ประสิทธิภาพการทำงานร่วมกันของรา *Trichoderma asperellum* สายพันธุ์ Cb-pin01 และแบคทีเรีย *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ KPS-E004 ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne enterolobii* ในพริก

Potential of Combination of Trichoderma asperellum strain Cb-pin01 and *Streptomyces* sp. Strain KPS-E004 in Controlling *M. enterolobii* of Chili

ปุณยพร สาคร[1,2] และพรทิพย์ เรือนปานันท์[1*]

Poonyaporn Sakorn[1,2] and Pornthip Ruanpanun[1*]

Received: September 12, 2022
Revised: October 6, 2022
Accepted: October 7, 2022

Abstract: *Meloidogyne enterolobii* causes significant yield loss in chili (*Capsicum frutescens* L.). This research investigated the control potential of co-inoculation of chili with the *T. asperellum* strain Cb-pin01 and *Streptomyces* sp. strain KPS-E004 on the growth and symbiotic performance of *M. enterolobii* challenged chili. From the results of laboratory tests, the mixture of two strains reduced the egg hatch rate, increased the juvenile mortality rate and inhibited root penetration of infective second-stage juvenile of *M. enterolobii* up to 75.33%, 62.44% and 98.67%, respectively when compared to the control. The test with peppers in greenhouse conditions revealed that the mixture of two strains reduced the number of egg mass, reduced the number of second-stage juveniles in soil and suppressed root knot disease up to 71.05%, 75.68% and 50%, respectively when compared to positive control. The control efficiency of co-inoculation of both strains in suppressing root knot disease also increased up to 150.02% as compared to inoculation of single strain of Cb-pin01. Moreover, the mixtures promoted the growth of chili by increasing the shoot weight, shoot and root length and improving the yield of extra-large chili by 129.65%, 139.63%, 122.89% and 165.51%, respectively (compared to negative control). Based on the results of this study, *T. asperellum* strain Cb-pin01 and *Streptomyces* sp. strain KPS-E004 may apply together to control root-knot disease in chili plants.

Keywords: Root-knot nematode in chili, biocontrol, *Trichoderma* sp., *Streptomyces* sp.

บทคัดย่อ: *Meloidogyne enterolobii* เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้พริก (*Capsicum frutescens* L.) สูญเสียผลผลิตอย่างมีนัยสำคัญ งานวิจัยนี้ได้ศึกษาประสิทธิภาพของการทำงานร่วมกันของเชื้อรา *T. asperellum* สายพันธุ์ Cb-pin01 และ *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ KPS-E004 ต่อการเจริญเติบโตและการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม

[1] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140
Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140
[2] ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักงานปลัดกระทรวง กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กรุงเทพฯ 10900
Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/MHESI), Bangkok 10900, Thailand
*Corresponding author: fagrptr@ku.ac.th

M. enterolobii ในพริก จากผลการทดสอบภายในห้องปฏิบัติการพบว่าการปลูกเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ร่วมกัน มีผลในการลดอัตราการฟักของไข่ เพิ่มอัตราการตาย และยับยั้งการเข้าสู่รากพืชของตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. enterolobii* สูงถึง 75.33%, 62.44% และ 98.67% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และเมื่อทดสอบกับพริกในสภาพโรงเรือน พบว่าการปลูกเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ร่วมกัน มีผลในการลดจำนวนกลุ่มไข่ ลดจำนวนตัวอ่อนในดิน และมีประสิทธิภาพในการลดการเกิดปมของรากพริกได้สูงถึง 71.05%, 75.68% และ 50% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีการปลูกไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว อีกทั้งเพิ่มประสิทธิภาพในการลดการเกิดปมของรากพริกได้สูงถึง 150.02% เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สายพันธุ์ Cb-pin01 เพียงชนิดเดียว นอกจากนี้การใส่เชื้อแบบผสมสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพริก โดยเพิ่มน้ำหนักและความสูงของลำต้น ความยาวราก และเพิ่มน้ำหนักผลผลิตได้ถึง 129.65%, 139.63%, 122.89% และ 165.51% ตามลำดับ (เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมต้นปกติ) จากผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าการปลูกเชื้อผสมร่วมกันระหว่าง *T. asperellum* สายพันธุ์ Cb-pin01 และ *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ KPS-E004 สามารถเพิ่มศักยภาพในการควบคุมโรครากปมพริกในระดับแปลงปลูก

