

ประสิทธิภาพของเชื้อเห็ดตับเต่า (*Boletus* sp.) ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*)

Effectiveness of King Bolete Mushroom (*Boletus* sp.) for Controlling Root-Knot Nematode (*Meloidogyne incognita*)

อริษฐาน ชมเพ็ญ (Athithan Chompen)* ดร.อมรศรี ขุนอินทร์ (Dr.Amornsri Khun-in)^{1**}

(Received: March 18, 2020; Revised: May 10, 2020; Accepted: May 13, 2020)

บทคัดย่อ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเห็ดตับเต่า (*Boletus* sp.) ต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) ที่สุ่มเก็บตัวอย่างจากป่าโสน จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ตั้งแต่เดือนกันยายน 2560-2562 สามารถแยกเชื้อเห็ดตับเต่าจากส่วนของก้านดอก ได้เชื้อบริสุทธิ์ 15 ไอโซเลต คือ TA1, TA 2, TA 3, TA 4, TA5, TA6, TA7, TA8, TA9, TA10, TA11, TA12, TA13, TA14 และ AK15 เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพต่อการเข้าทำลายกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม พบ 5 ไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพการควบคุมสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุด Control อย่างมีนัยสำคัญ คือ ไอโซเลต TA6 , TA 9 , TA 11 , TA 13 และ AK มีเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายที่ 100%

ABSTRACT

Efficacy of King Bolete Mushroom (*Boletus* sp.) for controlling root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). Fifteen isolates of *Boletus* sp. TA1, TA 2, TA 3, TA 4, TA5, TA6, TA7, TA8, TA9, TA10, TA11, TA12, TA13, TA14 and AK15 were collected from mushroom stalk, Sesbania forest in Phra Nakhon Si Ayutthaya Province in September 2018-2020. In addition, the efficiency of king bolete mushroom on the infection of egg mass stage of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* that 5 isolates TA6 , TA 9 , TA 11 , TA 13 and AK 15 provided, significantly highest infective efficiency than the control. The infective were 100 % respectively.

คำสำคัญ: การควบคุมโดยชีววิธี ไส้เดือนฝอยรากปม เห็ดตับเต่า

Keywords: Biological control, Root-Knot Nematode, King Bolete Mushroom

¹Corresponding author: agramsk@ku.ac.th

*นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**อาจารย์ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บทนำ

