KKU Res. J. 2013; 18(5): 824-831
http : //resjournal.kku.ac.th

ประสิทธิภาพของเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* Speg. ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita* Chitwood) ในมะเขือเทศ

Efficiency of luminescent mushroom, *Neonothopanus nambi* Speg. for controlling root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita* Chitwood) in tomatoes

วีรวัตร นามานุศาสตร์[1], วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์[1,2] อนันต์ หิรัญสาลี[1,2] และรัศมี เหล็กพรม[3]*
Weravart Namanusart[1], Weerasak Saksirirat[1,2], Anan Hirunsalee[1,2] and Ratsami Lekphrom[3]*

[1] *ภาควิชาพืชศาสตร์ และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
[2] *ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และศูนย์ความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร (AG-BIO/PERDO-CHE) สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สบว.) สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ*
[3] *ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
* *Correspondent author: weerasak@kku.ac.th*

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi 2* ไอโซเลต (KKU2 และ PW2) ในการควบคุมโรครากปมมะเขือเทศในสภาพเรือนทดลอง พบว่าการใส่หัวเชื้อหรือผลิตภัณฑ์จากเห็ดเรืองแสงไอโซเลต PW2 ก่อนใส่ไข่ไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* เป็นเวลา 10 วัน สามารถลดจำนวนปมรากในรากมะเขือเทศได้ดีที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ส่วนของ culture filtrate (30 มล./กระถาง)และเส้นใยก้อนเชื้อ (30 กรัม/กระถาง) ก่อนใส่ไข่ไส้เดือนฝอยเป็นเวลา 10 วัน มีเปอร์เซ็นต์ปมราก 1.50 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีจำนวนไส้เดือนฝอยในรากเท่ากับ 139.70 และ170.71 ตัวต่อราก 1 กรัม ขณะที่การใช้ culture filtrate (15 มล./กระถาง) ร่วมกับเส้นใยก้อนเชื้อของเห็ดเรืองแสงไอโซเลต PW2 (15 กรัม/กระถาง) มีจำนวนไส้เดือนฝอยในรากน้อยที่สุด เท่ากับ 74.14 ตัวต่อราก 1 กรัม ในขณะที่กรรมวิธีที่ไม่ใส่เชื้อเห็ดเรืองแสง ต้นมะเขือเทศมีจำนวนไส้เดือนฝอยในราก 1,036 ตัว/ราก 1 กรัม

Abstract

The objective of this research was to examine the efficiency of spawn or bio-product from 2 isolates (KKU2 and PW2) of luminescent mushroom (*Neonothopanus nambi*) for controlling root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on tomato under greenhouse condition. The high potential biological control agent was isolate PW2, when applied with culture filtrate of 30 ml/pot and spawn of 30 g/pot 10 days before inoculation with nematode eggs showed root gall reduction of 1.50 and 1.00%, respectively and 139.70 and 170.71 infective larvae per 1 g of roots. The lowest infective larvae count (74.14), was obtained from combined treatments of culture filtrate (15 ml/pot) and spawn (15 g/pot), while the control treatment showed 1,036 infective larvae per 1 g of roots.

คำสำคัญ: การควบคุมโดยชีววิธี, เห็ดเรืองแสง, เชื้อราปฏิปักษ์, ไส้เดือนฝอยรากปม

Keywords: Biological control, Luminescent mushroom**,** antagonistic-fungi, root-knot nematode

