ประสิทธิภาพของแอกติโนไมซีทส์จากผึ้งมิ้มดำ (*Apis andreniformis*) ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* สาเหตุโรครากปมพริกในสภาพโรงเรือน

Efficiency of Actinomycetes Isolated from Black Dwarf Honey Bee (*Apis andreniformis*) in Controlling Root - Knot Nematode, *Meloidogyne incognita* Causes Root Knot Disease of Chili in Greenhouse

จัณฑิมา สันติสุข[1] เยาวนุช พรมนวล[2] อมรศรี ขุนอินทร์[1] พงศ์ระวี นิ่มน้อย[1] และ พรทิพย์ เรือนปานันท์[1*]

Jantima Santisuk[1], Yaowanoot Promnuan[2], Amonsri Khun-In[1], Pongrawee Nimnoi[2] and Pornthip Ruanpanun[1*]

[1]ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

[1]Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

[2]โครงการจัดตั้งภาควิชาจุลชีววิทยา คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

[2]Department of Microbiology, Faculty of Liberal Arts and Sciences, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

**Corresponding author: Email: fagrptr@ku.ac.th*

(Received: 12 February 2018; Accepted: 15 June 2018)

Abstract: A total of 33 actinomycete isolates obtained from black dwarf honey bee (*Apis andreniformis*) were subjected to primary screening *in vitro* for their effects on *Meloidogyne incognita* by using their spore suspensions. Eleven isolates showed high activity in decreasing egg hatch rate and increasing infective second-stage juvenile mortality rate of *M. incognita* significantly. *Streptomyces* sp. isolate A038 reduced egg hatch rate the most by 92.04% and isolate A027 increased the juvenile mortality rate by 51.31% compared to the control. Then eleven isolates were subjected to secondary screening *in vitro* for their effects on hatching of egg mass of *M. incognita* by using their spore suspension. *Streptomyces* sp. isolate A032 and A031 reduced egg mass hatch rate the most by 69.51% and 69.43%, respectively. In pot experiment, strain A032 presented the highest control efficacy in reducing root gall of chili by 50%. Additionally, this strain promoted chili growth by increasing dry shoot weight.

Keywords: *Meloidogyne incognita*, biological control, actinomycetes, *Apis andreniformis*

Copyright @ Journal of Agriculture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. All rights reserved.

บทคัดย่อ: การทดสอบแอกติโนไมซีทส์ที่แยกได้จากลำไส้ผึ้งมิ้มดำ (*Apis andreniformis*) จำนวน 33 ไอโซเลท ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ในระดับห้องปฏิบัติการพบว่าแอกติโนไมซีทส์จำนวน 11 ไอโซเลทมีความสามารถในการลดอัตราการฟักของไข่และเพิ่มอัตราการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 ซึ่งเป็นระยะเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ไอโซเลท A038 ลดอัตราการฟักไข่ได้มากที่สุดถึงร้อยละ 92.04 และไอโซเลท A027 เพิ่มอัตราการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 มากที่สุดถึงร้อยละ 51.31 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม จากนั้นนำเชื้อแอกติโนไมซีทส์ทั้ง 11 ไอโซเลท มาทดสอบผลของการฟักของไข่ในกลุ่มไข่ พบว่าแอกติโนไมซีทส์ไอโซเลท A032 และ A031 สามารถลดอัตราการฟักของกลุ่มไข่มากที่สุดถึงร้อยละ 69.51 และ 69.43 ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อแอกติโนไมซีทส์ทั้ง 11 ไอโซเลทมาทดสอบการควบคุมโรครากปมของพริกในระดับโรงเรือนพบว่าเชื้อแอกติโนไมซีทส์ไอโซเลท A032 สามารถลดการเกิดปมของรากพริกสูงถึงร้อยละ 50 นอกจากนี้ยังทำให้น้ำหนักแห้งของพริกเพิ่มขึ้นอีกด้วย

คำสำคัญ: *Meloidogyne incognita* การควบคุมโดยชีววิธี แอกติโนไมซีทส์ *Apis andreniformis*

คำนำ

พริกเป็นพืชในวงศ์ Solanaceae สกุล *Capsicum* ที่ได้รับความนิยมบริโภคทั่วโลก สำหรับในประเทศไทยนั้น พริกถือเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของอาหาร โดยมีพื้นที่เพาะปลูกพริกทั่วประเทศ 490,000 ไร่ (นุชนารถ และคณะ, 2552) ปริมาณการส่งออก 12,283 ตันต่อปี คิดเป็นมูลค่า 114 ล้านบาท (กมล, 2555) ในการผลิตพริกมีปัจจัยหลายประการที่ส่งผลต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิตไม่ว่าจะเป็นเชื้อก่อโรคและแมลงศัตรูพืช ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. ถือเป็นศัตรูพืชที่สำคัญที่สร้างความเสียหายต่อพริกโดยเฉพาะชนิด *M. incognita* ในปี พ.ศ. 2550 พบการระบาดของไส้เดือนฝอยชนิดดังกล่าวในแปลงปลูกพริกจำนวน 1,629 ไร่ ในเขตพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี พบความเสียหายของผลผลิตและคุณภาพลดลงตั้งแต่ร้อยละ 50 และในบางบริเวณเสียหายถึงร้อยละ 100 (นุชนารถ, 2550) ลักษณะอาการของโรครากปมคือเกิดปมที่มีขนาดใหญ่กว่ารากปกติ เนื่องจากไส้เดือนฝอยรากปมดูดกินสารอาหารภายในเซลล์พืช ทำให้เซลล์ที่ถูกทำลายนั้นแบ่งตัวผิดปกติเกิดเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ (giant cell) ปิดกั้นท่อน้ำท่ออาหารจากรากไปเลี้ยงลำต้นส่วนเหนือดิน ทำให้พริกแสดงอาการเหี่ยวเฉา ต้นแคระแกร็นและทรุดโทรม ในรายที่มีการเข้าทำลายอย่างรุนแรงพริกจะไม่ให้ผลผลิตและตายในที่สุด