ไส้เดือนฝอยรากปม (root-knot nematode), *Meloidogyne incognita* เป็นหนึ่งในศัตรูพืชที่สร้างความเสียหายต่อพืชเศรษฐกิจหลายชนิดทั่วโลก ส่งผลให้ผลผลิตลดลง และไม่มีคุณภาพ นอกจากนี้ภาวะการเกิดโรคร่วม (disease complex) ยังทำให้พืชต้านทานต่อโรคอื่นลดลง หรือทำให้เชื้อสาเหตุโรคพืชชนิดอื่นเข้าทำลายพืชได้ง่าย เป็นผลให้พืชที่ปลูกเกิดความเสียหายรุนแรงมากขึ้น [1-4] ยิ่งไปกว่านั้นการควบคุมทำได้ยาก และต้องใช้ร่วมกันหลายวิธี เช่น การปลูกพืชหมุนเวียน การใช้พืชกับดัก การใช้พันธุ์ต้านทาน และการใช้สารเคมีควบคุม [5] แม้ว่าการใช้สารเคมีเป็นวิธีการป้องกันกำจัดที่มีประสิทธิภาพมาก และรวดเร็ว แต่สารเคมีมีราคาแพง ทำให้ไม่คุ้มค่าต่อการผลิต อาจไปทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน และส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม สุขภาพของมนุษย์หากใช้ต่อเนื่องเป็นเวลานาน [6-8] ดังนั้นการใช้จุลินทรีย์จึงเป็นอีกทางเลือกที่ปลอดภัย เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และส่งผลดีต่อผู้บริโภค เชื่อเห็ดเป็นอีกกลุ่มหนึ่งที่มีการรายงานว่าสามารถควบคุมไส้เดือนฝอยได้ [9] มีมูลค่าสูงทางเศรษฐกิจ และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตให้กับพืชได้ [10] มีการรายงานว่าเห็ดตับเต่าสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญของต้นพริกได้ สอดคล้องกับ [11] เชื่อเห็ดตับเต่าเป็นเชื้อที่อาศัยร่วมกับรากพืชแบบพึ่งพาอาศัย (symbiosis relationships) เจริญห่อหุ้มรากพืช ช่วยให้รากพืชสามารถรักษาความชื้น ได้ดีขึ้นรวมทั้งป้องกันการเกิดโรคที่ระบบรากได้ อีกทั้งผู้วิจัยสังเกตพบว่าเชื้อเห็ดตับเต่ามีการสร้างสารบางชนิดบนเส้นใย แสดงดังในภาพที่ 1 เหมือนกับเชื้อเห็ดนางรม เมื่อไส้เดือนฝอยไปสัมผัสหดย่น้ำบนเส้นใยจะทำให้ไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ได้ช้าลง หลังจากนั้นจะใช้เส้นใยเข้าทำลายไส้เดือนฝอย [12-13] จากการศึกษาข้อมูลทำให้ผู้วิจัยสนใจที่จะนำเชื้อเห็ดตับเต่ามาคัดเลือกที่มีประสิทธิภาพในการทำลายไส้เดือนฝอยรากปม การใช้น้ำกรองจากเส้นใยเห็ดตับเต่าที่ระดับความเข้มข้นต่างกันสามารถลดจำนวนรากปม และจำนวนกลุ่มไข่ลงได้ อีกทั้งยังส่งผลให้ต้นพืชมีค่าเฉลี่ยของมวลสดต้น มวลแห้งต้น ราก และอัตราส่วนต้นต่อรากเพิ่มขึ้น [14] ซึ่งในสารสกัดจากเห็ดตับเต่าที่สกัดด้วยเอทานอล มีสาร Protocatechuic acid เป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย มีค่า Rf เท่ากับ 0.27 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Alves [15] ที่รายงานพบสาร Protocatechuic acid ในเห็ดตับเต่า (*Boletus edulis*) สารนี้มีความสำคัญในการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ แบคทีเรีย และเชื้อรา [16-17] โดยสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช และแบคทีเรีย คือ สาร Cinnamic acid และ Protocatechuic acid ซึ่งมีฤทธิ์ในการทำลายผนังเซลล์ ทำให้เชื้อหุ้มเซลล์เสียหาย มีเอนไซม์ที่มีผลยับยั้งการทำงานของเซลล์ [18] เชื้อเห็ดตับเต่า ยังสามารถช่วยให้ต้นไม้มีอัตราการอยู่รอด และการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น เชื้อราจะผลิตฮอร์โมนบางอย่างออกมากระตุ้นให้รากแขนงแตกยืงยาวออกไป ช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวในการดูดน้ำ และธาตุอาหารของราก ช่วยยืดอายุของราก เชื้อราที่อยู่รอบๆ รากในลักษณะที่เป็นแผ่นแมนเทิล และไฮฮาร์ติก (Hartig net) ช่วยห่อหุ้มราก ทำให้เชื้อสาเหตุโรคพืชไม่สามารถเข้าไปทำลายเซลล์ของรากได้ และยังสามารถสร้างสารจำพวกปฏิชีวนะ (antibiotic) ออกมารอบๆ ป้องกันการเข้าทำลาย และสร้างความปลอดภัยจากเชื้อโรคได้ ปฏิสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกันระหว่างดินไม้ และจุลินทรีย์ในดิน (soil microorganism) มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการสลายตัวของอินทรีย์วัตถุ ขบวนการแปรสภาพของสารอินทรีย์รวมไปถึงกระบวนการตรึงไนโตรเจน [19]

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาและคัดเลือกเชื้อเห็ดตับเต่า (*Boletus* sp.) ที่มีประสิทธิภาพต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) ในห้องปฏิบัติการ
2. เพื่อศึกษากลไกการเข้าทำลายของเชื้อเห็ดตับเต่า (*Boletus* sp.) ต่อไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*)

วิธีการวิจัย

1. การสุ่มเก็บตัวอย่างเห็ดตับเต่า (*Boletus* sp.)

สุ่มเก็บตัวอย่างเห็ดตับเต่า จากในพื้นที่ หมู่ 5 ตำบลสามเรือน อำเภอบางปะอิน จังหวัดพระนครศรีอยุธยา โดยวิธีเดินแบบซิกแซ็ก แบ่งพื้นที่ 1 ไร่ ออกเป็น 15 แปลงย่อย สุ่มเก็บแปลงย่อยละ 10 จุด ตามแนวโค่นต้นโสนกำหนดจุดหัวแปลงให้เป็นจุดเริ่มต้นที่ 1 โดยเดินเฉียงให้ห่างขึ้นไปทางขวา หรือซ้ายสลับไปมาจนถึงจุดสุดท้าย [20]