1. บทนำ

ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* เป็นศัตรูพืชที่มีความสำคัญอันดับ 1 ใน 5 ของศัตรูพืชที่สร้างความเสียหายให้แก่พืชเศรษฐกิจได้ทั่วโลก รวมถึงมะเขือเทศ (1) พืชที่ถูกไส้เดือนฝอยรากปมเข้าทำลายจะมีอาการรากบวมเป็นปุ่มปม ทำให้รากพืชไม่สามารถดูดน้ำและอาหารไปใช้ได้ (2) ส่งผลให้พืชแคระแกรน เหี่ยวง่าย ใบเหลือง ผลผลิตลดลง และทำให้ต้นล้ม หรือตายได้ ถ้าถูกเข้าทำลายในระยะต้นกล้า การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เป็นแนวทางหนึ่งที่ได้รับความสนใจนำมาใช้ เนื่องจากสามารถควบคุมไส้เดือนฝอยได้โดยตรง และสามารถลดการใช้สารเคมีได้ (3) เชื้อราหลายชนิดเป็นศัตรูธรรมชาติของไส้เดือนฝอยรากปม เช่นเชื้อรา *Arthrobotrys dactyloides, A. irregularis, A. conoides* และ *Dactylolaria* spp. สามารถเข้าทำลายไข่ ตัวอ่อน (infective larvae) และตัวเต็มวัยของไส้เดือนฝอยรากปมได้โดยการสร้างเส้นใยเป็นห่วงรัดหรือกับดักเป็นกาวเหนียวแล้วดูดรัดกินไส้เดือนฝอย (4) เชื้อรา *Pochonia chlamydosporium* และ *Paecilomyces lilacinus* เป็นปรสิตของไข่ไส้เดือนฝอย (5) นอกจากนี้มีการศึกษานำสาร secondary metabolite ที่ได้จาก culture filtrate ของเห็ดเรืองแสง *Omphalotus olearius* ที่เลี้ยงในอาหาร yeast glucose malt (YGM) ซึ่งเป็นสารชื่อว่า Omphalotin มาใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* แล้วพบว่าได้ผลเป็นอย่างดี (6)

ในประเทศไทยการศึกษาเพื่อนำเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* มาใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* (7, 8) พบว่าส่วนของ culture filtrate และเส้นใยก้อนเชื้อเห็ดมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากปมในมะเขือเทศได้ (9) ต่อมาจึงได้ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเส้นใยของเห็ดเรืองแสง *N. nambi* พบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชื่อ aurisin A ซึ่งเมื่อใช้สารนี้ที่ความเข้มข้น 500 ppm ทำให้ตัวอ่อนระยะที่ 2 (J2) ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ตาย 100 เปอร์เซ็นต์ภายในเวลา 1 นาที ในขณะที่ความเข้มข้น 100 ppm และ 50 ppm ทำให้ตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปมตาย ภายในเวลา 30 นาที และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ (10) การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของการใช้หัวเชื้อหรือผลิตภัณฑ์จากเห็ดเรืองแสง *N. nambi* ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในรูปแบบและช่วงเวลาต่างๆ กัน

2. วิธีการวิจัย

2.1 การทดสอบประสิทธิภาพของเห็ดเรืองแสงในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในสภาพเรือนทดลอง

2.1.1 การเตรียม inoculum ของเชื้อเห็ดเรืองแสง

เชื้อเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* ที่ใช้ในการทดสอบมี 2 ไอโซเลต คือไอโซเลต KKU2 และ PW2 ได้รับความอนุเคราะห์จาก รศ. ดร. วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ สาขาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ไอโซเลต PW2 รวบรวมได้จากบริเวณพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี พื้นที่โคกภูตากา อำเภอเวียงเก่า จังหวัดขอนแก่น และไอโซเลต KKU2 แยกได้จากพื้นที่เขตมหาวิทยาลัยขอนแก่น เตรียม culture filtrate ของเชื้อเห็ดเรืองแสงโดยการนำเชื้อเห็ดเรืองแสงทั้ง 2 ไอโซเลตมาเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เป็นเวลา 7 วัน แล้วใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.8 ซม. เจาะวุ้นตรงปลายเส้นใยของเชื้อรา จำนวน 5 ชิ้น ย้ายลงในอาหารเหลว yeast malt broth (YMB) ปริมาตร 25 มล. แล้วนำเข้าเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28°ซ. เป็นเวลา 10 วัน กรองเส้นใยออกด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ให้ได้ culture filtrate สำหรับใช้ทดสอบ สำหรับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ aurisin A สกัดได้จากเส้นใย และ culture filtrate ของเห็ดเรืองแสง *N. nambi* โดยใช้เทคนิค spectroscopy ตามกรรมวิธีของ Bua-art และคณะ (11) นำสาร aurisin A รูปแบบผงที่ได้ไปละลายในสาร DMSO 0.2% ให้มีความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนการเตรียมก้อนเชื้อเห็ด ทำการเลี้ยงเชื้อเห็ดเรืองแสงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นย้ายเส้นใยเชื้อไปเลี้ยงในขวดบรรจุเมล็ดข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28°ซ. เป็นเวลา 10 วัน แล้วเทเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเชื้อเจริญเต็มขวด 15-20 เมล็ดลงบนก้อนขี้เลื่อยไม้ยางพารา นำไปเก็บในโรงบ่มเชื้อจนกว่าเส้นใยเดินเต็มก้อน หลังจากนั้นนำก้อนเชื้อเห็ดที่ได้มาขยี้ให้เส้นใยแยกออกจากกันสำหรับใช้เป็นหัวเชื้อผสมกับดินนึ่งฆ่าเชื้อในอัตรา 30 กรัม/กระถาง

