ประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* ต่อไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) ในพริก

Efficacy of Bioactive Compound from Luminescent Mushroom, *Neonothopanus nambi* on Root-Knot Nematode in Chilli

นางสาวสุรีย์พร บัวอาจ[๑/] นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด[๑/]
นางสาวบูรณี พั่ววงษ์แพทย์[๑/] นางวิลาวัณย์ ใคร่ครวญ[๒/]

บทคัดย่อ

จากการนำสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* ไปใช้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม ด้วยวิธีการประยุกต์ใช้ในรูปแบบของก้อนเชื้อในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี โดยนำก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงที่มีเส้นใยเดินเต็มถุงมาขยี้ให้เส้นใยแยกจากกัน แล้วนำไปรองก้นหลุมก่อนปลูกพริก ในอัตรา ๑๐, ๒๐, ๓๐, ๔๐ และ ๕๐ กรัมต่อกระถาง จากการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การเกิดปมที่รากพริก เมื่อพริกอายุครบ ๔๕ วัน หลังปลูกเชื้อด้วยไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* จำนวน ๒,๐๐๐ ไข่/กระถาง พบว่าทุกอัตราการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงสามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ดี โดยเฉพาะที่อัตรา ๑๐ กรัมต่อกระถาง สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ดีที่สุด ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากปมเพียง ๑๒.๔๐ เปอร์เซ็นต์ และอัตราการใช้ก้อนเชื้อเห็ดรองลงมาที่อัตรา ๒๐, ๔๐, ๓๐ และ ๕๐ กรัมต่อกระถาง ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากปม ๒๓.๒๐, ๒๕.๔๐, ๓๐.๐๐ และ ๓๐.๔๐ เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งทุกอัตราการใช้ก้อนจากเชื้อเห็ดเรืองแสง มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่มีไส้เดือนฝอยรากปมเพียงอย่างเดียว หรือการใช้สารเคมี carbofuran® ที่พบการเกิดปมสูงถึง ๗๕.๖๐ และ ๖๐ เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการศึกษานี้ชี้ให้เห็นถึงแนวทางการนำเอาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง *N. nambi* ไปใช้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมอย่างมีประสิทธิภาพ ประหยัดและปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาต่อไปเพื่อใช้ในการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี เพื่อช่วยลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช

[๑/]สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[๒/]สถาบันวิจัยพืชสวน

๑. คำนำ

พริก (*Capsicum annumm* L.) เป็นพืชผักในวงศ์ Solanaceae ที่สามารถปลูกและเจริญเติบโตได้ดีทั่วทุกภาคของประเทศไทย และยังปลูกได้ตลอดทั้งปี แหล่งปลูกพริกที่สำคัญอยู่ในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งจังหวัดที่มีแหล่งปลูกพริกมาก ได้แก่ นครราชสีมา อุบลราชธานี ศรีสะเกษ ชัยภูมิ เชียงใหม่ นครสวรรค์ เพชรบูรณ์ เลย และกาญจนบุรี (ศศิธร, ๒๕๔๕) ในประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกพริกประมาณ ๔๗๔,๗๑๗ ไร่ ให้ผลผลิตประมาณ ๓๓๓,๖๗๒ ตัน มีการส่งออกทั้งในรูปผลสด และแปรรูป คิดเป็นมูลค่ากว่า ๙๐๐ ล้านบาทต่อปี (วรรณภา และคณะ, ๒๕๕๐)