2. การแยกเชื้อเห็ดบรูสเทอรี่

คัดเลือกดอกเห็ดตับเต่าที่สมบูรณ์ เนื้อแน่น ไม่เปื่อยน้ำ ไม่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ และแมลงพาหะ มาแยกเชื้อโดยเทคนิคปลอดเชื้อภายใต้ตู้เขี่ยเชื้อ ใช้มีดผ่าดอกเห็ด ตัดเนื้อเยื่อบริเวณภายในโคนดอกเป็นชิ้นขนาด 0.3-0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใช้เข็มเขี่ยตัดเนื้อเยื่อเห็ด วางบนอาหาร PDA (potato dextrose agar) [21] สังเกตการเจริญของเส้นใยเห็ด หากเป็นเส้นใยบรูสเทอรี่จะมีสีน้ำตาลอ่อน (ไม่มีเชื้ออื่นเจริญร่วม) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30-35 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 45-60 วัน บนเส้นใยจะเริ่มสร้างหยดน้ำสีน้ำตาลเข้ม และเมื่อเส้นใยเจริญเต็มผิวหน้าอาหารนำเชื้อเห็ดตับเต่าไปเพิ่มปริมาณบนอาหาร PDA เก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อใช้ในการทดลอง

3. การเตรียมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita*

นำไส้เดือนฝอยรากปมที่ทำให้บรูสเทอรี่มาเลี้ยงในรากมะเขือเทศเมื่ออายุครบ 30 วัน นำรากปมที่มีกลุ่มไข่สีน้ำตาลเข้ม ล้างน้ำให้สะอาด จากนั้นนำกลุ่มไข่มาเขี่ยภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope ล้างทำความสะอาดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) 10% เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นล้างผ่านน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง [22] นำกลุ่มไข่ที่ได้ไปใช้ในการทดลองที่ 4 และ 5

4. ศึกษาการเจริญของเชื้อเห็ดตับเต่าบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ PDA+Yeast 1%

เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดรวม 15 ไอโซเลท คือ TA1, TA 2, TA 3, TA 4, TA5, TA6, TA7, TA8, TA9, TA10, TA11, TA12, TA13, TA14 และ AK15 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ PDA+Yeast 1% โดยนำเชื้อเห็ดตับเต่ามาเพิ่มปริมาณบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน ตัดชิ้นวุ้นบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อเห็ดด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ใช้เข็มเขี่ยตัดชิ้นวุ้นวางตรงกลางอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารปริมาตร 15 มิลลิลิตรต่อจาน บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30-35 องศาเซลเซียส) บันทึกผลการทดลอง จนครบ 7 วัน นำข้อมูลมาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดบนอาหารทั้ง 2 ชนิดโดยคำนวณจากเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี จากสูตรดังต่อไปนี้ $(X+Y)/2 =$ ค่าเฉลี่ย (X คือ ความกว้าง และ Y คือ ความยาว)

5. ประสิทธิภาพของเส้นใยเห็ดตับเต่าต่อการฟักของกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในห้องปฏิบัติการ

นำเชื้อเห็ดตับเต่าบรูสเทอรี่ แต่ละไอโซเลทจาก stock มาเลี้ยงบนอาหาร PDA จากนั้นใช้ cork borer เจาะบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อเห็ด ใช้เข็มเขี่ยตัดชิ้นวุ้นวางบนอาหาร WA ที่อยู่ในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 เซนติเมตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 วัน นำกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยรากปมที่เตรียมไว้ห่างจากปลายเส้นใยที่เจริญ 1 เซนติเมตร วางแผนการทดลองแบบ CRD บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเข้าทำลายของเชื้อเห็ดแต่ละไอโซเลทภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope นับจำนวนกลุ่มไข่ที่ถูกเส้นใยเห็ดเข้าทำลาย แสดงดังในภาพที่ 2 [23] นับจำนวนการฟักตัวของตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปมที่ระยะเวลา 48, 72, 96, 120 และ 144 ชั่วโมง นำมา

คำนวณค่าเฉลี่ยตามสูตร $\text{egg hatching rate} = 100 \times \text{juveniles}/(\text{eggs} + \text{juveniles})$ and $\text{juvenile mortality} = 100 \times \text{dead juvenile}/\text{total juvenile}$ [24]

6. ประสิทธิภาพของเส้นใยเห็ดตับเต่าต่อตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในห้องปฏิบัติการ

นำเชื้อเห็ดตับเต่า แต่ละไอโซเลทมาเลี้ยงบนอาหาร WA (เหมือนกับ 4) นำตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปมวางห่างจากปลายเส้นใยที่เจริญ 1 เซนติเมตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเข้าทำลายของเชื้อเห็ดแต่ละ ไอโซเลทโดยนับจำนวนตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยที่ถูกเส้นใยพันรัดและแทงทำลายโดยตรง ศึกษาการตาย (ลำตัวเหี่ยวโดยตรง หยุดการเคลื่อนที่) และลักษณะการเข้าทำลาย ที่ระยะเวลา 48, 72, 96, 120 และ 144 ชั่วโมง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ Stereo microscope และ Compound microscope นำค่าที่ได้มาคิดคำนวณ ($\text{dead juvenile rate} = 100 \times \text{dead juvenile}/\text{total juvenile}$.) [24]