การกำจัดไส้เดือนฝอยศัตรูพืชโดยชีววิธี (biocontrol) เป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมอย่างมาก เนื่องจากไม่ส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม มีการนำศัตรูธรรมชาติที่เกิดขึ้นในแปลง เช่น วัชพืชมาเป็นพืชคลุมดิน (น้ำนมราชสีห์ และหญ้าโขย่ง) และปลูกไถกลบบำรุงดินเนื่องจากมีผลของอัลลีโลพาทีที่ทำให้ลดจำนวนประชากรไส้เดือนฝอยในดินลดลงได้ (อภิรัฐและทศพล 2560; จำเนียรและคณะ, 2561) ในปัจจุบันแอกติโนไมซีทส์เป็นจุลินทรีย์อีกกลุ่มหนึ่งที่ได้รับความสนใจและศึกษาสำหรับใช้เป็นชีวภัณฑ์เพื่อการควบคุมไส้เดือนฝอย (Nimnoi *et al*., 2017) มีการรายงานการใช้เชื้อ *Streptomyces avermitilis* สามารถสร้างสาร avermectins ที่มีผลในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* กันอย่างกว้างขวาง (Faske and Starr 2006; Jin *et al*., 2017) แหล่งที่พบแอกติโนไมซีทส์มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยศัตรูพืชนั้นมีหลายแหล่งทั้งในดินที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอย (Ruanpanun *et al*., 2010) ตัวเต็มวัยของไส้เดือนฝอย (Sun *et al*., 2006) รวมถึงมูลไส้เดือนดิน (Ruanpanun and Chamswarng, 2016) อย่างไรก็ดียังไม่มีการรายงานการทดสอบแอกติโนไมซีทส์ที่แยกได้จากลำไส้ผึ้งมิ้มดำในการควบคุมไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ทั้งนี้มีการรายงาน *Streptomyces* spp. ในรังผึ้งสามารถป้องกันรังผึ้งจากการทำลายของเชื้อรา อีกทั้งยังสร้างสารต้านเชื้อก่อโรคในผึ้งได้ นอกจากนี้ยังพบว่าแอกติโนไมซีทส์ที่แยกจากลำไส้ผึ้งสามารถผลิตเอนไซม์ polyketide synthase ซึ่งเป็นตัว

บ่งชี้ความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะอีกด้วย (Inglis *et al*.,1993) พบการรายงานแอกติโนไมซีทส์สกุล *Streptomyces* ที่แยกได้จากผึ้งชนิดต่าง ๆ มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ protease และ chitinase ได้ ซึ่งมีผลในการรบกวนการฟักของไข่ของ *Meloidogyne hapla* และทำให้ตัวอ่อนที่ฟักออกมาไม่สามารถที่จะมีชีวิตรอดในดินได้ (Mercer *et al*., 1992) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาประสิทธิภาพของแอกติโนไมซีทส์ที่แยกได้จากลำไส้ผึ้งมิ้มดำ (*Apis andreniformis*) ในการควบคุมโรครากปมในพริก เพื่อเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากไส้เดือนฝอยต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมเชื้อแอกติโนไมซีทส์

นำแอกติโนไมซีทส์ที่แยกได้จากลำไส้ผึ้งมิ้มดำจำนวน 33 ไอโซเลทจากโครงการจัดตั้งภาควิชาจุลชีววิทยา ศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน มาเลี้ยงบนอาหาร yeast malt extract agar (YM) บ่มที่อุณหภูมิห้อง (25 ± 30°C) นาน 7-14 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณโคโลนีของเชื้อ นำไปใส่ในขวดแก้วที่บรรจุน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้วเขย่าให้ได้สารแขวนลอยสปอร์ความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ใช้สำหรับทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการ

ในการเตรียมเชื้อแอกติโนไมซีทส์เพื่อทดสอบในระดับโรงเรือน ทำการเพิ่มจำนวนสปอร์แอกติโนไมซีทส์ในเมล็ดข้าวที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วัน จนกระทั่งเชื้อสร้างสปอร์คลุมเมล็ดข้าว จากนั้นเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อจนท่วมเมล็ดข้าว แยกสปอร์ออกจากเมล็ดข้าวโดยกรองผ่านตะแกรง ปรับปริมาตรให้มีความเข้มข้น 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (Ruanpanun and Chamswarng, 2016) และนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

2. การเตรียมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita*

นำต้นพริกที่เป็นรากปมจากแปลงศูนย์พืชผักเขตร้อนใน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน มาล้างรากด้วยน้ำให้สะอาด เขี่ยกลุ่มไข่สีน้ำตาลเข้มบริเวณรากมา 1 กลุ่มไข่ ปลูกลงในต้นกล้าพริกอายุ 3 สัปดาห์ ดูแลรดน้ำเป็นเวลา 30 - 45 วัน ตรวจสอบชนิดของไส้เดือนฝอยรากปมโดยดูจากรอยย่นส่วนก้นของตัวเต็มวัยเพศเมีย (perineal pattern) ที่มีลักษณะตรงกับไส้เดือนฝอยรากปมชนิด *M. incognita* คือมีรอยย่นส่วนก้น dorsal arch ยกสูง เส้นรอยย่น (striae) มีลักษณะเส้นขยุกขยิก (zigzag) และเป็นแบบคลื่น (smooth to wavy) รอยเส้นด้านข้าง (lateral line) ขาดมองเห็นไม่ชัดเจน มี vulva และ anus เด่นชัด (Eisenback *et al*., 1981) นำกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ปลูกลงต้นกล้าพริกเพื่อขยายจำนวนกลุ่มไข่ให้ได้จำนวนตามต้องการ เพื่อใช้ในการทดสอบตามวิธีการของ Ruanpanun and Chamswarng (2016)

3. การทดสอบประสิทธิภาพของแอกติโนไมซีทส์ต่อการควบคุมไส้เดือนฝอย *M. incognita* ในระดับห้องปฏิบัติการ

3.1 การทดสอบผลของแอกติโนไมซีทส์ต่อการควบคุมการฟักของไข่และการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita*

นำแอกติโนไมซีทส์จำนวน 33 ไอโซเลทมาทดสอบผลต่อการฟักของไข่และการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* โดยนำไข่ไส้เดือนฝอยรากปมจำนวน 200 ฟองในน้ำ 50 ไมโครลิตร ใส่ในจานหลุมขนาด 24 หลุม (24 well plate) นำสารแขวนลอยสปอร์แอกติโนไมซีทส์ที่มีความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลุม 24 well plate ใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อแทนสารแขวนลอยสปอร์ในชุดควบคุม วางแผนการทดลองแบบ CRD (completely randomized design) มีทั้งหมด 2 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ นำจานหลุมขนาด 24 หลุมบ่มที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2°C) เป็นเวลา 7 วัน ตรวจนับจำนวนไข่ ตัวอ่อนระยะที่ 2 ทั้งหมด และแยกนับตัวอ่อนระยะที่ 2 ที่ตาย คำนวณอัตราการตายของตัวอ่อนและอัตราการฟักของไข่โดยใช้สูตร ร้อยละอัตราการฟักของไข่ = 100 × ตัวอ่อนระยะที่ 2/ (ไข่ + ตัวอ่อนระยะที่ 2) และ ร้อยละอัตราการตายของตัวอ่อน = 100 × ตัวอ่อนระยะที่ 2 ที่ตาย/ จำนวนตัวอ่อนระยะที่ 2 ทั้งหมด (Ruanpanun *et al*., 2011; Sun *et al*., 2006)

3.2 การทดสอบผลของแอกติโนไมซีทส์ต่อการฟักของกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอย *M. incognita*

นำเชื้อแอกติโนไมซีทส์ ที่ให้ผลในการลดอัตราการฟักของไข่และเพิ่มอัตราการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* อย่างมีนัยสำคัญในข้อ 3.1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการลดการฟักของไข่ที่มี gelatinous matrix หุ้มอยู่หรือกลุ่มไข่ (egg mass) โดยนำสารแขวนลอยสปอร์ 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลุม 24 well plate ที่มีกลุ่มไข่ 1 กลุ่มไข่อยู่ในจานหลุม บ่มที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2ºC) เป็นเวลา 7 วัน มีทั้งหมด 2 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ตรวจนับจำนวนตัวอ่อนของไส้เดือยฝอยที่ฟักเทียบกับชุดควบคุมที่ใส่น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแทนสารแขวนลอยสปอร์

4. การทดสอบประสิทธิภาพของแอกติโนไมซีทส์ต่อการควบคุม โรครากปมพริกในสภาพเรือนทดลอง

นำแอกติโนไมซีทส์จำนวน 11 ไอโซเลทที่ให้ผลในการลดอัตราการฟักของไข่และเพิ่มอัตราการตายของตัวอ่อนและการฟักของกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* อย่างมีนัยสำคัญในข้อที่ 3 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากปมของพริกในระดับโรงเรือน โดยนำสารแขวนลอยสปอร์มาคลุกกับดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 10^6 สปอร์/ดิน 1 กระถาง (15×10×15 เซนติเมตร) ปลูกต้นกล้าพริกที่มีอายุ 3 สัปดาห์ลงในกระถาง ใส่ไส้เดือนฝอยรากปมตัวอ่อนระยะที่ 2 ในวันที่ย้ายต้นกล้าพริกตามลงไปใกล้บริเวณโคนรากจำนวน 1,000 ตัวต่อต้น รดน้ำวันละ 1 ครั้งเป็นเวลาทั้งสิ้น 45 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งได้แก่ ต้นพริกปกติ (control 1) และต้นพริกที่ปลูกเฉพาะไส้เดือนฝอยรากปมลงไป (control 2) วางแผนการทดลองแบบ CRD (completely randomized design) ทั้งหมด 3 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ประเมินประสิทธิภาพการควบคุมโรคโดยนับจำนวนกลุ่มไข่ ประเมินระดับการเกิดปมของรากตามวิธีการของ Ruanpanun and Chamswarng (2016) และประเมินผลของเชื้อต่อการเจริญของพริกโดยวัดความสูงของต้นพริก น้ำหนักสดต้นและราก และน้ำหนักแห้งของต้นพริก

