไนลอน วางลงในจานรองที่มีน้ำสะอาด

ทดสอบการเกาะของสปอร์แบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตต่างๆ บนผนังลำตัวของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* (2559)

วางแผนการทดลองแบบ factorial in CRD 3 x 3 จำนวน 5 ซ้ำ โดยมีปัจจัย A คือแบคทีเรีย *P. penetrans* 3 ไอโซเลต (A1, A2, A3) และปัจจัย B คือประชากรไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* 3 ประชากร (B1, B2, B3) โดยมีกรรมวิธีต่างๆ คือ

กรรมวิธีที่ 1 = A1B1 : *P. penetrans* (มันฝรั่ง) + *M. incognita* (จ.ตาก)

กรรมวิธีที่ 2 = A1B2 : *P. penetrans* (มันฝรั่ง) + *M. incognita* (จ. จันทบุรี)

กรรมวิธีที่ 3 = A1B3 : *P. penetrans* (มันฝรั่ง) + *M. incognita* (จ.ขอนแก่น)

กรรมวิธีที่ 4 = A2B1 : *P. penetrans* (มันขี้หนู) + *M. incognita* (จ.ตาก)

กรรมวิธีที่ 5 = A2B2 : *P. penetrans* (มันขี้หนู) + *M. incognita* (จ. จันทบุรี)

กรรมวิธีที่ 6 = A2B3 : *P. penetrans* (มันขี้หนู) + *M. incognita* (จ.ขอนแก่น)

กรรมวิธีที่ 7 = A3B1 : *P. penetrans* (พริก) + *M. incognita* (จ.ตาก)

กรรมวิธีที่ 8 = A3B2 : *P. penetrans* (พริก) + *M. incognita* (จ. จันทบุรี)

กรรมวิธีที่ 9 = A3B3 : *P. penetrans* (พริก) + *M. incognita* (จ.ขอนแก่น)

ทดสอบการเกาะของแบคทีเรีย *P. penetrans* 3 ไอโซเลตคือ ไอโซเลตจากมันฝรั่ง (PP122) มันขี้หนู (PP 720) และ พริก (PPR 70) กับประชากรไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* จาก 3 แหล่งคือ มันฝรั่ง จ.ตาก พริกไทย จ. จันทบุรี และมะเขือเทศ จ.ขอนแก่น โดยใช้สปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* อัตรา 20,000 สปอร์/มิลลิลิตร นำตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สอง 300 ตัว ใส่ลงในเซลแขวนลอยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร บ่มที่ 28°C นาน 24 ชั่วโมง กรองผ่านตะแกรงขนาดช่อง 38 ไมโครเมตรเพื่อแยกสปอร์ออกจากไส้เดือนฝอย สุ่มตรวจนับการเกาะของสปอร์แบคทีเรียจากไส้เดือนฝอย 30 ตัว

ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตต่างๆ ในการควบคุมประชากรไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* (2559)

วางแผนการทดลองแบบ CRD 10 กรรมวิธี 5 ซ้ำ โดยมีกรรมวิธีต่างๆ คือ

กรรมวิธีที่ 1 *P. penetrans* (มันฝรั่ง) อัตรา 3,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม

กรรมวิธีที่ 2 *P. penetrans* (มันฝรั่ง) อัตรา 10,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม

กรรมวิธีที่ 3 *P. penetrans* (มันฝรั่ง) อัตรา 100,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม

กรรมวิธีที่ 4 *P. penetrans* (มันขี้หนู) อัตรา 3,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม

กรรมวิธีที่ 5 *P. penetrans* (มันขี้หนู) อัตรา 10,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม

กรรมวิธีที่ 6 *P. penetrans* (มันขี้หนู) อัตรา 100,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม

กรรมวิธีที่ 7 *P. penetrans* (พริก) อัตรา 3,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม

กรรมวิธีที่ 8 *P. penetrans* (พริก) อัตรา 10,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม

กรรมวิธีที่ 9 *P. penetrans* (พริก อัตรา 100,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม

กรรมวิธีที่ 10 ไม่คลุกดินด้วยสปอร์ของ *P. penetrans*

ย้ายมะเขือเทศพันธุ์สีดาอายุ 4 สัปดาห์ปลูกลงในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 นิ้ว ที่ใส่ดินอบฆ่าเชื้อหนัก 200 กรัมที่คลุกด้วยผงสปอร์ของ *P. penetrans* ปริมาณตามกรรมวิธี ใส่

ตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมจำนวน 600 ตัว ลงในกระถาง โดยเจาะดินรอบต้นมะเขือเทศจำนวน 4 ช่อง ใช้ไปเปตหยอดตัวอ่อนไส้เดือนฝอยที่อยู่ในน้ำลงในช่องแล้วกลบดินปิด ตรวจผลการทดลอง 60 วันหลังใส่ตัวอ่อนไส้เดือนฝอย โดยวัดระดับการเกิดปมที่รากของมะเขือเทศด้วยการให้คะแนน ระดับ 0 = ไม่เกิดปม, 1 = เกิดปมเล็กน้อย (<10%), 2 =เกิดปม 11-25% ของระบบราก, 3 = เกิดปม 26-50% ของระบบราก, 4 = เกิดปม 51-75% ของระบบราก, 5 = เกิดปมมากกว่า 75% ของระบบราก ตรวจนับจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองในดินทั้งหมด และจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองที่มีสปอร์เกาะ ตรวจนับจำนวนกลุ่มไข่ทั้งหมดบนราก ตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยภายในรากและวัดเปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยรากปมที่ถูก *P. penetrans* เข้าทำลาย

ทดสอบการผลิตขยาย *P. penetrans* ไอโซเลตไทยในมะเขือเทศ (2560)

ทดสอบการผลิตขยายสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตไทยในไส้เดือนฝอยรากปม โดยเลี้ยงในรากมะเขือเทศที่ปลูกในแก้วพลาสติก การปลูกมะเขือเทศในแก้วพลาสติกเป็นวิธีการที่ง่ายและประหยัดพื้นที่ แต่มีปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงคือความสัมพันธ์ของปริมาณรากมะเขือเทศและปริมาณไส้เดือนฝอย (inoculum) ที่เหมาะสม จึงจะสามารถผลิตสปอร์ได้ปริมาณมากที่สุด ทดสอบจำนวนต้นต่อแก้วที่เหมาะสม โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปลูกมะเขือเทศ 1 ต้นต่อแก้ว

กรรมวิธีที่ 2 ปลูกมะเขือเทศ 2 ต้นต่อแก้ว

กรรมวิธีที่ 3 ปลูกมะเขือเทศ 3 ต้นต่อแก้ว

กรรมวิธีที่ 4 ปลูกมะเขือเทศ 4 ต้นต่อแก้ว

เพาะเมล็ดมะเขือเทศในแก้วพลาสติกขนาดกว้าง 9 เซนติเมตร บรรจุวัสดุปลูกอบฆ่าเชื้อ (ดิน: ทราย อัตราส่วน 1:1) 500 กรัม ก้นแก้วเจาะรูร้อยเชือกสำหรับให้ความชื้นโดยแช่ปลายเชือกในกระบะพลาสติกที่บรรจุน้ำ เมื่อมะเขือเทศอายุ 7 สัปดาห์ ตรวจการเจริญเติบโตของราก ถ่ายภาพและชั่งน้ำหนักราก