2.1.2 การเตรียมไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita*

การเตรียมไข่ไส้เดือนฝอยกระทำโดยการนำรากมะเขือเทศที่มีอาการรากปม และมีกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยรากปม มาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาด 1 ซม. แช่ในสารละลาย sodium hypochlorite (NaOCl) เข้มข้น 1% นาน 3 นาที พร้อมกับใช้แท่งแก้วกวนเบาๆ เพื่อละลายสารเหนียวและให้ไข่กระจายออกจากกัน จากนั้นเทผ่านตะแกรงหยาบขนาด 32 mesh (ขนาดช่อง 500 µm) โดยมีภาชนะรับรองน้ำอยู่ เพื่อแยกรากออก ใช้น้ำฉีดไล่ไข่ที่ติดค้างบนตะแกรงลงในภาชนะ หลังจากนั้นเทผ่านตะแกรงละเอียดขนาด 500 mesh (ขนาดช่อง 25 µm) ใช้น้ำฉีดไล่ไข่ลงในภาชนะเติมน้ำเพื่อเจือจาง NaOCl แล้วเทผ่านตะแกรงละเอียดอีก ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง ถ่ายลงบีกเกอร์ นำไข่แขวนลอยไปตรวจนับความหนาแน่น โดยวิธีการสุ่มนับไข่จากบีกเกอร์มาจำนวน 4 ครั้ง ๆ ละ 5 มิลลิลิตร เทใส่ถาดพลาสติกขนาด 3X7.5 ซม. ซึ่งก้นถาดขีดแบ่งออกเป็นช่องสี่เหลี่ยมขนาดเล็กเท่ากันทุกช่อง ตรวจนับไข่ไส้เดือนฝอยที่อยู่ในแต่ละช่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ แล้วคำนวณปริมาณไข่ต่อ 1 มล. จากนั้นจึงคำนวณปรับความหนาแน่นของไข่ในสารละลายให้ได้ 1,000 ไข่/มล. สำหรับนำไปทดสอบต่อไป

2.1.3 การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งความรุนแรงของการเกิดโรครากปม

การทดสอบประสิทธิภาพของเห็ดเรืองแสงในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม ทำการย้ายปลูกต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์สีดาอายุ 3 สัปดาห์ ลงปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 15 ซม. ที่บรรจุดินนึ่งฆ่าเชื้อน้ำหนัก 1 กก. จำนวน 1 ต้นต่อกระถาง หลังจากนั้น 3 วันทำการปลูกหัวเชื้อหรือใส่ผลิตภัณฑ์จากเห็ดเรืองแสง และใส่ไข่ไส้เดือนฝอยรากปม (N) จำนวน 5,000 ไข่/กระถาง โดยทำการทดสอบ 2 ช่วงเวลา คือใส่หัวเชื้อหรือผลิตภัณฑ์จากเห็ดเรืองแสงพร้อมไข่ไส้เดือนฝอยรากปม และใส่หัวเชื้อหรือผลิตภัณฑ์จากเห็ดเรืองแสงเป็นเวลา 10 วัน ก่อนใส่ไข่ไส้เดือนฝอยรากปม โดยวางแผนการทดลอง แบบ CRD มี 20 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1-4	culture filtrate (30 มล./กระถาง) + nematode (ไส้เดือนฝอยรากปม)
กรรมวิธีที่ 5-8	เส้นใยก้อนเชื้อเห็ด (30 กรัม/กระถาง) + nematode
กรรมวิธีที่ 9-12	culture filtrate (15 มล./กระถาง) + เส้นใยก้อนเชื้อเห็ด (15 กรัม/กระถาง) + nematode
กรรมวิธีที่ 13-14	aurisin A ที่ความเข้มข้น 500 มล./ลิตร (10 มล./กระถาง) + nematode
กรรมวิธีที่ 15-16	สาร DMSO ความเข้มข้น 0.2% (10 มล./กระถาง) + nematode
กรรมวิธีที่ 17-18	สารเคมี carbofuran® (3 กรัม/กระถาง) + nematode
กรรมวิธีที่ 19	nematode เพียงอย่างเดียว (control 1)
กรรมวิธีที่ 20	ไม่ใส่ทั้งเชื้อเห็ดเรืองแสง และ nematode (control 2)