ปัญหาด้านโรคพืชที่สำคัญของพริก คือ โรครากปมที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita* Chitwood) ซึ่งส่งผลกระทบต่อพริกทั้งด้านปริมาณและคุณภาพเป็นอย่างมาก (ยุวดี และคณะ, ๒๕๕๐) การป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยรากปมมีหลายวิธี เช่น การไถพรวน การไขน้ำท่วม การปลูกพืชหมุนเวียน (จรัส และคณะ, ๒๕๓๔) การใช้อินทรียวัตถุ (อนันต์, ๒๕๒๕) การใช้พันธุ์ต้านทาน และการใช้สารเคมีเป็นต้น (นิรมิต, ๒๕๒๙) ซึ่งการป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยโดยการใช้สารเคมีนั้น เป็นวิธีที่มีการลงทุนสูง และสารเคมีเหล่านี้เป็นอันตรายต่อผู้ใช้ที่ขาดความรู้และความระมัดระวัง ทำให้มีสารพิษตกค้างเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค และสภาพแวดล้อมได้ ดังนั้นการนำวิธีการอื่นที่ปลอดภัยและประหยัดค่าใช้จ่ายมาใช้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม จึงเป็นแนวทางที่ควรให้ความสำคัญ (Jatala, ๑๙๘๖) การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biological control) เป็นอีกทางเลือกหนึ่ง ที่มีการศึกษาและนำมาใช้กันมาก เนื่องจากเป็นวิธีที่ปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิต และไม่ทำลายสภาพแวดล้อม มีเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม เช่น เชื้อแบคทีเรีย *Pasteuria penetrans*, เชื้อรา *Pochonia chlamydosporia, Arthobotrys dactyloides* และ *Paecilomyces lilacinus* (สืบศักดิ์, ๒๕๓๘; Jalata, ๑๙๘๕) แต่สำหรับการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา สามารถควบคุมได้ในระดับหนึ่งเท่านั้น เนื่องจากการศึกษาการใช้ประโยชน์จากเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้มีข้อจำกัด เช่น จุลินทรีย์บางชนิดไม่สามารถเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ หรือเพิ่มปริมาณได้น้อย ไม่พอที่จะนำไปใช้ควบคุมในพื้นที่กว้างๆ ไม่คงทนอยู่ในดินได้เป็นเวลานาน และไม่สะดวกในการนำไปใช้ (กนกพรรณ, ๒๕๔๔)

ในต่างประเทศมีการศึกษาถึงการใช้ประโยชน์จากเห็ดเรืองแสงโดยนำสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี โดยเฉพาะในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) ที่เป็นสาเหตุโรคพืชที่ก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจมากกว่า ๓,๐๐๐ ชนิด ทั้งในเขตหนาว และเขตร้อน (สืบศักดิ์, ๒๕๔๑) Sterner และคณะ (๑๙๙๗) รายงานว่าสาร secondary metabolite ที่ได้จาก culture filtrate โดยเลี้ยงเห็ด *Omphalotus olearius* ในอาหารเหลว yeast glucose malt (YMG) แล้วนำมาทดสอบกับไส้เดือนฝอยรากปม (*M. incognita*) พบว่าสามารถยับยั้งไส้เดือนฝอยรากปมได้ จากการศึกษาพบว่าเห็ดเรืองแสงชนิดนี้จะสร้างสารพิษที่เรียกว่า omphalotin

Mayer และคณะ (๑๙๙๗) พบเห็ดเรืองแสง *O. olearius* ที่อยู่ในกลุ่ม Basidiomycota เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ YMG แล้วนำ culture filtrate ที่ได้มาทดสอบกับตัวอ่อนระยะที่ ๒ (J๒) ของไส้เดือนฝอยรากปม (*M. incognita*) พบว่า มีผลทำให้ J๒ ตาย ๙๐ เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากใน culture filtrate มีสารพิษ omphalotin ซึ่งมีผลต่อระบบประสาทของไส้เดือนฝอยรากปม ซึ่งสอดคล้องกับ Meyer และคณะ (๒๐๐๔) ที่รายงานว่าเชื้อราส่วนใหญ่สามารถผลิตสารที่มีผลต่อไส้เดือนฝอยรากปมที่เป็นสาเหตุโรคพืชได้ เช่น เชื้อรา *O. olearius* สามารถผลิตสาร omphalotin ซึ่งเป็นพิษต่อระบบประสาทของไส้เดือนฝอยรากปม (*M. incognita*)