ทดสอบความสามารถของรากมะเขือเทศในการรองรับปริมาณไส้เดือนฝอยรากปม และการผลิตสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* โดยเลือกกรรมวิธีที่มีการเจริญเติบโตของรากดีที่สุด มาทดสอบความสามารถในการรองรับปริมาณไส้เดือนฝอยรากปม และการผลิตสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* เพื่อให้ได้วิธีการที่เหมาะสม วางแผนการทดลองแบบ CRD 3 กรรมวิธี 5 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 ใส่ตัวอ่อนไส้เดือนฝอย 10,000 ตัว 1 ครั้ง

กรรมวิธีที่ 2 ใส่ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยครั้งแรก 5,000 ตัว และใส่ซ้ำอีกครั้ง 5,000 ตัวหลังการใส่ครั้งแรก 7 วัน

กรรมวิธีที่ 3 ใส่ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยครั้งแรก 5,000 ตัว ใส่ครั้งที่สอง 5,000 ตัวหลังการใส่ครั้งแรก 7 วัน และใส่ครั้งที่สาม 5,000 ตัวหลังการใส่ครั้งแรก 14 วัน

เตรียมตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สอง แช่ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยในเซลแขวนลอยของ *P. penetrans* จนตัวอ่อนมีสปอร์เกาะ 6-12 สปอร์/ตัว เริ่มนำตัวอ่อนที่มีสปอร์เกาะใส่ลงในมะเขือเทศ เมื่อมะเขือเทศอายุ 7 สัปดาห์ ตรวจผลการทดลอง 60 วันหลังใส่ไส้เดือนฝอยครั้งสุดท้าย ล้างรากมะเขือเทศให้สะอาด สุ่มตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยมาตรวจนับจำนวนสปอร์ ผึ่งรากให้แห้งสนิท บดรากให้ละเอียดและวัดปริมาณสปอร์ต่อรากบด 0.1 กรัม และคำนวณปริมาณสปอร์ที่ผลิตได้ทั้งหมด

ทดสอบความเข้ากันได้ของแบคทีเรีย *P. penetrans* กับสารสกัดจากสะเดา สารอะบาเมกติน และสารสารฟลูโอไฟแรม + ไตรฟลอกซี่สโตรบิน (2560)

ทดสอบความสามารถในการเกาะของสปอร์ *P. penetrans* หลังแช่ในสารเคมีชนิดต่างๆ วางแผนการทดลองแบบ CRD 5 กรรมวิธี 5 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สาร azadirachtin 0.1% SL

กรรมวิธีที่ 2 สาร สาร abamectin 1.8 % EC

กรรมวิธีที่ 3 สาร fluopyram + trifloxystrobin 25% + 25% W/V SC

กรรมวิธีที่ 4 น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (Control)

ทำการทดลองซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ (Melki *et al*., 1998) เตรียมสารเคมีแต่ละชนิดอัตรา 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เตรียมเซลแขวนลอยของสปอร์ *P. penetrans* 25 มิลลิลิตร ซึ่งมีสปอร์อยู่ประมาณ 1 ล้านสปอร์ ผสมเซลแขวนลอยสปอร์กับสารเคมีเข้าด้วยกันตั้งทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง เทลงดินอบฆ่าเชื้อ 50 กรัม ซึ่งบรรจุอยู่ในกระบอก PVC ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6.5 เซนติเมตร สูง 4 เซนติเมตร ซึ่งด้านล่างเป็นตะแกรงไนล่อนขนาดช่อง 1 มิลลิเมตร หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง ใส่ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สอง จำนวน 1,000 ตัวลงในแต่ละกระบอก ปิดกระบอกด้วย plastic wrap ตั้งทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง จากนั้นนำกระบอกไปวางบนจานรองพลาสติกที่มีน้ำสะอาด สุ่มตัวอย่างไส้เดือนฝอยในน้ำ 30 ตัวไปตรวจนับปริมาณสปอร์ที่เกาะบนผนังลำตัว

ทดสอบผลของสารชนิดต่างๆ ต่อความสามารถในการเข้าทำลายไส้เดือนฝอยรากปม วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 กรรมวิธี 5 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สาร azadirachtin 0.1% SL

กรรมวิธีที่ 2 สาร abamectin 1.8 % EC

กรรมวิธีที่ 3 สาร fluopyram + trifloxystrobin 25% + 25% W/V SC

กรรมวิธีที่ 4 น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (Control)

เตรียมสารเคมีแต่ละชนิดความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรต่อลิตร เตรียมเซลแขวนลอยของสปอร์ *P. penetrans* 500 ไมโครลิตร ซึ่งบรรจุสปอร์ประมาณ 1 ล้านสปอร์ ในหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติมสารเคมีแต่ละชนิดลงในหลอด microcentrifuge 500 ไมโครลิตร กรรมวิธีควบคุมเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เขย่าให้ทั่วแล้วทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง ล้างสปอร์แบคทีเรีย 3 ครั้ง ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ โดยปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 รอบนาน 1 นาที Inoculate สปอร์ลงในตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สอง โดยใส่ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปม 1,000 ตัวที่อยู่ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 500 ไมโครลิตร ลงในหลอด ผสมให้เข้ากันแล้วปั่นเหวี่ยงที่ 9,500 รอบนาน 2 นาที นำไส้เดือนฝอยที่อยู่ในหลอดใส่ลงในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ไปใส่ลงในต้นมะเขือเทศอายุ 6 สัปดาห์ที่ปลูกในกระถางพลาสติกขนาด 3 นิ้ว บรรจุดินอบฆ่าเชื้อ 200 กรัม เมื่อครบ 60 วัน ตรวจนับจำนวนกลุ่มไข่ทั้งหมดบนราก ตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยภายในรากและวัดเปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยรากปมที่ถูก *P. penetrans* เข้าทำลาย สุ่มตัวอย่างตัวเด็มวัยเพศเมียที่ถูกเข้าทำลายมานับปริมาณสปอร์

การใช้แบคทีเรีย *P. penetrans* ร่วมกับสารเคมีโดยวิธีการเคลือบเมล็ด ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* (2561)

วางแผนการทดลองแบบ CRD 6 กรรมวิธี 5 ซ้ำ โดยมีกรรมวิธีต่างๆ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เคลือบเมล็ดด้วยสาร azadirachtin 0.1% SL

