



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)

ปริญญา

โรคพืช

สาขา

โรคพืช

ภาควิชา

เรื่อง ชีววิทยาไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica* ในมะเขือเทศ และการควบคุม
โดยชีววิธีด้วยเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี (*Pleurotus ostreatus*)

Biology of Root - Knot Nematode, *Meloidogyne javanica*, in Tomato and
Biological Control by Antagonistic Hungarian Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*)

นามผู้วิจัย นางสาวเกศิณี ศรีไพร

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์สมชาย สุระกุล, วท.ม.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์จิระเดช แจ่มสว่าง, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัชนิ์ สงประยูร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

สืบศิริ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ชีววิทยาไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica* ในมะเขือเทศ และการควบคุมโดยชีววิธี
ด้วยเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี (*Pleurotus ostreatus*)

Biology of Root - Knot Nematode, *Meloidogyne javanica*, in Tomato and Biological Control
by Antagonistic Hungarian Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*)

โดย

นางสาวเกศินี ศรีไพโร

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)

พ.ศ. 2555

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เกษศิณี ศรีไพร 2555: ชีวิตวิทยาไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica* ในมะเขือเทศ และการควบคุมโดยชีววิธีด้วยเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี (*Pleurotus ostreatus*)
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช) สาขาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์สมชาย สุขะกุล, วท.ม. 55 หน้า

ชีพจักรของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne javanica* ในมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4 พบว่าตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยเริ่มเข้าสู่รากมะเขือเทศบริเวณ zone of cell elongation ที่ 6 ชั่วโมงหลัง inoculate ฟังส่วนหัวบริเวณ vascular tissue ส่วนลำตัวอยู่ในเนื้อเยื่อชั้น cortex ขนานกับความยาวราก คูณกินอาหารเจริญเติบโตด้วยการลอกคราบอีก 3 ครั้ง จนกลายเป็นตัวเต็มวัยซึ่งส่วนใหญ่เป็นเพศเมียฝังตัวอยู่ในปมราก และเริ่มสร้างไข่ใน gelatinous matrix หลังจาก inoculate เป็นเวลา 26 วัน โดยจะพบตัวอ่อนภายในไข่ในวันที่ 38 หลังจาก inoculate ไส้เดือนฝอย *M. javanica* ใช้เวลาหนึ่งชีพจักรในมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4 รวมทั้งสิ้นเท่ากับ 38 วัน

ความสามารถในการก่อโรคของไส้เดือนฝอย *M. javanica* และ *M. incognita* ในมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4 พบว่าเมื่อ inoculate ไส้เดือนฝอยทั้งสองชนิดร่วมกันทำให้เกิดรากปมในมะเขือเทศมากที่สุดเฉลี่ย 274.29 ปมต่อต้น รองลงมาคือกรรมวิธีที่ inoculate ไส้เดือนฝอย *M. incognita* ทำให้เกิดรากปมเฉลี่ย 260.86 ปมต่อต้น และไส้เดือนฝอย *M. javanica* ทำให้เกิดรากปมน้อยที่สุดเฉลี่ย 187.86 ปมต่อต้น

เชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *Pleurotus ostreatus* ไอโซเลต Po3 ซึ่งเจริญบน water agar สามารถลดการฟักของกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอย *M. javanica* ได้อย่างมีนัยสำคัญ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการฟักสูงสุดเท่ากับ 53.93 ที่ 24 ชั่วโมงหลังวางกลุ่มไข่บริเวณขอบโคโลนีของเชื้อราปฏิปักษ์

สารกรองของเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *P. ostreatus* ไอโซเลต Po3 ที่ได้จากการแช่ก้อนเชื้อราปฏิปักษ์ในน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้ออัตรา 1 : 2 w/v เป็นเวลา 3 วัน พบว่าสามารถลดการฟักของกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอย *M. javanica* ได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อฟักกลุ่มไข่ไว้ในสารกรองเป็นเวลา 3 วัน โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการฟักสูงสุดเท่ากับ 97.74 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นของสารกรองเท่ากับ 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์

ก้อนเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *P. ostreatus* ไอโซเลต Po3 ผสมกับดินอบฆ่าเชื้อในอัตรา 15 เปอร์เซ็นต์ และ 30 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสามารถควบคุมโรครากปมที่เกิดจากไส้เดือนฝอย *M. javanica* หรือ *M. incognita* โดยลดการเกิดรากปมในมะเขือเทศได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมซึ่งไม่ใส่เชื้อราปฏิปักษ์ เชื้อราปฏิปักษ์มีประสิทธิภาพยับยั้งการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 47 -71 เปอร์เซ็นต์

ลายมือชื่อนิติ

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Keadsinee Sripai 2012: Biology of Root - Knot Nematode, *Meloidogyne javanica*, in Tomato and Biological Control by Antagonistic Hungarian Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*)
Master of Science (Plant Pathology), Major Field: Plant Pathology, Department of Plant Pathology.
Thesis Advisor: Associate Professor Somchai Sukhakul, M.S. 55 pages.

Life cycle of root – knot nematode *Meloidogyne javanica* in tomato cv. Sidatip 4 revealed that the second – stage juveniles began to penetrate tomato root around the zone of cell elongation after inoculation for 6 hours and infected their head in the vascular tissue while the rest of their body were in the cortex parallel with the longitudinal axis of the root. The second – stage juvenile molted for three times until they became the adult. Most of them were female embedded in root gall. Female laid their eggs in gelatinous matrix at 26 days after inoculation and juveniles were observed in the eggs at 38 days after inoculation. Therefore, *M. javanica* spent 38 days to complete its life cycle in tomato cv. Sidatip 4 at KU. KPS. greenhouse, Nakhon Pathom province.

Pathogenicity of *M. javanica* and *M. incognita* on tomato cv. Sidatip 4 revealed that the highest root gall number, 274.29 galls per plant showed in the treatment of mixed species (*M. javanica* + *M. incognita*). Treatment of *M. incognita* alone and *M. javanica* alone showed the root gall number 260.86 galls and 187.86 galls per plant respectively.

Egg mass hatching of *M. javanica* were inhibited in the culture of antagonistic Hungarian oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus* isolate Po3, on water agar. The highest percentage of hatching inhibition was 53.93 at 24 hours after the egg mass were put on the edge of *P. ostreatus* culture.

The filtrate from soaking spent mushroom of Po3 in distilled water (1 : 2 w/ v) for three days significantly reduced egg mass hatching after submerged egg mass in filtrate for three days. The highest percentage of hatching inhibition was 97.74 in 50 and 100% concentrations of filtrate.

Using spent mushroom of antagonistic Hungarian oyster mushroom, *P. ostreatus* isolate Po3, for controlling root gall disease of tomato cv. Sidatip 4 by mixing spent mushroom with sterilized soil at the rates of 15 and 30% by weight significantly reduced root gall numbers caused by *M. javanica* and *M. incognita*. The percentages of disease suppression were between 47 – 71 when compared with the control treatment.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์สมชาย สุขะภูล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
ที่ให้คำแนะนำในการทำงานวิจัย การทำงาน ให้คำปรึกษาด้านงานวิจัย ให้การศึกษาด้านไส้เดือน
ฝอยรวมทั้งด้านอื่นๆ และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.จิระเดช แจ่มสว่าง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
รอง ที่ให้การศึกษาด้านการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีรวมทั้งด้านอื่นๆ ให้คำปรึกษาในการทำงาน
วิจัย และการนำความรู้ไปใช้ในการทำงานด้านการส่งเสริมการเกษตร รวมทั้งช่วยตรวจแก้ไข
วิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชลิดา
เล็กสมบูรณ์ ประธานกรรมการการสอบวิทยานิพนธ์ และ ดร. ปาริชาติ เบิร์นส ผู้แทนบัณฑิต
วิทยาลัย ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำในการศึกษาวิจัย ตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนวิทยานิพนธ์
เล่มนี้สำเร็จด้วยดี

ขอขอบพระคุณ อาจารย์อมรศรี ขุนอินทร์ ที่ให้คำปรึกษาในการวิจัยที่ดี เป็นแบบอย่าง
ที่ดีในการทำงาน คอยช่วยเหลือ รวมทั้งให้คำปรึกษาด้านการดำเนินชีวิตที่ดี นางสาวพรวิภา
โสภณพัฒนะโกศา ที่ให้ความช่วยเหลือทางด้านกำลังใจ คำแนะนำต่างๆ ที่เป็นประโยชน์
อย่างยิ่ง นางสาววัชรรา สุวรรณอาสน์, นางสาวอรพิน ทองอร่าม และ นางสาวธิดาวรรณ ชมเดช ที่
คอยช่วยเหลือ เป็นกำลังใจ กำลังกายเป็นมิตรที่ดีมาโดยตลอด นางสาวฤดีรัตน์ บุญสนิท ที่เป็น
กำลังใจและเอื้อเฟื้อที่พักที่อบอุ่น นายสารัมภ์ คำเมฆ, นายเทพพนม แสงเพลิง ที่คอยช่วยเหลือและ
เป็นมิตรที่ดีมาโดยตลอดรวมทั้งเพื่อนร่วมรุ่นนิสิตปริญญาโท และน้องๆ ที่ห้องปฏิบัติการ
ไส้เดือนฝอยทุกคน

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อคุณแม่ ที่ให้กำลังใจ ทุนในการศึกษา เลี้ยงดูให้คำปรึกษาและ
เอาใจใส่ดูแลมาตลอด ขอขอบคุณน้องสาวที่ให้กำลังใจและข้อคิดในการทำงานที่ดี

เกษิณี ศรีไพร

พฤษภาคม 2555

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
ตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	14
อุปกรณ์	14
วิธีการ	15
ผลและวิจารณ์	23
ผล	23
วิจารณ์	39
สรุปและข้อเสนอแนะ	42
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	44
ภาคผนวก	53
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	55

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงผลการศึกษาชีวิตจักรของไส้เดือนฝอย <i>Meloidogyne javanica</i> ในมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4	27
2	แสดงผลการทดสอบการก่อโรคของไส้เดือนฝอย <i>Meloidogyne incognita</i> และ <i>Meloidogyne javanica</i> ต่อมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4	30
3	แสดงประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี <i>Pleurotus ostreatus</i> ไอโซเลต Po3 ต่อการฟักของกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอย <i>Meloidogyne javanica</i>	32
4	แสดงผลการฟักกลุ่มไข่ที่ถูก infect โดยเส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี <i>Pleurotus ostreatus</i> ไอโซเลต Po3 ในน้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อเป็นเวลา 3 วัน	33
5	แสดงผลของสารกรองจากก้อนเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี <i>Pleurotus ostreatus</i> ไอโซเลต Po3 ต่อการฟักของกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอย <i>Meloidogyne javanica</i>	34
6	แสดงผลของเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี <i>Pleurotus ostreatus</i> ไอโซเลต Po3 ในการควบคุมโรครากปมในมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4	36

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงลักษณะของ perineal pattern ของไส้เดือนฝอย <i>Meloidogyne javanica</i>	24
2	แสดงไส้เดือนฝอยรากปม <i>Meloidogyne javanica</i> จากรากมะเขือเทศ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน	25
3	แสดงวงจรชีวิตของไส้เดือนฝอยรากปม <i>Meloidogyne javanica</i> ในรากมะเขือเทศ พันธุ์สีดาทิพย์ 4	28
4	แสดงระบบรากมะเขือเทศที่ถูกเข้าทำลายโดยไส้เดือนฝอย <i>Meloidogyne javanica</i>	31
5	กลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอย <i>Meloidogyne javanica</i> ที่ถูก infect โดยเชื้อ <i>Pleurotus ostreatus</i>	33
6	แผนภูมิแสดงผลของการใส่เชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี <i>Pleurotus ostreatus</i> 15% หรือ 30% และ ใส่ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปม <i>Meloidogyne incognita</i> หรือ <i>Meloidogyne javanica</i> 100 ตัว	37
7	แผนภูมิแสดงผลการใส่เชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี <i>Pleurotus ostreatus</i> 15% หรือ 30% และ ใส่ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปม <i>Meloidogyne incognita</i> หรือ <i>Meloidogyne javanica</i> 500 ตัว	37
8	แสดงผลของ <i>Pleurotus ostreatus</i> ไอโซเลต Po3 ต่อการเกิดโรครากปมของ มะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4	38

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่

หน้า

- 1 ตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne javanica* ซึ่งฟักออกจากไข่ ถูก
เส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *Pleurotus ostreatus* ไอโซเลต
Po3 เข้าทำลาย (กำลังขยาย 400x) 54
- 2 Fruiting body ของเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *Pleurotus ostreatus*
ไอโซเลต Po3 ในกระถางทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากปม 54

ชีววิทยาไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica* ในมะเขือเทศ และการควบคุม
โดยชีววิธีด้วยเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี (*Pleurotus ostreatus*)

Biology of Root - Knot Nematode, *Meloidogyne javanica*, in Tomato and
Biological Control by Antagonistic Hungarian Oyster Mushroom
(*Pleurotus ostreatus*)

คำนำ

ไส้เดือนฝอยรากปม (root-knot nematode) เป็นไส้เดือนฝอยที่สำคัญที่สุดในบรรดาไส้เดือนฝอยศัตรูพืชเขตร้อน เนื่องจากเป็นไส้เดือนฝอยที่มีพืชอาศัยมากกว่า 2,500 ชนิด (polyphagous) มีโครโมโซมได้หลายชุด (polyploidy) ส่วนใหญ่มีการสืบพันธุ์แบบ parthenogenesis คือไม่ต้องได้รับการผสมจากเชื้อตัวผู้ก็สามารถเจริญเป็นตัวอ่อนได้ และตัวเมีย 1 ตัว สามารถออกไข่ได้ 300 - 1,000 ฟอง ใน 1 ชั่วโมง Taylor and Sasser (1978) ได้คำนวณไว้ว่า ถ้าตัวเมีย 1 ตัว วางไข่ได้ 500 ฟอง และไข่สามารถฟักเป็นตัวอ่อนเข้าทำลายพืชได้เพียง 5 % ภายใน 1 ฤดูปลูก (4 เดือน) ก็สามารถเพิ่มจำนวนได้ 4 ชั่วโมง คิดเป็นจำนวนถึง 390,625 ตัว โรครากปมจึงเป็นโรคที่ทำความเสียหายให้แก่พืชเศรษฐกิจได้มากโรคหนึ่ง ซึ่งพบทั่วไปในแหล่งที่มีการปลูกพืชทั่วโลก (ยุพาภรณ์, 2529)

มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill.) เป็นพืชซึ่งมีไส้เดือนฝอยศัตรูพืชหลายชนิดคอยรบกวน และทำให้เกิดความเสียหายอยู่เสมอ โดยพบว่าเป็นความเสียหายที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปมอย่างน้อยที่สุด 4% ซึ่งมีรายงานอยู่ 7 ชนิดที่รายงานว่าเข้าทำลายมะเขือเทศ ได้แก่ *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. acrita*, *M. acronema* และ *M. thamesi* และมีเพียง 3 ชนิดเท่านั้นที่พบว่าเข้าทำลายมะเขือเทศในเขตร้อนมากที่สุด คือ *M. incognita*, *M. arenaria* และ *M. javanica* สำหรับไส้เดือนฝอยรากปมของมะเขือเทศเท่าที่พบในประเทศไทยส่วนใหญ่เกิดจาก *M. incognita* และ *M. javanica* (สืบศักดิ์, 2524)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีในประเทศไทยนับวันจะได้รับความสนใจจากนักวิจัย นักวิชาการของสถาบันการศึกษาต่างๆ เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เพื่อตอบสนอง

ความต้องการของเกษตรกรที่ต้องการหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีสำหรับการผลิตพืชในระบบการเกษตรที่ดีที่เหมาะสม (GAP) (จิระเดช, 2549) งานวิจัยในประเทศไทยด้านการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne* spp.) โดยชีวีวิธี อมรศรี และ คณะ (2548) ทดลองพบว่าเชื้อเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) และเชื้อเห็ดหอม (*Lentinus edodes*) โดยใส่เชื้อเห็ดพร้อมกับตัวอ่อนสามารถลดการเกิดโรครากปมของฝรั่งที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ได้ผลดีมาก คือการใส่ *P. ostreatus* 10 และ 40 กรัมต่อกระถาง 6 นิ้ว มีปริมาณการเกิดปม 8.80 และ 0.40 ปม ขณะที่ control ไม่ใส่เชื้อเห็ด เกิดปม 52.40 ปม การใส่ *L. edodes* 10 และ 40 กรัมมีการเกิดปม 7.40 และ 0.80 ปม ขณะที่ control เกิดปม 51.0 ปมหรือสามารถลดการเกิดโรครากปมของฝรั่งได้มากกว่า 80% จากการศึกษาการกำจัดไส้เดือนฝอยพบว่าเชื้อเห็ดสามารถสร้างสารพิษปล่อยออกมาทำให้ตัวอ่อนเกิดการเน่าเสียแล้วเป็นอัมพาตจากนั้นเชื้อเห็ดจะสร้างเส้นใยแทงทะลุผนังลำตัวไส้เดือนฝอยหรือแทงเข้าทางปากแล้วดูดกินสารอาหารภายในตัวอ่อนทำให้ตายในที่สุด เช่นเดียวกับที่กล่าวไว้โดย Thorn and Barron (1984) *P. ostreatus* สามารถสร้าง nematotoxin ที่เรียกว่า ostreatin ทำให้ตัวอ่อนเป็นอัมพาต Thorn (2000) กล่าวว่าเส้นใยเชื้อเห็ดสร้าง ostreatin บนระยางค์ (appendage) ของเส้นใยมองเห็นคล้ายหยดน้ำเล็กๆ เกาะอยู่ตามระยางค์ (สมชาย, 2549) ดังนั้นจากงานวิจัยดังกล่าวมาข้างต้น ถือว่าเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาศึกษาต่อเพื่อหาแนวทางที่จะนำไปใช้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมซึ่งกำลังเป็นปัญหาสำคัญทั้งในมะเขือเทศ พืชในตระกูล Solanaceae และ พืชเศรษฐกิจอื่นๆอีกมากมาย เพื่อเป็นการลดการใช้สารเคมีที่เป็นพิษต่อคน สัตว์ และสิ่งแวดล้อม และเป็นการลดต้นทุนการผลิตที่เกิดจากค่าใช้จ่ายของสารเคมีป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยที่มีราคาสูง