คำสำคัญ: โรครากปมพริก การควบคุมโดยชีววิธี ไตรโคเดอร์มา สเตรปโตมัยซีท

คำนำ

พริกเป็นพืชที่สามารถปลูกและเจริญเติบโตได้ดีทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย โดยมีพื้นที่ปลูกพริกทั่วประเทศกว่า 167,443 ไร่ ผลผลิตรวมประมาณ 283,515 ตัน (กรมวิชาการเกษตร, 2562) หนึ่งในปัญหาสำคัญที่ทำให้ผลผลิตของพริกลดลงเกิดจากการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. ชนากานต์ และคณะ (2562) ทำการสำรวจพื้นที่ปลูกพริกที่มีการระบาดของโรครากปมในจังหวัดอุบลราชธานี พบว่าเป็นไส้เดือนฝอยรากปมชนิด *M. enterolobii* ซึ่งก่อนหน้านี้ไส้เดือนฝอยรากปมชนิดดังกล่าว พบรายงานการระบาดครั้งแรกในฝรั่งพันธุ์กิมจูและแป้นสีทองในจังหวัดนครปฐม (Jindapunnapat, 2012)

การควบคุมโดยชีววิธี เป็นแนวทางหนึ่งในการจัดการไส้เดือนฝอยรากปม จากงานวิจัยหลายผลงานชี้ให้เห็นว่าประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากปมจะดียิ่งขึ้นหากมีการใช้จุลินทรีย์มากกว่า 1 ชนิด (Sun *et al*., 2006; Hashem *et al*., 2011) เนื่องจากมีกลไกการเข้าทำลายของเชื้อที่หลากหลายสามารถส่งเสริมการทำงานร่วมกัน *Trichoderma* spp. เป็นเชื้อราปฏิปักษ์ที่สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอส (protease) และไคติเนส (chitinase) มีผลต่อการฟักของไข่ไส้เดือนฝอยรากปม (Jindapunnapat *et al*., 2013) อีกทั้งยังสามารถกระตุ้นความต้านทานและช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตให้กับพืช (Affokpon *et al*., 2011) ในขณะที่เชื้อ *Streptomyces* spp. มีศักยภาพในการลดความรุนแรงของโรครากปม *Meloidogyne* spp. สามารถผลิตสารที่มีผลต่อการฟักของไข่และการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 ได้ (Ruanpanun *et al*., 2010)

T. asperellum สายพันธุ์ Cb-pin01 เป็นชีวภัณฑ์จำหน่ายโดยภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ซึ่งมีคุณสมบัติในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุโรคพืชบางชนิด ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและชักนำให้พืชเกิดความต้านทานโรค (Chamswarng *et al*., 2014) อย่างไรก็ดียังไม่มีการรายงานประสิทธิภาพของเชื้อดังกล่าวในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. enterolobii* ในขณะที่เชื้อ *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ KPS–E004 เป็นสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* จากห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอยศัตรูพืชและจุลินทรีย์ทางการเกษตร ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (Ruanpanun and Chamswarng, 2016) สมมติฐานของงานวิจัยนี้คือ

เชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์นี้น่าจะสามารถทำงานแบบเสริมกันในการควบคุมโรครากปมของพริกได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ดำเนินการทดสอบการทำงานร่วมกันของเชื้อดังกล่าวในการควบคุมไส้เดือนฝอย *M. enterolobii* ทั้งนี้เพื่อเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการควบคุมโรครากปมในแปลงเพาะปลูกต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมไส้เดือนฝอยรากปม *M. enterolobii*