กรรมวิธีที่ 2 เคลือบเมล็ดด้วยสาร abamectin 1.8 % EC

กรรมวิธีที่ 3 เคลือบเมล็ดด้วยสาร fluopyram + trifloxystrobin 25% + 25% W/V SC

กรรมวิธีที่ 4 เคลือบเมล็ดด้วยสาร azadirachtin 0.1% SL + *P. penetrans*

กรรมวิธีที่ 5 เคลือบเมล็ดด้วยสาร abamectin 1.8 % EC + *P. penetrans*

กรรมวิธีที่ 6 เคลือบเมล็ดด้วยสาร fluopyram + trifloxystrobin 25% + 25% W/V SC + *P. penetrans*

กรรมวิธีที่ 7 เคลือบเมล็ดด้วยสปอร์ของ *P. penetrans*

กรรมวิธีที่ 8 เคลือบเมล็ดด้วย polyvinyl pyrrolidone (PVP-K90) (Control)

กรรมวิธีที่ 9 ไม่เคลือบเมล็ด (Control)

ในกรรมวิธีที่เคลือบเมล็ด ใช้สาร polyvinyl pyrrolidone (PVP-K90) อัตรา 3 กรัมต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร ในการเคลือบเมล็ด ความเข้มข้นของสารเคมีชนิดต่างๆ คือ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร เคลือบเมล็ดด้วยสปอร์ของ *P. penetrans* ประมาณ 10^6 สปอร์ต่อเมล็ด ทดลองในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 นิ้ว บรรจุดินอบฆ่าเชื้อ 200 กรัม ปลูกเมล็ดมะเขือเทศที่ได้เตรียมไว้ตามกรรมวิธี เมื่อต้นมะเขือเทศอายุ 1 เดือน ใส่ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองกระถางละ 600 ตัว ตรวจผลการทดลอง 60 วันหลังการใส่ไส้เดือนฝอย โดยชั่งน้ำหนักต้น ตรวจนับจำนวนกลุ่มไข่ต่อราก จำนวน

ไส้เดือนฝอยภายในราก เปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยเพศเมียที่ถูกแบคทีเรียเข้าทำลาย ปริมาณตัวอ่อนในดินทั้งหมด และปริมาณตัวอ่อนที่มีสปอร์ของ *P. penetrans* เกาะผนังลำตัว

ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *P. penetrans* ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในระยะยาว (2560-2561)

วางแผนการทดลองแบบ CRD 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ มีกรรมวิธีต่างๆ คือ

กรรมวิธีที่ 1 *P. penetrans*

กรรมวิธีที่ 2 *P. penetrans* + คลุกดินด้วยเมล็ดสะเดาบด 10 กรัม พร้อมปลูก และ 1 เดือนหลังปลูก

กรรมวิธีที่ 3 *P. penetrans* + ราดดินด้วยสาร fluopyram + trifloxystrobin 25% + 25% W/V SC อัตรา 0.5 มิลลิลิตร/ลิตร พร้อมปลูก 1 เดือนหลังปลูก

กรรมวิธีที่ 4 คลุกดินด้วยเมล็ดสะเดาบด 10 กรัม พร้อมปลูก และ 1 เดือนหลังปลูก

กรรมวิธีที่ 5 ราดดินด้วยสาร fluopyram + trifloxystrobin 25% + 25% W/V SC อัตรา 0.5 มิลลิลิตร/ลิตร พร้อมปลูก และ 1 เดือนหลังปลูก

กรรมวิธีที่ 6 ไม่ใส่สารใดๆ

ทำการทดลองในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เมตร ใส่ไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ลงในวงคอนกรีตๆ ละ 50,000 ฟอง คลุกดินให้ทั่ว กรรมวิธีที่ 1 2 และ 3 รองก้นหลุมก่อนปลูกมะเขือเทศด้วยผงรากมะเขือเทศบดที่มีสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ประมาณ 10^5 สปอร์ต่อมิลลิกรัม จำนวน 1 กรัมต่อต้น คลุกเคล้าก่อนนำกล้ามะเขือเทศอายุ 6 สัปดาห์ลงปลูก 4 ต้นต่อกระถาง ตรวจผลการทดลองเมื่อมะเขือเทศอายุ 4 เดือน โดยชั่งน้ำหนักต้น ประเมินระดับการเกิดปมที่รากโดยการให้คะแนน ระดับ 0 = ไม่เกิดปม, 1 = เกิดปมเล็กน้อย (<10%), 2 =เกิดปม 11-25% ของระบบราก, 3 = เกิดปม 26-50% ของระบบราก, 4 = เกิดปม 51-75% ของระบบราก, 5 = เกิดปมมากกว่า 75% ของระบบราก ตรวจนับจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองในดิน 100 กรัม เปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนที่มีสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* เกาะ นำรากที่ตรวจผลการทดลองแล้วใส่กลับลงในกระถางและคลุกลงในดิน เมื่อรากย่อยสลายเตรียมดินเพื่อปลูกมะเขือเทศรอบใหม่ โดยนำกล้ามะเขือเทศอายุ 6 สัปดาห์ลงปลูกจำนวน 4 ต้นต่อกระถาง การปลูกรอบที่สองไม่ต้องใส่ไข่ไส้เดือนฝอยรากปมลงในดิน และไม่ต้องคลุกดินด้วยผงรากบด กรรมวิธีที่คลุกดินด้วยเมล็ดสะเดาบดและราดสารเคมีปฏิบัติตามปกติ การปลูกรอบที่สาม ปฏิบัติเหมือนการปลูกรอบที่สอง ตรวจผลการทดลองเช่นเดียวกับการปลูกครั้งที่ 1

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

- เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2558 สิ้นสุด กันยายน 2561

กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

การเกาะของสปอร์แบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตต่างๆ บนผนังลำตัวของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita*

การทดสอบการเกาะผนังลำตัวตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สอง ของสปอร์แบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง มันขี้หนู และ พริก กับประชากรไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* 3 ประชากร คือ จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ขอนแก่น พบว่าแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง มันขี้หนู และ พริก สามารถเกาะผนังลำตัวของตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ระยะที่สอง ประชากรจาก จ.ตาก ได้ดีที่สุด โดยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง มันขี้หนู และ พริก สามารถเกาะผนังลำตัวของ *M. incognita* จ.ตาก เฉลี่ย 37.3 30.8 และ 9.4 สปอร์/ตัว ตามลำดับ แต่ต่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์บนผนังลำตัวของ *P. penetrans* ไอโซเลตพริก น้อยกว่าไอโซเลตมันฝรั่งและมันขี้หนูอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1) อย่างไรก็ตามแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลตเกาะผนังลำตัวของ *M. incognita* ประชากร จ.จันทบุรี และ จ.ขอนแก่น ได้น้อยมาก และสปอร์ของ *P. penetrans* ไอโซเลตพริก ไม่เกาะผนังลำตัวของตัวอ่อนระยะที่สอง *M. incognita* ประชากร จ.จันทบุรี ส่วนสปอร์ของ *P. penetrans* ไอโซเลตมันขี้หนู ไม่เกาะผนังลำตัวของตัวอ่อนระยะที่สอง *M. incognita* ประชากร จ.ขอนแก่น

ประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตต่างๆ ในการควบคุมประชากรไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita*

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง มันขี้หนู และพริก ที่ระดับปริมาณสปอร์ในดิน 3,000 10,000 และ 100,000 สปอร์/ดิน 1 กรัม ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ประชากร จ.ตาก พบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองในดินลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อปริมาณสปอร์ในดินเพิ่มขึ้น โดยกรรมวิธีที่มีจำนวนตัวอ่อนไส้เดือนฝอยในดินน้อยที่สุดคือกรรมวิธีคลุกดินด้วยสปอร์แบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง อัตรา 100,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม มีจำนวนตัวอ่อนไส้เดือนฝอยในดิน 332 ตัว รองลงมาคือกรรมวิธีคลุกดินด้วยสปอร์แบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันขี้หนู อัตรา 100,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม มีจำนวนตัวอ่อนไส้เดือนฝอยในดิน 1,070 ตัว แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ซึ่งมีจำนวนตัวอ่อนไส้เดือนฝอยในดิน 5,024 ตัว จำนวนกลุ่มไข่ต่อรากในกรรมวิธีคลุกดินด้วยสปอร์แบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง อัตรา 100,000

สปอร์ต่อดิน 1 กรัม มีจำนวนน้อยที่สุดคือ 6 กลุ่มไข่ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุมซึ่งมีกลุ่มไข่ 56 กลุ่มไข่ต่อราก เปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนระยะที่สองในดินที่มีสปอร์เกาะ เพิ่มขึ้นในกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของ *P. penetrans* ทุกไอโซเลตในอัตราที่สูงขึ้น โดยเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนระยะที่สองในดินที่มีสปอร์เกาะสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ในกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์แบคทีเรีย *P. penetrans* ทุกไอโซเลต อัตรา 100,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม เปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยเพศเมียที่ถูกแบคทีเรีย *P. penetrans* เข้าทำลายและมีสปอร์อยู่ภายในแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในบางกรรมวิธี กรรมวิธีที่มีเปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยเพศเมียที่ถูกเข้าทำลายสูงที่สุดคือ กรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของ *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง อัตรา 100,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม และกรรมวิธีที่มีเปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยเพศเมียที่ถูกเข้าทำลายต่ำที่สุดคือ กรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของ *P. penetrans* ไอโซเลตมันขี้หนู อัตรา 3,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม ระดับการเกิดปมที่รากในกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์แบคทีเรีย *P. penetrans* อัตรา 100,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม จะมีระดับการเกิดปมที่รากต่ำกว่า เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์แบคทีเรีย *P. penetrans* อัตราต่ำกว่า และกรรมวิธีที่ไม่คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย

ทดสอบการผลิตขยาย *P. penetrans* ไอโซเลตไทยในมะเขือเทศ (2560)

การทดสอบจำนวนต้นมะเขือเทศที่เหมาะสมต่อแก้วพบว่า การปลูกมะเขือเทศ 4 ต้นต่อแก้วให้น้ำหนักรากต่อแก้วสูงที่สุด ขณะที่การปลูกมะเขือเทศ 1 ต้นต่อแก้วต้นมะเขือเทศมีความสูงมากที่สุด ความสูงของการปลูกพืช 2 3 และ 4 ต้นต่อแก้วไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3) การใช้ต้นมะเขือเทศ 4 ต้นต่อแก้วอาจมีความเหมาะสมที่สุดในการเลี้ยง *P. penetrans* เมื่อทดลองเลี้ยงแบคทีเรีย *P. penetrans* โดยปลูกเชื้อ โดยตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองที่มีสปอร์เกาะผนังลำตัว ที่ปริมาณและจำนวนครั้งต่างๆ กัน พบว่าจำนวนสปอร์ที่ผลิตได้ต่อแก้วในแต่ละกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกันกับปริมาณสปอร์ในตัวเต็มวัยตัวเมียหนึ่งตัว ซึ่งสาเหตุที่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอาจเนื่องจากข้อมูลมีความแปรปรวนสูง (ตารางที่ 4)

ทดสอบความเข้ากันได้ของแบคทีเรีย *P. penetrans* กับสารสกัดจากสะเดา สารอะบาเมกติน และสารสารฟลูโอไฟแรม + ไตรฟลอกซี่สโตรบิน (2560)

ในการทดลองการทดความสามารถในการเกาะของสปอร์ *P. penetrans* หลังแช่ในสารเคมีชนิดต่างๆ พบว่าไส้เดือนฝอยไม่เคลื่อนที่ลงมาในน้ำในจานรอง ทำให้ไม่สามารถตรวจสอบปริมาณสปอร์บนตัวไส้เดือนฝอยได้ จึงต้องทำการทดลองใหม่ และอาจต้องแยกไส้เดือนฝอยรากปมออกจากดินโดยใช้สารละลายน้ำตาล ส่วนการทดลองผลของสารชนิดต่างๆ ต่อความสามารถในการเข้าทำลายไส้เดือนฝอยรากปม พบว่าการเข้าทำลายรากของไส้เดือนฝอยรากปม ในกรรมวิธีที่แช่สปอร์ของ

แบคทีเรีย *P. penetrans* ในสารเคมีชนิดต่างๆ ต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมมาก ซึ่งอาจเกิดจากขั้นตอนการล้างสปอร์หลังจากแช่สารเคมีชนิดต่างๆ ไม่สะอาดเพียงพอ และอาจมีสารเคมีตกค้างอยู่กับสปอร์ ซึ่งถึงแม้ว่าอาจมีปริมาณที่ต่ำ แต่ก็มีผลต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปมได้ จึงควรทำการทดลองซ้ำและเพิ่มจำนวนครั้งในการล้างสปอร์ด้วยน้ำกลั่นให้มากขึ้น เพื่อลดการปนเปื้อนของสารเคมี (ตารางที่ 5)

จากผลการทดลองที่ได้พบว่าสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* แต่ละโซเลตมีความสามารถในการเกาะผนังลำตัวของตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองแตกต่างกัน ทั้งในประชากรไส้เดือนฝอยเดียวกันและต่างประชากร ซึ่งสอดคล้องกับ Tzortzkakis *et al*. (1996) ที่ทดสอบศักยภาพของแบคทีเรีย *P. penetrans* ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม พบว่าการเกาะของสปอร์แบคทีเรียบนผนังลำตัวของไส้เดือนฝอยรากปมมีความแปรปรวนที่เกิดจากความหลากหลายของ biotypes ของประชากรไส้เดือนฝอยรากปม ดังนั้นการนำแบคทีเรีย *P. penetrans* ไปใช้ในการควบคุมประชากรของไส้เดือนฝอยรากปม จำเป็นต้องตรวจสอบเบื้องต้นว่า แบคทีเรีย *P. penetrans* สามารถเกาะและเข้าทำลายไส้เดือนฝอยรากปมประชากรนั้นๆ หรือไม่