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาชีวจักรและการก่อโรคในมะเขือเทศของไส้เดือนฝอยรากปม

Meloidogyne javanica

2. เพื่อศึกษาความสามารถของเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *Pleurotus ostreatus* ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* และ *M. javanica* ซึ่งเป็นสาเหตุโรครากปมของมะเขือเทศ



ตรวจเอกสาร

ไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne* spp.) เป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังมีระบบอวัยวะต่างๆ ในร่างกายไม่ครบทุกระบบ มีลำตัวที่ไม่เป็นปล้อง (non segmented) ผنังชั้นนอกเป็นรอยย่นคล้าย ปล้องแต่เกิดเฉพาะผิวด้านนอกเท่านั้น ผิวชั้นนอกประกอบด้วยแผ่นโปรตีนใส โปร่งแสงไม่ แบ่งเป็นเซลล์คลุมทั่วลำตัว ทำหน้าที่เป็นโครงร่างยึดหดได้ ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชมีขนาดเล็กจนมอง ไม่เห็นได้ด้วยตาเปล่า ความยาวเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.2 - 2.0 มิลลิเมตร (หรือ 200 - 2,000 ไมครอน) และมีลักษณะประจำคือ sexual dimorphism หรือตัวเมียมีขนาดใหญ่กว่าตัวผู้ ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชมี ระบบต่างๆ ในร่างกายคล้ายสัตว์ชั้นสูง คือมีระบบทางเดินอาหาร ระบบกล้ามเนื้อ ระบบประสาท ระบบขับถ่าย และระบบสืบพันธุ์ แต่ยังไม่มียางานเกี่ยวกับรูปร่างหน้าที่ของระบบหายใจและระบบ หมุนเวียนโลหิต นอกจากการคาดคะเนของนักวิทยาศาสตร์หรือผู้ที่สนใจเท่านั้น (สืบทัด, 2541)

ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica*

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ตัวเมียและตัวผู้ของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* spp. มีรูปร่างต่างกันมาก ตัวเมียมักฝังตัวเองอยู่ใน ระบบราก มีรูปร่างอ้วนกลม เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 - 0.7 มิลลิเมตร วางไข่ไว้ในถุงที่ทำด้วย gelatin นอกลำตัว (สืบทัด, 2541) ลักษณะของรอยย่นส่วนก้นหรือ perineal patterns ของ *Meloidogyne javanica* มีลักษณะของ striae ก่อนเรียบมนและมีเส้นตัดด้านข้างลำตัว (lateral lines) ที่เห็นได้ชัดเจน ซึ่งเส้นนี้แบ่งแยกเส้นบริเวณเส้นด้านหลัง (dorsal arch) และเส้นด้านท้อง (ventral arch) ของ perineal patterns ลักษณะหัวของ *M. javanica* ตัวเมีย labial disc และ medial lip เป็นรูป dumbbell shaped ด้านข้างของปากจะใหญ่และยาว ตัวผู้มีรูปร่างทรงกระบอกยาว 1.5 มม. ส่วนหัว ของ *M. javanica* labial disc และ medial lip จะเชื่อมกัน ส่วน cap สูงและกว้างเกือบเท่าส่วนหัว stylet cone ของ *M. javanica* ตัวผู้ จะมีส่วนหน้าแคบและส่วนหลังแคบ ก้านเป็นรูปทรงกระบอก และแคบลงเมื่อเข้าสู่จุดที่เชื่อมต่อกับ stylet knob stylet knob จะกว้างและอยู่ต่ำกว่าจากส่วนของก้าน ลักษณะหัวของตัวอ่อนระยะที่สองของ *M. javanica* มี labial disc และ medial lip เป็นรูปหูกระต่าย (bow-tie) ด้านข้างของปากจะเป็นรูปสามเหลี่ยม ขนาดลำตัวของ ตัวอ่อนระยะที่สอง มีความยาว ลำตัวทั้งหมด 402 - 560 (488) ไมโครเมตร ความยาวของหาง 51 - 63 (56) ไมโครเมตร

ส่วนหัวถึงฐาน stylet ยาว 14 - 16 (15) ไมโครเมตร stylet ของตัวเมียยาว 14 - 18 (16) ไมโครเมตร stylet ของตัวผู้ยาว 18 - 22 (20) ไมโครเมตร (Eisenback *et al.*, 1981)

อนุกรมวิธานของไส้เดือนฝอยรากปม

Phylum Nemata

Class Secernentea

Order Tylenchida

Family Meloidogynidae

Genus Meloidogyne

ชีววิทยา

วงจรชีวิตของ *M. javanica* จะยาวหรือสั้นขึ้นขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ และพืชอาศัย

Miline and Plesis (1964) รายงานว่าที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส ไส้เดือนฝอยมีวงจรชีวิตยาวนานถึง 56 วัน ส่วนที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีวงจรชีวิตเพียง 21 วัน ปัจจัยสำคัญอีกอันหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับวงจรชีวิตคือพืชอาศัย Godfrey and Oliveira (1932) รายงานว่าสภาพแวดล้อมเดียวกันนั้น วงจรชีวิตของไส้เดือนฝอยรากปมนี้ในถั่วกินเวลานานเพียง 19 วัน แต่ในสับปะรดนานถึง 35 วัน ในประเทศไทย ยุพารณ์ (2529) ทำการศึกษาวงจรชีวิตของ *M. javanica* ในแตงกวา 2 พันธุ์พบว่าที่อุณหภูมิห้องใช้เวลานาน 21 วัน แต่ที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ไส้เดือนฝอยไม่สามารถครบชีวิตได้แม้เวลาผ่านไปถึง 50 วัน (สืบศักดิ์, 2538)

ตัวเต็มวัยเพศเมีย มี rectal gland ขนาดใหญ่ 6 เซลล์ทำหน้าที่สร้าง gelatinous sac มาห่อหุ้มกลุ่มไข่ การลอกคราบครั้งแรกเกิดภายในไข่ การเจริญของ embryo และการฟักไข่ของ *Meloidogyne javanica* สามารถถูกยับยั้งโดยการใช้ความร้อน อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างไข่ของ *M. javanica* คือที่อุณหภูมิ 32 - 34 องศาเซลเซียส (Thomason and Lear, 1961) การเจริญเติบโตลอกคราบและพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย ตลอดจนการเคลื่อนที่ดำเนินไปอย่างรวดเร็วใน

สภาพที่มีอากาศถ่ายเทสะดวก ได้รับแสงสว่างสลับกับความมืด ที่ pH 6 และอุณหภูมิที่ประมาณ 25 - 30 องศาเซลเซียส (Swarup and Pliiai, 1994; Bird and Wallace, 1965; Bird, 1972) ไล้เดือนฝอย เพศเมียสามารถขยายพันธุ์ได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส (Robert and Van Gundy, 1981) ในสภาพที่ไม่เหมาะสมมีการพัฒนาเป็นเพศผู้เพิ่มขึ้น เช่นที่อุณหภูมิต่ำประมาณ 15 องศาเซลเซียส มีการพัฒนาเป็นเพศผู้สูงถึง 65% แต่ที่อุณหภูมิ 25 - 30 องศาเซลเซียส มีการพัฒนาเป็นเพศผู้เพียง 0.1% (Davide and Triantaphyllou, 1967)

ลักษณะอาการของมะเขือเทศที่เกิดจากการทำลายของไล้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp.

อาการที่เกิดจากไล้เดือนฝอยรากปมต่อมะเขือเทศที่แสดงออกให้เห็นเหนือดินคล้ายกับอาการที่เกิดจากปัญหาของระบบรากและระบบดินโดยทั่วไป คืออาการใบเหลือง เหี่ยว แคระแกร็น ผลผลิตต่ำ อาการชัดเจนสังเกตได้จากอาการปมปมที่เกิดขึ้นกับระบบรากเรียกว่า รากปม (root knot, root gall) โดยที่บางกรณีปมปมเกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก มีขนาดใหญ่เห็นได้ชัด และมี กลุ่มไข่น้ำตาลแดงนูนยื่นออกมาจากปม บางกรณีเห็นแต่ปมปมขนาดใหญ่ ขนาดกลาง หรือขนาดเล็ก โดยไม่เห็นกลุ่มไข่น้ำตาลนูนยื่นออกมาจากปม บางกรณีเป็นปมปมขนาดเล็กและมีรากแตกออกโดยรอบซึ่งอาการเหล่านี้ขึ้นอยู่กับพันธุ์มะเขือเทศ อายุ สภาพแวดล้อม และชนิดของไล้เดือนฝอยรากปม เช่น พันธุ์สีดาทิพย์ และสายพันธุ์ส่วนใหญ่จะอ่อนแอต่อไล้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. โดยระบบรากจะเกิดปมจำนวนมากและมีขนาดใหญ่เห็นได้ชัดเจน

Valdez (1978) รายงานว่ามีไล้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. 7 ชนิดที่เป็นศัตรูมะเขือเทศได้แก่ *M. acrita*, *M. acrona*, *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. thamesi*, *M. incognita* และ *M. javanica* ซึ่งในประเทศไทยพบเพียง 2 ชนิดที่สำคัญต่อมะเขือเทศ ได้แก่ *M. incognita* และ *M. javanica* (สืบศักดิ์, 2524)

โรครากปมของฝรั่งที่เกิดจากไล้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp.

ไล้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne* spp.) เป็นศัตรูพืชสำคัญของฝรั่งในประเทศไทย บราซิล เม็กซิโก และไนจีเรีย ไล้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne* spp.) ที่เข้าทำลายอย่างรุนแรงทำให้ต้นฝรั่งทรุดโทรมอย่างรวดเร็วและตายในที่สุด การเข้าทำลายในระดับปานกลางทำให้เกิดอาการ chlorosis อาการขาดธาตุอาหาร ออกดอกลดลง การสร้างผลลดลง ขนาดของผลลดลง และการเจริญเติบโตลดลง รากที่ถูกเข้าทำลายจะเกิดปมเป็นจำนวนมากและอาจเป็นช่องทาง

เปิดแผลให้เชื้อโรคพืชอื่นๆ ในดินเข้าสู่รากพืชได้ (Babatola and Oyedunmade, 1992) โดยไส้เดือนฝอยสาเหตุโรครากปมของฝรั่งในประเทศไทยได้แก่ *M. incognita* (นิพนธ์, 2542) และ *M. javanica* สถานการณ์ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. ในประเทศต่างๆ พบว่ามีไส้เดือนฝอยรากปม species อื่นนอกเหนือไปจาก *M. incognita* และ *M. javanica* ที่พบเข้าทำลายต้นฝรั่งในประเทศไทย ดังเช่น ประเทศไนจีเรีย ไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne* spp.) นับว่าเป็นศัตรูพืชสำคัญของฝรั่ง ในประเทศจีนพบไส้เดือนฝอยรากปม *M. enterolobii* เข้าทำลายฝรั่ง (*Psidium guajava*) (Xu *et al.*, 2004) ประเทศบราซิลตรวจพบไส้เดือนฝอย *M. enterolobii* ครั้งแรกในสวนฝรั่ง ในปี 2001 ในรัฐ Pernambuco และ Bahia (Carneiro *et al.*, 2001) และแพร่ระบาดอย่างรวดเร็วจนเป็นปัญหาต่อการปลูกฝรั่งในพื้นที่ที่ถูกเข้าทำลายอย่างหนัก (Carneiro *et al.*, 2007; Siqueira *et al.*, 2009) สำหรับประเทศเวียดนามมีรายงานเกี่ยวกับการพบไส้เดือนฝอย *M. enterolobii* เป็นครั้งแรก โดยพบจากฝรั่งที่แสดงอาการรากปม เมื่อตรวจสอบ species ด้วยการทำ perineal pattern และ เทคนิคทางชีวโมเลกุล ก็พบว่าเป็น *M. enterolobii* (Iwahori *et al.*, 2009) นอกจาก *M. enterolobii* ฝรั่งในประเทศบราซิลยังถูกเข้าทำลายโดย *M. mayaguensis* (Rammah and Hirschmann, 1988) ซึ่งเป็น junior synonym ของไส้เดือนฝอย *M. enterolobii* ไส้เดือนฝอย *M. mayaguensis* เป็นไส้เดือนฝอยที่สร้างปัญหาให้กับไม้ผลทั่วโลก พื้นที่ที่ไส้เดือนฝอย *M. mayaguensis* เข้าทำลายคิดประมาณได้ 5000 ha ครอบคลุม 16 รัฐและก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจกับผู้ปลูกฝรั่ง คิดเป็นมูลค่า 66 ล้านดอลลาร์สหรัฐ (Pereira *et al.*, 2009) สำหรับในประเทศบราซิล เมื่อนำต้นกล้าที่ถูกไส้เดือนฝอย *M. mayaguensis* และต้นกล้าที่ปลอดโรคไปปลูกในแปลงที่มีการแพร่ระบาดของไส้เดือนฝอย ชนิดนี้อย่างหนัก พบว่าต้นกล้าฝรั่งจะตายภายใน 1 เดือน แต่สำหรับต้นฝรั่งที่โตเต็มที่จะแสดงอาการรากปมอยู่นานหลายเดือน แต่ยังไม่แสดงอาการในส่วนลำต้นเหนือดิน ซึ่งอาการส่วนลำต้นเหนือดินจะสัมพันธ์กับอาการรากปมที่เพิ่มมากขึ้น (Gomes, 2010)

อาการของฝรั่งที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปมจะพบว่ามีลักษณะอาการต้นโทรม ซึ่งพบลักษณะอาการต้นโทรมของฝรั่งพันธุ์เป็นสีทอง 2 แบบ คือแบบแรกเป็นลักษณะของทรงพุ่มบางมากเนื่องจากใบตั้งแต่คู่ที่ 4 จากยอดลงมามีอาการใบเหลืองอมน้ำตาลทั้งเนื้อใบและเส้นใบมี อาการคล้ายลักษณะเหลืองของใบแก่ที่หมดอายุ มีอาการใบม้วนห่อจากขอบเข้ากลางใบ ใบทยอยร่วงหล่นพร้อมกันเกือบทุกยอด ทำให้เหลือใบสีเขียว 3-5 คู่ในแต่ละยอด ผลมีขนาดเล็กและไม่สมบูรณ์เป็นจำนวนมาก ลักษณะอาการที่กล่าวมานี้เป็นลักษณะต้นโทรมที่เกิดขึ้นกับฝรั่งที่ปลูกในสภาพดินเหนียวมีน้ำล้อมรอบแบบร่องผักในจังหวัดนครปฐมและจังหวัดสมุทรสาคร แบบที่สองเป็นลักษณะต้นโทรม แคระแกร็น เนื้อใบเหลือง โดยเส้นใบเหลืองเล็กน้อยคล้ายอาการขาดธาตุอาหาร (chlorosis) ใบร่วงน้อยแต่แลดูแปลงทรุดโทรมไม่สดใส ติดผลน้อย

ผลเล็กไม่สมบูรณ์อาการในลักษณะนี้มักพบในแปลงฝรั่งที่ปลูกในสภาพดินทรายมีระบบปลูกแบบสภาพไร่ให้น้ำตามร่องพบมากในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ราชบุรี และชลบุรี แปลงฝรั่งหลายหมื่นไร่ทั่วประเทศมีอาการคันโทรมทำให้ฝรั่งอายุสั้นลงมากกว่าครึ่งหนึ่งทุกครั้งที่ปลูกซ้ำลงแปลงเดิม ในที่สุดปลูกฝรั่งไม่ได้ผลต้องล้มแปลงและเปลี่ยนพืช ส่วนลักษณะอาการที่ได้ยินจะพบว่า มีลักษณะปมปมเกิดขึ้นที่ระบบรากเรียกว่า รากปม (root knot, root gall) ลักษณะของปมมีทั้งแบบปมเดี่ยวๆ (knot) ลักษณะค่อนข้างกลมบวมออกโดยรอบจากภายในราก เกิดเป็นจำนวนมาก กระจายตลอดความยาวราก และอีกแบบหนึ่งเป็นปมต่อเนื่องยาวเป็นช่วงๆ (finger-like gall) ผิวขรุขระบวมออกโดยรอบจากภายใน เมื่อหักรากตามขวางตรวจดูให้ละเอียดด้วยตาเปล่าหรือแว่นขยายถ้าหักถูกตำแหน่งจะสามารถมองเห็นตัวเมียเต็มวัยของไส้เดือนฝอย ลักษณะอ้วนกลม สีขาวขุ่น ขนาดเล็กประมาณปลายเข็มหมุด (0.5 มม.) ไม่เคลื่อนที่ พบได้ 1-5 ตัวในแต่ละตำแหน่ง (สมชาย, 2549)