7. กลไกการเข้าทำลายของเชื้อเห็ดตับเต่าต่อไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita*

หลังจากการทดสอบประสิทธิภาพของเส้นใยเห็ดตับเต่าต่อการฟักตัวของกลุ่มไข่ในข้อ 4 และประสิทธิภาพของเส้นใยเห็ดตับเต่าต่อตัวอ่อนระยะที่ 2 ในข้อ 5 แล้ว นำมาศึกษากลไกการเข้าทำลายโดย ตัดชิ้นวุ้นบริเวณที่มีกลุ่มไข่และตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม มาวางบนสไลด์แล้วตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ Compound microscope ที่กำลังขยาย 10x, 20x และ 40x โดยดูลักษณะการเข้าทำลายของเส้นใยที่เข้าทำลายโดยตรงหรือพันรัดกลุ่มไข่และตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม บันทึกภาพโดยชุด DinoCapture 2.0 version 1.5.29.B

ผลการวิจัย

1. ศึกษาการเจริญของเชื้อเห็ดตับเต่า (*Boletus* sp.) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ PDA+Yeast 1%

จากการเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อเห็ดตับเต่า ทั้ง 15 ไอโซเลท คือ TA1, TA 2, TA 3, TA 4, TA5, TA6, TA7, TA8, TA9, TA10, TA11, TA12, TA13, TA14 และ AK15 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ PDA+Yeast 1% ที่เวลา 7 วัน พบว่าเชื้อเห็ดตับเต่าที่เลี้ยงบนอาหาร PDA+Yeast 1% ไอโซเลท AK 15 มีค่าเฉลี่ยการเจริญดีที่สุดคือ 1.73 เซนติเมตร แสดงดังในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm.) กลางโคโลนีของเชื้อเห็ดตับเต่าบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ PDA+Y 1% เมื่ออายุ 7 วัน

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)	
	PDA	PDA+Y1%
TA1	1.08 abc	1.17 bcd
TA 2	1.28 a	1.03 cd
TA 3	0.95 bc	1.08 cd
TA 4	1.08 abc	1.13 bcd
TA 5	0.98 bc	0.95 cd
TA 6	1.1 abc	0.98 cd

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลาง (cm) กลางโคโลนีของเชื้อเห็ดดับเต้านอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ PDA+Y 1% เมื่ออายุ 7 วัน (ต่อ)

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง (cm)	
	PDA	PDA+Y1%
TA 7	1.07 abc	1.33 b
TA 8	1.28 a	1.2 bc
TA 9	1.21 ab	1.05 cd
TA 10	1.07 abc	0.97 cd
TA 11	1.1 abc	1.15 bcd
TA 12	1.03 abc	0.97 cd
TA 13	1.12 abc	0.92 d
TA 14	0.85 c	0.92 d
AK 15	1.3 a	1.73 a

* ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแนวดิ่งและแนวนอนของตารางซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบโดย Duncan's New Multiple Range Test ($P \leq 0.05$)



ภาพที่ 1 ลักษณะโคโลนีเชื้อเห็ดดับเต้านอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA+ Yeast

2. ประสิทธิภาพของเส้นใยเห็ดดับเต้านต่อการฟักของกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในห้องปฏิบัติการ

จากการคัดเลือกเชื้อเห็ดที่มีประสิทธิภาพของเชื้อเห็ดดับเต้านทั้ง 15 ไอโซเลท บนอาหารเลี้ยงเชื้อ WA ที่ระยะเวลา 48, 72, 96, 120 และ 144 ชั่วโมงหลังจากใส่กลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมพบว่า เชื้อเห็ดดับเต้านไอโซเลท AK15 สามารถเข้าทำลายกลุ่มไข่ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุด Control โดยที่ 120 ชั่วโมงสามารถเข้าทำลายกลุ่มไข่ได้ 100% และเมื่อศึกษาการฟักตัวของกลุ่มไข่หลังจากที่ถูกเชื้อเห็ดเข้าทำลาย ไข่ไม่สามารถพัฒนาตัวเป็นตัวอ่อนระยะที่ 2 ได้ แสดงดังในตารางที่ 2

3. ประสิทธิภาพของเส้นใยเห็ดคัตบเต้าต่อตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในห้องปฏิบัติการ

จากการเปรียบเทียบการทำลายตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ WA จำนวน 15 ไอโซเลท พบว่า มีเชื้อเห็ดคัตบเต้า 5 ไอโซเลท คือ AK15, TA 2, TA4, TA6 และ TA13 ที่เวลา 72, 96, 120 และ 144 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายได้ดีที่สุด แสดงดังในตารางที่ 2

4. กลไกการเข้าทำลายของเชื้อเห็ดคัตบเต้าต่อไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita*