สุรีย์พร (๒๕๔๖) ได้ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับการนำสารออกฤทธิ์จาก culture filtrate ของเห็ดเรืองแสง ๒ ไอโซเลทที่พบในเขตโคกภูตากา ได้แก่ ไอโซเลท PW๑ และไอโซเลท PW๒ กับไอโซเลทที่พบในเขตมหาวิทยาลัยขอนแก่น (KKU) อีก ๑ ไอโซเลท พบว่า culture filtrate ที่ระดับความเข้มข้น ๘๐ เปอร์เซ็นต์ ตรวจผลที่ ๔๘ ชั่วโมง หลังการทดสอบกับตัวอ่อนระยะที่ ๒ (J๒) ของไส้เดือนรากปม (*M. incognita*) พบว่าสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสง ไอโซเลท PW๒ มีผลต่ออัตราการตายของ J๒ คิดเป็น ๒๗.๖๗ เปอร์เซ็นต์

สุรีย์พร (๒๕๕๐) ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* จำนวน ๓ ไอโซเลท ได้แก่ PW๑, PW๒ และ KKU พบว่า การใช้ culture filtrates จากเห็ดเรืองแสง ไอโซเลท PW๑ ปริมาตร ๓๐ มิลลิลิตรต่อกระถาง สามารถลดจำนวนการเกิดปมที่รากได้ดีที่สุด คิดเป็น ๘๑ เปอร์เซ็นต์ ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพโดยใช้เส้นใยจากก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในมะเขือเทศ พบว่า ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง ไอโซเลท PW๒ ที่ผสมดินในอัตรา ๓๐ กรัมต่อกระถาง มีประสิทธิภาพดีที่สุด คือสามารถลดจำนวนการเกิดปมที่รากคิดเป็น ๗๓ เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษานี้ชี้ให้เห็นถึงแนวทางการนำเอาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง (*N. nambi*) ไปใช้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมโดยชีววิธี

๒. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

๑. เห็ดเรืองแสง (*Neonothopanus nambi*) ไอโซเลท PW๒
๒. ไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*, Mi)
๓. พริกพันธุ์หัวเรือ
๔. อุปกรณ์ในการแยกไส้เดือนฝอย ได้แก่ ตะแกรง กรวย กล้องสเตอริโอ เป็นต้น
๕. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ ฯลฯ
๖. วัสดุในการเพาะเห็ด และโรงเรือนเพาะเห็ด
๗. ดินปลูก และกระถางปลูกพริก
๘. โรงเรือน และห้องบ่มก้อนเชื้อเห็ด

วิธีการ

๑. แหล่งที่มาของสิ่งมีชีวิตที่ใช้ทดสอบ

๑.๑ ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ได้รับความอนุเคราะห์จากกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ซึ่งได้จากแปลงปลูกพริกที่มีการระบาดของโรครากปมที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในเขตพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี ซึ่งเป็นแหล่งปลูกพริกที่สำคัญของประเทศไทย (ภาพที่ ๑)

ภาพที่ ๑ ลักษณะโรครากปมของพริกที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* เข้าทำลาย

๑.๒ เห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* ได้รับเชื้อเห็ดเรืองแสงจาก รศ.ดร. วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยใช้เชื้อเห็ดเรืองแสง *N. nambi* ไอโซเลท PW๒ (ภาพที่ ๒) ซึ่งแยกได้จากเห็ดเรืองแสงที่พบในเขตโคกภูตากา อำเภอเวียงเก่า จังหวัดขอนแก่น โดยเลี้ยงเชื้อเห็ดในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) จากนั้นเก็บรักษาเชื้อเห็ดที่อุณหภูมิ ๒๗ องศาเซลเซียส

ภาพที่ ๒ ลักษณะเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi*; A: สภาพกลางวัน และ B: สภาพกลางคืน
ที่มา: Saksirirat และคณะ (๒๐๐๓)

๒. การแยกและเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*)