มะละกอ (*Carica papaya* L.) ทับทิม (*Punica aratanum* L.) และมะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill.) พืชเหล่านี้จะถูก *M. incognita* และ *M. javanica* เข้าทำลายอย่างรุนแรงทุกบริเวณ และระดับการเกิดปมอยู่ที่ 4.0 - 5.0 ซึ่ง 5.0 เป็นระดับการเกิดปมสูงสุด นอกจากนี้ยังเข้าทำลายในพืชชนิดอื่นและพืชตระกูลหญ้าในหลายบริเวณ พืชตระกูลหญ้า เช่น *Amaranthus hybridus* L., *Chenopodium murale* L., *Physalis minima* L., *Solanum nigrum* L. และ *Vernonia cinerea* (L.) จะถูกเข้าทำลายอย่างรุนแรงและมีความถี่มากในวัชพืชนิดที่เจริญอยู่ในแปลงเพาะปลูกนอกจากนี้ยังมีการบันทึกพืชอาศัยชนิดใหม่ของ *M. incognita* 4 ชนิด และ *M. javanica* 3 ชนิด (Mani and Hinai, 1996)

ความเสียหาย

ถึงแม้ว่าความเสียหายของมะเขือเทศเนื่องจากไส้เดือนฝอยรากปม โดยรวมเฉลี่ย 4% แต่จากการทดลองของสืบศักดิ์ (2524) รายงานว่าไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* สามารถลดผลผลิตและความสูงของมะเขือเทศพันธุ์ 2029 และระยะออกดอกในฤดูฝนตามลำดับ Baker (1976) พบว่าไส้เดือนฝอยรากปมที่เข้าทำลายมะเขือเทศในแหล่งปลูกชายฝั่งทะเลมีผลผลิตลดลงถึง 85% ขณะที่ปลูกบนที่สูงเสียหาย 20 - 30% (สมชาย, 2549)

เมื่อไส้เดือนฝอยรากปมเข้าทำลายพืชทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระบบน้ำย่อย (enzyme) ภายในดินพืชเช่นปริมาณ peroxidase, poly-phenoloxidase เพิ่มขึ้น แต่ β -glucosidase ลดลง (Schlang and Sikora, 1978) สำหรับมะเขือเทศที่ถูกไส้เดือนฝอย *M. javanica* เข้าทำลายมีการสะสมของ proline สูงสุดในขณะที่ถูกไส้เดือนฝอยนี้กำลังสร้างไข่ (Meon *et al.*, 1978) มะเขือเทศพันธุ์ Person VF 11 ซึ่งปกติต้านทานต่อโรค Fusarium wilt แต่เมื่อถูกไส้เดือนฝอยชนิดนี้เข้าทำลายมักไม่ต้านทานต่อโรค Fusarium wilt อีกต่อไป (Pitcher, 1974) โดยทั่วไปปริมาณประชากรของ *M. javanica* ที่ทำให้พืชแสดงอาการโรคมอดออกมาให้เห็นนั้นมีความแตกต่างในแต่ละพืช เช่น ข้าวสาลีพันธุ์ Giza 155 เมื่อ inoculate ไส้เดือนฝอยลงไป 4,000 ตัวต่อต้น พืชจึงเริ่มแสดงอาการให้เห็น สำหรับพืชตระกูลแตงปริมาณ 500 ตัวต่อต้น (Salem and Eissa, 1981) ในมะเขือเทศถ้ามี 50,000 ตัวต่อต้นที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส ทำให้น้ำหนักลดลง 24% และผลผลิตลดลงถึง 52% ส่วนมะกอกฝรั่งที่ inoculate ไส้เดือนฝอยลงไป 10,000 ตัวต่อต้นทำให้น้ำหนักใบและต้นเล็กลง น้ำหนักพืชลดลง 52% (Lamberti and Baines, 1969) ในถั่วเหลืองที่ inoculate ด้วย *Meloidogyne javanica* จำนวน 2,000 ตัวต่อต้นทำให้น้ำหนักแห้งลดลงมีรากแขนงเพิ่มขึ้น (Ibrahim, 1972) แต่ไส้เดือนฝอย *M. javanica* ในปริมาณน้อยช่วยให้ดินพริกเจริญเติบโตเร็วกว่า

ต้นปกติ (Baker and Olthof, 1976) พืชที่มีผู้รายงานว่าเป็นพืชอาศัยที่สำคัญของไส้เดือนฝอย *M. javanica*. ได้แก่ บวบ กล้วย บร็อคโคลี่ กะหล่ำปลี ผักกวางตุ้ง ผักบุ้ง ถั่วฝักยาว แรดดิช ผักกาดขาว ถั่วลิสง เต้าหู้ มะเขือ กระเทียม เขียวปรี๊รา หม่อน สับปะรด ฟักทอง อ้อย ยาสูบ มะเขือเทศ แตงโม บานชื่น น้อยหน่า ทุเรียน เงาะ ส้มโอ กาแฟ ชา ตะไคร้ ถั่วเหลือง ฝ้าย ลิ้นจี่ ลำไย องุ่น ข้าวโพด ข้าวฟ่าง (สืบศักดิ์, 2538)

การควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* โดยชีววิธี

แบคทีเรีย

จัดเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใหญ่ที่สุดในดิน ประกอบด้วยแบคทีเรียชนิดต่างๆ บางชนิดเป็นประโยชน์ต่อเดือนฝอย บางชนิดก็เป็นโทษหรือทำลายไส้เดือนฝอย Thorne (1927) เป็นคนแรกที่รายงานว่าพบแบคทีเรีย *Duboscqia penetrans* ในดินทำลายตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. ได้ปัจจุบันพบว่าแบคทีเรียนี้คือ *Bacillus* ชนิดหนึ่งซึ่งมีชื่อใหม่ว่า *Pasteuria penetrans* สามารถทำลายไส้เดือนฝอย *M. incognita* และ *M. javanica* ได้อย่างมีประสิทธิภาพจนมีนักวิชาการหลายคนพยายามเลี้ยงขยายพันธุ์เป็นการค้าจำนวนมากแต่ยังไม่ประสบความสำเร็จ นอกจากนี้ Siddiqui et al. (2004) ได้ทำการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการพบว่า สารทุติยภูมิจาก *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO สามารถทำให้ตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* ตายลงได้อย่างมีนัยสำคัญ Stirling (1984) พบว่า เมื่อ inoculate รากมะเขือเทศที่มีตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* อยู่ ด้วย *Bacillus penetrans* จะทำให้จำนวนปมของมะเขือเทศและจำนวนไส้เดือนฝอย *M. javanica* ในดินลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

เห็ดรา

จัดเป็นจุลินทรีย์กลุ่มใหญ่อีกกลุ่มหนึ่ง มีรายงานว่าเชื้อรามากกว่า 100 ชนิด (species) สามารถควบคุมหรือทำลายไส้เดือนฝอยศัตรูพืช (nematophagous fungi) ได้ สกุลที่สำคัญ ได้แก่ *Arthrobotry*, *Dactylella*, *Nematophthora*, *Fusarium*, *Verticilium* และ *Paecilomyces* ปัจจุบันมีผู้พยายามนำเชื้อราเหล่านี้บางชนิดไปใช้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิดต่างๆ โดยชีววิธีได้ผลบ้างแล้ว

Siddiqui and Ehteshamul-Haque (2000) ใช้ ethyl acetate และ hexane สกัด *Verticillium clamydosporium* จากนั้นนำมาทดสอบการควบคุมตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* ทำให้ตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยรากปมตายลงเป็นอย่างมาก *V. clamydosporium* เป็นปรสิตต่อไข่แต่ไม่เป็นปรสิตต่อตัวเมียของไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* และ *V. clamydosporium* ไม่สามารถเจริญเข้าไปภายในเนื้อเยื่อของรากมะเขือเทศได้ ในขณะที่ *Pseudomonas aeruginosa* สามารถเจริญเข้าไปภายในเนื้อเยื่อของรากมะเขือเทศได้ การใช้ *V. clamydosporium* และ *P. aeruginosa* ร่วมกันในการควบคุม ไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* โดยชีววิธี จะให้ผลในการควบคุมและช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชได้ดีกว่าใช้แต่ละเชื้อแบบเดี่ยวๆ

Heydari *et al.* (2006) ทำการทดสอบผลของ *Pleurotus* 5 species ซึ่งประกอบไปด้วย *P. ostreatus*, *P. sajor-caju*, *P. cornucopiae*, *P. florida* และ *P. eryngii* ต่อการทำลายตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* บนอาหาร water agar พบว่าทุก species จะผลิตหยดน้ำเล็กๆ ซึ่งเป็นหยดน้ำที่มีพิษเมื่อไส้เดือนฝอยสัมผัสหยดน้ำนั้นจะเกิดการตอบสนองทันที โดยเชื้อราจะเริ่มสร้างรกราก (colonize) หลังจากเวลาผ่านไป 24 - 48 ชั่วโมง สารกรองจากเส้นใยที่เจริญใน malt extract broth จะมีพิษต่อไส้เดือนฝอย แต่พิษนั้นจะผันแปรในระหว่าง species โดยสารกรองจาก *P. ostreatus* จะมีผลต่อการทำลายตัวอ่อนระยะที่ 2 ของ *M. javanica* สูงที่สุด ส่วนสารกรองจาก *P. eryngii* จะมีผลต่อการทำลายตัวอ่อนระยะที่ 2 ของ *M. javanica* ต่ำที่สุด เมื่อความเข้มข้นของสารพิษเพิ่มขึ้นอัตราการตายของไส้เดือนฝอยก็เพิ่มขึ้น

Khan *et al.* (2004) พบว่า เมื่อนำสาร semi-purified ที่ได้จาก *Paecilomyces lilacinus* มาใช้ทดสอบกับไข่ของ *M. javanica* เพื่อศึกษาผลของ enzyme ต่อโครงสร้างของเปลือกไข่ แสดงให้เห็นว่า protease และ chitinase ทำให้โครงสร้างของเปลือกไข่เปลี่ยนแปลงไปมากเมื่อใช้ enzyme อย่างใดอย่างหนึ่งแบบเดี่ยวๆ หรือใช้ enzyme ทั้งสองร่วมกัน โดยการใช้ protease จะทำให้ lipid layer หายไปและ chitin layer บางลง ส่วน chitinase จะทำให้ vacuoles ใน chitin layer ใหญ่ขึ้น และ vitelline layer แตกและสลายไป การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเปลือกไข่ เมื่อใช้ protease และ chitinase ที่ได้จาก *Paecilomyces lilacinus* จะพบว่า lipid layer ถูกทำลาย chitin layer สลายตัว และ vitelline layer หายไป ผลของการใช้ protease และ chitinase ที่ได้จาก *Paecilomyces lilacinus* เปรียบเทียบกับ bacterial chitinase ทางการค้า ต่อการฟักไข่ของ *M. javanica* พบว่าการใช้ protease ที่ได้จาก *Paecilomyces lilacinus* หรือ chitinase ที่ได้จาก *Paecilomyces lilacinus* แบบเดี่ยวๆ หรือการใช้ทั้งสองอย่างร่วมกันจะให้ผลทำให้

ลดอัตราการฟักไข่ของ *M. javanica* ในขณะที่ bacterial chitinase ทางการค้า จะช่วยเพิ่มอัตราการฟักไข่ของ *M. javanica*

Siddiqui *et al.* (2007) ทำการทดลองควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* โดยใช้ PGPR คือ *Pseudomonas putida*, *P. alcaligenes*, *Paenibacillus polymyxa* และ *Bacillus pumilus* รวมทั้ง *Rhizobium* sp. พบว่า *P. putida* มีผลในการยับยั้งการฟักและการ penetration ของ *M. javanica* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *P. alcaligenes*, *Paenibacillus polymyxa* และ *B. pumilus* การใช้ *Rhizobium* sp. ร่วมกับ *P. putida* จะช่วยลดจำนวนปมที่เกิดจากไส้เดือนฝอยได้ดีที่สุด รองลงมาคือ การใช้ การใช้ *Rhizobium* sp. ร่วมกับ *P. alcaligenes* *P. putida* มีความสามารถในการ colonization และสร้าง siderophore ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *P. alcaligenes*, *Paenibacillus polymyxa* และ *B. pumilus*

Sahebani and Hadavi (2008) ทำการทดลองควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* โดยใช้เชื้อรา *Trichoderma hazianum* ปัจจุบันเชื้อรา *Trichoderma hazianum* ได้มีการศึกษามากมายที่พบว่าเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อเชื้อโรคพืชหลายชนิด เมื่อไม่นานมานี้มีการทดลองให้เห็นว่าเชื้อราชนิดนี้สามารถเข้า infect ไข่และตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยได้ ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ได้ศึกษาเกี่ยวกับการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* โดยชีววิธีโดยใช้เชื้อรา *T. hazianum* BI ทำ การทดลองในสภาพเรือนทดลองและในห้องปฏิบัติการ ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าที่ระดับความเข้มข้นของสปอร์ของเชื้อรา *T. hazianum* BI ที่ 10^2 - 10^8 spores/ml ช่วยลดการเข้า infect ของไส้เดือนฝอย เมื่อเปรียบเทียบกับ การทดลองควบคุม เชื้อรา *T. hazianum* BI สามารถ penetrate กลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยและช่วยลดระดับการฟักของไข่ได้อย่างมีนัยสำคัญนอกจากนี้พบว่า เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับ specific activities ของการต้านทานโรคของพืช คือ เอนไซม์ peroxidase (POX), polyphenol oxidase (PPO) และ phenylalanine ammonia lyase (PAL) ใน ต้นพืช ที่ inoculated ด้วย *T. hazianum* BI เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ activities ที่เกิดมากที่สุดของ POX พบที่หลังจาก inoculated ต้นพืชด้วย *T. hazianum* BI เป็นเวลา 5 วัน, PPO 5 วัน และ PAL 6 วัน ตามลำดับ chitinase activity ใน culture filtrates ของเชื้อรา *T. hazianum* BI ก็เพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน ซึ่งทำการทดลองโดย เลี้ยงเชื้อราบนเมล็ดข้าวสาลีทำให้ขึ้นด้วยสารละลายเกลือจากนั้นเติม colloidal chitin หรือ ไข่ไส้เดือนฝอย ปฏิกริยาของ chitinase ที่พบว่ามากที่สุดคือเวลา 4 วัน หลังจาก inoculate ต้นพืชด้วย *T. hazianum* BI ที่เลี้ยงบนเมล็ดข้าวสาลีทำให้ขึ้นด้วยสารละลายเกลือที่เติม colloidal chitin ในการทดลองที่เติม colloidal chitin (1.15U/min per ml) และไข่ไส้เดือนฝอย (0.85U/min per ml) พบว่าเป็นเชื้อรา *T. hazianum* BI เป็นปรสิตรโดยตรงต่อไข่ไส้เดือนฝอย

โดยไปเพิ่ม extracellular chitinase activity ซึ่งเป็นตัวบ่งบอกถึงประสิทธิภาพการ infect ไข่ไส้เดือนฝอย และยังชักนำให้พืชเกิดกลไกการป้องกันตัวเอง ซึ่งเป็นการป้องกัน การเข้าทำลายไส้เดือนฝอยได้ถึงสองทาง



อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์และสารเคมี

- 1.1 กล้อง stereoscopic microscope
- 1.2 กล้อง compound microscope
- 1.3 เครื่องแก้ว เช่น cyracuse watch glass, petri dish, test tube และ beaker

เป็นต้น

- 1.4 ตู้ปลอดเชื้อ
- 1.5 สารเคมีในการย้อมสีไส้เดือนฝอย ได้แก่ สีย้อม acid fuchsin in acetic acid

100% glycerine

2. เชื้อที่ใช้ทดสอบ

2.1 ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica* จากต้นตำแยแมวที่เก็บจากแปลงภายในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน และไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ไอโซเลตเพชรบุรี จากโรงเรือนไส้เดือนฝอย ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

2.2 เชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี (*Pleurotus ostreatus*) ไอโซเลต Po3 จาก อาจารย์อมรศรี ชุนอินทร์ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

3. พืชที่ใช้ทดสอบ คือ มะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4

วิธีการ

1. การศึกษาชีววิทยาของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica*

1.1 สร้าง pure species และตรวจสอบไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica* ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

สร้างไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica* ให้ได้พันธุ์บริสุทธิ์ โดยแยกกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยรากปมจากดินดำเยแมวที่เก็บตัวอย่างได้จากบริเวณแปลงปลูกฝรั่งเก่าที่เคยตรวจพบ *M. javanica* มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน เพื่อให้ได้พันธุ์บริสุทธิ์ โดยนำกลุ่มไข่สีน้ำตาลเข้มบริเวณรากปมของรากดำเยแมวประมาณ 1 กลุ่ม เพื่อนำไปปลูกเชื้อบริเวณรากมะเขือเทศพันธุ์สีดา อายุ 3 สัปดาห์ ซึ่งปลูกในดินอบฆ่าเชื้อ คูแลรคน้ำ เมื่อมะเขือเทศอายุครบ 2 เดือน สุ่มเก็บตัวอย่างรากปม ในดินมะเขือเทศที่เกิดโรค 1 ต้น มาแยกตัวเมียบริเวณที่เกิดปม นำไปดูส่วนก้นของไส้เดือนฝอยรากปม (perineal pattern) โดยนำตัวเมียของไส้เดือนฝอยรากปมมาวางบนสไลด์ ใช้มีดโกนคมตัด 1/6 ของลำตัว หยดสาร lactic acid บนลำตัวของไส้เดือนรากปม เชียส่วนหัวและอวัยวะภายในออกจนสะอาด นำส่วนก้น มาตัดแต่งขอบ หยดสาร glycerine บนสไลด์สะอาด นำส่วนก้นที่ตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยม วางใน glycerine โดยขณะวางให้วางส่วนก้นคว่ำลง จัดเรียงส่วนก้นใน glycerine สไลด์ละ 10 ชิ้น ปิดทับด้วย cover slip ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ ใช้น้ำยาทาเล็บปิดทับบริเวณขอบ (ขณะปฏิบัติทุกขั้นตอนต้องปฏิบัติภายใต้กล้อง stereoscopic microscope) การเขียนตัวเมียของไส้เดือนฝอยรากปมสุ่ม เขียนตัวเมียต้นละ 50 ตัว มาจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยรากปมตามวิธีของ Eisenback *et al.* (1981) เมื่อได้เชื้อบริสุทธิ์ นำไส้เดือนฝอยรากปมไปเพิ่ม ปริมาณต่อไป