หลังจากนำชิ้นวัณบริเวณที่มีกลุ่มไข่และตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม มาตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope ที่กำลังขยาย 10x, 20x และ 40x พบว่าเชื้อเห็ดคัตบเต้ามีกลไกการเข้าทำลายเหมือนกับเชื้อเห็ด *Pleurotus ostreatus* [12][25] และเชื้อรา *Trichoderma* sp. โดยบุกรุกทำลายโดยตรง และใช้เส้นใยพัดรัดเข้าทำลายไข่และตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม จากนั้นดูดกินสารอาหารจากไส้เดือนฝอย [26-27] นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อเห็ดยังสามารถสร้างสารปฏิชีวนะบนปลายเส้นใย เมื่อไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ไปบนเส้นใยจะทำให้เคลื่อนที่ช้าลง ซึ่งสอดคล้องกับ [28] ตารางที่ 2 เปรียบเทียบการเข้าทำลายของเชื้อเห็ดคัตบเต้าต่อไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ที่เวลา 48, 72, 96, 120 และ 144 ชั่วโมงหลังจากใส่กลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยรากปม

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบการเข้าทำลายของเชื้อเห็ดคัตบเต้าต่อไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ที่เวลา 48, 72, 96, 120 และ 144 ชั่วโมงหลังจากใส่กลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยรากปม

เชื้อ	เวลา (ชม.)	เปอร์เซ็นต์การเข้าทำลาย			
		ผลการเข้าทำลายกลุ่มไข่	ผลการฟักตัวของตัวอ่อนระยะที่ 2	ผลการเข้าทำลายของตัวอ่อนระยะที่ 2	ผลการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2
Control	48	0 c	82.67 a	0 b	0.00 b
	72	0 c	125.3 a	0 b	0.00 b
	96	0 c	137 a	0 b	0.00 b
	120	0 c	457 a	0 b	0.00 b
	144	0 c	591a	0 b	0.00 c
TA1	48	0 c	1 cd	0 b	0.00 b
	72	0 c	2.33 efg	0 b	0.00 b
	96	0 c	2.33 ef	0 b	0.00 b
	120	0 c	5 bc	0 b	0.00 b
	144	0 c	18 b	0 b	0.00 c
TA2	48	0 c	2 cd	0 b	1.33 a
	72	0 c	1.67 efg	0.33 b	1.33 a
	96	0 c	2 ef	0.33 b	1.33 a
	120	0 c	2 c	0.33 b	1.33 a
	144	0 c	2.33 de	0.33 b	1.33 b

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเชื้อเห็ดคืบเต่าต่อไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ที่เวลา 48, 72, 96, 120 และ 144 ชั่วโมงหลังจากใส่กลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยรากปม (ต่อ)

เชื้อ	เวลา (ชม.)	เปอร์เซ็นต์การเข้าทำลาย			
		%การเข้าทำลายกลุ่มไข่	%การฟักตัวของตัวอ่อนระยะที่ 2	%การเข้าทำลายของตัวอ่อนระยะที่ 2	%การตายของตัวอ่อนระยะที่ 2
TA3	48	0 c	0.00 d	0 b	0.00 b
	72	0 c	0.00 g	0 b	0.00 b
	96	0 c	0.00 f	0 b	0.00 b
	120	0 c	0.33 c	0 b	0.00 b
	144	0 c	0.33 e	0 b	0.00 c
TA4	48	0 c	5.00 b	0 b	0.00 b
	72	0 c	5.00 bcd	0.33 b	0.67 ab
	96	0 c	5.67 bcd	0.33 b	1.33 a
	120	0 c	6.00 bc	0.33 b	1.33 a
	144	0 c	7.00 cde	0.33 b	1.33 b
TA5	48	0 c	0.00 d	0 b	0.00 b
	72	0 c	0.33 g	0 b	0.00 b
	96	0 c	3.33 de	0 b	0.67 ab
	120	0 c	5.00 bc	0 b	0.67 ab
	144	0 c	6.33 cde	0 b	0.67 bc
TA6	48	0 c	3.33 bc	0 b	1.00 a
	72	0 c	6.67 bc	0.33 b	1.33 a
	96	0 c	6.67 bc	0.33 b	1.33 a
	120	0 c	7.33 bc	0.33 b	1.33 a
	144	0 c	8.00 cd	0.33 b	1.33 b
TA7	48	0 c	0.00 d	0 b	0.00 b
	72	0 c	0.67 fg	0 b	0.00 b
	96	0 c	1.00 ef	0 b	0.00 b
	120	0 c	2.00 c	0 b	0.00 b
	144	0 c	2.67 de	0 b	0.00 c
TA8	48	6.67 bc	0.67 cd	0 b	0.00 b
	72	6.67 bc	2.00 efg	0 b	0.00 b
	96	6.67 bc	2.33 ef	0 b	0.00 b
	120	6.67 bc	1.67 c	0 b	0.00 b