5. การวิเคราะห์ผลการทดลอง

วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองโดย วิธีของ Dancan's new multiple range test (DMRT) ($P \leq 0.05$)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอกติโนไมซีทส์ต่อการควบคุมไส้เดือนฝอย *M. incognita* ในระดับห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบความสามารถในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ของเชื้อแอกติโนไมซีทส์ทั้ง 33 ไอโซเลท ที่แยกได้จากลำไส้ผึ้งมิ้มดำ ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยประเมินจากการลดอัตราการฟักของไข่ การเพิ่มอัตราการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 รวมถึงผลต่อการฟักของกลุ่มไข่ที่มี gelatinous matrix หุ้มอยู่ (egg mass) พบว่า 11 ไอโซเลท ประกอบด้วย A010, A013, A020, A027, A029, A031, A032, A033, A034, A038 และ A039 ให้ผลในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ได้ดีอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยที่ 6 ไอโซเลท ประกอบด้วย A029, A031, A032, A033, A034 และ A038 สามารถทำให้ไข่มีอัตราการฟักลดลงมากกว่าร้อยละ 80 โดยไอโซเลท A038 สามารถลดอัตราการฟักของไข่มากที่สุดถึงร้อยละ 92.04 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และมี 2 ไอโซเลท ประกอบด้วย A027 และ A032 สามารถเพิ่มอัตราการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 มากกว่าร้อยละ 45 โดยไอโซเลท A027 เพิ่มอัตราการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 มากที่สุดถึงร้อยละ 51.37 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ผลการทดสอบผลของแอกติโนไมซีทส์ต่อการฟักของกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอย *M. incognita* พบว่ามี 9 ไอโซเลท ประกอบด้วย A010, A013, A020, A027, A029, A031, A032, A033 และ A034 สามารถทำให้กลุ่มไข่มีอัตราการฟักลดลงมากกว่าร้อยละ 60 โดยไอโซเลท A032 สามารถลดอัตราการฟักของกลุ่มไข่มากที่สุดถึงร้อยละ 69.51 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่ 1, ภาพที่ 1) เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานการวิจัยอื่น ๆ แอกติโนไมซีทส์ที่แยกจากลำไส้มิ้มดำให้ผลใน

Table 1. Effective of actinomycete isolates to egg hatching rate, juvenile mortality and egg mass hatching rate of *Meloidogyne incognita* at 7 days

Isolate	Egg hatching rate (%)[1]	Juvenile mortality (%)[1]	Egg mass hatching rate (%)[1]
A010	83.66 ± 1.09 d	27.60 ± 2.11 bc	30.23 ± 5.93 a
A013	19.33 ± 0.44 b	14.82 ± 2.68 cde	25.30 ± 5.04 a
A020	33.83 ± 9.49 c	27.86 ± 2.73 bc	26.76 ± 7.79 a
A027	39.50 ± 4.19 c	54.41 ± 2.64 a	28.69 ± 9.20 a
A029	11.66 ± 1.16 ab	15.70 ± 0.51 cde	33.69 ± 10.14 ab
A031	15.16 ± 1.66 ab	8.98 ± 2.93 e	24.57 ± 9.50 a
A032	13.00 ± 1.73 ab	51.36 ± 10.15 a	24.49 ± 4.98 a
A033	12.50 ± 1.04 ab	23.65 ± 5.06 bcd	26.27 ± 13.01a
A034	12.50 ± 1.04 b	12.68 ± 2.82 de	33.63 ± 13.91ab
A038	5.83 ± 0.44 a	30.17 ± 9.42 b	44.85 ± 5.85 b
A039	19.33 ± 2.24 b	13.37 ± 2.35 de	70.73 ± 7.69 c
Control	97.87 ± 0.52 e	3.04 ± 0.25 e	94.00 ± 4.99 d

[1] Values with the same letter are not significantly different ($P<0.05$) according to Duncan's test

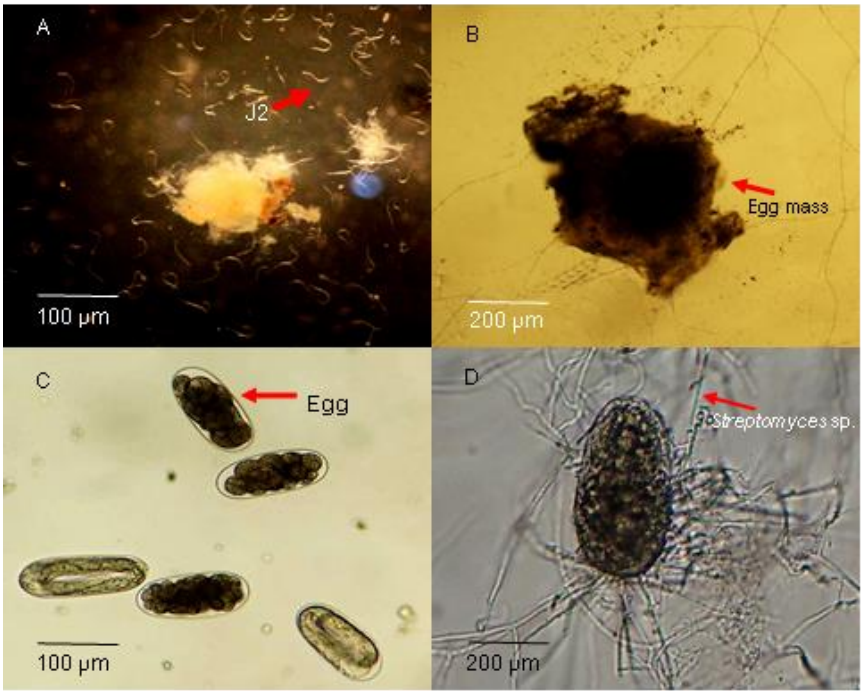

Figure 1. Egg mass and egg after treating with actinomycete isolates: Non-treated (A, C), treated with *Streptomyces* sp. A032 (B, D)

การควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงถึง 33.33% เมื่อเทียบกับแอกติโนไมซีทส์จากแหล่งอื่นอาทิ จากไข่ของไส้เดือนฝอยประมาณ 12.1% (Na *et al*., 2017) ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของไส้เดือนฝอยรากปมประมาณ 7.7% (Sun *et al*., 2006) และดินรอบรากพืชที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอยรากปมประมาณ 14.5% (Ruanpanun *et al*., 2010) ทั้งนี้เป็นไปได้ว่าแอกติโนไมซีทส์จากลำไส้ผึ้งมิ้มดำมีคุณสมบัติในการสร้างสารหรือกลไกลบางอย่างที่มีผลต่อไส้เดือนฝอยรากปม อาทิ ความสามารถในการผลิตเอ็นไซม์ในกลุ่ม polyketide synthase ที่เป็นตัวบ่งชี้ความสามารถในการสร้างทุติยภูมิ (Inglis *et al*.,1993; Promnuan *et al*., 2009) ซึ่งอาจมีผลต่อไส้เดือนฝอย และนอกจากสารทุติยภูมิจะมีผลต่อไข่และตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอย *M. incognita* แล้วยังมีผลต่อกลุ่มไข่ซึ่งมี gelatinous matrix หุ้มอยู่ รัตติกาล และคณะ (2554) ได้รายงานเกี่ยวกับเชื้อ *Streptomyces* PR-87 สามารถยับยั้งการฟักของไข่และฆ่าตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปมได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงนั้นเกิดจากฤทธิ์ของสารทุติยภูมิที่เชื้อปลดปล่อยออกมานอกเซลล์ในระหว่างการเพาะเลี้ยงบนอาหาร arginine glycerol mineral salt agar มีความเป็นไปได้ว่าอาจเป็นเอนไซม์ที่มีผลต่อการฟักของไข่หรือเป็นสารพิษที่มีฤทธิ์ฆ่าตัวอ่อนระยะที่ 2 และสารดังกล่าวอาจส่งผลต่อโครงสร้างของกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบทั้งในส่วน gelatinous matrix และชั้นของเปลือกไข่ (Bird and Bird, 2012) ทำให้การฟักของไข่ในกลุ่มไข่นั้นลดลง มีการรายงานสารทุติยภูมิที่มีผลต่อไส้เดือนฝอยรากปม อาทิ avermectin และ fevenulin (Dong and Zhang, 2006; Ruanpanun *et al*., 2011) ในขณะที่ Palmieri *et al*. (2001) รายงานว่าเอนไซม์ protease ที่เชื้อราปฏิปักษ์บางชนิดสร้างขึ้นก็มีผลทำให้การฟักของกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยลดลงด้วยเช่นกัน นอกนี้ยังพบการรายงานแอกติโนไมซีทส์สกุล *Streptomyces* ที่แยกได้จากผึ้งชนิดต่าง ๆ มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ protease และ chitinase ได้ ซึ่งมีผลในการรบกวนการฟักของไข่ของ *Meloidogyne hapla* และทำให้ตัวอ่อนที่ฟักออกมาไม่สามารถที่จะมีชีวิตรอดในดินได้ (Mercer *et al*., 1992) จากผลการทดลองในครั้งนี้พบว่ากลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยราก*ปม M. incognita* มีอัตราการฟักลดลงจึงมีความเป็นไปได้ว่าแอกติโนไมซีทส์ที่สามารถลดอัตราการฟักของกลุ่มไข่นี้สามารถสร้างเอนไซม์ดังกล่าวได้ อย่างไรก็ดีจะได้มีการศึกษาเกี่ยวกับกลไกการเข้าทำลายไส้เดือนฝอยรากปมของแอกติโนไมซีทส์เหล่านั้นในอนาคตต่อไป และจากผลการทดลองที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นนั้นแสดงให้เห็นว่าลำไส้ผึ้งมิ้มดำถือเป็นแหล่งของแอกติโนไมซีทส์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมอีกแหล่งหนึ่ง อีกทั้งงานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยแรกที่มีการศึกษาประสิทธิภาพของแอกติโนไมซีทส์ที่แยกได้จากลำไส้ผึ้งมิ้มดำ (*A. andreniformis*) ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita*

2. ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอกติโนไมซีทส์ในการควบคุมโรครากปมพริกในเรือนทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอกติโนไมซีทส์ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในสภาพเรือนทดลองโดยนำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อแอกติโนไมซีทส์คลุกกับดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว แล้วปลูกกล้าพริกอายุ 3 สัปดาห์ พร้อมใส่ตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปมลงไปเทียบกับต้นพริกที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายโดยไม่มีการใส่สปอร์ของเชื้อแอกติโนไมซีทส์ลงไป (control 2) ซึ่งการใส่แอกติโนไมซีทส์ลงในดินก่อนที่ไส้เดือนฝอยจะเข้าทำลายเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมมากกว่าการใส่แอกติโนไมซีทส์ลงไปพร้อมหรือหลังจากที่ไส้เดือนฝอยเข้าทำลายพืชทั้งนี้การใส่แอกติโนไมซีทส์ไปก่อนทำให้แอกติโนไมซีทส์มีเวลาในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมในดินซึ่งพร้อมในการสร้างสารหรือกลไกอื่นที่มีผลต่อไส้เดือนฝอยหรือชักนำให้พืชเกิดความต้านทานต่อไส้เดือนฝอยได้ทำให้การควบคุมโรครากปมมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น (Ruanpanun and Chamswarng 2016; Tarkka and Hampp, 2008; Tarkka *et al*., 2008) จากผลการทดลองพบว่าแอกติโนไมซีทส์ไอโซเลท A032 สามารถลดจำนวนกลุ่มไข่ (egg mass) ได้มากที่สุดถึงร้อยละ 65.30 เมื่อประเมินผลจากจำนวนตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในดินพบว่าทุกไอโซเลทสามารถลดจำนวน