สำหรับไส้เดือนฝอย *M. incognita* ที่ใช้ในการทดลองเป็นไอโซเลตเพชรบุรี ซึ่งเป็นสายพันธุ์บริสุทธิ์แล้วจาก อาจารย์อมรศรี ขุนอินทร์ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

ขยายเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* หรือ *M. incognita* โดยนำกลุ่มไข่ซึ่งเกิดจากไส้เดือนฝอยรากปมที่ผ่านการตรวจสอบชนิดแล้ว จำนวน 5 กลุ่มไข่ไปใส่ใกล้กับรากมะเขือเทศพันธุ์สีดาซึ่งปลูกในดินอบฆ่าเชื้อ คูแลคต้นมะเขือเทศตามปกติ เป็นเวลา 40 – 45 วัน สังเกตกลุ่มไข่สีน้ำตาลบริเวณรากที่เกิดปม นำส่วนนี้ไปใช้ทดลอง (อมรศรี, 2548)

1.1.1 ตรวจสอบชนิดของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica*

โดยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ศึกษารูปร่างลักษณะและขนาดของตัวเมียเต็มวัย ตัวผู้ ตัวอ่อน ไข่ และกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* โดยใช้กล้อง stereoscopic microscope และใช้ไมโครมิเตอร์ในการวัดขนาด โดยนำรากมะเขือเทศที่ถูก inoculate ด้วยไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* เป็นเวลา 40 - 45 วัน ในข้อ 1.1 มาเปรียบเทียบกับรูปร่างลักษณะของตัวเต็มวัยเพศเมีย และ รอยบนส่วนก้น (perineal pattern) ของตัวเต็มวัยเพศเมีย ของ *M. javanica* และ *M. incognita* โดยนำรากมาข้อมสีเพื่อข้อมสีตัวเต็มวัยที่ติดอยู่ในรากด้วย acid fuchsin in acetic acid ที่ต้มจนเดือด แช่ไว้นาน 2-3 นาที ซับให้แห้ง จากนั้นแช่ใน glycerine 100 เปอร์เซ็นต์ที่ต้มจนเดือดประมาณ 1 นาที เก็บรากไว้ใน glycerine 100 เปอร์เซ็นต์ ที่เย็นแล้วนำไปศึกษาต่อไป โดยนำรากที่ข้อมสีแล้ว มาจิกแล้วเจียเอาตัวเต็มวัยเพศเมียมาศึกษารูปร่างลักษณะของตัวเต็มวัยเพศเมีย และนำมาทำสไลด์ รอยบนส่วนก้น โดย นำตัวเต็มวัยเพศเมียจากรากปมที่ข้อมสีแล้ว มาวางลงบนแผ่นฟิล์มใสแล้วตัด ด้วยมีดโกนประมาณ 1 ใน 6 จากส่วนท้ายของลำตัว เจียส่วนที่หยดไปวางลงบน หยด lactic acid 45% เจียอวัยวะภายในที่ติดออกมาให้หมด ตัดขอบแผ่นส่วนก้นให้เป็นสี่เหลี่ยม วางลงในหยดของ glycerine บนสไลด์แก้ว ปิดทับด้วย cover glass นำไปศึกษา เปรียบเทียบกับภาพตัวอย่างมาตรฐาน ของ International Meloidogyne Project (IMP) (Taylor and Sasser, 1978)

1.1.2 การเตรียมกลุ่มไข่ (egg mass) และการเตรียมตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปม (inoculum) เพื่อใช้ในการทดลอง

เตรียมกลุ่มไข่โดยแยกกลุ่มไข่จากปมของรากมะเขือเทศ มาทำความสะอาด ผิวภายนอกโดยแช่ใน 0.6% sodium hypochlorite (NaOCl) 1 นาที จากนั้นนำกลุ่มไข่มาล้างด้วย น้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที แล้วล้างผิวกลุ่มไข่อีกครั้งด้วย 0.1% streptomycin ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง

เตรียมตัวอ่อนระยะที่สองโดยแยกกลุ่มไข่จากปมของรากมะเขือเทศ ทำความสะอาดผิวภายนอกโดยแช่ใน 0.6% sodium hypochlorite (NaOCl) 1 นาที จากนั้นนำกลุ่มไข่มาล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที นำกลุ่มไข่มาฟักในน้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อ ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 27 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 วัน นำตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยรากปมที่ได้มาตรวจนับ

ปริมาณตัวอ่อนโดยสุ่ม 10 ครั้ง ครั้งละ 1 มิลลิลิตร คำนวณหาค่าเฉลี่ยเพื่อปรับปริมาตรไส้เดือนฝอย ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง

1.2 การศึกษาชีวจักรของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica* ในมะเขือเทศ พันธุ์สีดาทิพย์ 4

เตรียมต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4 อายุ 4 สัปดาห์ปลูกในกระถางขนาด 2 นิ้ว บรรจุดินอบแห้งเข้า เชื้อ นำตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอย *M. javanica* inoculate ลงในดินปลูก มะเขือเทศต้นละ 100 ตัว สุ่มตรวจครั้งละ 3 ต้น ทุกๆ 2 ชั่วโมงหลัง inoculate โดยนำรากมะเขือเทศ มาย้อมด้วยสี acid fuchsin in acetic acid เพื่อดูการเข้าทำลายของตัวอ่อนระยะที่สอง จนกระทั่งพบ ตัวอ่อนระยะที่สองในรากมะเขือเทศแล้วจึงเปลี่ยนมาตรวจผลทุกๆ 2 วัน (ดัดแปลงจาก ยูภาพรณี, 2529)

2. ความสามารถในการเข้าทำลายมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4 ของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica* และ *M. incognita* ไอโซเลตเพชรบุรี

นำตัวอ่อนระยะที่สอง ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* หรือ *M. incognita* ใส่ลงไปใน ต้นมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4 อายุประมาณ 4 สัปดาห์ โดยชุดหลุมรอบต้นมะเขือเทศโดยห่างจาก โคนต้น 1 นิ้ว ลึก 1 นิ้ว บันทึกผลการทดลองหลังจากใส่ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยไปแล้ว 1 เดือน ตรวจ ผลความสามารถในการเข้าทำลายโดย นับจำนวนปม จำนวนกลุ่มไข่ วัดขนาดปม น้ำหนักสดของ รากตามกรรมวิธีของ Ibrahim and Lewis (1985) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 กรรมวิธี วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ เปรียบเทียบกับ กรรมวิธีควบคุมไม่ใส่ไส้เดือนฝอยดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ใส่ไส้เดือนฝอย *M. javanica* 500 ตัว

กรรมวิธีที่ 2 ใส่ไส้เดือนฝอย *M. incognita* 500 ตัว

กรรมวิธีที่ 3 ใส่ไส้เดือนฝอย *M. javanica* 250 ตัว กับ *M. incognita* 250 ตัว

กรรมวิธีที่ 4 ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย

3. การควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica* โดยชีววิธีด้วยเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *Pleurotus ostreatus*

3.1 เชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *Pleurotus ostreatus* ต่อการฟักของกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica*

นำเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *P. ostreatus* ไอโซเลต Po3 ที่ผ่านการทดสอบแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมจาก อาจารย์อมรศรี ขุนอินทร์ (อมรศรี, 2548) มาเลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose Agar เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ตัดชิ้นวุ้นบริเวณปลายเส้นใยมาวางลงบนอาหาร Water Agar บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน นำกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวกลุ่มไข่ด้วย 0.6% sodium hypochlorite และ 0.1% streptomycin วางบริเวณปลายเส้นใย 1 กลุ่มไข่/จานอาหารเลี้ยงเชื้อ วางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ตรวจสอบจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองที่ฟักออกจากไข่ที่เวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมงเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมซึ่งวางกลุ่มไข่บน WA ปกติ นำมาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการฟัก หลังจากนั้นนำกลุ่มไข่ที่มีเชื้อ *P. ostreatus* เจริญปกคลุมหลังจากวางกลุ่มไข่ไว้กับเชื้อราปฏิปักษ์ 120 ชม. ไปฟักในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อเป็นเวลา 3 วัน ตรวจสอบจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมซึ่งเป็นกลุ่มไข่บน WA ปกติไม่มีเชื้อราปฏิปักษ์เจริญอยู่ (ดัดแปลงจาก Khan *et al.*, 2006)

การคำนวณเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการฟัก

$$\text{เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการฟัก} = \frac{\text{L2 ในกรรมวิธีควบคุม} - \text{L2 ในกรรมวิธีทดลอง}}{\text{L2 ในกรรมวิธีควบคุม}} \times 100$$

L2 = จำนวนตัวอ่อนระยะที่สอง

กรรมวิธีควบคุม = control

กรรมวิธีทดลอง = Treatment

3.2 ประสิทธิภาพของสารกรองจากก้อนเชื้อราปฏิภักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี

Pleurotus ostreatus ต่อการฟักของกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne javanica*

นำก้อนเชื้อราปฏิภักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *P. ostreatus* ไอโซเลต Po3 ที่เลี้ยงในอาหารขี้เลื่อยผสมอายุประมาณ 2 เดือนนับจากวางเชื้อ มาแช่ในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อในอัตรา 1 : 2 w/v เป็นเวลา 3 วัน จึงกรองผ่านสำลีนิ่งฆ่าเชื้อ ตั้งสารกรองไว้ 1 คืน เพื่อให้ตกตะกอน จากนั้นนำส่วนของสารด้านบนมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการฟักของกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* โดยทดสอบที่ความเข้มข้น 25%, 50%, 75% และ 100% ของสารกรองในหลอดทดลอง ขนาด 12×100 มิลลิเมตร บรรจุสารกรองหลอดละ 2 มิลลิลิตร วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลองกรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 1 กลุ่มไข่ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมซึ่งใช้น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ ตรวจสอบโดยนับจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองหลังฟักกลุ่มไข่ 3 วันนำมาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการฟักเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.1

3.3 ประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิภักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *Pleurotus ostreatus* ต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica* และ *M. incognita* ในสภาพเรือนทดลอง

3.3.1 การเลี้ยงเชื้อราปฏิภักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *Pleurotus ostreatus* บนเมล็ดข้าวฟ่าง

นำเชื้อราปฏิภักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *P. ostreatus* ไอโซเลต Po3 มาใช้ในการทดลอง โดยนำเมล็ดข้าวฟ่างมาทำความสะอาดโดยล้างและคัดสิ่งเจอปนออกให้หมด จากนั้นนำมาแช่น้ำประมาณ 12-18 ชั่วโมงในระหว่างแช่ เปลี่ยนน้ำ 1-2 ครั้ง นำเมล็ดข้าวฟ่างมาต้มจนสุก (ประมาณ 12-13 นาที) จากนั้นเกลี่ยเมล็ดให้กระจายแล้วนำมาผึ่งลม ประมาณ 20-30 นาที นำเมล็ดข้าวฟ่างมาบรรจุลงในขวดแบนโดยใส่ลงไปประมาณครึ่งขวด พร้อมกับจุกด้วยสำลีและหุ้มด้วยกระดาษอีกชั้นหนึ่งนำขวดเมล็ดข้าวฟ่างไปนิ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว นานประมาณ 20 - 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นนำขวดเมล็ดข้าวฟ่างมาแช่โดยไม่ให้สัมผัสกับจุกสำลีเพื่อกระจายความชื้นของเมล็ดข้าวฟ่าง จากนั้นนำเชื้อราปฏิภักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *P. ostreatus* ไอโซเลต Po3 มาเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ตัดชิ้นวุ้นบริเวณปลายเส้นใยมาวางลงในขวดเมล็ดข้าวฟ่างที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นทำการบ่มเชื้อในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 วัน (ดัดแปลงจาก ปัญญา, 2538)

3.3.2 การเลี้ยงเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *Pleurotus ostreatus* ในถุงซีลีย

วัสดุอุปกรณ์

ซีลียไม้ยางพาราแห้ง	100	กก.
รำละเอียด	3-5	กก.
แป้งข้าวเจ้าหรือแป้งข้าวเหนียว	1-2	กก.
น้ำ	60 - 70	ลิตร

นำซีลียไม้ยางพาราแห้ง รำละเอียดและแป้งข้าวเจ้าหรือแป้งข้าวเหนียวมาผสมให้เข้ากันก่อนจากนั้นจึงเติมน้ำลงไปผสมให้เข้ากันนำส่วนผสมบรรจุลงในถุงพลาสติกทนร้อน ขนาด 8×12 นิ้ว ประมาณถุงละ 0.8 - 1 กก. อัดให้ส่วนผสมแน่นอยู่ในถุง จากนั้นทำการสวมคอขวดพลาสติก แล้วใช้ยางรัด จุกด้วยสำลี และหุ้มด้วยกระดาษอีกชั้นหนึ่ง นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่ง ความดันไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นานประมาณ 20-30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นนำหัวเชื้อเมล็ดข้าวฟ่าง ใส่ลงไปถุงละประมาณ 20 - 30 เมล็ด แล้วนำถุงซีลียไปบ่มในที่มืดประมาณ 3 - 4 สัปดาห์ (คัดแปลงจาก ปัญญา, 2538)

3.3.3 การเตรียมดินปลูก และการใส่ไส้เดือนฝอย

เตรียมดินกล้ามะเขือเทศอายุประมาณ 4 สัปดาห์ในกระถางขนาด 4 นิ้ว ซึ่งมีวัสดุปลูกประกอบด้วยก้อนเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการีอายุประมาณ 2 เดือน ผสมกับดินอบฆ่าเชื้อในอัตราก้อนเชื้อเห็ด 15 และ 30 เปอร์เซ็นต์ของวัสดุปลูก(วัสดุปลูก 150 กรัม/กระถาง) เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นนำตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอย *M. javanica* และ *M. incognita* ไอโซเลตเพชรบุรี ที่เตรียมไว้มา inoculate โดยทำร่องลึกประมาณ 1 นิ้วรอบๆ โคนต้นมะเขือเทศ แล้วนำ suspension ของตัวอ่อนไส้เดือนฝอยที่เตรียมไว้ใส่ลงไปตามร่อง กลบด้วยดินตามเดิม งดรดน้ำเป็นเวลา 2 วันหลังจาก inoculate จากนั้นดูแลรดน้ำเป็นเวลา 1 เดือน การทดลองแบ่งออกเป็น 12 กรรมวิธี เปรียบเทียบผลการทดลองกับกรรมวิธีควบคุม

- กรรมวิธีที่ 1 ใส่ไส้เดือนฝอย *M. javanica* 100 ตัว ใส่ก้อนเชื้อเห็ด 15 เปอร์เซ็นต์
 กรรมวิธีที่ 2 ใส่ไส้เดือนฝอย *M. javanica* 500 ตัว ใส่ก้อนเชื้อเห็ด 15 เปอร์เซ็นต์
 กรรมวิธีที่ 3 ใส่ไส้เดือนฝอย *M. javanica* 100 ตัว ใส่ก้อนเชื้อเห็ด 30 เปอร์เซ็นต์
 กรรมวิธีที่ 4 ใส่ไส้เดือนฝอย *M. javanica* 500 ตัว ใส่ก้อนเชื้อเห็ด 30 เปอร์เซ็นต์
 กรรมวิธีที่ 5 ใส่ไส้เดือนฝอย *M. incognita* 100 ตัว ใส่ก้อนเชื้อเห็ด 15 เปอร์เซ็นต์
 กรรมวิธีที่ 6 ใส่ไส้เดือนฝอย *M. incognita* 500 ตัว ใส่ก้อนเชื้อเห็ด 15 เปอร์เซ็นต์
 กรรมวิธีที่ 7 ใส่ไส้เดือนฝอย *M. incognita* 100 ตัว ใส่ก้อนเชื้อเห็ด 30 เปอร์เซ็นต์
 กรรมวิธีที่ 8 ใส่ไส้เดือนฝอย *M. incognita* 500 ตัว ใส่ก้อนเชื้อเห็ด 30 เปอร์เซ็นต์
 กรรมวิธีที่ 9 ใส่ไส้เดือนฝอย *M. javanica* 100 ตัว ไม่ใส่ก้อนเชื้อเห็ด
 กรรมวิธีที่ 10 ใส่ไส้เดือนฝอย *M. javanica* 500 ตัว ไม่ใส่ก้อนเชื้อเห็ด
 กรรมวิธีที่ 11 ใส่ไส้เดือนฝอย *M. incognita* 100 ตัว ไม่ใส่ก้อนเชื้อเห็ด
 กรรมวิธีที่ 12 ใส่ไส้เดือนฝอย *M. incognita* 500 ตัว ไม่ใส่ก้อนเชื้อเห็ด