ทำการวัดประสิทธิภาพของเชื้อเห็ดเรืองแสงต่อการควบคุมโรครากปมในมะเขือเทศ หลังจากใส่ไข่ไส้เดือนฝอยรากปมเป็นเวลา 30 วัน โดยวัดความสูงของต้นมะเขือเทศ (ซม.) น้ำหนักต้นสด (กรัม) และน้ำหนักแห้ง (กรัม) ส่วนความรุนแรงของโรคประเมินจากความรุนแรงของการเกิดปมที่รากโดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์พื้นที่รากที่เกิดปมต่อระบบราก (0-100%) ตามวิธีการของ Hiransalee และคณะ (12) ตรวจนับจำนวนกลุ่มไข่และจำนวนไส้เดือนฝอยในราก 1 กรัม และตรวจวัด แล้วจึงนำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's multiple range test (DMRT)

3. ผลการวิจัยและอภิปราย

3.1 การทดสอบประสิทธิภาพของเห็ดเรืองแสงในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในสภาพเรือนทดลอง

3.1.1 การเจริญเติบโตของพืช

การประเมินประสิทธิภาพของเชื้อเห็ดเรืองแสง *N. nambi* ต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* สาเหตุโรครากปมมะเขือเทศ พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใส่หัวเชื้อหรือผลิตภัณฑ์จากเห็ดเรืองแสงไม่ทำให้ความสูงต้น และน้ำหนักแห้งของต้นมะเขือเทศมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่ใส่เชื้อรา (ตารางที่ 1) แต่มีความแตกต่างกันทางสถิติในส่วนของน้ำหนักสดของต้นมะเขือเทศ โดยเฉพาะกรรมวิธีการใช้ culture filtrate ของเห็ดเรืองแสงไอโซเลต KKU2 (CF KKU2) พร้อมกับการใส่ไข่ไส้เดือนฝอย มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักต้นสดมากที่สุด เท่ากับ 27.50 กรัม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่ทั้งเชื้อราและใส้เดือนฝอยรากปม ซึ่งมีน้ำหนักต้นสดเท่ากับ 16.69 กรัม (ตารางที่ 1) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Bua-art และคณะ (9) ที่ทดสอบประสิทธิภาพของ culture filtrate จากเห็ดเรืองแสง *N. nambi* กับมะเขือเทศที่เพาะในสภาพเรือนทดลองพบว่าการใช้ culture filtrate จากเห็ดเรืองแสงที่ความเข้มข้น 30 มล./กระถาง ทำให้มะเขือเทศมีน้ำหนักสดมากที่สุด แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว

ตารางที่ 1. ผลของการใช้หัวเชื้อหรือผลิตภัณฑ์จากเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* ต่อความสูงของต้น น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นมะเขือเทศที่ปลูกเชื้อด้วยไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* จำนวน 5,000 ไข่/ กระถาง เป็นเวลา 30 วัน สภาพเรือนทดลอง