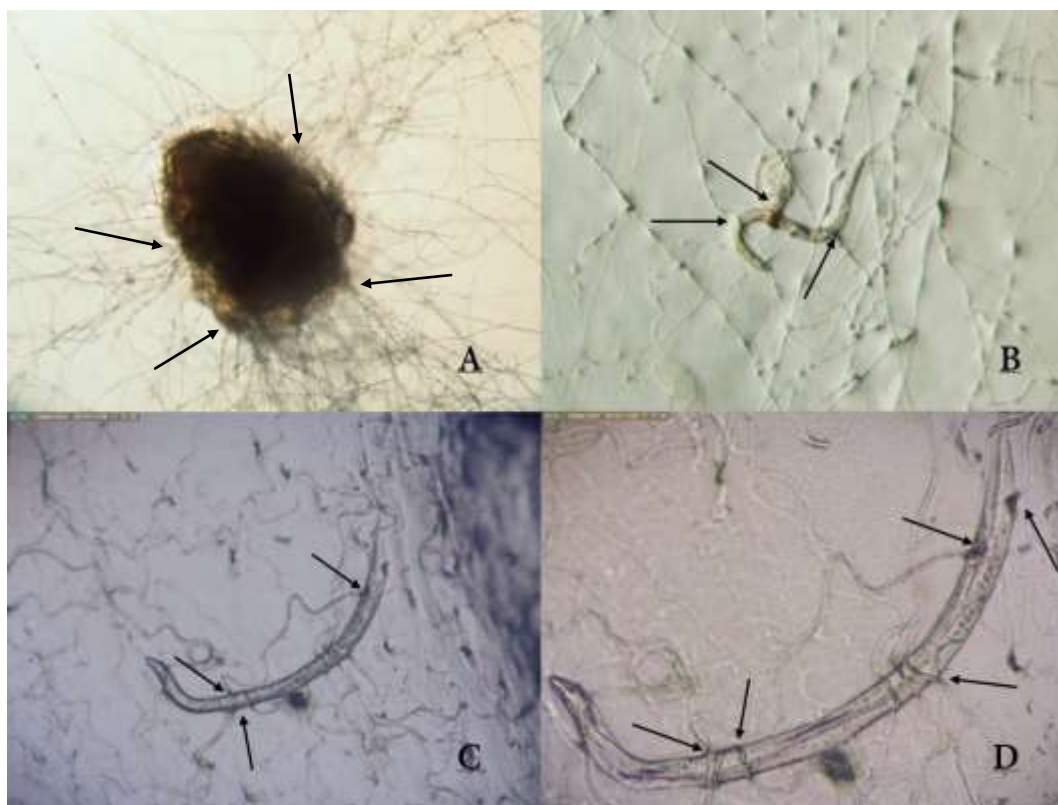
ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเชื้อเห็ดตับเต่าต่อไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ที่เวลา 48, 72, 96, 120 และ 144 ชั่วโมงหลังจากใส่กลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยรากปม (ต่อ)

เชื้อ	เวลา (ชม.)	เปอร์เซ็นต์การเข้าทำลาย			
		%การเข้าทำลายกลุ่มไข่	%การฟักตัวของตัวอ่อนระยะที่ 2	%การเข้าทำลายของตัวอ่อนระยะที่ 2	%การตายของตัวอ่อนระยะที่ 2
TA9	144	6.67 bc	3.33 de	0 b	0.00 c
	48	13.33 b	0.00 d	0 b	0.00 b
	72	13.33 b	1.00 fg	0 b	0.00 b
	96	13.33 b	1.00 ef	0 b	0.00 b
	120	13.33 b	1.00 c	0 b	0.00 b
TA10	144	13.33 b	1.33 de	0 b	0.00 c
	48	0 c	0.00 d	0 b	0.00 b
	72	0 c	8.5 b	0 b	0.00 b
	96	0 c	8.33 b	0 b	0.00 b
	120	0 c	8.33 bc	0 b	0.00 b
TA11	144	0 c	11.67 c	0 b	0.00 c
	48	13.33 b	2.00 cd	0 b	0.00 b
	72	13.33 b	4.00 cde	0 b	0.00 b
	96	13.33 b	4.00 cde	0 b	0.00 b
	120	13.33 b	4.00 bc	0 b	0.00 b
TA12	144	13.33 b	4.67 de	0 b	0.00 c
	48	0 c	1.00 cd	0 b	0.00 b
	72	0 c	7.00 bc	0 b	0.67 ab
	96	0 c	7.33 b	0 b	0.67 ab
	120	0 c	11.00 b	0 b	0.67 ab
TA13	144	0 c	12.33 bc	0 b	4.00 a
	48	6.67 bc	1.00 cd	0 b	0.00 b
	72	6.67 bc	3.33 def	0.33 b	0.00 b
	96	6.67 bc	3.33 de	0.33 b	1.00 a
	120	6.67 bc	5.67 bc	0.33 b	1.00 a
TA14	144	6.67 bc	6.67 cde	0.33 b	1.00 bc
	48	0 c	2.67 bcd	0 b	0.00 b
	72	0 c	3.33 def	0 b	1.00 a
	96	0 c	5.67 bcd	0 b	1.00 a