บันทึกผลการทดลอง หลังจากใส่ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยไปแล้ว 50 วัน โดยล้างราก
 ตรวจสอบจำนวนรากปม กลุ่มไข่ เพอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค และจัดระดับการเกิดโรคตามระบบ
 ด้านล่างนี้

3.3.4 การวัดปริมาณการเกิดปมและกลุ่มไข่ที่รากโดยให้เป็นคะแนนดังนี้

การวัดการเป็นโรครากปมโดยทำตามวิธีของ สืบศักดิ์ และสมชาย
 (2527) โดยแบ่งเป็น 6 ระดับ คือ

- ระดับ 0 ไม่มีปมในระบบรากหรือไม่พบกลุ่มไข่
- ระดับ 1 มีปมที่ระบบราก 1-2 ปม หรือกลุ่มไข่ 1-2 กลุ่ม
- ระดับ 2 มีปมที่ระบบราก 3-10 ปม หรือกลุ่มไข่ 3-10 กลุ่ม
- ระดับ 3 มีปมที่ระบบราก 11-30 ปม หรือกลุ่มไข่ 11-30 กลุ่ม
- ระดับ 4 มีปมที่ระบบราก 31-100 ปม หรือกลุ่มไข่ 31-100 กลุ่ม
- ระดับ 5 มีปมที่ระบบรากมากกว่า 100 ปม หรือมีกลุ่มไข่เกิน 100 กลุ่ม
 หรือต้นแห้งตายก่อนถึงอายุ

การวัดปริมาณกลุ่มไข่ ให้คะแนนระดับการเกิดกลุ่มไข่เช่นเดียวกับรากปม

4. การวิเคราะห์ผลการทดลอง

วิเคราะห์ความแปรปรวน(Analysis of Variance: ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan' s New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Windows Version 11.5

5. สถานที่ทำการทดลอง

5.1 ห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ. กำแพงแสน จ. นครปฐม

5.2 โรงเรือนไส้เดือนฝอย ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

6. ระยะเวลาในการวิจัย

ทำการวิจัยตั้งแต่เดือนสิงหาคม 2553 ถึงเดือนมีนาคม 2555

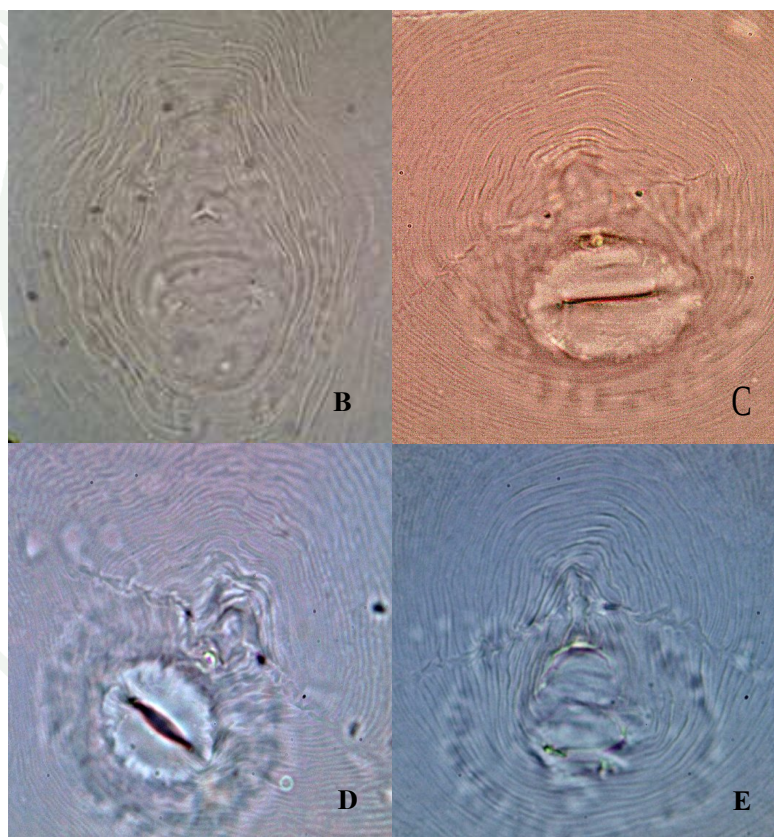
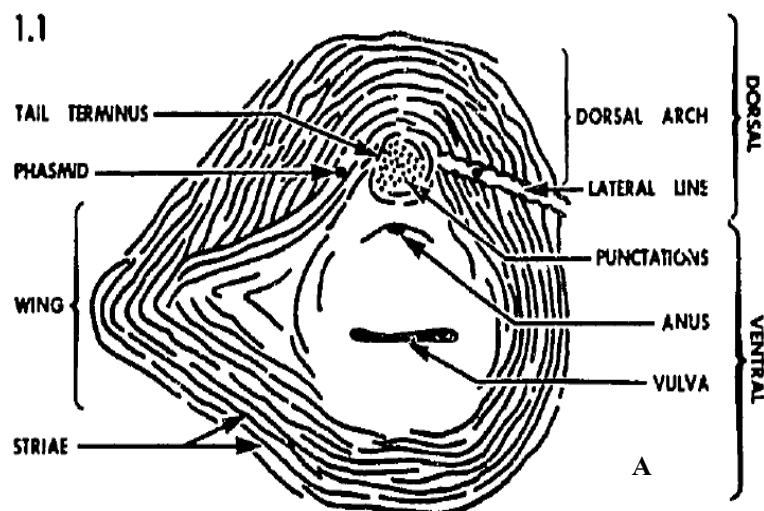
ผลและวิจารณ์

ผล

1. การศึกษาชีววิทยาของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica*

1.1 สร้าง pure species และตรวจสอบไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica* ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

จากการตรวจสอบจำนวนตัวอย่างของไส้เดือนฝอยรากปม จำนวน 50 ตัวอย่าง จากต้นตำแยแมวที่เก็บได้บริเวณแปลงในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ด้วยวิธีการตรวจสอบรื้อรอย่นส่วนกัน perineal pattern (คล้ายลายนิ้วมือ) พบว่าตรงตามลักษณะ pattern ของ *Meloidogyne javanica* โดยมี dorsal arch กลม เรียบแบน ไม่ยกสูงแบบ *M. incognita* เส้นรอบลำตัวมีลักษณะเป็นเส้นเรียบไม่ขาดเป็นเส้นสั้น มีเส้น lateral lines ชัดเจนแบ่งส่วนของ dorsal arch และ ventral arch ซึ่งแตกต่างอย่างชัดเจนกับ *M. incognita* ที่ lateral lines ขาดมองเห็นไม่ชัด และ รื้อรอย่นส่วนกัน perineal pattern ของ *M. incognita* มีส่วน dorsal arch ยกสูง เส้นรอบลำตัว (striae) มีลักษณะขาดเป็นเส้นสั้นๆ และค่อนข้างหยัก (Eisenback *et al.*, 1981) (ภาพที่ 1) ลักษณะตัวเต็มวัยเพศเมียที่พบในรากมะเขือเทศมีลักษณะลำตัวค่อนข้างกลม ส่วนหัวยื่นออกจากลำตัวอย่างชัดเจน ลักษณะรูปร่างคล้ายลูกแพร์ ยาวเฉลี่ย 670 ไมครอน เพศผู้พบได้ทั้งในรากและในดิน ลำตัวเป็นรูปทรงกระบอกยาวมาก ยาวเฉลี่ย 1250 ไมครอน มี spicule 1 คู่ บริเวณปลายหาง ตัวอ่อนระยะที่ 2 มีรูปร่างลักษณะเรียวยาว โดยมีความยาวเฉลี่ย 390 ไมครอน ไข่มีลักษณะกลมรี ค่อนข้างยาว ความยาวเฉลี่ย 85 ไมครอน (ภาพที่ 2)

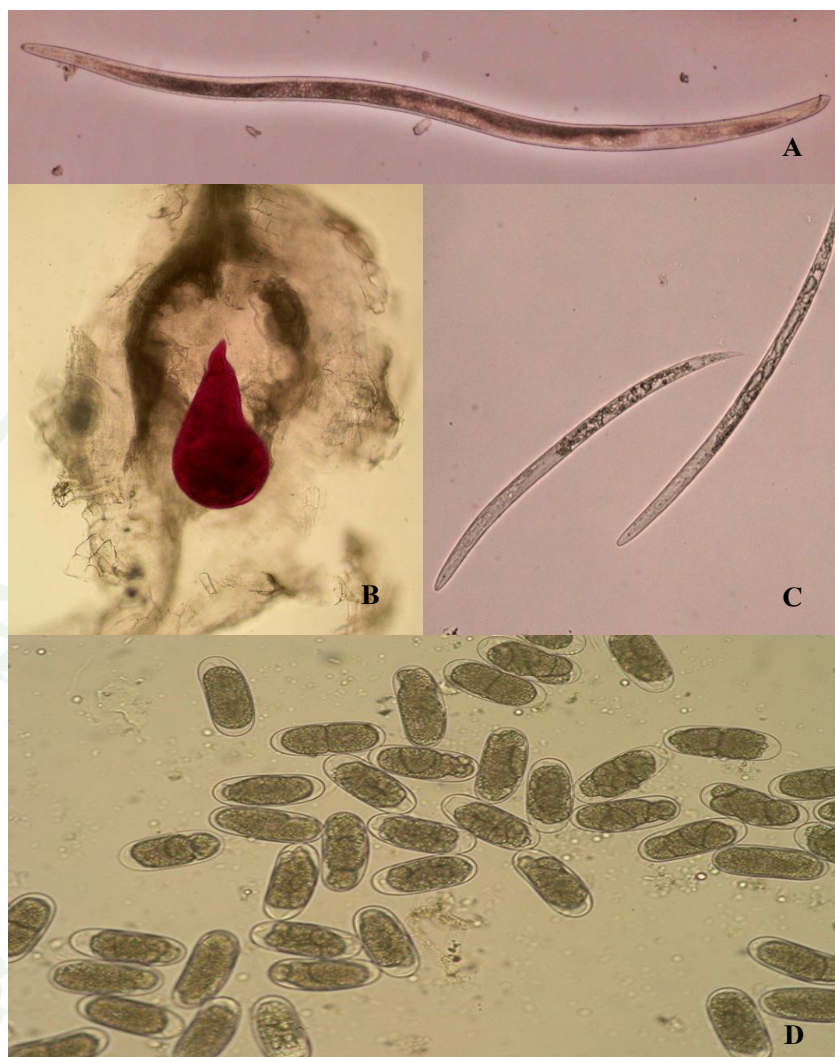


ภาพที่ 1 แสดงลักษณะของ perineal pattern ของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne javanica*

A) perineal pattern model. **Source:** Eisenback *et al.* (1981)

B) perineal pattern ของ *Meloidogyne incognita* ที่มา: สุดารัตน์ (2549)

C), D), E) perineal pattern ของ *Meloidogyne javanica* (กำลังขยาย 400x)



ภาพที่ 2 แสดงไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica* จากรากมะเขือเทศ

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

A) ตัวเต็มวัยเพศผู้ (กำลังขยาย 400x)

B) ตัวเต็มวัยเพศเมียในรากมะเขือเทศ (กำลังขยาย 400x)

C) ตัวอ่อนระยะที่ 2 (กำลังขยาย 400x)

D) ไข่ (กำลังขยาย 400x)

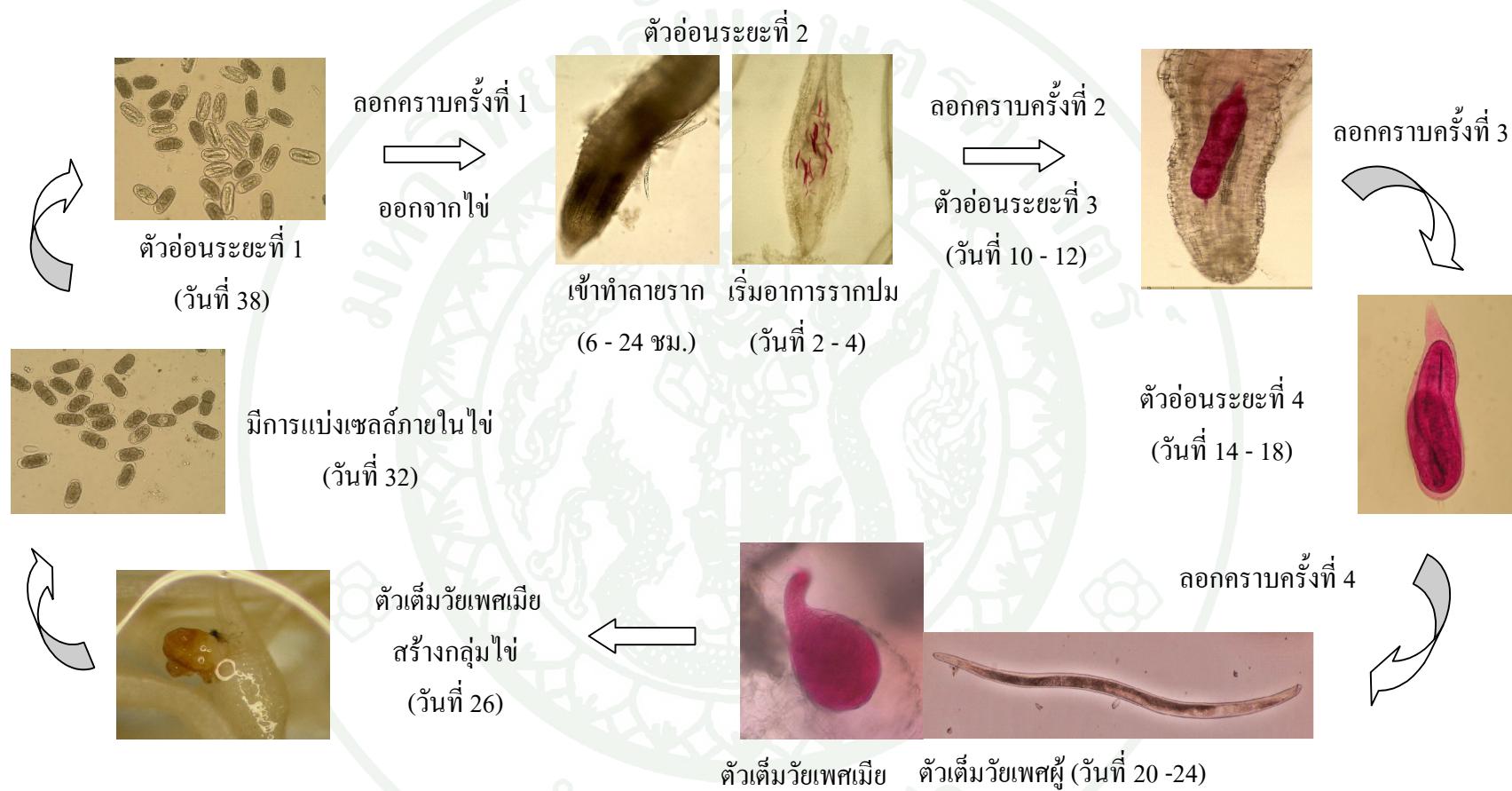
1.2 การศึกษาชีวิตจักรของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica* ในมะเขือเทศ พันธุ์สีดาทิพย์ 4

หลังจาก inoculate ตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอย *M. javanica* จำนวน 100 ตัว/ต้นมะเขือเทศ แล้วตรวจผลทุกๆ 2 ชม. พบว่าตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยเริ่มเข้ารากเมื่อเป็นเวลา 6 ชั่วโมง (ตารางที่ 1) โดยพบว่าตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยส่วนใหญ่จะเข้ารากบริเวณ zone of cell elongation เนื้อบริเวณหุ้มรากขึ้นมาเล็กน้อย จากนั้นจะฝังตัวอยู่ในเนื้อเยื่อชั้น cortex ส่วนหัวอยู่ใกล้ vascular tissue ลำตัวขนานกับความยาวของราก จำนวนตัวอ่อนที่เข้ารากจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยพบว่าในวันที่ 6 หลังจาก inoculate มีจำนวนตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยภายในรากมากที่สุด

สำหรับการเปลี่ยนแปลงทางสรีระของรากและตัวอ่อนพบว่า ในวันที่ 2 หลังจาก inoculate จะเริ่มพบอาการรากปมแต่ไม่สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า วันถัดมาขนาดของปมจะขยายใหญ่ขึ้นเรื่อยๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณที่มีตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยฝังตัวดูดกินอาหารอยู่จำนวนมาก ซึ่งส่วนใหญ่จะพบอยู่บริเวณปลายรากในส่วน of zone of cell elongation สำหรับการเปลี่ยนแปลงของตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยเริ่มสังเกตเห็นได้ชัดในวันที่ 6 ตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยขยายขนาดของตัวทางด้านข้าง และในวันที่ 10 เริ่มพบการลอกคราบของตัวอ่อนระยะที่สอง เป็นตัวอ่อนระยะที่สาม และพบการลอกคราบอีกครั้งในวันที่ 14 จากตัวอ่อนระยะที่ 3 เป็นตัวอ่อนระยะที่ 4 สำหรับตัวเต็มวัยเริ่มพบในวันที่ 20 และเริ่มสร้างกลุ่มไข่ในวันที่ 26 ซึ่งมี gelatinous matrix สีเหลืองอ่อน พบการแบ่งเซลล์ภายในไข่ในวันที่ 32 หลังจาก inoculate และพบตัวอ่อนภายในไข่ในวันที่ 38 หลัง inoculate และ gelatinous matrix มีสีส้มหรือน้ำตาลเข้มยื่นออกจากรากปมอย่างชัดเจน ซึ่งไส้เดือนฝอย *M. javanica* ใช้เวลาหนึ่งชีวิตจักรนาน 38 วันที่อุณหภูมิการทดลอง 25 – 30 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 1 แสดงผลการศึกษานิชิพจักรของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne javanica* ในมะเขือเทศ พันธุ์สีดาทิพย์ 4