นำตัวอย่างพริกที่มีอาการรากปมมาตรวจสอบชนิดของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรูปแบบรอยย่นส่วนก้น (perineal pattern) ของตัวเต็มวัยเพศเมีย และเพิ่มปริมาณของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* โดยนำเมล็ดพริกพันธุ์หัวเรือ มาแช่ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ๒๔ ชั่วโมง ไปเพาะลงกระบะเพาะขนาด ๒๗ x ๓๕ ตารางเซนติเมตร ที่บรรจุดินที่นึ่งฆ่าเชื้อ ๓ เมล็ดต่อหลุม รดน้ำทุกเช้า เมื่อพืชอายุได้ ๒๑ วัน ทำการถอนแยกให้เหลือ ๑ ต้นต่อหลุม (ภาพที่ ๓) หลังจากพืชตั้งตัวได้จึงใส่ปุ๋ยยูเรีย และรดน้ำทุกเช้าตามปกติ จนกระทั่งพริกมีอายุ ๓๐ วัน ย้ายปลูกลง ๑ ต้นต่อกระถาง ใส่ไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* จำนวน ๒,๐๐๐ ฟองต่อกระถาง โดยใช้หลอดฉีดยาแบบพลาสติกขนาดเล็ก (๕ มิลลิลิตร; มล.) ที่ปลอดเชื้อดูดไข่ไส้เดือนฝอยที่มีความเข้มข้นประมาณ ๒,๐๐๐ ไข่ต่อมล. ปริมาตร ๒ มิลลิลิตรต่อต้น (ภาพที่ ๔) รดน้ำและดูแลปกติ เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

ภาพที่ ๓ ลักษณะต้นกล้าพริกพันธุ์หัวเรือ ที่ทำการถอนแยกให้เหลือ ๑ ต้นต่อหลุม เมื่ออายุได้ ๒๑ วัน

ภาพที่ ๔ การเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* บนพริกพันธุ์หัวเรืออายุ ๓๐ วัน หลังย้ายปลูก ๑ ต้นต่อกระถาง โดยใส่ไข่ไส้เดือนฝอยรากปม จำนวน ๒,๐๐๐ ฟองต่อกระถาง ปริมาตร ๒ มิลลิลิตรต่อต้น

๓. การทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง (*Neonothopanus nambi*) ต่อไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) ในสภาพเรือนทดลอง

๓.๑ การเตรียมหัวเชื้อข้าวฟ่าง (ภาคผนวก) โดยนำขวดหัวเชื้อข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ ๑๒๑ องศาเซลเซียส ความดัน ๑๕ ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน ๓๐ นาที ปล่อยให้เย็น จากนั้นนำเชื้อเห็ดเรืองแสงที่เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา ๕ วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ๐.๙ เซนติเมตร เจาะตรงปลายเส้นใย แล้วใช้เข็มเขี่ยเชื้อลงในขวดข้าวฟ่าง โดยให้ชิ้นวุ้นอยู่กึ่งกลางของขวดหัวเชื้อข้าวฟ่าง ลนปากขวด ปิดจุกสำลี หุ้มกระดาษและรัดด้วยหนังยาง บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ ๒๘ องศาเซลเซียส เป็นเวลา ๗ วัน เส้นใยเจริญเต็มขวดข้าวฟ่าง (ภาพที่ ๓)

ภาพที่ ๓ ลักษณะเส้นใยเชื้อเห็ดเรืองแสง ***Neonothopanus nambi*** ที่เจริญบนขวดเมล็ดข้าวฟ่าง เป็นเวลา ๗ วัน

๓.๒ เตรียมก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง *N. nambi* (ภาคผนวก) คัดเลือกก้อนเชื้อขี้เลื่อยที่นึ่งฆ่าเชื้อ ที่ได้มาตรฐาน คือ ก้อนแน่น ไม่บวมหรือเบี้ยว และมีขนาดเท่าๆ กัน นำหัวเชื้อข้าวฟ่างที่เส้นใยเจริญเต็มขวด (ข้อ ๓.๒) เขย่าให้เมล็ดข้าวฟ่างร่วนออกจากกัน จากนั้นเทเมล็ดข้างฟ่างที่มีเชื้อเจริญเต็มขวด ประมาณ ๑๕-๒๐ เมล็ดลงบนก้อนเชื้อขี้เลื่อยที่นึ่งฆ่าเชื้อ แล้วนำไปเก็บในโรงบ่มเชื้อจนกว่าเส้นใยจะเดินเต็มก้อน จึงนำไปใช้ในการทดลองต่อไป (ภาพที่ ๔)