นำดินที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอยรากปมจากแปลงพริกในอำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ใช้เป็นวัสดุปลูกพริกพันธุ์อ่อนแอต่อไส้เดือนฝอยรากปม ในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 นิ้ว เพื่อเพิ่มจำนวนไส้เดือนฝอย จากนั้นตรวจดูลักษณะรอยย่นส่วนก้น (perineal pattern) ของตัวเต็มวัยเพศเมียตามวิธีการของ Hunt and Handoo (2009) และจำแนกด้วยอณูชีววิทยา โดยใช้ไพรเมอร์จับจำเพาะตามวิธีการของ Tigano *et al*. (2010) จากนั้นเตรียมไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมจำนวน 1 กลุ่มไข่ที่มีลักษณะตรงกับชนิด *M. enterolobii* ปลูกบริเวณรอบรากพริกเพื่อทำไอโซเลตบริสุทธิ์และเพิ่มปริมาณตามวิธีการของ Ruanpanun *et al*. (2010) สำหรับการทดสอบ

การทดสอบประสิทธิภาพการทำงานร่วมกันของ *T. asperellum* สายพันธุ์ Cb-Pin-01 และ *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ KPS-E004 ต่อการฟักของไข่ การตายและการเข้ารากพืชของตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. enterolobii* ในระดับห้องปฏิบัติการ

นำเชื้อ *T. asperellum* สายพันธุ์ Cb-Pin-01 ชีวภัณฑ์จำหน่ายจากการพัฒนาโดย จิระเดช และวรรณวิไล (2545) ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และเชื้อ *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ KPS-E004 สายพันธุ์ที่ได้รับการรายงานว่ามีผลในการควบคุมกำจัดไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* (Ruanpanun and Chamswarng, 2016) มาเพิ่มปริมาณสปอร์ตามวิธีการของ จิระเดช และวรรณวิไล (2545) และ Ruanpanun and Chamswarng (2016) ตามลำดับ ปรับความเข้มข้นของสปอร์เป็น 10^7 สปอร์/มิลลิลิตร ใน 0.05% Tween 80 ทดสอบกับไข่ และตัวอ่อนระยะที่ 2 (J2) โดยดูดสารแขวนลอยสปอร์ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลุมของจานอาหารขนาด 24 หลุม (24-well plate) นำไข่ของ *M. enterolobii* 150 ฟอง/50 ไมโครลิตร ใส่ลงไปในหลุมเดียวกัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) ดำเนินการ 4 กรรมวิธี ได้แก่ หลุมที่ใส่สปอร์ของเชื้อเดี่ยวแต่ละเชื้อ แบบผสม และชุดควบคุมที่ไม่ใส่สปอร์ของเชื้อทดสอบลงไป กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวน J2 ที่ฟักออกจากไข่ แยกนับตัวตายและตัวเป็น นำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ในการฟักตัวของไข่และอัตราการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 ตามวิธีการของ Sun *et al*. (2006) และ Ruanpanun *et al*. (2010) และประเมินความสามารถในการเข้าราก โดยดูดไส้เดือนฝอยจากหลุมทดสอบปลูกไปยังรากถั่วเขียวอายุ 5 วัน ดูแลในห้องปฏิบัติการ จากนั้นย้อมรากพืชด้วย NaOCl-acid fuchsin (Byrd *et al*.,1983) นับจำนวนตัวอ่อนภายในราก เทียบกับชุดควบคุม

การศึกษาประสิทธิภาพการทำงานร่วมกันของชีวภัณฑ์ *T. asperellum* สายพันธุ์ Cb-Pin-01 และ *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ KPS-E004 ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. enterolobii* ในโรงเรือน