ระยะเวลาหลัง inoculate	การเปลี่ยนแปลง
6 ชม.	เริ่มพบตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยภายในรากมะเขือเทศ
14 – 24 ชม.	พบตัวอ่อนระยะที่สองเข้ารากบริเวณ zone of cell elongation ลำตัวขนานกับราก และพบตัวอ่อนระยะที่สองเข้าภายในรากเพิ่มขึ้น
2 วัน	เริ่มพบอาการปมขนาดเล็กมองไม่เห็นด้วยตาเปล่า และมีจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองภายในรากมากขึ้น
4 วัน	พบอาการปมสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า
6 – 8 วัน	ตัวอ่อนระยะที่สองเริ่มขยายขนาดทางด้านข้าง
10 – 12 วัน	เริ่มพบการลอกคราบของตัวอ่อนระยะที่สองเป็นตัวอ่อนระยะที่สาม
14 – 18 วัน	พบการลอกคราบของตัวอ่อนระยะที่สามเป็นระยะที่สี่
20 – 24 วัน	พบตัวอ่อนระยะที่สี่และเริ่มพบตัวเต็มวัยเพศเมีย และเพศผู้
26 วัน	ตัวเต็มวัยเพศเมียเริ่มสร้างกลุ่มไข่ gelatinous matrix สีเหลืองอ่อน และพบไข่อยู่ภายในเล็กน้อย
28 วัน	พบไข่ภายใน gelatinous matrix มากขึ้น
32 วัน	พบการแบ่งเซลล์ภายในไข่
38 วัน	กลุ่มไข่นอกจากฟิวราจชัดเจน gelatinous matrix สีส้มหรือน้ำตาลเข้ม และพบตัวอ่อนภายในไข่



ภาพที่ 3 แสดงวงจรชีวิตของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica* ในรากมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4

2. ความสามารถในการเข้าทำลาย (pathogenicity) มะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4 ของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica* และ *M. incognita* ไอโซเลตเพชรบุรี

จากการทดสอบเปรียบเทียบการก่อโรคของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ไอโซเลตเพชรบุรี กับ *M. javanica* พบว่ากรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอย *M. incognita* ไอโซเลตเพชรบุรี ร่วมกับ *M. javanica* ทำให้เกิดอาการรากปมของมะเขือเทศมากที่สุดเฉลี่ย 274.29 ปม รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอย *M. incognita* ไอโซเลตเพชรบุรีเฉลี่ย 260.86 ปม และกรรมวิธีที่ใส่ *M. javanica* เฉลี่ย 187.86 ปมตามลำดับ สำหรับจำนวนกลุ่มไข่พบว่าไส้เดือนฝอย *M. javanica* มีการสร้างกลุ่มไข่มากที่สุดเฉลี่ย 97.86 กลุ่มไข่ รองลงมาคือไส้เดือนฝอย *M. incognita* ไอโซเลตเพชรบุรีเฉลี่ย 89.86 กลุ่มไข่ แต่อย่างไรก็ตามทั้งสามกรรมวิธีมีการสร้างกลุ่มไข่ไม่แตกต่างกันเมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ (ตารางที่ 2)(ภาพที่ 4)

จากการเปรียบเทียบขนาดปมพบว่าไส้เดือนฝอย *M. incognita* ไอโซเลตเพชรบุรีทำให้เกิดปมรากที่มีขนาดใหญ่ที่สุดโดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางปมเฉลี่ย 1.92 มิลลิเมตร รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอย *M. incognita* ไอโซเลตเพชรบุรี ร่วมกับ *M. javanica* 1.81 มิลลิเมตร ส่วนไส้เดือนฝอย *M. javanica* ทำให้เกิดปมรากที่มีขนาดเล็กที่สุดโดยมีขนาดเฉลี่ย 1.21 มิลลิเมตร และจากการชั่งน้ำหนักสดของรากพบว่ากรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอย *M. incognita* ไอโซเลตเพชรบุรี ร่วมกับ *M. javanica* มีน้ำหนักสดของรากมะเขือเทศมากที่สุดเฉลี่ย 5.38 กรัม รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอย *M. javanica* มีน้ำหนักสดของรากเฉลี่ย 4.03 กรัม และกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอย *M. incognita* ไอโซเลตเพชรบุรี มีน้ำหนักสดของรากเฉลี่ย 3.79 กรัม โดยกรรมวิธีควบคุมไม่ใส่ไส้เดือนฝอยมีน้ำหนักสดของรากเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ 3.22 กรัม

ตารางที่ 2 แสดงผลการทดสอบการก่อโรคของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* และ *Meloidogyne javanica* ต่อมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4

กรรมวิธี	ปริมาณปม/ ต้น ^{1/}	ปริมาณกลุ่ม ไข่/ต้น ^{2/}	เส้นผ่าน ศูนย์กลางปม (มม.) ^{3/}	น้ำหนักราก สด (กรัม) ^{4/}
<i>M. incognita</i>	260.86 a ^{5/}	89.86 a ^{6/}	1.92 a ^{7/}	3.79 b ^{8/}
<i>M. javanica</i>	187.86 b	97.86 a	1.21 b	4.03 b
<i>M. incognita</i> + <i>M. javanica</i>	274.29 a	82.43 a	1.81 a	5.38 a
Control	0 c	0 b	0 c	22 b

^{1/}ค่าเฉลี่ยปริมาณรากปมจาก 7 ซ้ำ

^{2/}ค่าเฉลี่ยปริมาณกลุ่มไข่จาก 7 ซ้ำ

^{3/}ค่าเฉลี่ยขนาดปมจาก 7 ซ้ำ (สุ่มตรวจต้นละ 10 ปม)

^{4/}ค่าเฉลี่ยน้ำหนักรากสดจาก 7 ซ้ำ

^{5/, 6/, 7/, 8/}ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแนวตั้งของตารางไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เปรียบเทียบทางสถิติโดย Duncan's New Multiple Range Test ($P \leq 0.05$)



ภาพที่ 4 แสดงระบบรากมะเขือเทศที่ถูกเข้าทำลายโดย

A) *Meloidogyne javanica* B) *Meloidogyne incognita*

C) *Meloidogyne javanica* + *Meloidogyne incognita* D) control

3. การควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica* โดยชีววิธีด้วยเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *Pleurotus ostreatus*

3.1 เชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *Pleurotus ostreatus* ต่อการฟักของกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica*

จากการทดสอบเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *Pleurotus ostreatus* ไอโซเลต Po3 ในการเข้าทำลายกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* บนอาหาร water agar เวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมงหลังวางกลุ่มไข่ พบว่าเชื้อราได้ผลทำให้การฟักของกลุ่มไข่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ตารางที่ 3) โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการฟักสูงที่สุด 53.93% ที่ 24 ชม. รองลงมาคือ 53.09 % และ 49.23% ที่ 48 และ 96 ชม. ตามลำดับ และเมื่อนำกลุ่มไข่ที่วางไว้กับเชื้อราปฏิปักษ์เป็นเวลา 120 ชม. ไปทดสอบการฟักในน้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อเป็นเวลา 3 วัน พบว่า กลุ่มไข่ที่ถูก infect ด้วยเชื้อรา มีการฟักต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการฟักเท่ากับ 77.42% (ตารางที่ 4)(ภาพที่ 5)

ตารางที่ 3 แสดงประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *Pleurotus ostreatus* ไอโซเลต Po3 ต่อการฟักของกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอย *Meloidogyne javanica*

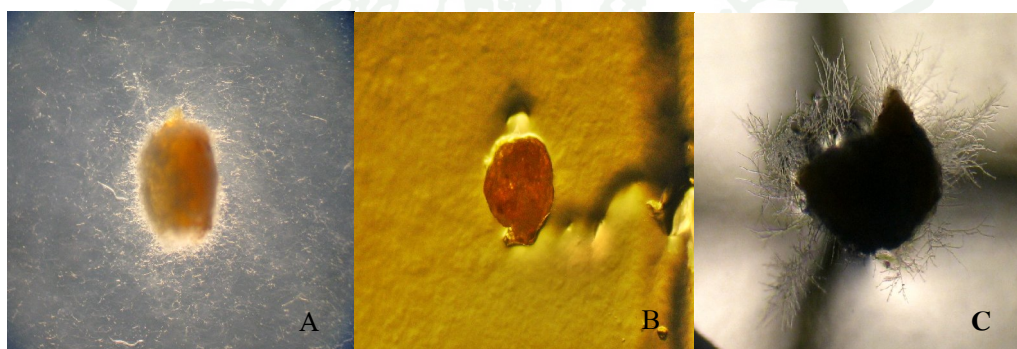
กรรมวิธี	จำนวนตัวอ่อนระยะที่สอง ^{1/}				
	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.	96 ชม.	120 ชม.
กรรมวิธีควบคุม	17.8 g	48.6 e	78.0 dc	99.8 ab	118.0 a
<i>P. ostreatus</i> + กลุ่มไข่	8.2 g	22.8 fg	39.6 fe	71.8 d	93.8 bc
เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการฟัก	53.93	53.09	49.23	28.06	20.51

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแนวดิ่งของตารางไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเปรียบเทียบโดย Duncan's New Multiple Range Test ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4 แสดงผลการฟักกลุ่มไข่ที่ถูก infect โดยเส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *Pleurotus ostreatus* ไอโซเลต Po3 ในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อเป็นเวลา 3 วัน

กรรมวิธี	จำนวนตัวอ่อนระยะที่สอง ^{1/}					เฉลี่ย	เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการฟัก
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5		
กรรมวิธีควบคุม	34	108	27	14	96	55.8 a	0
<i>P. ostreatus</i> + กลุ่มไข่	34	108	27	14	96	12.6 b	77.42

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแนวตั้งของตารางไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเปรียบเทียบโดย Duncan's New Multiple Range Test ($P \leq 0.05$)



ภาพที่ 5 กลุ่มไข่ไส้เดือนฝอย *Meloidogyne javanica*

- A) เชื้อ *Pleurotus ostreatus* infect กลุ่มไข่ (บน WA)
- B) กลุ่มไข่ปกติบน WA
- C) กลุ่มไข่ถูก *Pleurotus ostreatus* infect (ในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ)

3.2 ประสิทธิภาพของสารกรองจากก้อนเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี

Pleurotus ostreatus ต่อการฟักของกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne javanica*

จากการนำกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอย *M. javanica* มาฟักในสารกรองจากก้อนเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *P. ostreatus* ไอโซเลต Po3 ที่ความเข้มข้น 25%, 50%, 75% และ 100% เป็นเวลา 3 วัน พบว่าผลของสารกรองสามารถลดการฟักของกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเทียบกับกรรมวิธีควบคุมซึ่งฟักกลุ่มไข่ในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อปกติ โดยมีจำนวน

ตัวอ่อนระยะที่สองเฉลี่ยน้อยที่สุด 1.75 ตัวที่ความเข้มข้น 50% และ 100% แต่อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างทางสถิติของจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองที่ฟักได้ในแต่ละความเข้มข้นของสารกรอง และทุกความเข้มข้นของสารกรองให้ผลเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการฟักตั้งแต่ 90% ขึ้นไป โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการฟักสูงที่สุด 97.74% ที่ความเข้มข้นของสารกรองเท่ากับ 50% และ 100% (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 แสดงผลของสารกรองจากก้อนเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *Pleurotus ostreatus* ไอโซเลต Po3 ต่อการฟักของกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอย *Meloidogyne javanica*

ความเข้มข้นสารกรอง(%)	จำนวนตัวอ่อนระยะที่สองเฉลี่ย ^{1/}	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการฟัก
25	7.75 b	90.00
50	1.75 b	97.74
75	3.75 b	95.16
100	1.75 b	97.74
0	77.5 a	0

^{1/}ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแนวดิ่งของตารางไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบโดย Duncan's New Multiple Range Test ($P \leq 0.05$)

3.3 ประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *Pleurotus ostreatus* ต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica* และ *M. incognita* ในสภาพเรือนทดลอง

จากผลการทดลองปริมาณตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอย *M. javanica* ที่ 100 และ 500 ตัว ให้ผลปริมาณรากปมของมะเขือเทศแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่ปริมาณตัวอ่อนระยะที่สอง 500 ตัวทำให้เกิดรากปมเฉลี่ยมากที่สุด 172.25 ปม ปริมาณกลุ่มไข่เฉลี่ย 48.75 กลุ่ม ปริมาณตัวอ่อนระยะที่สอง 100 ตัวทำให้เกิดรากปมเฉลี่ย 61.75 ปม กลุ่มไข่เฉลี่ย 20 กลุ่ม สำหรับกรรมวิธีที่ใส่ก้อนเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี 15% และ 30% ของวัสดุปลูก พบว่าสามารถลดการเกิดรากปมได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งกรรมวิธีที่ใส่ตัวอ่อนระยะที่สอง 100 ตัว ก้อนเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการีสามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ 64.37% และ 70.85% เมื่อใส่ก้อนเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี 15% และ 30% ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ใส่ตัวอ่อนระยะที่สอง 500 ตัว ก้อนเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการีสามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ 57.62% และ 68.80%

เมื่อใส่ก้อนเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี 15% และ 30% ตามลำดับ โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคต่ำลงเล็กน้อยเมื่อปริมาณตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยเพิ่มมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามผลของอัตราการใช้ก้อนเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี ในการควบคุมโรคทั้งสองอัตรา ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ(ภาพที่ 8)

สำหรับไส้เดือนฝอย *M. incognita* พบว่าปริมาณตัวอ่อนระยะที่สองทั้ง 100 ตัว และ 500 ตัว ทำให้เกิดปริมาณรากปมมากกว่าไส้เดือนฝอย *M. javanica* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และปริมาณตัวอ่อนระยะที่สอง 500 ตัวทำให้เกิดปริมาณรากปมมากกว่าปริมาณตัวอ่อนระยะที่สอง 100 ตัวเช่นกัน เมื่อใส่ก้อนเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี ในอัตรา 15% และ 30% พบว่าสามารถลดการเกิดรากปมได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่ โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค 60.67 และ 71.78 เมื่อใส่ก้อนเชื้อราปฏิปักษ์ 15% และ 30% ตามลำดับที่ปริมาณตัวอ่อนระยะที่สอง 100 ตัว และที่ตัวอ่อนระยะที่สอง 500 ตัว เมื่อใส่ก้อนเชื้อราปฏิปักษ์ 15% และ 30% มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค 47.20 และ 51.73 ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

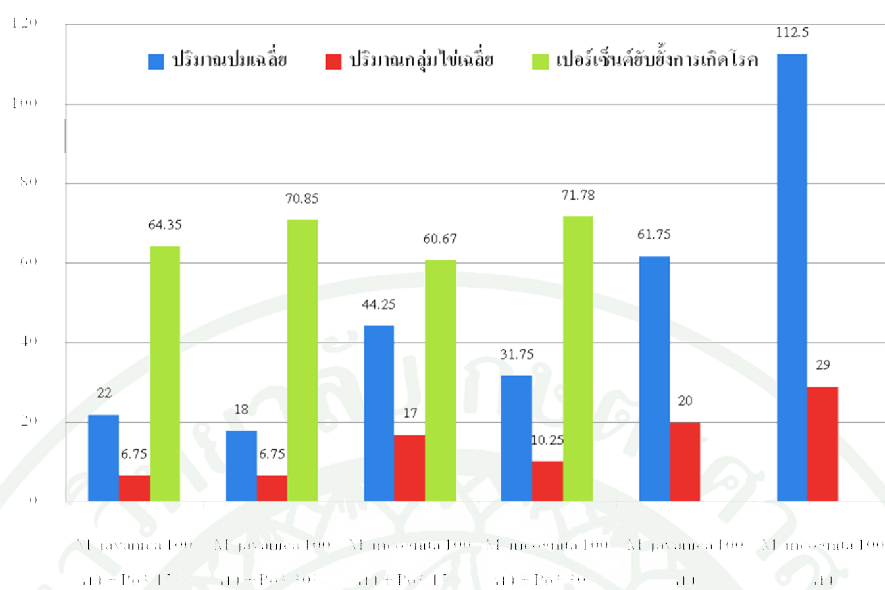
ตารางที่ 6 แสดงผลของเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *Pleurotus ostreatus* ไอโซเลต Po3 ในการควบคุมโรครากปมในมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4

กรรมวิธี	ปริมาณปม เฉลี่ย / ต้น ^{1/}	ปริมาณกลุ่ม ไขเฉลี่ย / ต้น ^{2/}	ระดับการ เกิดปม	เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการ เกิดโรค ^{3/}
<i>M. javanica</i> 100 ตัว + Po3 15%	22.00 ab	6.75 a	3	64.37
<i>M. javanica</i> 500 ตัว + Po3 15%	73.00 de	23.75 b-d	4	57.62
<i>M. javanica</i> 100 ตัว + Po3 30%	18.00 a	6.75 a	3	70.85
<i>M. javanica</i> 500 ตัว + Po3 30%	53.75 b-d	13.00 ab	4	68.80
<i>M. incognita</i> 100 ตัว + Po3 15%	44.25 a-d	17.00 a-d	4	60.67
<i>M. incognita</i> 500 ตัว + Po3 15%	110.75 f	29.50 d	5	47.20
<i>M. incognita</i> 100 ตัว + Po3 30%	31.75 a-c	10.25 ab	4	71.78
<i>M. incognita</i> 500 ตัว + Po3 30%	101.25 ef	15.25 a-c	5	51.73
<i>M. javanica</i> 100 ตัว	61.75 cd	20.00 a-d	4	0
<i>M. javanica</i> 500 ตัว	172.25 g	48.75 e	5	0
<i>M. incognita</i> 100 ตัว	112.50 f	29.00 cd	5	0
<i>M. incognita</i> 500 ตัว	209.75 h	62.50 f	5	0