ไส้เดือนฝอยในดินได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับชุดควบคุม (control 2) โดยที่ไอโซเลท A032 สามารถลดจำนวนตัวอ่อนระยะที่ 2 ได้มากที่สุดร้อยละ 32.3 จากการประเมินประสิทธิภาพการควบคุมโรคพบว่า ไอโซเลท A032 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้มากถึงร้อยละ 52.1 (ภาพที่ 2, ตารางที่ 2) ซึ่งแตกต่างกับผลการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการที่ไอโซเลท A038 สามารถลดอัตราการฟักของกลุ่มไข่ได้มากที่สุด ไอโซเลท A027 เพิ่มอัตราการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ได้มากที่สุดเป็นไปได้ว่าไอโซเลท A038 และ A027 สามารถสร้างสารหรือมีกลไกลที่มีผลต่อการฟักและการตายของตัวอ่อนในห้องปฏิบัติการแต่ประสิทธิภาพดังกล่าวจะลดลงเมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมในดิน (Ruanpanun *et al*., 2011) อย่างไรก็ดีในอนาคตต่อไปจะได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพของเชื้อไอโซเลทดังกล่าวเมื่อใส่ลงไปในดินหรือศึกษากลไกอื่นอาทิการสร้างสารทุติยภูมิหรือเอนไซม์ที่มีผลยับยั้งไส้เดือนฝอยเพื่อนำไปเป็นต้นแบบในการสังเคราะห์สารสำหรับใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยต่อไป นอกจากนี้เมื่อประเมินผลของแอกติโนไมซีทส์ต่อการเจริญเติบโตของต้นพริกจากความสูงของลำต้น ความยาวราก น้ำหนักรากและน้ำหนักสด พบว่าแอกติโนไมซีทส์ที่สามารถยับยั้งไส้เดือนฝอยรากปมในห้องปฏิบัติการทั้ง 11 ไอโซเลทไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของต้นพริกเมื่อเทียบกับชุดควบคุมต้นพริกปกติ (control 1) (ตารางที่ 2) ในขั้นต้นนี้มีความเป็นไปได้ว่าแอกติโนไมซีทส์ไอโซเลท A032 สามารถพัฒนาต่อยอด เป็นชีวภัณฑ์สำหรับการป้องกันและควบคุมโรครากปม พริกซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศไทยได้ และควรมีการศึกษาการนำไปใช้เพิ่มเติมอาทิ ผลของแอกติโนไมซีทส์ดังกล่าวต่อสิ่งมีชีวิตที่เป็นประโยชน์อื่นในดิน การอยู่รอดหรือประสิทธิภาพของเชื้อแอกติโนไมซีทส์เมื่อนำไปใช้ในสภาพแปลงจริง ระยะเวลาในการใส่แอกติโนไมซีทส์ ปริมาณสปอร์ของเชื้อที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพการควบคุมโรค รวมถึงกลไกการเข้าทำลายไส้เดือนฝอยทั้งนี้เพื่อเป็นประโยชน์สูงสุดในการนำไปประยุกต์ใช้ต่อไป

สรุป

แอกติโนไมซีทส์ไอโซเลท A038 ที่แยกได้จากลำไส้ผึ้งมิ้มดำมีประสิทธิภาพในการลดอัตราการฟักของไข่ การเพิ่มอัตราการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 และลดอัตราการฟักของกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ได้ดีที่สุดในการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการ และ ไอโซเลท A032 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากปมของพริกมากที่สุด โดยสามารถลดจำนวนตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในดิน และลดการเกิดปม แอกติโนไมซีทส์ไอโซเลทดังกล่าวควรได้รับการพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์เพื่อการควบคุมโรครากปมของพริกในอนาคตต่อไป