การคลุกดินด้วยสปอร์ของ *P. penetrans* ไอโซเลต มันฝรั่ง มันขี้หนู และ พริก เพื่อควบคุมประชากรไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* จาก จ.ตาก สามารถลดปริมาณตัวอ่อนไส้เดือนฝอยในดินเมื่อสิ้นสุดการทดลอง การสร้างกลุ่มไข่บนรากในเกือบทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม ยกเว้นกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง อัตรา 100,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม ซึ่งจากผลการทดลองที่ได้สปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตมันฝรั่ง มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการใช้ควบคุมประชากรไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* จาก จ.ตาก อย่างไรก็ตามเมื่อตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ไส้เดือนฝอยรากปมเพศเมียที่ถูกเข้าทำลายพบว่าไม่แตกต่างกันมากนักระหว่างแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตต่างๆ ซึ่งตัวเต็มวัยเพศเมียจะมีสปอร์ของแบคทีเรียอยู่ภายในและจะออกมาสู่ดินเมื่อตัวไส้เดือนฝอยย่อยสลาย สปอร์จะเกาะผนังลำตัวของตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมในดินและเข้าทำลายต่อไป ซึ่งในระยะยาวแบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตอื่นๆ อาจสามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* จาก จ.ตาก ได้ดีเช่นเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจตัวอ่อนระยะที่สองในดินที่มีสปอร์เกาะ พบว่าตัวอ่อนระยะที่สองมีสปอร์เกาะ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อคลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ทุกไอโซเลตในอัตรา 100,000 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม จากผลการทดลองที่ได้ทำให้สามารถคาดได้ว่าแบคทีเรีย *P. penetrans* ทุกไอโซเลตจะสามารถควบคุมประชากรไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* จาก จ.ตาก ได้ในระยะยาว

การใช้แบคทีเรีย *P. penetrans* ร่วมกับสารเคมีโดยวิธีการเคลือบเมล็ด ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* (2561)

ผลการทดลองการเคลือบเมล็ดมะเขือเทศด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ร่วมกับสารเคมีในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* (ตารางที่ 6) พบว่าน้ำหนักต้นเฉลี่ยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่น้ำหนักรากมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยน้ำหนักรากในกรรมวิธีที่ 3 (เคลือบเมล็ดด้วยสาร fluopyram + trifloxystrobin 25% + 25% W/V SC) กรรมวิธีที่ 4 (เคลือบเมล็ดด้วยสาร azadirachtin 0.1% SL + *P. penetrans*) และ กรรมวิธีที่ 5 (เคลือบเมล็ดด้วยสาร abamectin 1.8 % EC + *P. penetrans*) มีน้ำหนักรากน้อยกว่ากรรมวิธีควบคุม (ไม่เคลือบเมล็ด) ส่วนปริมาณตัวเต็มวัยเพศเมียภายในรากและปริมาณตัวอ่อนระยะที่สองในดินในแต่ละกรรมวิธีไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จำนวนกลุ่มไข่ต่อรากในกรรมวิธีที่ 2 (เคลือบเมล็ดด้วยสาร abamectin 1.8 % EC) และกรรมวิธีที่ 3 (เคลือบเมล็ดด้วยสาร fluopyram + trifloxystrobin 25% + 25% W/V SC) ต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุม (ไม่เคลือบเมล็ด) แต่ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีอื่นๆ จากผลการทดลองที่ได้พบว่าการเคลือบเมล็ดด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* และสารเคมี โดยใช้ polyvinyl pyrrolidone (PVP-K90) เป็นสารเคลือบไม่สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งนี้อาจเกิดจากสารเคลือบ polyvinyl pyrrolidone (PVP-K90) มีความเหนียวเกินไปทำให้สารเคมีและสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไม่สามารถแพร่ลงมากับระบบรากของมะเขือเทศ หรือแพร่กระจายลงสู่ดินได้ และจากการตรวจการเกาะของสปอร์แบคทีเรีย *P. penetrans* บนผนังลำตัวของตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองในดิน ก็ไม่พบตัวอ่อนที่มีสปอร์เกาะ แสดงว่าสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไม่น่าจะแพร่ลงสู่ดินและระบบราก การหาสารเคลือบเมล็ดที่เหมาะสมกว่า polyvinyl pyrrolidone (PVP-K90) ที่สามารถทำให้สปอร์ของแบคทีเรียและสารเคมีแพร่ลงสู่ระบบรากและดินได้ง่ายขึ้นอาจช่วยแก้ไขข้อจำกัดนี้ได้

ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *P. penetrans* ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในระยะยาว (2560-2561)

ผลการทดลองในการปลูกมะเขือเทศครั้งที่ 1 (ตารางที่ 7) พบว่าน้ำหนักต้นในกรรมวิธีที่ 1 (คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans*) มากกว่ากรรมวิธีที่ 6 (ไม่ใส่สารใดๆ) แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีอื่นๆ ความสูงของต้นมะเขือเทศไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกกรรมวิธี ความรุนแรงในการเกิดโรครากปมในกรรมวิธีที่ 5 (ราดดินด้วยสาร fluopyram + trifloxystrobin 25% + 25% W/V SC อัตรา 0.5 มิลลิลิตร/ลิตร พร้อมปลูก และ 1 เดือนหลังปลูก) และกรรมวิธีที่ 3 (คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* + ราดดินด้วยสาร fluopyram + trifloxystrobin 25% + 25% W/V SC อัตรา 0.5 มิลลิลิตร/ลิตร พร้อมปลูก 1 เดือนหลังปลูก) ต่ำกว่ากรรมวิธีอื่นๆ ความรุนแรงในการเกิดโรคในกรรมวิธีอื่นๆ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ปริมาณตัว

อ่อนระยะที่สองในดินในกรรมวิธีที่ 6 (ไม่ใส่สารใดๆ) สูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆ แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ 1 (คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans*) เปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองที่มีสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* เกาะผนังลำตัวในกรรมวิธีที่ 1 (คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans*) และกรรมวิธีที่ 2 (คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* + คลุกดินด้วยเมล็ดสะเดาบด 10 กรัม พร้อมปลูก และ 1 เดือนหลังปลูก) คือ 13.5 และ 8.5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