ดำเนินการทดสอบในสภาพโรงเรือน ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ใช้ต้นกล้าพริกพันธุ์มันดำบางช้าง TVRC 365 อายุ 30 วัน ในถุงดำขนาด 8×16 นิ้ว ที่บรรจุดินปลอดไส้เดือนฝอย 5 กิโลกรัม เป็นพืชทดสอบ วางแผนการทดลองแบบ (CRD) ดำเนินการ 5 กรรมวิธี (Table 1) กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ ราดสารแขวน ลอยสปอร์ความเข้มข้น 10^7 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาณ 200 มิลลิลิตร ในแต่ละชุดการทดลองและปลูก J2 บริเวณรากจำนวน 1,000 ตัวต่อต้น พร้อมดูแลรดน้ำต้นพริกวันละ 1 ครั้ง ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 เดือนละ 1 ครั้ง เป็นระยะเวลา 90 วันจนเก็บผลผลิต ประเมินประสิทธิภาพการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. enterolobii* โดยนับจำนวนกลุ่มไข่ และจำนวนตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยในดิน 200 กรัม ประเมินการ

เกิดปมราก ดัชนีการเกิดโรค ประเมินประสิทธิภาพในการควบคุม (Barker, 1985; Ruanpanun and Chamswarng, 2016) และประเมินผลของเชื้อต่อการเจริญเติบโต โดยวัดความยาวราก ความสูงของลำต้น น้ำหนักราก น้ำหนักต้น และผลผลิต

Table 1 Treatment of greenhouse experiment.

Treatment
Plant inoculated with spore of *T. asperellum* Cb-Pin-01 together with J2 of *M. enterolobii* (T+J2)
Plant inoculated with spore of *Streptomyces* sp. strain KPS-E004 together with J2 of *M. enterolobii* (S+J2)
Plant inoculated with spore of mixed both strains together with J2 of *M. enterolobii* (T+S+J2)
Plant inoculated with J2 of *M. enterolobii* (only J2)
Plant without J2 of *M. enterolobii* and spore of both strains (C)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองโดย วิธีของ Tukey's Honestly Significant Difference ($P \leq 0.05$) ด้วย R–program 4.0.2

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *T. asperellum* สายพันธุ์ Cb-Pin-01 และ *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ KPS-E004 ที่มีผลต่อการฟักของไข่และการตายของตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปม *M. enterolobii*

จากผลการทดลองพบว่าการใส่เชื้อ *T. asperellum* สายพันธุ์ Cb-Pin-01 และ *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ KPS-E004 ทั้งแบบเดี่ยวและแบบผสม มีผลต่ออัตราการฟักของไข่อยู่ที่ 42.00% 17.33% และ 12.50% ตามลำดับ อัตราการตายของตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมอยู่ที่ 7.92% 62.01% และ 62.99% และจำนวนของตัวอ่อนระยะที่ 2 เข้าทำลายรากถั่ว อยู่ที่ 41.25 ตัว 4.25 ตัว และ 1.50 ตัว ตามลำดับ ในขณะที่การใส่เชื้อ *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ KPS- E004 ทั้งแบบเดี่ยว และแบบผสมร่วมกับ *T. asperellum* สายพันธุ์ Cb-pin01 สามารถลดอัตราการฟักของไข่ได้ถึง 80.27% และ 85.77% ตามลำดับ เพิ่มอัตราการตายของ J2 ได้ 61.46% และ 62.99% ตามลำดับ และลดเปอร์เซ็นต์การเข้ารากถั่วได้ 96.22% และ 98.67% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ($P \leq 0.05$) (Table 2) และเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ มีผลทำให้การพัฒนาของไข่ช้าลงภายใน 72 ชั่วโมง โดยเซลล์ในไข่พัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะที่ 1 แต่ไม่สามารถฟักได้ เนื่องจากเชื้อดังกล่าวมีการเจริญของเส้นใยคลุมรอบเปลือกไข่ (Figure 1) และพบว่า J2 ตายเพราะเชื้อทดสอบทั้งแบบเดี่ยวและแบบผสม เนื่องจากยังคงมีอาหารในลำไส้ไม่ได้ตายเพราะขาดอาหารเหมือน J2 ในชุดควบคุมที่เห็นช่องว่างในลำตัว (Figure 2) จากผลการทดสอบทำให้ลักษณะของไข่และตัวอ่อนผิดปกติ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Jindapunnapat *et al.* (2013) และ Ruanpanun and Chamswarng (2016) เป็นไปได้ว่าเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่ใช้ในการทดสอบอาจมีการสร้างสารหรือมีกลไกบางอย่างที่มีผลต่อไข่ เช่น ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ chitinase และ protease ที่มีผลต่อการรบกวนการฟักของไข่ และทำให้ตัวอ่อนที่ฟักออกมาไม่สามารถมีชีวิตอยู่รอดภายในดินได้ ส่งผลทำให้ลดจำนวนของไส้เดือนฝอยในการเข้าทำลายรากพืช (Sahebani and Hadavi, 2008) หรืออาจสร้างสารทุติยภูมิที่มีผลต่อการเจริญของไส้เดือนฝอยรากปม (Ruanpanun *et al.*, 2010)