กรรมวิธี[1/]	ความสูง (ซม.)	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)
CF KKU2 + N	47.50 ab	27.50 a	3.62 a
CF KKU2 -> N	65.88 a	19.73 bcd	2.14 bcde
CF PW2 + N	46.38 ab	11.42 cd	1.35 e
CF PW2 -> N	52.50 ab	20.53 bc	2.28 bcde
SP KKU2 + N	53.25 ab	17.26 bcd	1.62 de
SP KKU2 -> N	53.50 ab	14.56 cd	2.11 bcde
SP PW2 + N	46.30 ab	15.39 cd	2.14 bcde
SP PW2 -> N	47.68 ab	16.10 bcd	1.58 de
(CF+SP) KKU2 + N	47.43 ab	9.81 d	1.35 e
(CF+SP) KKU2 -> N	41.93 b	15.40 cd	2.14 bcde
(CF+SP) PW2 + N	56.80 ab	25.88 ab	3.59 a
(CF+SP) PW2 -> N	57.38 ab	19.87 bcd	3.06 abc
aurisin A + N	57.80 ab	19.97 bcd	3.21 ab
aurisin A -> N	42.50 b	13.65 cd	1.89 cde
0.2% DMSO + N	59.75 ab	17.24 bcd	2.94 abc
0.2% DMSO -> N	44.20 ab	19.20 bcd	2.14 bcde
Carbofuran® + N	52.73 ab	16.79 bcd	2.92 abc
Carbofuran® -> N	59.75 ab	21.55 bc	2.05 bcde
(Control 1) Nematode only	44.13 ab	13.94 cd	1.98 bcde
(Control 2) Uninoculated	46.63 ab	16.69 bcd	2.68 abcd
C.V. (%)	21.28	19.53	17.93

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแนวตั้งเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05, DMRT)

[1/]CF: Culture filtrate; SP: spawn; N: nematode 5,000 egg/pot; + : ใส่หัวเชื้อหรือผลิตภัณฑ์จากเห็ดพร้อมไส้เดือนฝอย; -> : ใส่หัวเชื้อหรือผลิตภัณฑ์จากเห็ด *Neonothopanus nambi* ก่อนราดสารแขวนลอยไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* 10 วัน

Control 1: กรรมวิธีควบคุมใส่สารแขวนลอยไข่ไส้เดือนฝอย 5,000 ไข่/กระถาง เพียงอย่างเดียว

Control 2: กรรมวิธีควบคุมไม่ใส่ทั้งหัวเชื้อหรือผลิตภัณฑ์จากเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* และไข่ไส้เดือนฝอยรากปม

3.1.2 การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งความรุนแรงของการเกิดโรครากปม

การใช้หัวเชื้อหรือผลิตภัณฑ์จากเห็ดเรืองแสง *N. nambi* ทุกกรรมวิธีมีประสิทธิภาพในการลดการเกิดปมรากและจำนวนไส้เดือนฝอยรากปมในรากมะเขือเทศไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) แต่แตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) กับกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว (ตารางที่ 2) กรรมวิธีที่ใส่หัวเชื้อหรือผลิตภัณฑ์จากเห็ดเรืองแสงก่อนใส่ไข่ไส้เดือนฝอยรากปม 10 วัน มีแนวโน้มลดเปอร์เซ็นต์การเกิดปมรากและจำนวนไส้เดือนฝอยในรากมะเขือเทศได้มากกว่ากรรมวิธีใส่เชื้อเห็ดพร้อมกับการใส่ไข่ไส้เดือนฝอย โดยไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้สารเคมี carbofuran (ตารางที่ 2) โดยกรรมวิธีที่ลดจำนวนปมได้มากที่สุด ได้แก่ การใช้ culture filtrate ของเห็ดไอโซเลต PW2 (CF PW2), การใช้ culture filtrate ร่วมกับเส้นใยก้อนเชื้อเห็ดไอโซเลต KKU2 (CF+SP KKU2) และการใส่เส้นใยก้อนเชื้อเห็ดไอโซเลต PW2 (SP PW2) มีเปอร์เซ็นต์รากปมเท่ากับ 1.50,

1.50 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่เชื้อรา ต้นมะเขือเทศมีการเกิดปม 76.75 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2) สำหรับการลดจำนวนไส้เดือนฝอยในรากมะเขือเทศ พบว่ากรรมวิธีใช้ culture filtrate ร่วมกับเส้นใยก้อนเชื้อเห็ดไอโซเลต PW2 (CF+SP PW2) สามารถลดจำนวนไส้เดือนฝอยในรากได้ดีที่สุด มีจำนวนไส้เดือนฝอยต่อราก 1 กรัม เท่ากับ 74.14 ตัวรองลงมาคือกรรมวิธีใช้ culture filtrate และการใช้เส้นใยก้อนเชื้อไอโซเลต PW2 (CF และ SP PW2) มีจำนวนไส้เดือนฝอยต่อราก 1 กรัม เท่ากับ 139.70 และ 170.71 ตัว ตามลำดับ แตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) กับกรรมวิธีที่ใส่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว ต้นมะเขือเทศมีจำนวนไส้เดือนฝอยรากปม 1,036.18 ตัวต่อราก 1 กรัม (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2. ผลของการใช้หัวเชื้อหรือผลิตภัณฑ์จากเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดปมและจำนวนไส้เดือนฝอยในรากมะเขือเทศ ที่ได้รับไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* จำนวน 5,000 ไข่/ กระถาง เป็นเวลา 30 วัน ที่ทดสอบในเรือนทดลอง