ภาพที่ ๔ ลักษณะเส้นใยเชื้อเห็ดเรืองแสง ***Neonothopanus nambi*** ที่เจริญบนก้อนเชื้อขี้เลื่อยเป็นเวลา ๔๕ วัน

๓.๓ เตรียมต้นพริก นำเมล็ดพริกพันธุ์หัวเรือ แช่ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา ๒๔ ชั่วโมง นำไปเพาะลงกระบะเพาะขนาด ๒๗ x ๓๕ ตารางเซนติเมตร ที่บรรจุดินที่นึ่งฆ่าเชื้อ ๓ เมล็ดต่อหลุม รดน้ำทุกเช้า เมื่อพืชอายุได้ ๒๑ วัน ทำการถอนแยกให้เหลือ ๑ ต้นต่อหลุม หลังจากพืชตั้งตัวได้แล้วจึงใส่ปุ๋ยยูเรีย และรดน้ำทุกเช้าตามปกติ จนกระทั่งพริกมีอายุ ๓๐ วัน จึงนำมาใช้ในการทดลอง (ภาพที่ ๕)

ภาพที่ ๕ ลักษณะต้นกล้าพริกพันธุ์หัวเรือ อายุ ๓๐ วัน สำหรับทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง (*Neonothopanus nambi*) ต่อไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) ในสภาพเรือนทดลอง

๓.๔ เตรียมไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* โดยนำรากพริกที่เพิ่มปริมาณไว้ (ข้อ ๒) ที่แสดงอาการรากปมและมีกลุ่มไข่สีน้ำตาลชัดเจน นำมาล้างให้สะอาด ตัดรากเป็นชิ้นสั้นๆ ขนาดประมาณ ๑-๒ เซนติเมตร นำมาแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ๐.๕ เปอร์เซ็นต์ แล้วใช้แท่งแก้วกวนนาน ๔ นาที เพื่อละลายสารที่ห่อหุ้มไข่ให้ไข่หลุดออกจากกัน (Barker, ๑๙๘๕) แล้วรินผ่านตะแกรงหยาบขนาด ๓๒ เมช (mesh) เพื่อแยกเศษรากออกจากไข่ไส้เดือนฝอย ใช้สายยางฉีดน้ำไล่ไข่ที่อยู่บนตะแกรงลงในกะละมังพลาสติก เติมน้ำลงในกะละมังพลาสติกเกือบเต็มเพื่อ

เจือจางสาร NaOCl ที่ตกค้างอยู่ จากนั้นเทผ่านตะแกรงละเอียดขนาด ๕๐๐ เมช ใช้สายยางฉีดน้ำไล่ไข่ที่อยู่บนตะแกรงลงในกะละมังพลาสติกขนาดเล็กอีกครั้ง เติมน้ำลงในกะละมังพลาสติกเกือบเต็มแล้วเทผ่านตะแกรงละเอียดขนาด ๕๐๐ เมช ทำเช่นนี้อีก ๓ ครั้ง เพื่อให้มั่นใจว่าไข่ไส้เดือนฝอยที่แยกได้ปราศจาก NaOCl และครั้งสุดท้ายเมื่อเทผ่านตะแกรงละเอียดขนาด ๕๐๐ เมช ใช้สายยางฉีดน้ำไล่ไข่ที่อยู่บนตะแกรงลงในบีกเกอร์ จากนั้นนำไปคำนวณหาความหนาแน่นของปริมาณไข่ไส้เดือนฝอยต่อปริมาตรน้ำ ๑ มิลลิลิตร โดยสุ่มจากบีกเกอร์ ๓ ครั้งๆ ละ ๕ มิลลิลิตร เทใส่ถาดนับซึ่งเป็นถาดพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด ๖x๖ ตารางเซนติเมตร ที่ก้นถาดขีดเป็นช่องสี่เหลี่ยมเล็กๆ ขนาดเท่ากันที่จำนวน ๑๖ ช่อง นับไข่ไส้เดือนฝอยใต้กล้องสเตอริโอ แล้วคำนวณย้อนกลับว่าน้ำในบีกเกอร์มีไข่จำนวนเท่าใด ต่อปริมาตร ๑ มิลลิลิตร โดยใช้ค่าเฉลี่ยจากการนับ ๓ ครั้ง จากนั้นเตรียมไข่ไส้เดือนฝอยให้มีความเข้มข้นประมาณ ๒,๐๐๐ ไข่ต่อมิลลิลิตร (โดยคำนวณจากสมการในการเตรียมความเข้มข้นของสารละลายที่ต้องการ $C_๑V_๑ = C_๒V_๒$ โดย $C_๑$ คือ ความเข้มข้นที่มีอยู่ (ความเข้มข้นเริ่มต้น), $V_๑$ คือ ปริมาณที่ต้องนำมาจากความเข้มข้นเริ่มต้น, $C_๒$ คือ ความเข้มข้นใหม่ที่ต้องการและ $V_๒$ คือ ปริมาณที่ต้องการเตรียม) เก็บไว้ในบีกเกอร์ และเขย่าทุกครั้งก่อนใช้ทดสอบ