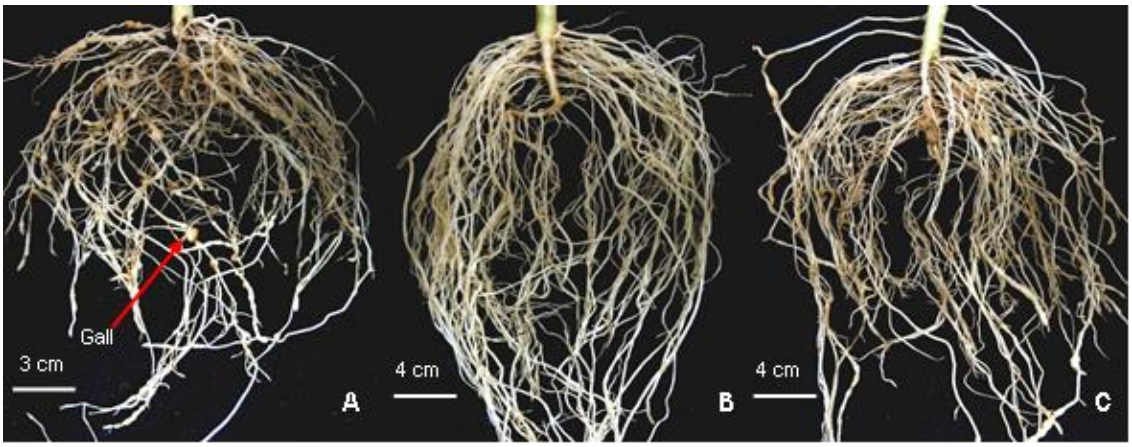

Figure 2. Galling root of chili caused by *Meloidogyne incognita* : control group with nematode (A), control group without nematode (B), Adding spore actinomycetes isolate A032 and J2s at the same time (C)

Table 2. Effect of actinomycetes to control root knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on chili in the greenhouse at 45 days after inoculation (DAI) of nematode

Isolates	No. of egg masses / plant[1]	No. of J2 / 20 g soil[1]	Galling index[a]	Control efficacy[b]	Plant length (cm)[1]		Fresh weight (g)[1]		Dry weight (g)[1]
					Shoot	Root	Shoot	Root	Shoot
A010	18.00 ± 4.85 abc	20.50 ± 4.63 abc	54.16	43.48	26.93 ± 4.29 abcd	23.11 ± 5.48 a	2.63 ± 0.71 abc	1.74 ± 0.42 bcd	0.38 ± 0.08 abc
A013	26.66 ± 6.68 d	29.66 ± 6.94 de	75.00	21.74	29.20 ± 1.89 ab	18.01 ± 2.84 a	2.68 ± 0.31 abc	1.59 ± 0.26 cde	0.32 ± 0.04 cd
A020	22.83 ± 10.54 bcd	25.33 ± 8.81 bcde	70.83	26.09	24.60 ± 3.18 cd	21.65 ± 4.13 a	2.16 ± 0.50 bcd	1.37 ± 0.21 def	0.26 ± 0.05 de
A027	22.66 ± 9.72 bcd	25.50 ± 9.36 cde	70.83	26.09	28.46 ± 4.08 ab	18.66 ± 2.28 a	3.00 ± 0.51 a	2.10 ± 0.34 ab	0.46 ± 0.12 a
A029	29.83 ± 6.82 d	33.16 ± 7.22 e	83.33	13.04	26.08 ± 3.04 abcd	20.21 ± 3.22 a	2.74 ± 0.54 abc	2.35 ± 0.35 a	0.44 ± 0.06 ab
A031	27.83 ± 5.23 d	31.00 ± 5.76 e	79.16	17.40	24.78 ± 2.84 cd	20.50 ± 6.97 a	2.30 ± 0.52 abcd	1.58 ±0.32 cde	0.31 ± 0.05 cd
A032	9.83 ± 3.25 a	14.50 ± 1.87 a	45.83	52.18	29.03 ± 2.96 ab	21.41 ± 7.32 a	2.97 ± 0.64 a	2.15 ± 0.38 ab	0.45 ± 0.08 ab
A033	13.00 ± 5.17 a	16.16 ± 4.44 ab	50	47.82	28.16 ± 2.04 abc	21.96 ± 4.71 a	2.22 ± 0.73 ab	1.86 ± 0.49 bc	0.44 ± 0.07 ab
A034	14.33 ± 6.91 ab	20.66 ± 5.20 abcd	50	47.82	23.26 ± 1.18 d	17.91 ± 3.46 a	1.65 ± 0.59 d	1.08 ±0.17 f	0.22 ± 0.04 e
A038	16.83 ± 6.94 ab	19.50 ± 7.23 abc	70.83	26.09	25.56 ± 2.21 ab	22.56 ± 3.65 a	2.29 ± 0.53 cd	1.26 ± 0.30 ef	0.30 ± 0.08 cde
A039	25.50 ± 7.03 cd	30.16 ± 7.73 e	83.30	13.07	26.78 ± 2.53 abcd	18.68 ± 4.77 a	2.93 ± 0.81 abcd	2.04 ± 0.18 ab	0.43 ± 0.07 ab
Control1	-	-	-	-	29.30 ± 3.26 a	21.63 ± 5.58 a	2.74 ± 0.60 abc	2.13 ± 0.27 ab	0.42 ± 0.06 ab
Control2	27.33 ± 9.00 d	44.83 ± 5.70 f	95.83	0	27.20 ± 3.20 abc	18.81 ± 3.46 a	2.74 ±0.40 abc	2.06 ± 0.35 ab	0.35 ± 0.05 bcd

[1] Values with the same letter are not significantly different ($P < 0.05$) according to Duncan's test

[a] Roots were scored for degree of galling: 1 ≤ 25 %, 2 = 25–50 %, 3 = 51–75 % and 4 ≥ 75 % of total root system. Galling index = [(number of plants in class 1 × 1) + (number of plants in class 2 × 2) + (number of plants in class 3 × 3) + (number of plants in class 4 × 4)] ×100/(number of plants × 4)

[b] Control efficacy = (galling index of control—galling index of isolate) × 100/galling index of control. The results were calculated from five replicates (Ruanpanun and Chamswarng, 2016)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่สนับสนุนห้องปฏิบัติการเครื่องมือการทดลองและโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

เอกสารอ้างอิง

กมล เลิศรัตน์. 2555. การผลิต การปลูก การแปรรูป และการตลาดของพริกและผลิตภัณฑ์พริกในประเทศไทย. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www.trf.or.th/index.php?option=com_content&view=article&id=186 (1 สิงหาคม 2560).