Table 2 Effects of *T. asperellum* strain Cb-pin01, *Streptomyces* sp. strain KPS-E004 and mixed strains on egg hatching and J2 mortality rate of *M. enterolobii*.

Treatment	Egg hatch rate (%)[a]	J2 mortality rate (%)[a]	No. of J2 in root[a]
T + J2	42.00 ± 3.03b*	7.92 ± 0.14b*	41.25 ± 3.86b*
S + J2	17.33 ± 4.12c	62.01 ± 6.29a	4.25 ± 2.72c
T + S + J2	12.50 ± 2.73c	62.99 ± 6.51a	1.50 ± 0.65c
J2	87.83 ± 4.54a	0.55 ± 0.36b	112.50 ± 5.17a
CV (%)	18.44	27.14	17.64

[a]Average ± standard error from four replicates.
* Means within the same column with the same letter are not significantly different at P > 0.05 according to Tukey's HSD test.

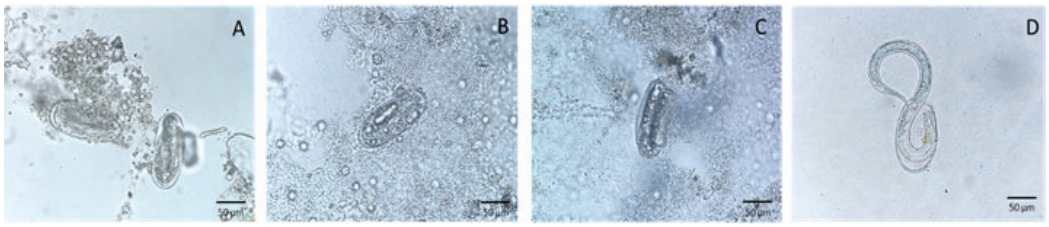

Figure 1 Egg of *M. enterolobii* inoculated with spores of *T. asperellum* strain Cb-pin01 (A), *Streptomyces* sp. strain KPS-E004 (B), mixed strains (C) and water (D).

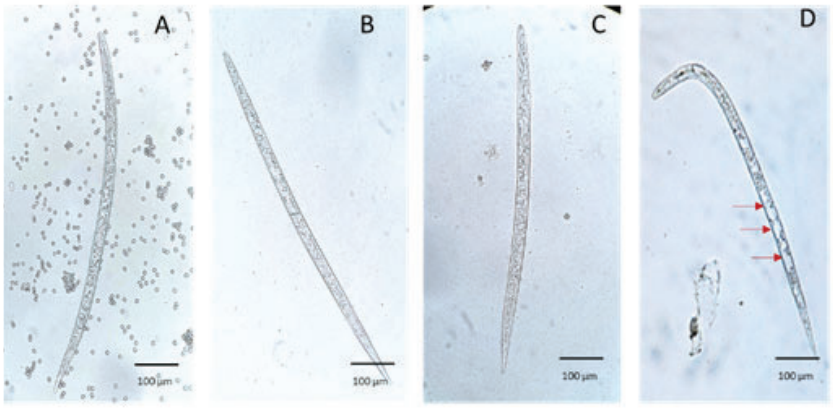

Figure 2 Infective second-stage juvenile of *M. enterolobii* inoculated with spores of *T. asperellum* Cb-pin01 (A), *Streptomyces* sp. strain KPS-E004 (B), mixed strains (C) and water (D). The red arrow means dead J2 of *M. enterolobii* caused by lacking nutrient.