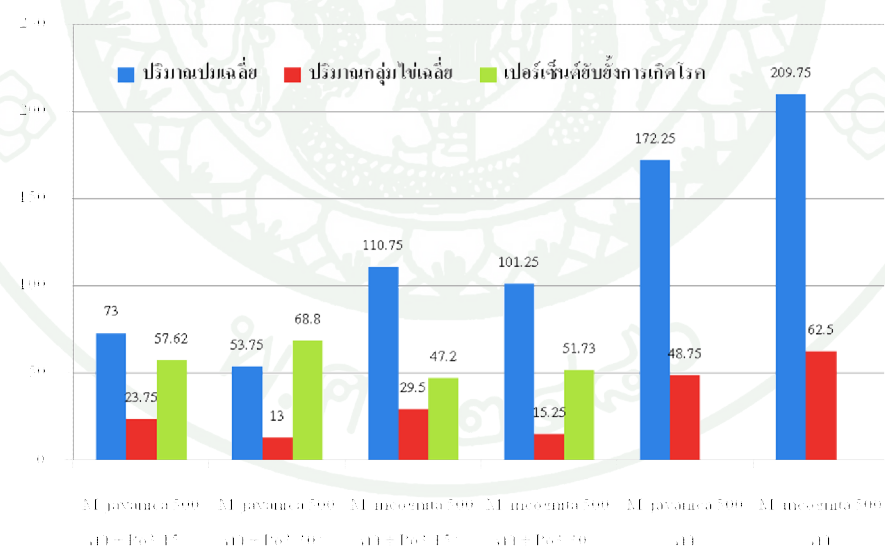
^{1/}ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแนวดิ่งของตารางไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ
เปรียบเทียบโดย Duncan's New Multiple Range Test ($P \leq 0.05$)

^{2/}ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแนวดิ่งของตารางไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ
เปรียบเทียบโดย Duncan's New Multiple Range Test ($P \leq 0.05$)

^{3/}เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค = $\frac{\text{จำนวนปมในกรรมวิธีควบคุม} - \text{จำนวนปมในกรรมวิธีทดลอง}}{\text{จำนวนปมในกรรมวิธีควบคุม}} \times 100$



ภาพที่ 6 แผนภูมิแสดงผลของการใส่เชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *Pleurotus ostreatus* 15% หรือ 30% และใส่ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* หรือ *Meloidogyne javanica* 100 ตัว



ภาพที่ 7 แผนภูมิแสดงผลการใส่เชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *Pleurotus ostreatus* 15% หรือ 30% และใส่ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* หรือ *Meloidogyne javanica* 500 ตัว



ภาพที่ 8 แสดงผลของ *Pleurotus ostreatus* ไอโซเลต Po3 ต่อการเกิดโรครากปมของมะเขือเทศ พันธุ์สีดาทิพย์ 4

A) *Meloidogyne javanica* 500 ตัว B) *M. javanica* 500 ตัว + Po3 30%

C) *M. incognita* 100 ตัว D) *M. incognita* 100 ตัว + Po3 30%

วิจารณ์

ตัวอย่างไส้เดือนฝอยรากปมที่เก็บได้จากต้นคำแยแมวซึ่งเป็นวัชพืชในบริเวณมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน เมื่อนำมาทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ และผ่านการตรวจสอบ species ด้วยวิธีการตรวจรูรอยบนส่วนก้น (perineal pattern) พบว่ามีลักษณะสอดคล้องตรงกับ perineal pattern ของ *M. javanica* (Eisenback *et al.*, 1981) ซึ่งเป็นไส้เดือนฝอยรากปมที่สร้างความเสียหายให้กับพืชเศรษฐกิจหลายชนิดในเขตร้อน มีปริมาณคิดเป็น 31 เปอร์เซ็นต์ของตัวอย่างที่เก็บได้จากหลายๆ ประเทศ (Sasser *et al.*, 1983) รองมาจากไส้เดือนฝอย *M. incognita* ซึ่งมักถูกพบร่วมกัน ไส้เดือนฝอย *M. javanica* เพียงชนิดเดียวทำให้เกิดความสูญเสียของพืชเศรษฐกิจได้ถึง 50% (Jones *et al.*, 1991; Sasser, 1980; Adesiyan *et al.*, 1990) และในประเทศไทยเคยมีรายงานถึงไส้เดือนฝอยรากปมที่พบมากที่สุดคือ *M. javanica* และ *M. incognita* (สืบศักดิ์, 2524) ซึ่งจากการสำรวจและจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยรากปมใน จังหวัดทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือก็พบว่าเป็นไส้เดือนฝอย 2 ชนิดนี้อาศัยอยู่ปะปนกัน (สุภารัตน์, 2550; สุรศักดิ์ และคณะ, 2554)

จากการศึกษาชีวิตจักรของไส้เดือนฝอยรากปม *M. javanica* ในมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4 พบว่าตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยเข้าทำลายบริเวณปลายรากในส่วน of zone of cell elongation สอดคล้องกับรายงานของ Karssen and Moens (2006) ที่กล่าวว่าตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมเคลื่อนที่เข้าหารากพืชอาศัยไปรวมอยู่บริเวณ zone of cell elongation เหนือส่วนของ root cap และเข้ารากบริเวณนั้น จากการทดลองนี้ไส้เดือนฝอย *M. javanica* ใช้เวลาในการเจริญครบชีวิตจักรประมาณ 38 วัน ที่อุณหภูมิประมาณ 25 – 30 องศาเซลเซียส ซึ่งใช้ระยะเวลานานกว่าชีวิตจักรของไส้เดือนฝอย *M. javanica* ในแตงกวาที่ทดสอบที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) โดยยุพารณ์ (2529)

เมื่อเปรียบเทียบการเข้าทำลายระหว่างไส้เดือนฝอย *M. incognita* ไอโซเลตเพชรบุรี กับไส้เดือนฝอย *M. javanica* ไส้เดือนฝอย *M. incognita* มีการเข้าทำลายมะเขือเทศได้มากกว่าโดยดูจากปริมาณปมรากที่เกิดขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Minz and Strich – Harari (1959) ที่พบว่าในสภาพอากาศที่มีอุณหภูมิสูงไส้เดือนฝอย *M. incognita* มีความสามารถเข้าทำลายได้ดีกว่าไส้เดือนฝอย *M. javanica* และ *M. hapla* ซึ่งในการทดลองนี้มีอุณหภูมิในโรงเรือนเฉลี่ย 30 องศาเซลเซียส และจากรายงานของ Manzanilla – Lopez and Starr (1993) ที่กล่าวว่าไส้เดือนฝอย *M. incognita* มีความได้เปรียบในการดำรงชีวิตมากกว่า *M. javanica* และ *M. hapla* ที่อุณหภูมิ 25 – 32 องศาเซลเซียส แต่อย่างไรก็ตามเมื่อใส่ไส้เดือนฝอย *M. incognita* ไอโซเลตเพชรบุรี ร่วมกับ

M. javanica พบว่าทำให้เกิดอาการรากปมของมะเขือเทศมากที่สุดคือเกิดจำนวนปมเฉลี่ย 274.29 ปม สอดคล้องกับงานทดลองของ McGawley and Winchell (1987) ที่พบว่าเมื่อ *M. incognita* และ *M. javanica* เข้าทำลายตัวเห็บเลี้ยงร่วมกันทำให้ตัวเห็บเกิดอาการรากปมอย่างรุนแรงมากกว่าการเข้าทำลายของ *M. javanica* เพียง species เดียว

ประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรม *P. ostreatus* ไอโซเลต Po3 ต่อการทำลายกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอย *M. javanica* พบว่ามีประสิทธิภาพดีที่สุดในช่วงเวลา 24 – 72 ชั่วโมง โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการฟักของกลุ่มไข่สูงที่สุด 53.93% ที่ 24 ชม. หลังวางกลุ่มไข่ไว้กับเชื้อราปฏิปักษ์ และเมื่อนำกลุ่มไข่ที่ถูกเส้นใยเชื้อรา infect มาฟักในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ พบว่าการฟักเป็นตัวอ่อนระยะที่สองลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการฟักได้ 77.42% ซึ่งการฟักของกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยที่ลดลงอาจเป็นผลมาจากสารที่เส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์สร้างขึ้น ได้แก่ เอนไซม์ protease (Palmieri *et al.*, 2001) ไปมีผลต่อโครงสร้างของกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยซึ่งมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบทั้งในส่วน gelatinous matrix และชั้นของเปลือกไข่ (Bird and McClure, 1976; Bird and Bird, 1991; Sharon and Spiegel, 1993) ทำให้สารพิษ ostreatin ที่เชื้อราผลิตขึ้น (Thorn and Barron, 1984) เข้าไปทำลายตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยที่อยู่ภายในไข่ แต่อย่างไรก็ตามเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการฟักที่ 96 และ 120 ชม. ลดต่ำลงอาจเกิดจากไข่ของไส้เดือนฝอยที่อยู่ลึกเข้าไปในกลุ่มไข่ซึ่งไม่ได้รับผลกระทบจากสารที่เชื้อราปฏิปักษ์ผลิตขึ้น สามารถฟักออกมาทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการฟักลดต่ำลง แต่อย่างไรก็ตามตัวอ่อนระยะที่สองที่ฟักออกมาจะถูกเข้าทำลายโดยสารพิษและเส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์ในที่สุดตามรายงานของ อมรศรี และคณะ (2548)

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารกรองก้อนเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *P. ostreatus* ไอโซเลต Po3 ต่อการฟักกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอย *M. javanica* พบว่าสามารถลดการฟักเป็นตัวอ่อนระยะที่สองได้อย่างมีนัยสำคัญในทุกความเข้มข้นของสารกรอง โดยมีการฟักเป็นตัวอ่อนระยะที่สองเฉลี่ยต่ำสุด 1.75 ตัว ที่ความเข้มข้นสารกรอง 50% และ 100% คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการฟักเท่ากับ 97.74% ซึ่งประสิทธิภาพในการยับยั้งการฟักกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยอาจเป็นผลมาจากสารที่เชื้อราปฏิปักษ์สร้างขึ้น ได้แก่ เอนไซม์ protease ซึ่งไปทำลายโครงสร้างของกลุ่มไข่ที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ เป็นการเปิดช่องทางให้สารพิษ ostreatin ที่เห็ดสร้างขึ้นเข้าไปฆ่าตัวอ่อนไส้เดือนฝอยที่อยู่ภายในไข่มาก่อนฟักออกมา นอกจากสารพิษ ostreatin ที่เชื้อราปฏิปักษ์สร้างขึ้นแล้วยังมีสารในกลุ่ม phenol ซึ่งเป็นสารที่เกิดจากการย่อยสลาย lignin เช่น cinnamic acid และ caffeic acid (Burton and Eastwood, 2009; Koncsag *et al.*, 2012) ซึ่งมีรายงานความเป็นพิษต่อตัวอ่อนระยะที่สองและกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita*

(Mahajan *et al.*, 1985) นอกจากสารพิษดังกล่าวข้างต้นยังมีรายงานเกี่ยวกับเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas putida* ที่แยกได้จากเส้นใย (mycelial plane) ของเชื้อ *P. ostreatus* ที่เจริญในก้อนวัสดุเพาะเลี้ยง ซึ่งแบคทีเรียชนิดนี้มีผลส่งเสริมการเจริญของเส้นใยเห็ดและการสร้างดอกเห็ด (Cho *et al.*, 2002) จึงเป็นไปได้อีกทางหนึ่งว่าการยับยั้งการฟักกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอย *M. javanica* เป็นผลมาจากแบคทีเรีย *Pseudomonas putida* ซึ่งเคยมีรายงานในการใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. โดยลดการฟักของกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอย และลดการเข้าทำลายรากของตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Siddiqui *et al.*, 2007; Akhtar and Siddiqui, 2009)

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ทั้งผลของตัวเชื้อและสารกรองจากก้อนเชื้อต่อการควบคุมไส้เดือนฝอย *M. javanica* ในระดับห้องปฏิบัติการมีแนวโน้มสามารถควบคุมไส้เดือนฝอย *M. javanica* ได้ดี สอดคล้องกับงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้เชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรม *Pleurotus* sp. ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. (Heydari *et al.*, 2006; Palizi *et al.*, 2009) เมื่อนำก้อนเชื้อราปฏิปักษ์มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากปมของมะเขือเทศในสภาพโรงเรือน ผลการทดสอบจึงสอดคล้องกับผลการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการ และสอดคล้องกับการทดลองของ อมรศรี และคณะ (2548) ที่ใช้ก้อนเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรม อังการี *P. ostreatus* ที่หยุดเก็บดอกแล้วผสมกับวัสดุปลูกสามารถลดการเกิดโรครากปมที่เกิดจากไส้เดือนฝอย *M. incognita* ได้ สำหรับในงานทดลองนี้พบว่าเมื่อใส่ก้อนเชื้อราปฏิปักษ์สามารถลดการเกิดรากปมในมะเขือเทศได้อย่างมีนัยสำคัญเทียบกับกรรมวิธีไม่ใส่ก้อนเชื้อราปฏิปักษ์ และมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคมากกว่า 50% ในทุกกรรมวิธี ยกเว้นกรรมวิธีที่ใส่ตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอย *M. incognita* 500 ตัวและใส่ก้อนเชื้อราปฏิปักษ์ 15% มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรคเท่ากับ 47.20 เนื่องจากไส้เดือนฝอย *M. incognita* มีความสามารถในการก่อโรคได้ดีกว่าไส้เดือนฝอย *M. javanica* ดังผลการทดสอบความสามารถในการเข้าทำลายมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4 จึงเป็นเหตุให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรคโดยเชื้อราปฏิปักษ์ในกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอย *M. incognita* ต่ำกว่าในกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอย *M. javanica*

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

ไส้เดือนฝอยรากปมที่แยกได้จากต้นตำแยแมวจากแปลงในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน เมื่อตรวจลักษณะของ perineal pattern พบว่าเป็นไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica*

การเปรียบเทียบการเข้าทำลายมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4 โดยไส้เดือนฝอย *M. javanica* และ *M. incognita* พบว่าไส้เดือนฝอย *M. incognita* เข้าทำลายมะเขือเทศได้ดีกว่า *M. javanica* โดยทำให้เกิดอาการรากปมมากกว่า และการเข้าทำลายร่วมกันของไส้เดือนฝอยทั้งสองชนิดมีแนวโน้มทำให้เกิดอาการรากปมมากกว่าการเข้าทำลายโดยไส้เดือนฝอยเพียงชนิดเดียว

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *P. ostreatus* ในห้องปฏิบัติการการยับยั้งการฟักของกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอย *M. javanica* ในการทดลองที่ใช้ตัวเชื้อบนอาหาร WA สามารถลดการฟักของกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการฟักที่สูงที่สุดเท่ากับ 53.93 ที่ 24 ชั่วโมงหลังวางกลุ่มไข่บริเวณปลายเส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์ สำหรับในกรรมวิธีที่ใช้สารกรองจากก้อนเชื้อราปฏิปักษ์ที่เจริญในอาหารจีเลอซผสมสามารถลดการฟักของกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยได้อย่างมีประสิทธิภาพเช่นกัน โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการฟักของกลุ่มไข่สูงที่สุดเท่ากับ 97.74 ที่ความเข้มข้นของสารกรอง 50% และ 100%

ประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *P. ostreatus* ในการควบคุมโรครากปมของมะเขือเทศที่เกิดจากไส้เดือนฝอย *M. javanica* และ *M. incognita* ในสภาพโรงเรือน พบว่าเมื่อใช้ก้อนเชื้อราปฏิปักษ์ผสมกับดินอบนึ่งฆ่าเชื้อในอัตรา 15% และ 30% โดยน้ำหนักของวัสดุปลูก สามารถลดการเกิดรากปม และลดปริมาณการเกิดกลุ่มไข่ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมไม่ใส่ก้อนเชื้อราปฏิปักษ์ โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการฟักที่สูงที่สุดคือ 75.6% ในกรรมวิธีที่ใส่ก้อนเชื้อราปฏิปักษ์ผสมกับดินอบนึ่งฆ่าเชื้อในอัตรา 30% โดยน้ำหนักของวัสดุปลูก และ ใส่ไส้เดือนฝอย *M. incognita* 500 ตัว รองลงมาคือ 73.33% เมื่อใส่ก้อนเชื้อราปฏิปักษ์ผสมกับดินอบนึ่งฆ่าเชื้อในอัตรา 30% โดยน้ำหนักของวัสดุปลูก และ ใส่ไส้เดือนฝอย *M. javanica* 500 ตัว

ข้อเสนอแนะ

การนำเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *P. ostreatus* ไอโซเลต Po3 ไปใช้ในสภาพแปลงโดยผสมกับวัสดุปลูกหรือใส่รองก้นหลุม โรยก้อนเชื้อรอบๆ ระบบรากพืชในขั้นตอนย้ายพืชลงปลูกในแปลง เพื่อป้องกัน และลดการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม นอกจากนี้ยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ดังเช่นในรายงานของ Okorie *et al.*, 2011 ที่พบว่าการใช้ก้อนเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *P. ostreatus* ซึ่งหยุดเก็บดอกแล้ว สามารถลดการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม และส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นถั่วเหลือง เพิ่มปริมาณปมรากถั่ว และผลผลิตของถั่วเหลืองได้ สำหรับสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมฮังการี *P. ostreatus* คือ อุณหภูมิ 30 - 32 องศาเซลเซียส เจริญเติบโตได้ดีในสภาพที่เป็นกรดเล็กน้อย หรือมี pH ระหว่าง 5 - 5.2 ดังนั้นการใช้เชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *P. ostreatus* ในการควบคุมโรครากปมของมะเขือเทศ หากในสภาพธรรมชาติมีสภาพแวดล้อมที่เอื้อต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดมากก็จะทำให้เส้นใยเห็ดเจริญเติบโตได้ดี ส่งผลดีต่อการควบคุม

สำหรับสารกรองจากก้อนเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *P. ostreatus* ไอโซเลต Po3 ที่พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการฟักของกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอย *M. javanica* สูง นับเป็นหัวข้อที่น่าสนใจในการศึกษาต่อยอดเกี่ยวกับองค์ประกอบของสารซึ่งมีความเป็นไปได้ทั้งสารพิษจากเชื้อราปฏิปักษ์(ostreatin) สารในกลุ่ม Phenol ซึ่งได้จากย่อยสลายวัสดุโดยเชื้อราปฏิปักษ์ (Burton and Eastwood, 2009; Koncsag *et al.*, 2012) และเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* spp. ซึ่งมีรายงานว่าเจริญร่วมอยู่กับเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *P. ostreatus* (Cho *et al.*, 2002) เป็นต้น โดยทั้งสามสมมติฐานนี้ล้วนแล้วแต่มีรายงานในการใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมทั้งสิ้น (Thorn and Barron, 1984 ; Mahajan *et al.*, 1985 ; Siddiqui *et al.*, 2007; Akhtar and Siddiqui, 2009)

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2549. การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

นิพนธ์ วิสารทนนท์. 2542. โรคฝรั่ง. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ปัญญา โพธิ์จิตรพันธ์. 2538. เทคโนโลยีการเพาะเห็ด. สำนักพิมพ์ริ้วเขียว, กรุงเทพฯ.