จำเนียร ชมพู อมรศรี ขุนอินทร์ อภิรัฐ บัณฑิต และ ทศพล พรพรหม. 2561. ผลของอัลลีโลพาทีในวัชพืชที่ปลูกร่วมกับมะเขือเทศต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne* spp.). วารสารเกษตร 34(1): 55-56.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2550. การควบคุมโรครากปมในพริก. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด วราภรณ์ ประกอบ และ สิริกุล วะสี. 2552. การคัดเลือกและประเมินพันธุ์พริกต้านทานไส้เดือนฝอยรากปม. หน้า 331-341. *ใน*: รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 9. วันที่ 24-26 พฤศจิกายน 2552. โรงแรมสุนีย์แกรนด์ จ. อุบลราชธานี.

รัติกาล ยุทธศิลป์ เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล และ อนันต์ หิรัญสาลี. 2554. ศักยภาพของเชื้อ *Streptomyces*-PR87 ปฏิปักษ์ และวิธีการใช้สำหรับควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) ในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลอง. แก่นเกษตร 41(1) พิเศษ: 213-219.

อภิรัฐ บัณฑิต และ ทศพล พรพรหม. 2560. การประเมินคุณลักษณะทางอัลลีโลพาธีจากหญ้าโขย่งต่อการยับยั้งการเติบโตของวัชพืชในสภาพแปลง. วารสารเกษตร 33(2): 193-202.

Bird, A.F. and J. Bird. 2012. The Structure of Nematodes. 2nd ed. Academic Press, San Diego. 317 p.

Dong, L.Q. and K.Q. Zhang. 2006. Microbial control of plant-parasitic nematodes: a five party interaction. Plant and Soil 288(1-2): 31-45.

Eisenback, J.D., H. Hirschmann, J.N. Sasser and A.C. Triantaphyllou. 1981. A guide to the four most common species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.), with a pictorial key. North Carolina State University, Releigh, North Carolina. 48 p.

Faske, T.R. and J.L. Starr. 2006. Cotton root protection from plant-parasitic nematodes by abamectin-treated seed. Journal of Nematology 39(1): 27-30.

Inglis, G.D., S. Lynne and M. S. Goette. 1993. Aerobic microorganisms associated with alfalfa leafcutter bees *Megachile rotundata*. Microbial Ecology Journal 26: 125-143.

Mercer, C.F., D.R. Greenwood and J.L. Grant. 1992. Effect of plant and microbial chitinases on the eggs and juveniles of *Meloidogyne hapla* Chitwood. Nematologica 38: 227-236.

Na, J., H. Xue, W.J. Li, X.Y. Wang, Q. Liu, S.S. Liu, J.J. Zhao and H. Jian. 2017. Field evaluation of *Streptomyces rubrogriseus* HDZ-9-47 for biocontrolof *Meloidogyne incognita* on tomato. Journal of Integrative Agriculture 16(6): 1347-1357.

Nimnoi, P., N. Pongsilp and P. Ruanpanun. 2017. Monitoring the efficiency of *Streptomyces galilaeus* strain KPS C004 against root knot disease and the promotion of plant growth in the plant-parasitic nematode infested soils. Biological Control 114: 158-166.

Palmieri, G., C. Bianco, G. Cennamo, P. Giardina, G. Marino, M. Monti and G.I. Sannia. 2001. Purification, characterization, and functional role of a novel extracellular protease from *Pleurotus ostreatus*. Applied and Environmental Microbiology 6: 2754-2759.

Promnuan, Y., T. Kudo and P. Chantawannakul. 2009. Actinomycetes isolated from beehives in Thailand. World Journal of Microbiology and Biotechnology 25: 1685-1689.

Ruanpanun, P. and C. Chamswarng. 2016. Potential of actinomycetes isolated from earthworm casting in controlling root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Journal of General Plant Pathology 82: 43-50.

Ruanpanun, P., H. Laatsch, N. Tangchitsomkid and S. Lumyoug. 2011. Nematicidal activity of fervenulin isolated from a nematicidal actinomycete, *Streptomyces* sp. CMU-MH021, on *Meloidogyne incognita*. World Journal of Microbiology and Biotechnology 27: 1373-1380.

Ruanpanun, P., N. Tangchitsomkid, K.D. Hyde and S. Lumyong. 2010. Actinomycetes and fungi isolated from plant-parasitic nematode infested soils: screening of the effective biocontrol potential, indole-3 -acetic acid and siderophore production. World Journal of Microbiology and Biotechnology 26: 1569-1578.

Sun, M.H., L. Gao, Y.X. Shi, B.J. Li and X.Z. Liu. 2006. Fungi and actinomycetes associated with *Meloidogyne* spp. eggs and females in China and their biocontrol potential. Journal of Invertebrate Pathology 93: 22-28.

Tarkka, M.T. and R. Hampp. 2008. Secondary metabolites of soil *Streptomycetes* in biotic interactions. pp. 107-126. *In*: P. Karlovsky (ed.). Secondary Metabolites in Soil Ecology. Springer, Berlin.

Tarkka, M.T., N.A. Lehr, R. Hampp and S.D. Schrey. 2008. Plant behavior upon contact with *Streptomycetes*. Plant Signaling & Behavior 3: 917-919.