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเชื้อเห็ดคืบเต่าต่อไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ที่เวลา 48, 72, 96, 120 และ 144 ชั่วโมงหลังจากใส่กลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยรากปม (ต่อ)

เชื้อ	เวลา (ชม.)	เปอร์เซ็นต์การเข้าทำลาย			
		%การเข้าทำลายกลุ่มไข่	%การฟักตัวของตัวอ่อนระยะที่ 2	%การเข้าทำลายของตัวอ่อนระยะที่ 2	%การตายของตัวอ่อนระยะที่ 2
AK15	120	0 c	6.33 bc	0 b	1.00 a
	144	0 c	7.00 cde	0 b	1.00 bc
	48	100 a	0.00 d	1 a	1.00 a
	72	100 a	0.00 g	1 a	1.00 a
	96	100 a	0.00 f	1 a	1.00 a
	120	100 a	0.00 c	1 a	1.00 a
	144	100 a	0.33 e	1 a	1.00 bc

*ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแนวดิ่งและแนวนอนของตารางซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบโดย Duncan's New Multiple Range Test ($P \leq 0.05$)



ภาพที่ 2 ลักษณะของเส้นใยเชื้อเห็ดคืบเต่า (*Boletus* sp.) ทำลายกลุ่มไข่ และตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita*

- A) ลูกศรชี้แสดงเส้นใยเห็ดดัดแปลงทางทำลายกลุ่มไข่ถูกเส้นใยเห็ดดัดแปลงเข้าทำลาย ที่กำลังขยาย 20X
- B) ลูกศรชี้แสดงเส้นใยเห็ดดัดแปลงทางทำลายและพันธุ์ตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม ที่กำลังขยาย 10X
- C) ลูกศรชี้แสดงเส้นใยเห็ดดัดแปลงทางทำลายตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม ที่กำลังขยาย 20X
- D) ลูกศรชี้แสดงเส้นใยเห็ดดัดแปลงพันธุ์ตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม ที่กำลังขยาย 40X

สรุปผลการศึกษา

การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดทั้ง 15 ไอโซเลท พบว่า เชื้อเห็ดดัดแปลงไอโซเลท AK 15 เจริญเติบโตได้ดีที่สุด คือ 1.73 เซนติเมตร การทดสอบประสิทธิภาพของเส้นใยเห็ดดัดแปลงต่อการเข้าทำลายกลุ่มไข่ การฟักตัว และการเข้าทำลายตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในห้องปฏิบัติการทั้ง 15 ไอโซเลท สามารถคัดเลือกเชื้อเห็ดดัดแปลงที่มีประสิทธิภาพได้ คือ ไอโซเลท คือ AK15 มีเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายมากที่สุดคือ 100% ที่ช่วงเวลา 120 และ 144 ชั่วโมง การศึกษาการเข้าทำลายกลุ่มไข่ และตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม พบว่าเชื้อเห็ดสร้างเส้นใยพดัดแปลงผ่านเข้าไปทำลายไส้เดือนฝอยรากปมโดยตรง

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มศักยภาพเชิงบูรณาการเพื่อการแข่งขันภายใต้โครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. ประจำปีงบประมาณ 2559

เอกสารอ้างอิง

1. Shahbaz MU, Mukhtar T, Haque MI, Begum N. Biochemical and serological characterization of *Ralstonia solanacearum* associated with chilli seeds from Pakistan. *Int J Agric Biol.* 2015; 17(1): 31-40.
2. Aslam MN, Mukhtar T, Ashfaq M, Hussain MA. Evaluation of chili germplasm for resistance to bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. *Australas Plant Pathol.* 2017; 46(3): 289-292.
3. Aslam MN, Mukhtar T, Hussain MA, Raheel M. Assessment of resistance to bacterial wilt incited by *Ralstonia solanacearum* in tomato germplasm. *J Plant Dis Prot.* 2017; 124(6): 585-590.
4. Fateh FS, Mukhtar T, Kazmi MR, Abbassi NA, Arif AM. Prevalence of citrus decline in district Sargodha. *Pak J Agric Sci.* 2017; 54(1): 9-13.
5. Trudgill DL, Blok VC. Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. *Annu Rev Phytopathol.* 2001; 39: 53-77.
6. Ismail AE. Growing *Jatropha Curcas* and *Jatropha Gossypifolia* as a Interculture with Sunflower for Control of *Meloidogyne Javanica* in Egypt. *International Journal of Sustainable Agricultural Research.* 2014; 1(2): 39-44.
7. Cook RJ, Baker KF. The Nature and Practice of Biological of Pathogens. The American Phytopathological Society St. Minnesota; 1983.
8. Jalata P. Biological control of nematode, Sasser JN, Carter CC, editor. An advanced treatise on Meloidogyne Volume II: Methodology. USA. Dept Plant Pathol. North Carolina State Univ. 1985; p. 303-304.