ผลการทดลองในการปลูกมะเขือเทศครั้งที่ 2 (ตารางที่ 8) พบว่าน้ำหนักต้น และความสูงเฉลี่ยในกรรมวิธีที่ 1 (คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans*) กรรมวิธีที่ 2 (คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* + คลุกดินด้วยเมล็ดสะเดาบด 10 กรัม พร้อมปลูก และ 1 เดือนหลังปลูก) และกรรมวิธีที่ 4 (คลุกดินด้วยเมล็ดสะเดาบด 10 กรัม พร้อมปลูก และ 1 เดือนหลังปลูก) ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 (ไม่ใส่สารใดๆ) กรรมวิธีที่ 5 (ราดดินด้วยสาร fluopyram + trifloxystrobin 25% + 25% W/V SC อัตรา 0.5 มิลลิลิตร/ลิตร พร้อมปลูก และ 1 เดือนหลังปลูก)และ กรรมวิธีที่ 3 (การคลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* + ราดดินด้วยสาร fluopyram + trifloxystrobin 25% + 25% W/V SC อัตรา 0.5 มิลลิลิตร/ลิตร พร้อมปลูก 1 เดือนหลังปลูก) มีน้ำหนักต้น และความสูงมากกว่ากรรมวิธีที่ 6 (ไม่ใส่สารใดๆ) ความรุนแรงในการเกิดโรครากปม ในกรรมวิธีที่ 1 (คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans*) กรรมวิธีที่ 2 (คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* + คลุกดินด้วยเมล็ดสะเดาบด 10 กรัม พร้อมปลูก และ 1 เดือนหลังปลูก) ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ 6 (ไม่ใส่สารใดๆ) กรรมวิธีที่ 4 (คลุกดินด้วยเมล็ดสะเดาบด 10 กรัม พร้อมปลูก และ 1 เดือนหลังปลูก) มีความรุนแรงในการเกิดโรคต่ำกรรมวิธีที่ 6 (ไม่ใส่สารใดๆ) ส่วนกรรมวิธีที่ 5 (ราดดินด้วยสาร fluopyram + trifloxystrobin 25% + 25% W/V SC อัตรา 0.5 มิลลิลิตร/ลิตร พร้อมปลูก และ 1 เดือนหลังปลูก) และกรรมวิธีที่ 3 (คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* + ราดดินด้วยสาร fluopyram + trifloxystrobin 25% + 25% W/V SC อัตรา 0.5 มิลลิลิตร/ลิตร พร้อมปลูก 1 เดือนหลังปลูก) ไม่เกิดโรค ปริมาณตัวอ่อนระยะที่สองในดินทุกกรรมวิธีต่ำกว่ากรรมวิธีที่ 6 (ไม่ใส่สารใดๆ) ซึ่งกรรมวิธีที่ 5 (ราดดินด้วยสาร fluopyram + trifloxystrobin 25% + 25% W/V SC อัตรา 0.5 มิลลิลิตร/ลิตร พร้อมปลูก และ 1 เดือนหลังปลูก) และกรรมวิธีที่ 3 (การคลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* + ราดดินด้วยสาร fluopyram + trifloxystrobin 25% + 25% W/V SC อัตรา 0.5 มิลลิลิตร/ลิตร พร้อมปลูก 1 เดือนหลังปลูก) ไม่พบตัวอ่อนระยะที่สองในดิน เปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองที่มีสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* เกาะผนังลำตัว ในกรรมวิธีที่ 1 (คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans*) และกรรมวิธีที่ 2 (คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* + คลุกดินด้วยเมล็ดสะเดาบด 10 กรัม พร้อมปลูก และ 1 เดือนหลังปลูก) คือ 38.25 และ 24.25 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

ผลการทดลองในการปลูกมะเขือเทศครั้งที่ 3 (ตารางที่ 9) น้ำหนักต้นเฉลี่ยในกรรมวิธีที่ 2 (คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* + คลุกดินด้วยเมล็ดสะเดาบด 10 กรัม พร้อมปลูก และ 1 เดือนหลังปลูก) กรรมวิธีที่ 3 (คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* + ราดดินด้วยสาร fluopyram + trifloxystrobin 25% + 25% W/V SC อัตรา

0.5 มิลลิลิตร/ลิตร พร้อมปลูก 1 เดือนหลังปลูก) และกรรมวิธีที่ 4 (คลุกดินด้วยเมล็ดสะเดาบด 10 กรัม พร้อมปลูก และ 1 เดือนหลังปลูก) มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 (ไม่ใส่สารใดๆ) ความสูงเฉลี่ยในทุกกรรมวิธีมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 6 (ไม่ใส่สารใดๆ) ยกเว้นกรรมวิธีที่ 1 (คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans*) ซึ่งมีความสูงไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ 6 (ไม่ใส่สารใดๆ) ดัชนีความรุนแรงของการเกิดโรครากปม ในกรรมวิธีที่ 1 (คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans*) กรรมวิธีที่ 2 (คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* + คลุกดินด้วยเมล็ดสะเดาบด 10 กรัม พร้อมปลูก และ 1 เดือนหลังปลูก) และกรรมวิธีที่ 4 (คลุกดินด้วยเมล็ดสะเดาบด 10 กรัม พร้อมปลูก และ 1 เดือนหลังปลูก) ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ 6 (ไม่ใส่สารใดๆ) ส่วนกรรมวิธีที่ 3 (คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* + ราดดินด้วยสาร fluopyram + trifloxystrobin 25% + 25% W/V SC อัตรา 0.5 มิลลิลิตร/ลิตร พร้อมปลูก 1 เดือนหลังปลูก) และกรรมวิธีที่ 5 (ราดดินด้วยสาร fluopyram + trifloxystrobin 25% + 25% W/V SC อัตรา 0.5 มิลลิลิตร/ลิตร พร้อมปลูก และ 1 เดือนหลังปลูก) ไม่เกิดโรครากปม จำนวนตัวอ่อนระยะที่สองในดินในทุกกรรมวิธีต่ำกว่ากรรมวิธีที่ 6 (ไม่ใส่สารใดๆ) กรรมวิธีที่ 3 (คลุกดินด้วยสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* + ราดดินด้วยสาร fluopyram + trifloxystrobin 25% + 25% W/V SC อัตรา 0.5 มิลลิลิตร/ลิตร พร้อมปลูก 1 เดือนหลังปลูก) และกรรมวิธีที่ 5 (ราดดินด้วยสาร fluopyram + trifloxystrobin 25% + 25% W/V SC อัตรา 0.5 มิลลิลิตร/ลิตร พร้อมปลูก และ 1 เดือนหลังปลูก) ไม่พบตัวอ่อนระยะที่สองในดิน ในการปลูกมะเขือเทศครั้งที่ 3 นี้ไม่สามารถเก็บข้อมูลเปอร์เซ็นต์ของตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมระยะที่สองที่มีสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* เกาะผนังลำตัว เนื่องจากจำนวนตัวอ่อนไส้เดือนฝอยในดินมีน้อยมาก