กรรมวิธี[1/]	เปอร์เซ็นต์การเกิดปม	จำนวนไส้เดือนฝอยในราก 1 กรัม
CF KKU2 + N	5.50 bc	464.10 cde
CF KKU2 -> N	6.25 b	325.30 defg
CF PW2 + N	3.25 bc	256.05 defg
CF PW2 -> N	1.50 bcd	139.70 efg
SP KKU2 + N	4.20 bc	112.02 fg
SP KKU2 -> N	2.70 bcd	144.12 efg
SP PW2 + N	2.50 bc	208.21 defg
SP PW2 -> N	1.00 cd	170.71 efg
(CF+SP) KKU2 + N	2.00 bc	106.70 fg
(CF+SP) KKU2 -> N	1.50 bcd	160.72 efg
(CF+SP) PW2 + N	2.50 bcd	192.11 defg
(CF+SP) PW2 -> N	2.70 bcd	74.14 fg
aurisin A + N	1.75 bcd	528.07 cd
aurisin A -> N	2.25 bcd	522.72 cd
0.2% DMSO + N	3.75 bc	724.23 bc
0.2% DMSO -> N	2.50 bcd	858.75 ab
Carbofuran® + N	4.20 bc	368.21 def
Carbofuran® -> N	3.20 bc	416.42 cdef
(Control 1) Nematode only	76.75 a	1036.18 a
(Control 2) Uninoculated	0.00 d	0.00 g
C.V. (%)	32.08	38.06

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแนวตั้งเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$, DMRT)

[1/]CF: Culture filtrate; SP: spawn; N: nematode 5,000 ไข่/กระถาง; + : ใส่หัวเชื้อหรือผลิตภัณฑ์จากเห็ดพร้อมไส้เดือนฝอย; -> : ใส่หัวเชื้อหรือผลิตภัณฑ์จากเห็ด *Neonothopanus nambi* ก่อนราดสารแขวนลอยไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* 10 วัน

Control 1: กรรมวิธีควบคุมใส่สารแขวนลอยไข่ไส้เดือนฝอย 5,000 ไข่/กระถาง เพียงอย่างเดียว

Control 2: กรรมวิธีควบคุมไม่ใส่ทั้งหัวเชื้อหรือผลิตภัณฑ์จากเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* และไข่ไส้เดือนฝอยรากปม

ผลการศึกษานี้พบว่าการใช้หัวเชื้อหรือผลิตภัณฑ์จากเห็ดเรืองแสง *N. nambi* ทั้งในรูปแบบของ culture filtrate, เส้นใยก้อนเชื้อ และสารออกฤทธิ์ชีวภาพ aurisin A มีประสิทธิภาพในการลดการเกิดโรครากปม และจำนวนไส้เดือนฝอยในรากของมะเขือเทศได้ไม่แตกต่างจากการใช้สารเคมี โดยพบว่าเชื้อเห็ดเรืองแสง *N. nambi* ไอโซเลต PW2 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากปมมะเขือเทศได้กว่าเชื้อเห็ดไอโซเลต KKU2 ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Bua-art และคณะ (10) ที่พบว่าการใช้ culture filtrate และเส้นใยก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงไอโซเลต PW2,ประสิทธิภาพต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ดีลดเปอร์เซ็นต์ปมรากได้ 78% และ 73% ตามลำดับ