9. Khun-in A. The Influence of Some Mushrooms on Root-knot Nematode *Meloidogyne incognita* [MSc thesis]. Nakhon Pathom: Kasetsart University; 2005. Thai.
10. Saeng-ngoen K, Yutim B. Effect of Concentrated Liquid Boletus Mushroom (*Boletus colossus* Heim.) on Growth and Yield of Hybrid Chilli (*Capsicum annuum* var. Super Hot). Songklanakarin J Pl Sci. 2018; 5(3): 1-8. Thai.
11. Verasathiean S, Tangkijchote P, Wanichkul K. Nutrients Affecting Seedling Growth of Eucalyptus after King Boletus Spawn Inoculation. Agricultural Sci J. 2010; 41 Suppl 3/1: S201-204. Thai.
12. Khun-in A, Sukhakul S, Chamswarn C, Tangkijchote P, Sasnarukkit A. Culture filtrate of *Pleurotus ostreatus* isolate Poa3 effect on egg mass hatching and juvenile 2 of *Meloidogyne incognita* and its potential for biological control. J ISSAAS. 2015; 21(1): 46-54.
13. Heydari R, Pourjam E, Mohammadi Goltapeh E. Antagonistic effect of some species of *Pleurotus* on the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* in vitro. J Plant Pathol. 2006; 5(2): 173-177.
14. Rajchawong N. Efficacy of the Filtrate from King Boletus Mushroom Mycelia (*Boletus colossus* Heim.) for Controlling Root-Knot Nematode (*Meloidogyne incognita*) of Chili [B.S. thesis]. Nakhon Pathom: Kasetsart University; 2010. Thai.
15. Alves MJ, Ferreira IC, Froufe HJ, Abreu RM, Martins A, Pintado M. Antimicrobial activity of phenolic compounds identified in wild mushrooms SAR analysis and docking studies. J Appl Microbiol. 2013; 1-12.
16. Kim MY, Seguin P, Ahn JK, Kim JJ, Chun SC, Kim EH. Phenolic Compound Concentration and Antioxidant Activities of Edible and Medicinal Mushrooms from Korea. J Agric food chem. 2008; 56: 7265-7270.
17. Vaquero MJR, Alberto MR, Manca de Nadra MC. Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. Food Control. 2007; 18: 93-101.
18. Tiwari PK, Kumar M, Kaur H. Phytochemical screening and Extraction: A Review. IPS. 2011; 1: 98-106.
19. Warcup JH. Ectomycorrhizal Associations of Australian Indigenous Plants. New Phytologist. 1980; 85: 531-535.
20. Ackerson JP. Soil Sampling Guidelines. Ag purdue edu Agry. 2018.
21. Biodiversity-based Economy Development Office. Mushroom biological property list. Biodiversity Digital Library. 2013. 376 p. Thai.
22. McClure MA, Kruk TH, Misaghi I. A method for obtaining quantities of clean *Meloidogyne* eggs. J Nematol. 1973; 5(3): 230.
23. Gortari MC, Hours RA. Fungal chitinases and their biological role in the antagonism onto nematode eggs. A Rev Mycol Progress. 2008; 7(4): 221-238.
24. Sun MH, Gao L, Shi YX, Li BJ, Liu XZ. Fungi and actinomycetes associated with *Meloidogyne* spp. eggs and females in China and their biocontrol potential. Invertebr Pathol J. 2006; 93(1): 22-28.
25. Barron GL, Thorn RG. Destruction of nematodes by species of *Pleurotus*. Can J Bot. 1987; 65(4): 774-778.
26. Contina JB, Danduran LM, Knudsen GR. Use of GFP-tagged *Trichoderma harzianum* as a tool to study the biological control of the potato cyst nematode *Globodera pallida*. Appl Soil Ecol. 2017; 115: 31-37.



27. Zhang S, Gan Y, Ji W, Xu B, Hou B, Liu J. Mechanisms and characterization of *Trichoderma longibrachiatum* T6 in suppressing nematode (*Heterodera avenae*) in wheat. Front Plant Sci. 2017. 15(8) 1491.
28. Barron GL. Pleurotus toxin[Internet]. 2003. Barron Website. Available from <http://www.uoguelph.ca/~gbarron/Zbiodiversity/pleutox.htm>