การศึกษาประสิทธิภาพการทำงานร่วมกันของชีวภัณฑ์เชื้อ *T. asperellum* สายพันธุ์ Cb-Pin-01 และ *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ KPS-E004 ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. enterolobii* ในโรงเรือน

จากผลการทดสอบเชื้อกับพริกในเรือนทดลองพบว่าการปลูกเชื้อ *T. asperellum* สายพันธุ์ Cb-pin01 และ *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ KPS-E004 ทั้งแบบเดี่ยวและแบบผสม พร้อมกับปลูกไส้เดือนฝอยรากปม มีผลต่อจำนวนการสร้างกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม อยู่ที่ 35.60 กลุ่มไข่ 25.50 กลุ่มไข่ และ 25.10 กลุ่มไข่ ตามลำดับ, จำนวนตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปมในดิน 200 กรัม อยู่ที่ 24.30 ตัว 10.60 ตัว และ 15.20 ตัว ตามลำดับ

และมีระดับดัชนีการเกิดปมอยู่ที่ 60 45 และ 45 ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีการปลูกไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว ซึ่งทุกกรรมวิธีที่มีการใส่เชื้อแบบเดี่ยว และผสม สามารถลดจำนวนกลุ่มไข่ได้อยู่ในช่วง 13.26-71.05% ลดจำนวนตัวอ่อนในดินได้อยู่ในช่วง 39.52-83.04% และมีประสิทธิภาพในการลดการเกิดปมได้ อยู่ในช่วง 33.33-50.00% โดยการใส่เชื้อ *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ KPS-E004 ทั้งแบบเดี่ยว และแบบผสมร่วมกับ *T. asperellum* สายพันธุ์ Cb-pin01 สามารถลดจำนวนกลุ่มไข่ได้ 70.59 และ 71.05% ลดจำนวนตัวอ่อนในดิน 83.04 และ 75.68% ตามลำดับ มีประสิทธิภาพในการลดการเกิดปมสูงถึง 50% มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P≤0.05) (Table 4) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ruanpanun and chamswarng (2016) รายงานว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ KPS-E004 มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในพริกได้มากถึง 71.20% รวมถึงงานวิจัยของ Jindapunnapat *et al*. (2013) รายงานว่า เมื่อปลูก *T. harzianum* ที่รากสามารถลดจำนวนไส้เดือนฝอยรากปม *M. enterolobii* ทั้งในดินและในรากฝรั่งได้ นอกจากนี้การใส่เชื้อทั้งแบบเดี่ยวและแบบผสม พร้อมกับปลูกไส้เดือนฝอย มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นพริก เมื่อเปรียบเทียบกรรมวิธีที่ปลูกไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว ซึ่งการใส่เชื้อแบบผสม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P≤0.05) และเมื่อเปรียบเทียบกับต้นปกติ พบว่าสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโต โดยเพิ่มความสูงต้น ความยาวราก น้ำหนักต้น และน้ำหนักผลผลิต ได้มากที่สุด อยู่ที่ 139.63% 122.89% 129.65% และ 165.51% ตามลำดับ สอดคล้องกับหลายงานวิจัยก่อนหน้า ที่รายงานว่าการใช้เชื้อหลายเชื้อมีประสิทธิภาพการควบคุมโรคได้มากกว่าการใช้เชื้อชนิดเดียว (Affokpon *et al*., 2011; Hashem and Abo-Elyousr, 2011) ทั้งนี้เป็นไปได้ว่าเชื้อทั้ง 2 ชนิดที่มีคุณสมบัติต่างกันเมื่อใช้ร่วมกันทำให้เกิดการส่งเสริมกันในการต้านเชื้อก่อโรคได้ดียิ่งขึ้นเพราะมีการสร้างกลไกการเข้าทำลายเชื้อโรคที่หลากหลาย (Sahebani and Hadavi, 2008; Ruanpanun *et al*., 2010) (Table 3)