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *P. penetrans* ในการควบคุมโรครากปมของมะเขือเทศที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในระยะยาวโดยการใช้สปอร์ของแบคทีเรียเพียงอย่างเดียว หรือใช้ร่วมกับเมล็ดสะเดาบด หรือสารเคมีนั้น พบว่าการควบคุมโรคจะมีประสิทธิภาพก็ต่อเมื่อมีการใช้สารเคมี การควบคุมโรคโดยใช้สปอร์ของแบคทีเรียเพียงอย่างเดียวหรือใช้ร่วมกับเมล็ดสะเดาบดสามารถลดจำนวนประชากรไส้เดือนฝอยรากปมในดินได้ แต่ไม่สามารถลดระดับความรุนแรงของโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้พบว่าเปอร์เซ็นต์ของตัวอ่อนระยะที่สองที่มีสปอร์ของแบคทีเรียเกาะผนังลำตัวเพิ่มขึ้นในการปลูกมะเขือเทศครั้งที่ 2 ซึ่งบ่งชี้ว่าแบคทีเรียมีการเพิ่มปริมาณขึ้นเรื่อยๆ ในดิน เป็นที่น่าสังเกตว่าน้ำหนักต้นและความสูงโดยรวมของมะเขือเทศในการปลูกครั้งที่ 1 ครั้งที่ 2 และครั้งที่ 3 มีแนวโน้มลดลงซึ่งอาจเนื่องจากเป็นการทำการทดลองในสภาพกระถางซึ่งมีพื้นที่จำกัด การปลูกพืชซ้ำหลายครั้งทำให้ความอุดมสมบูรณ์ของดินลดลงถึงแม้ว่าจะมีการใส่ปุ๋ยเคมีทุกครั้งเมื่อเริ่มทดลอง ซึ่งการทดลองในพื้นที่จำกัดนี้อาจมีผลกระทบในภาพรวมของการทดลอง การศึกษาการควบคุมโรครากปมของแบคทีเรีย *P. penetrans* ในระยะยาวควรมีการศึกษาในสภาพแปลงปลูกเพื่อลดผลกระทบดังกล่าว

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

แบคทีเรียปฏิปักษ์ *P. penetrans* ไอโซเลตไทยจากหัวมันฝรั่ง มันขี้หนูและพริก มีความแตกต่างกันในการเกาะผนังลำตัวของตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมประชากรต่างๆ การนำสปอร์ของแบคทีเรีย *P. penetrans* ไปใช้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมจึงจำเป็นต้องทดสอบว่าสปอร์ของ *P. penetrans* สามารถเกาะและเข้าทำลายไส้เดือนฝอยรากปมประชากรนั้นๆได้หรือไม่ การทดสอบแบคทีเรียปฏิปักษ์ *P. penetrans* ไอโซเลต มันฝรั่ง มันขี้หนู และพริก ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ประชากรจาก จ.ตาก พบว่าทุกไอโซเลตมีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ โดยเมื่อมีปริมาณสปอร์ในดินสูงขึ้นจะทำให้การควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

10.การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ได้ข้อมูลพื้นฐานของแบคทีเรีย *Pasteuria penetrans* ไอโซเลตไทยในด้านต่างๆซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการวิจัยในลำดับต่อไป ได้วิธีการผลิตขยายและได้วิธีการใช้ที่เหมาะสม และข้อจำกัดต่างๆ ในการใช้แบคทีเรีย *P. penetrans* ไอโซเลตไทยในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม รวมถึงศักยภาพและความยั่งยืนในการใช้แบคทีเรียชนิดนี้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในระยะยาว สามารถนำไปปรับใช้กับพืชชนิดต่างๆ ที่มีปัญหาการแพร่ระบาดของไส้เดือนฝอยรากปมได้

11. คำขอบคุณ (ถ้ามี) : -

12. เอกสารอ้างอิง

ไตรเดช ข่ายทอง ธิติยา สารพัฒน์ มนตรี เอี่ยมวิมังสา และปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์. 2558. *Pasteuria penetrans* แบคทีเรียปฏิปักษ์ของไส้เดือนฝอยรากปม. หน้า 193-200. ใน: การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 12 20-22 ตุลาคม 2558 ณ โรงแรมดุสิต ไอส์แลนด์ รีสอร์ท จังหวัดเชียงราย

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.

Alves, F.R., L.G. de Freitas, P.R.P. Martinelli, S. Ferras and L.A. Maffia.2008. Influence of Inoculum Densities of *Meloidogyne* spp. and Host Plant Age on the Mass Production of *Pasteuria penetrans*. Nematologia Brasileira 32: 13-19.

Cetintas, R. and D. W. Dickson. 2004. Persistence and Suppressiveness of *Pasteuria penetrans* to *Meloidogyne arenaria* Race 1. Journal of Nematology 36: 540-549.

Chaudhary K. K. and R. K. Kaul. 2013. Efficacy of *Pasteuria penetrans* and Various Oil Seed Cakes in Management of *Meloidogyne incognita* in Chilli pepper (*Capsicum annuum* L.). Journal of Agricultural Science and Technology 15: 617-626.

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.

Daudi, A.T. and S.R. Gowen. 1992. The Potential for Managing Root-knot Nematodes by Use of *Pasteuria penetrans* and Oxamyl Nematologia Mediterranea 20: 241-244.

Frans, A. A., M. De Leij, K. G. Davies and B. R. Kerry. 1992. The Use of *Verticillium chlamydosporium* Goddard and *Pasteuria penetrans* (Thorne) Sayre & Starr Alone and in Combination to Control Plant Parasitic Root-knot Nematodes: *Meloidogyne* spp. Fundamental and Applied Nematology 15; 235-242.

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. and D.W. Dickson. 1993. A Centrifugation Method for Attaching Endospores of *Pasteuria* spp. to Nematodes. Supplement to Journal of Nematology 25(4S): 785-788.

Hussey, R. S., and K. R. Barker. 1973. A Comparison of Methods of Collecting Inocula of *Meloidogyne* spp., Including a New Technique. Plant Disease Reporter 57:1025–1028.

Khaithong, T., M. Iemwimangsa, T. Sarapat, and P. Thammakijjawat. 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.

Melki, K.C., I.O. Giannakou, R. Pembroke and S.R. Gowen. 1998.The cumulative build-up of *Pasteuria penetrans* spores in root-knot nematode infested soil and the effect of soil applied fungicides on its infectivity. Fundamental and Applied Nematology 21: 679-683.

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

Rodrigues, A.K., L.G. Freitas, A.A. Azevedo and S. FERRAZ. 2003. Development of *Pasteuria penetrans* in *Meloidogyne* spp. Parasitizing Different Host Plants. Fitopatologia Brasileira. 28: 267-272.

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.

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.

Stirling, G.R. 1984. Biological control of *Meloidogyne javanica* by *Bacillus penetrans*. Phytopathology 74: 55-60.

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.

Weibelzahl-Fulton, E., D.W. Dickson and E.B. Whitty. 1996. Suppression of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* by *Pasteuria penetrans* in Field Soil. Journal of Nematology 28:43-49.