ไพโรจน์ ผลประสิทธิ์. 2540. รวมกลยุทธฝรั่ง. หจก. มิตรเกษตรการค้าและโฆษณา, กรุงเทพฯ.

ยุพาภรณ์ วงศ์เกิด. 2529. ผลของไส้เดือนฝอยรากปม (*Meliodogyne javanica*) ที่มีต่อแมลงกา
2 พันธุ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. ภาควิชาโรคพืช, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สถิรวงศ์ แจ่มจรรยา. 2526. ความเสียหายของมะเขือเทศที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม
(*Meloidogyne incognita*). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมชาย สุขะกุล. 2549. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชและการควบคุม. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร
กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน์. 2524. โรคมะเขือเทศที่เกิดจากไส้เดือนฝอย. ข่าวสารโรคพืช 1(1): 6 - 12.

_____. 2538. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในประเทศไทย. สำนักพิมพ์ริ้วเขียว, กรุงเทพฯ.

_____. 2541. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช: โรคและการจัดการ. สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน, กรุงเทพฯ.

_____ และ สมชาย สุขะกุล. 2527. มาตรฐานการวัดการเป็นโรครากปมเกิดจากไส้เดือนฝอย
ของพืชผัก. วารสารโรคพืช 4 (1-3): 22 - 27.

- สุภารัตน์ โชกเสน. 2550. การจัดจำแนก species และ race ของไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne*) ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยใช้วิธีทางชีวโมเลกุลและวิธีใช้พืชทดสอบจำเพาะ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- สุรศักดิ์ แสนโคตร, อนันต์ หิรัญสาดี และเพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. 2554. การจัดจำแนกชนิด (species) และ เรซ (race) ของไส้เดือนฝอยรากปม ในพื้นที่เพาะปลูกภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและปฏิกิริยาพืชจำเพาะ. เกษตร 39: 213 – 218.
- อมรศรี ขุนอินทร์, สมชาย สุขะกุล, จิระเดช แจ่มสว่าง และ ประภาพร ตั้งกิจโชติ. 2548. อิทธิพลของเห็ดบางชนิดที่มีต่อไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน นครปฐม.
- Adesiyan, S. O., F. E. Caveness, M. O. Adeniyi and F. Fawole. 1990. **Nematode pests of tropical crops**. Heinemann Educational Books (Nig). Ltd. 20 -22.
- Akhtar, M. S. and Z. A. Siddiqui. 2009. Use of plant growth-promoting rhizobacteria for the biocontrol of root-rot disease complex of chickpea. **Australasian Plant Pathology** 38: 44 – 50.
- Babatola, J. and E. E. A. Oyedunmade. 1992. Host – parasite relationships of *Psidium guajava* cultivars and *Meloidogyne incognita*. **Nematologia mediterranea** 20: 233 – 235.
- Barker, K. R., and T. H. A. Olthof. 1976. Relationships between nematode population densities and crop responses. **Annual Review of Phytopathology** 14: 327 - 353.
- Bird, A. F.. 1972. Quantitative studies on the growth of syncytia induced in plants by root knot nematodes. **International Journal for Parasitology** 2: 157 – 170.

- _____ and H. R. Wallace. 1965. The influence of temperature on *Meloidogyne hapla* and *M. javanica*. **Nematologica** 11: 581 – 589.
- _____ and M. A. McClure, 1976 . The tylenchid (Nematoda) egg shell: structure, composition and permeability. **Parasitology** 72: 19 – 28
- _____ and J. Bird. 1991. **The Structure of Nematodes, second ed.** Academic Press, San Diego, London.
- Burton, K. and D. Eastwood. 2009. Microbial breakdown of plant wastes in solid – state biorefinery. **In: 5th International Conference on Renewable Resources and Biorefineries**
- Carneiro, R. M. D. G., P. A. Ciroto, A. P. Quintanilha, D. B. Silva and R. G. Carneiro. 2007. Resistance to *Meloidogyne mayaguensis* in *Psidium* spp. accessions and their grafting compatibility with *P. guajava* cv. Paluma. **Fitopatologia Brasileira** 32.
- _____, W. A. Moreira, M. R. A. Almeida and A. C. M. M. Gomes. 2001. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. **Nematologia Brasileira** 25.
- Cho, Y. K., K. Jong – Shik, D. E. Crowley and C. Bong – Gum. 2003. Growth promotion of the edible fungus *Pleurotus ostreatus* by fluorescent pseudomonads. **FEMS Microbiology Letters** 218: 271 – 276.
- Davide, R. G. and A. C. Triantaphyllou. 1967. Influence of the environment on development and sex differentiation of root-knot nematodes II. Effect of host nutrition. **Nematologica** 13: 111 – 117.

- 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**. Raleigh, North Carolina. 48 p.
- Godfrey, G. H. and J. Oliveira. 1932. The development of the root – knot nematode in relation to root tissues of pineapple and cowpea. **Phytopathology** 22: 325 – 348.
- Gomes, V. M, R. M. Souza, F. M. Correˆa and C. Dolinski. 2010. Management of *Meloidogyne mayaguensis* in commercial guava orchards with chemical fertilization and organic amendments. **Nematologia Brasileira** 34.
- Heydari, R., E. Pourjam and E. Mohammadi Goltapeh. 2006. Antagonistic effect of some species of *Pleurotus* on the Root – Knot Nematode, *Meloidogyne javanica* *in vitro*. **Plant Pathology Journal** 5(2): 173 – 177.
- Ibrahim, I. K. A., I. A. Ibrahim and S. I. Massoud. 1972. Induction of galling and lateral roots on five varieties of soybean by *Meloidogyne javanica* and *M. incognita*. **Plant Disease Reporter** 56: 882 – 884.
- _____. and S. A. Lewis. 1985. Host – parasite relationships of *Meloidogyne arenaria* and *M. incognita* on susceptible soybean. **Journal of Nematology** 17 (4).
- Iwahori, H., N. T. N. Truc, D. V. Ban and K. Ichinose. 2009. First report of root – knot nematode *Meloidogyne enterolobii* on guava in Vietnam. **Plant disease** 93(6): 675.
- Jones, J. B., J. P. Jones, R. E. Stall, and T. A. Zitter. 1991. **Compendium of Tomato Diseases**. American Psychopathological Society. St. Paul MN.
- Karssen, G. and M. Moens. 2006. Root – knot Nematodes, pp. 60 – 90. *In* R. N. Perry and M. Moens, eds. **Plant Nematology** CAB International, UK.

- Khan, A., K. L. Williams and H. K. M. Nevalainen. 2004. Effect of *Paecilomyces lilacinus* protease and chitinase on the eggshell structures and hatching of *Meloidogyne javanica* juveniles. **Biological Control** 31: 346 – 352.
- _____. 2006 . Infection of plant – parasitic nematodes by *Paecilomyces lilacinus* and *Monacrosporium lysipagum*. **Biological Control** 51: 659 - 678.
- Koncsag, C. I., D. Eastwood, A. E. C. Collis, S. R. Coles and A. J. Clark. 2012. Extracting valuable compounds from straw degraded by *Pleurotus ostreatus*. **Resources, Conservation and Recycling** 59: 14 – 22.
- Lamberti, F. I. and R. C. Baines. 1969. Pathogenicity of four species of *Meloidogyne* on three varieties of olive trees. **Journal of Nematology** 1: 111 - 115.
- Mahajan, R., P. Singh and K. L. Bajaj. 1985. Nematicidal activity of some phenolic compounds against *Meloidogyne incognita*. **Revue. Nematol.** 8(2): 161 – 164.
- Mani, A. and M. Al Hinai. 1996. Host range and distribution of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* in the sultanate of Oman. **Nematropica** 26(1): 73 – 79.
- Manzanilla – Lopez, R. H. and J. L. Starr. 2009. Interactions with Other Pathogen, pp 223 – 240. In R. N. Perry, M. Moens and J. L. Starr, eds. **Root – Knot Nematodes**. CAB International 2009, UK
- McGawley, E. C. and K. L. Winchell. 1987. Greenhouse reproduction of single and combined *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* population on soybean. **Journal of Nematology** 19: 542
- Meon, S., H. R. Wallace and J. M. Fisher. 1978. Water relations of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill cv. Early Dwarf) infected with *Meloidogyne javanica* (Treub), Chitwood. **Physiol. Pl. Path** 13: 275–281.

- Milne, D.L. and D. P. Du Plessis. 1964. Development of *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood, on tobacco under fluctuating soil temperatures. **South Africa Journal of Agricultural Science** 7: 737 – 759.
- Minz, G. and D. Strich – Harari . 1959. Inoculation experiments with a mixture of *Meloidogyne* spp. on tomato roots. **Ktavim Records Agricultural Experiment Station** 9: 275 – 9
- Okorie, C. C., C. C. Ononuju and I. A. Okwujiako. 2011. Management of *Meloidogyne incognita* with *Pleurotus ostreatus* and *P. tuberregium* in Soybean. **International Journal of Agriculture & Biology** 13(3): 401 - 405
- Palmieri, G., C. Bianco, G. Cennamo, P. Giardina, G. Marino, M. Monti and G. Sannia. 2001. Purification, Characterization, and Functional Role of a Novel Extracellular Protease from *Pleurotus ostreatus*. **American Society for Microbiology** 67(6): 2754 - 2759
- Palizi, P., E. M. Goltapeh, E. Pourjam and N. Safaie. 2009. Potential of oyster mushrooms for the biocontrol of sugar beet nematode (*Heterodera schachtii*). **Journal of plant protection research**
- Pereira, F. M, R. M. Souza, P. M. Souza, C. Dolinski, G. K. Santos. 2009. Estimativa do impacto econômico e social direto de *Meloidogyne mayaguensis* na cultura da goiaba no Brasil. **Nematologia Brasileira** 33: 176 - 181.
- Pitcher, J. R.. 1974. Reduction of resistance of tomato to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology** 6: 148.
- Roberts, P.A. and S.D. Van Gundy. 1981. The development and influence of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* on wheat. **Journal of Nematology** 1: 345 – 352.

- Rammah, A., and H. Hirschmann. 1988. *Meloidogyne mayaguensis* n. sp. (Meloidogynidae), a root-knot nematode from Puerto Rico. **Journal of Nematology** 20: 58 – 69.
- Sahebani, N. and N. Hadavi. 2008. Biological control of the root – knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma hazianum*. **Soil Biology and Biochemistry** 40: 2016 – 2020.
- Salem, A. A. and M. F. M. Eissa. 1981. Inoculation potential of the Japanese root-knot nematode *Meloidogyne javanica* (Treub, 1985) Chitwood, 1949 in relation to early growth of squash, *Cucurbita pepo* var. *Melopepo* L. **Res. Bull. Faculty of Agri., Zagazing Uni., Egypt.** 8: 408.
- Sasser, J. N.. 1980. Root Knot nematodes; A global menace to crop production. **Plant Disease** 64: 36-41.
- _____, J. N. Eisenback and C. C. Carter. 1983. The International Meloidogyne project – its goals and accomplishments. **Annual Review of Phytopathology** 21: 271 – 288.
- Schlang, J. and R. A. Sikora. 1978. Interactions between *Meloidogyne arenaria*, *Verticillium dahlia* and *Phytophthora cryptogea* on *Gerbera jamesonii*. **Zeitschrift fuer Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz** 85.
- Siddiqui, I. A. and S. Ehteshamul – Haque. 2000. Effect of *Verticillium chlamydosporium* and *Pseudomonas aeruginosa* in the control of *Meloidogyne javanica* on tomato. **Nematologia Mediterranea** 28: 193 - 196 .
- _____, S. S. Shaikat and A. Khan. 2004. Differential impact of some *Aspergillus* species on *Meloidogyne javanica* biocontrol by *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0. **Letters in Applied Microbiology** 39: 74 – 83.

- Siddiqui, Z. A., G. Baghel and M. S. Akhtar. 2007. Biocontrol of *Meloidogyne javanica* by *Rhizobium* and plant growth-promoting rhizobacteria on lentil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 23: 435 - 441.
- Siqueira, K. M. S., V. M. Freitas and M. R. A. Almeida. 2009. Detecção de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e mamoeiro no estado de Goiás, usando marcadores moleculares. **Tropical Plant Pathology** 34.
- Sharon, E. and Y. Spiegel. 1993. Glycoprotein Characterization of the Gelatinous Matrix in the Root – knot Nematode *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology** 25(4): 585 – 589.
- Stirling, G. R.. 1984. Biological Control of *Meloidogyne javanica* with *Bacillus penetrans*. **Phytopathology** 74(1): 55 – 60.
- Swarup, G. and K. J. Pillai. 1964. Root – knot of vegetable III. Factors affecting hatching of eggs of *Meloidogyne javanica* and *M. incognita*. **Indian Phytopathology** 17: 88 – 97.
- Taylor, A. L. and J. N. Sasser. 1978. **Biology Identification and Control of Root – Knot Nematodes (*Meloidogyne* species)**. North Carolina State University Graphics, Raleigh, North Carolina, U.S.A., 111 pp.
- Thorn, R. G.. 2000. Phylogenetic analysis & the distribution of nematophagy support a monophyletic Pleurotaceae within the polyphyletic pleurotoid-lentinoid fungi. **Mycologia**. 92(2): 241 - 252.
- _____. G.L and Barron. 1984. Canivorous mushroom. **Sciences**. 224: 76 - 78.
- Thorne, G.. 1927. The life history, habits and economic importance of some mononchs. **Journal of Agricultural Research** 34: 265 – 286.

- Thomason, J. J. and B. Lear. 1961. Rate of reproduction of *Meloidogyne* spp. as influenced by soil temperature. **Phytopathology** 51: 520 – 524.
- Vagelas, I. K., B. Pembroke, S. R. Gowen and K. G. Davies. 2007. The control of root - knot nematode (*Meloidogyne* spp.) by *Pseudomonas oryzihabitans* and its immunological detection on tomato roots. **Nematology** 9(3): 363 – 370.
- Valdez, R.B. 1978. Nematodes Attacking Tomato and Their Control. **1st International Symposium on Tropical Tomato**. Taiwan, 136 pp.
- Viaene, N. M. and G. S. Abawi. 2000. *Hirsutella rhossiliensis* and *Verticillium chlamydosporium* as biocontrol agents of the root – knot nematode *Meloidogyne hapla* on lettuce. **Journal of Nematology** 32(1): 85 – 100.
- Xu, J., P. Liu, Q. Meng, and H. Long, 2004. Characterisation of *Meloidogyne* species from China using isozyme phenotypes and amplified mitochondrial DNA restriction fragment length polymorphism. **European Journal of Plant Pathology** 110: 309 - 315.





ภาพผนวกที่ 1 ตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne javanica* ซึ่งฟักออกจากไข่ ถูกเส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *Pleurotus ostreatus* ไอโซเลต Po3 เข้าทำลาย (กำลังขยาย 400x)



ภาพผนวกที่ 2 Fruiting body ของเชื้อราปฏิปักษ์สกุลเห็ดนางรมฮังการี *Pleurotus ostreatus* ไอโซเลต Po3 ในกระถางทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากปม

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวเกษิณี ศรีไพร
วัน เดือน ปี ที่เกิด	5 ธันวาคม 2526
สถานที่เกิด	อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	นักวิชาการส่งเสริมการเกษตร
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-