การใส่เชื้อเห็ดก่อนไส้เดือนฝอยเป็นเวลา 10 วัน มีแนวโน้มช่วยลดความรุนแรงการเกิดปมราก และจำนวนไส้เดือนฝอยในรากมะเขือเทศได้ดีกว่าการใส่เชื้อราลงไปในดินพร้อมกับไข่ไส้เดือนฝอย อาจเนื่องมาจากการใส่เชื้อราลงไปในดินก่อนไส้เดือนฝอยนั้น ช่วยส่งเสริมการเจริญของเส้นใยเชื้อเห็ดและการตั้งรกรากในดินในระยะแรกซึ่งมีผลต่อการควบคุมประชากรของไส้เดือนฝอยในดินได้ การใช้ inoculums ของเชื้อเห็ดในรูปแบบ culture filtrate กับสารออกฤทธิ์ชีวภาพ aurisin A นั้นพบว่า culture filtrate ให้ผลในการลดจำนวนไส้เดือนฝอยในรากได้ดีกว่าการใช้สาร aurisin A ทั้งนี้เนื่องจากใน culture filtrate ของเห็ดเรืองแสง *N. nambi* มีเอนไซม์ย่อยสลายหลายชนิด เช่น protease และ chitinase หรือมีสาร secondary meatabolite ชนิดอื่นๆ ที่มีความเป็นพิษต่อไส้เดือนฝอย สอดคล้องกับรายงานของ Kwok และคณะ (13) ที่พบสารที่มีฤทธิ์เป็นกรดเช่น trans-2-decenedioic acid ในเห็ดนางรม *(Pleurotus ostreatus)* ที่มีผลต่อการย่อยสลายผนังลำตัวไส้เดือนฝอย นอกจากนี้ปัจจุบันมีการค้นพบสารเคมีชนิดอื่นๆ ในเห็ดเรืองแสง *N. nambi* เช่น nambinones A-D, 1-epinambinone, aurisin A และ aurisin K เป็นต้น (14) สารเหล่านี้อาจมีผลร่วมกันในการทำลายผนังของไข่ หรือผนังลำตัวของไส้เดือนฝอยตัวอ่อน และตัวเต็มวัยได้ ส่วนการใช้ inoculum ของเห็ดเรืองแสงในรูปแบบเส้นใยก้อนเชื้อนั้นพบสามารถควบคุมไส้เดือนฝอยได้ดีเช่นกัน อาจเนื่องมาจากสาร secondary metabolite ที่เชื้อสร้างขึ้นและปลดปล่อยออกมานอกเซลล์เพื่อยับยั้งและ/หรือลดการเคลื่อนที่และทำให้ตัวอ่อนระยะ J2 ของไส้เดือนฝอยรากปมตาย ทั้งนี้การเตรียม inoculum ของเชื้อเห็ดในวัสดุเพาะขี้เลื่อยไม้ยางพาราส่งผลต่อประสิทธิภาพการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ สอดคล้องกับรายงานของ Barron (15) ที่พบว่าการเพิ่มอินทรียวัตถุเช่น ขี้เลื่อยนั้น ช่วยกระตุ้นกิจกรรมของเชื้อราปฏิปักษ์ให้มีมากขึ้นและสามารถควบคุมไส้เดือนฝอยได้ เนื่องจากในเนื้อไม้มีปริมาณไนโตรเจนน้อย อัตราส่วน C:N เพิ่มขึ้น 300:1 ถึง 1000:1 เชื้อราอาจปล่อยสาร secondary metabolite เพื่อดักจับไส้เดือนฝอยเพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจนทดแทน (15)

4. สรุป

เห็ดเรืองแสง *N. nambi* ทั้ง 2 ไอโซเลต คือไอโซเลต KKU2 และไอโซเลต PW2 สามารถลดการเกิดโรครากปมของมะเขือเทศที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ได้ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใส่หัวเชื้อหรือผลิตภัณฑ์จากเห็ดเรืองแสงไอโซเลต PW2 เป็นเวลา 10 วันก่อนใส่ไข่ไส้เดือนฝอยมีแนวโน้มช่วยลดเปอร์เซ็นต์การเกิดปมที่รากมะเขือเทศ และจำนวนไส้เดือนฝอยในรากต่อราก 1 กรัมได้ดีกว่าการใส่หัวเชื้อเห็ดเรืองแสงพร้อมไข่ไส้เดือนฝอย กรรมวิธีที่ลดการเกิดปมรากในมะเขือเทศได้ดีที่สุด คือการใช้ culture filtrate (CF PW2) และการใช้เส้นใยก้อนเชื้อ (SP PW2) สามารถลดจำนวนปมรากได้เท่ากับ 1.50, และ 1.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสามารถลดจำนวนไส้เดือนฝอยในรากได้เท่ากับ 139.70 และ170.71 ตัวต่อราก 1 กรัม ตามลำดับ ขณะที่กรรมวิธีการใช้ culture filtrate ร่วมกับเส้นใยก้อนเชื้อเห็ด (CF+SP PW2) สามารถลดจำนวนไส้เดือนฝอยในรากได้มากที่สุดเท่ากับ 74.14 ตัวต่อราก 1 กรัม

5. กิติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษา และวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ (AG-BIO/PERDO-CHE) และศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น และขอขอบคุณกลุ่มวิจัยการเพาะเลี้ยงและพัฒนาผลิตภัณฑ์ไหมป่าและแมลงสำคัญทางเศรษฐกิจเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่อนุเคราะห์การใช้เครื่องมือในการวิจัย

6. เอกสารอ้างอิง

(1) Bharadwaj, A., Sharma, S. Effect of some plant extracts on the hatch of *Meloidogyne incognita* eggs. Int. J. Bot., 2007;3: 312-16.

(2) Williamson, V.M., Hussey, R.S. Nematode pathogenesis and resistance in plants. Plant Cell 1996;8: 1735-45.

(3) Whitehead, A.G. Plant nematode control. University of Cambridge; 1997.

(4) Niramit P. The way to control of root-knot nematode by biocontrol. Khon Kaen Agriculture Journal. 1986;14(4): 175-80. Thai.

(5) Sun, M.H., Gao, L., Shi, Y.X., Li, B.J. Liu, X.Z. Fungi and actinomycets associated with *Meloidogyne* spp. eggs and females in China and their biocontrol potential. Invert. Pathol.2006;93: 22-28.

(6) Sterner, O., Etzel, W., Mayer, A., Anke, H. Omphalotin, a new cyclic peptide with potent nematicidal activity from *Omphalotus olearius* I. fermentation and biological activity. Natural Product Letters 1997;10: 33-38.

(7) Saksirirat, W., Sanomuang, N., Winijsanan, T. Speicies diversity of the macro fungi in plant genetic conservation project, Kok Putaka, Wiang Kao District, Khon Kaen Province. Annual Agricultural Conference, 2001, 26-27 January 2001. Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen. Thai.

(8) Bua-art, S., Saksirirat, W., Hiransalee, A., Thummabenjapone, P. Application of luminescent mushroom (*Omphalotus* sp.) for control of root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) in tomato. Agricultural Sci. J. 2006;37(6): 1039-42. Thai.

(9) Bua-art, S. Ribosomal DNA sequences of luminescent mushroom and effect of its bioactive compound against the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita* Chitwood) [MSc.Thesis]. Khon Kaen: Khon Kaen University; 2007. Thai.

(10) Bua-art, S., Saksirirat, W., Kanokmedhakul, S., Hiransalee, A., Lekphrom, R. Extraction of bioactive compounds from luminescent mushroom (*Neonothopanus nambi*) and its effect on root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). KKU Res. J.2010;15: 726-37.

(11) Bua-art, S., Saksirirat, W., Kanokmedhakul, S., Hirunsalee, A., Lekphrom, R. Effect of bioactive compound from luminescent mushroom (*Neonothopanus nambi*) and its effect on root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) and non-target organisms KKU Res. J. 2011;15: 726-37.

(12) Hiransalee, A., Baker, K.R. and Beute, M.K. Infection, reproduction potential, and root galling by root-knot nematode species and concomitant populations on peanut and tobacco. J. Nematol. 1995;27(2): 172-77.

(13) Kwok, O.C.H., Plattner, R., Weisleder, D., Wock-Low, D.T. A nematicidal toxin from *Pleurotus ostreatus* NRRL-3526. Journal of Chemical Ecology 1992;18: 127-36.

(14) Kanokmedhakul, S., Lekphrome, R., Kanokmedhakul, K., Hahnvajabawong, C., Bua-art, S., Saksirirat, S., et al. Cytotoxic sesquiterpenes from luminescent mushroom *Neonothopanus nambi*. Tetrahedron 2012;68: 8261-66.

(15) Barron, G.L. Predatory fungi, wood decay, and the carbon cycle. Biodiversity 2003; 4: 3-9.