Table 3 Efficiency of *T. asperellum* strain Cb-pin01, *Streptomyces* sp. strain KPS-E004 and mixed strains on growth and yield of chili infected by *M. enterolobii*.

Treatment	Shoot weight (g)[a]	Root weight (cm)[a]	Shoot length (cm)[a]	Root length (cm)[a]	Yield (g)[a]
T + J2	15.94±1.29b*	3.04±0.25ab*	24.26±0.90b*	20.75±0.74b*	17.82±1.01b*
S + J2	14.39±0.84b	2.55±0.08b	23.16±1.00b	18.93±0.69b	19.35±0.82b
T + S + J2	20.86±1.22a	3.24±0.14a	31.29±1.20a	24.00±0.81a	24.38±1.81a
J2 only	7.34±0.95c	1.08±0.06c	16.48±1.00c	13.68±0.96c	3.55±0.87c
C	16.09±0.80b	3.24±0.22a	22.41±1.09b	19.53±0.74b	14.73±1.32b
CV. (%)	22.02	20.35	13.99	12.93	24.20

[a]Average ± standard error from four replicates.

* Values in the same column with same letter are not significantly different (P > 0.05) according to Tukey's HSD test.

Table 4 Efficiency of *T. asperellum* strain Cb-pin01, *Streptomyces* sp. strain KPS-E004 and mixed strains on *M. enterolobii* in greenhouse experiment.

Treatment	No. of egg mass [a]	No. of J2 /200 g soil [a]	Galling index	Control efficiency (%)
T + J2	35.60±4.44b*	24.30±4.95b*	60	33.33
S + J2	25.50±4.21b	10.60±2.51b	45	50.00
T + S + J2	25.10±4.69b	15.20±5.24b	45	50.00
J2 only	86.70±9.38a	62.50±5.02a	90	0
C	-	-	-	-
CV. (%)	44.43	47.30	-	-

[a]Average ± standard error from four replicates.

* Values in the same column with same letter are not significantly different (P > 0.05) according to Tukey's HSD test.

สรุป

การใช้รา *T. asperellum* สายพันธุ์ Cb-pin01 ผสมร่วมกับแบคทีเรีย *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ KPS – E004 สามารถลดอัตราการฟัก และเพิ่มอัตราการตายของตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมภายในห้องปฏิบัติการได้ในระดับสูง เนื่องจากเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ มีการเจริญของเส้นใยคลุมรอบเปลือกไข่ อาจมีการสร้างเอนไซม์หรือสารทุติยภูมิ เกิดการรบกวนการฟัก ทำให้ชะลอการพัฒนาของไข่ ลดการฟักออกเป็นตัวอ่อนระยะที่ 2 รวมถึงทำให้ตัวอ่อนที่ฟักออกมาไม่สามารถมีชีวิตอยู่รอดภายในดินได้ จากนั้นทำการทดสอบกับพริกในเรือนทดลอง พบว่าการใช้เชื้อดังกล่าว 2 สายพันธุ์ร่วมกัน มีประสิทธิภาพในการลดการเกิดโรครากปมของพริกจากการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม *M. enterolobii* ในขณะเดียวกันช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพริก โดยทำให้ความสูงของต้น ความยาวราก น้ำหนักต้น และผลผลิตสูงขึ้นมากกว่าการใช้เชื้อเพียงสายพันธุ์ใดสายพันธุ์หนึ่ง

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักงานปลัดกระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2562. สถานการณ์การผลิตพริก. แหล่งที่มา: https://www.doa.go.th/hort/wp-content/uploads/2020/10.pdf, 24 กรกฎาคม 2565.