13. ภาคผนวก

Table 1 Average number of spore attachment on 30 second stage juveniles of 3 *P. penetrans* isolates (potato, hausa potato, chili) on 3 population (Tak, Chantaburi, Khon Kaen) of *M. incognita*

P. penetrans isolates	*M. incognita* population†		
	Tak	Chantaburi	Khon Kaen
Potato	37.3 a	1.7 c	0.1 c
Hausa Potato	30.8 a	0.6 c	0 c
Chili	9.4 b	0 c	0.1 c

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

Table 2 Average number of second stage juveniles (J2) in the soil, eggmasses number on root system, percentage of spore-encumbered J2, percentage of infected female, and root gall index.

Treatment	Number of J2 in the soil †		Number of eggmasses on root system†		% spore - encumbered J2†		% infected female		Root gall index
Potato (3,000)	5,763	c	49	bc	25.0	d	68.8	ab	2.3
Potato (10,000)	4,078	c	61	bc	51.7	c	66.4	ab	2.4
Potato (100,000)	332	a	6	a	100.0	a	87.7	a	1.0
Hausa Potato (3,000)	5,660	c	51	bc	26.8	d	46.0	b	2.6
Hausa Potato (10,000)	2,286	bc	33	bc	44.4	c	59.3	ab	2.4
Hausa Potato (100,000)	1,070	ab	30	ab	100.0	a	72.0	ab	1.8
Chili (3,000)	9,727	c	52	bc	25.3	d	51.7	ab	2.7
Chili (10,000)	8,142	c	75	c	71.8	b	80.0	a	3.0
Chili (100,000)	3,456	bc	63	bc	100.0	a	84.0	a	2.2
Untreated (Control)	5,024	c	56	bc	0.0	e	0	c	2.8
F-test	**		**		**		**		
C.V. (%)	18.23		28.1		7.3		33.49		

† 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 3 Average plant height, plant weight, and root weight of tomatoes plants grown in a cup with different number of plants

Treatment	Height† (cm.)		Plant Weight (g)	Root Weight (g)	
1 Plant	31.7	a	7.3	2.6	c
2 Plants	24.0	b	7.5	3.9	b
3 Plants	22.7	b	9.4	4.6	b
4 Plants	19.5	b	9.5	6.0	a
F-test	**		ns	**	
C.V. (%)	65.29		73.29	31.69	

† 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 number of *P. penetrans* spore produced per cup and average number of spore in single RKN female in different amount and time of inoculation

Treatment	Number of spore/cup (spore)	Number of spore in 1 RKN female (spore)
10,000 juveniles 1 time	92,700,000	967,200
5,000 juveniles 2 times	41,400,000	1,570,200
5,000 juveniles 3 times	83,700,000	1,051,800

Table 5 Average numbers of eggmass per root and number of nematode per root of RKN second stage juvenile infected with *P. penetrans* spore previously soaked in different type of chemicals

Treatment	Number of eggmass per root	Number of nematodes in root	
		Mature female	Other stages
azadirachtin	2.6	19.8	12.4
abamectin	0	0.2	0
fluopyram + trifloxystrobin	2.4	27.2	24.4
Sterile water (Control)	28.2	105.8	41

Table 6 Effect of seed coating with *P. penetrans* spores and pesticides

Treatment	Plant weight (g) †	Root weight (g) †	No. of eggmass per root	No. of adult female per root	No. of J2 in the soil
T1 (azadirachtin)	36.6	3.8ab	117bc	401	640
T2 (abamectin)	41.7	4.2ab	89c	310	1121
T3 (fluopyram)	21.6	2.6b	90c	295	653
T4 (azadirachtin + *P*)	20.8	2.4b	104bc	217	979
T5 (abamectin + *P*)	21.2	2.6b	132bc	217	900
T6 (fluopyram + *P*)	25.4	3.8ab	132bc	234	740
T7(*P. penetrans*)	39.2	6.3a	169abc	300	564
T8 (PVP-K90)	36.8	5.3ab	272a	377	1372
T9 (Control)	41.6	6.2a	234ab	343	1180
F-test	ns	*	*	ns	ns
C.V. (%)	47.88	49.53	63.76	62.58	70.26

† 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 7 Average Plant weight, Plant height, Disease Index, No. of J2 in soil and Percent spore encumbered J2 in the study on long term efficacy of *P. penetrans* on *M. incognita* control (1st planting)

Treatment	Plant weight (g) †	Plant height (g) †	Disease Index (DI) (%)†	No. of J2 in 250 g soil †	Percent spore encumbered J2
T1 (*P. penetrans*)	99.3 a	72.0	60.0 a	915 ab	13.5
T2 (*P. penetrans* + neem seed powder)	61.0 ab	72.4	66.3 a	467 bc	8.5
T3 (*P. penetrans* + fluopyram)	70.1 ab	71.3	28.8 b	0 d	-
T4 (neem seed powder)	59.1 ab	71.0	60.0 a	527 b	-
T5 (fluopyram)	54.1 ab	65.4	20.0 b	16 cd	-
T6 (control)	37.0 b	66.8	75.8 a	1,018 a	-
F-test	*	ns	**	**	-
C.V. (%)	61.54	16.58	15.9	63.96	-

† 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 8 Average Plant weight, Plant height, Disease Index, No. of J2 in soil and Percent spore encumbered J2 in the study on long term efficacy of *P. penetrans* on *M. incognita* control (2nd planting)

Treatment	Plant weight (g) †	Plant height (g) †	Disease Index (DI) (%)†	No. of J2 in 250 g soil †	Percent spore encumbered J2
T1 (*P. penetrans*)	32.4 bc	44.1 c	92.5 a	302 bc	38.25
T2 (*P. penetrans* + neem seed powder)	43.9 bc	61.2 bc	91.2 a	516 b	24.25
T3 (*P. penetrans* + fluopyram)	69.1 a	82.0 a	0 c	0 c	-
T4 (neem seed powder)	41.5 bc	52.9 bc	71.2 b	344 bc	-
T5 (fluopyram)	50.4 ab	71.6 ab	0 c	0 c	-
T6 (control)	23.2 c	42.0 c	87.5 a	1,091 a	-
F-test	**	**	**	**	-
C.V. (%)	32.02	21.8	21.7	69.36	-

† 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 9 Average Plant weight, Plant height, Disease Index and No. of J2 in soil in the study on long term efficacy of P. penetrans on *M. incognita* control (3rd planting)

Treatment	Plant weight (g) †	Plant height (g) †	Disease Index (DI) (%)†	No. of J2 in 250 g soil †
T1 (*P. penetrans*)	25.24 abc	46.5 bc	65.0 a	56 b
T2 (*P. penetrans* + neem seed powder)	29.85 ab	53.1 ab	43.75 a	30 b
T3 (*P. penetrans* + fluopyram)	33.01 a	56.5 a	0 b	0 c
T4 (neem seed powder)	27.95 ab	55.9 a	42.5 a	44 b
T5 (fluopyram)	24.22 bc	51.0 ab	0 b	0 c
T6 (control)	16.87 c	43.4 c	57.5 a	124 a
F-test	**	**	**	**
C.V. (%)	20.31	8.93	35.93	69.36

† 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