จิระเดช แจ่มสว่าง และวรรณวิไล อินทนู. 2545. การผลิตเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดด้วยเทคนิคอย่างง่ายเพื่อใช้ควบคุมโรครากเน่าระดับดินของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*. *หน้า86-96 ใน*: การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 40. 4-7 กุมภาพันธ์ 2545. กรุงเทพฯ.

ชนากานต์ บุญรินทร์, บัญชา ชิณศรี, อนงค์นุช สาสนรักกิจ และศรีเมฆ ชาวโพงพาง. 2562. จัดจำแนกไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne enterolobii*) ในแปลงปลูกพริกที่จังหวัดอุบลราชธานี, น. 713-722. *ใน*: การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 20. 15 มีนาคม 2562. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

Affokpon, A., D. L. Coyne, C. C. Htay, R. D. Agbèdè, L. Lawouin and J. Coosemans. 2011. Biocontrol potential of native Trichoderma isolates against root-knot nematodes in West African vegetable production systems. Soil Biology and Biochemistry 43(3): 600-608.

Barker, K.R.1985. Nematode extraction and bioassays, pp.29-30. *In*: K.R. Barker, C.C. Carter and J.N. Sasser (Eds.). An Advanced Treatise on Meloidogyne, vol II., North Carolina State University Graphics, Raleigh, North Carolina.

Byrd, D.W. Jr., T. Kirkpatrick and K.R. Barker. 1983. An improved technique for clearing and staining plant tissue for detection of nematodes. Journal of Nematology 15:142-143.

Chamswarng, C., W. Intana and P. Yenjit. 2014. Efficacy of *Trichoderma harzianum, Bacillus cereus* and their lytic enzymes for the control of damping-off disease of yard long bean caused by *Pythium aphanidermatum*. The Philippine Agricultural Scientist 96: 377-383.

Hunt, D. J. and Z. A. Handoo. 2009. Taxonomy, identification and principal species. pp. 55-97. *In*: Root-knot Nematodes. CAB International. Wallingford.

Hashem, M. and K. A. Abo-Elyousr. 2011. Management of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato with combinations of different biocontrol organisms. Crop Protection 30(3): 285-292.

Jindapunnapat, K. 2012. Development of the Molecular Markers for Species Identification of Root-knot Nematode Infesting Guava in Thailand. M.S. Thesis, Kasetsart University. 84 P.

Jindapunnapat, K., B. Chinnasri and S. Kwankuae. 2013. Biological control of root-knot nematodes (*Meloiodogyne enterolobii*) in guava by the fungus *Trichoderma harzianum*. Journal of Developments in Sustainable Agriculture 8: 110-118.

Ruanpanun, P. and C. Chamswarng. 2016. Potential of actinomycetes isolated from earthworm castings in controlling root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Journal of General Plant Pathology 82(1): 43-50.

Ruanpanun, P., N. Tangchitsomkid, K. D. Hyde and S. Lumyong. 2010. Actinomycetes and fungi isolated from plant-parasitic nematode infested soils: screening of the effective biocontrol potential, indole-3-acetic acid and siderophore production. World Journal of Microbiology and Biotechnology 26(9): 1569-1578.

Sahebani, N. and N. Hadavi. 2008. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. Soil Biology and Biochemistry 40(8): 2016-2020.

Sun, M. H., L. Gao, Y. X. Shi, B. J. Li and X. Z. Liu. 2006. Fungi and actinomycetes associated with *Meloidogyne* spp. eggs and females in China and their biocontrol potential. Journal of Invertebrate Pathology 93(1): 22-28.

Tigano, M., K. De Siqueira, P. Castagnone-Sereno, K. Mulet, P. Queiroz, M. Dos Santos, C.Teixeira, M. Almeida, J. Silva and R. Carneiro. 2010. Genetic diversity of the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* and development of a SCAR marker for the guava-damaging species. Plant Pathology 59:1054–1061.