๓.๕ การทดสอบประสิทธิภาพต่อไส้เดือนฝอยรากปม (*M. incognita*)

โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCB) ประกอบด้วย ๘ กรรมวิธี จำนวน ๕ ซ้ำ

กรรมวิธี ๑ ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง ๑๐ กรัม/หลุม+Mi ๒,๐๐๐ ฟอง/กระถาง
กรรมวิธี ๒ ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง ๒๐ กรัม/หลุม+Mi ๒,๐๐๐ ฟอง/กระถาง
กรรมวิธี ๓ ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง ๓๐ กรัม/หลุม+Mi ๒,๐๐๐ ฟอง/กระถาง
กรรมวิธี ๔ ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง ๔๐ กรัม/หลุม+Mi ๒,๐๐๐ ฟอง/กระถาง
กรรมวิธี ๕ ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง ๕๐ กรัม/หลุม+Mi ๒,๐๐๐ ฟอง/กระถาง
กรรมวิธี ๖ สารเคมี carbofuran® ๓ กรัม/หลุม+Mi ๒,๐๐๐ ฟอง/กระถาง
กรรมวิธี ๗ ใส่เฉพาะ Mi ๒,๐๐๐ ฟอง/กระถาง อย่างเดียว
กรรมวิธี ๘ ไม่ใส่เชื้อ+ไม่ใส่ Mi

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u> นำก้อนเชื้อของเห็ดเรืองแสงที่มีเส้นใยเดินเต็มถุงมาขยี้ให้ก้อนเชื้อแยกออกจากกัน แล้วคลุกเคล้าให้เข้ากัน จากนั้นใส่ดินที่นึ่งฆ่าเชื้อลงในกระถางดิน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ๑๕ เซนติเมตร แล้วรองก้นหลุมด้วยก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงตามอัตราที่กำหนด คือ ๑๐, ๒๐, ๓๐, ๔๐ และ ๕๐ กรัมต่อกระถาง แล้วนำต้นกล้าพริกพันธุ์หัวเรือ อายุ ๓๐ วัน ที่เตรียมไว้ข้างต้น (ข้อ ๓.๓) จำนวน ๑ ต้นต่อกระถาง จากนั้นใช้ micropipette ดูดไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ปริมาตร ๒,๐๐๐ ไมโครลิตร (มีความเข้มข้นของไข่ไส้เดือนฝอยประมาณ ๒,๐๐๐ ไข่ต่อมิลลิลิตร) รองก้นกระถางด้วยถาดรอง และดูแลรดน้ำตามปกติ (ภาพที่ ๖)

<u>การบันทึกข้อมูล</u> เมื่อพริกอายุครบ ๔๕ วัน วัดดรรชนีการเกิดปมที่รากตามวิธีของ Kinloch (๑๙๙๐) ซึ่งแบ่งเป็น ๕ ระดับ ดังนี้ ๐ ไม่มีปม, ๑ มีปมเกิดขึ้นเล็กน้อย, ๒ เกิดปมน้อยกว่า ๒๕%, ๓ เกิดปม ๒๕-๕๐%, ๔ เกิดปม ๕๐-๗๕%, และ ๕ เกิดปมมากกว่า ๗๕% ของระบบราก (ภาพที่ ๗)

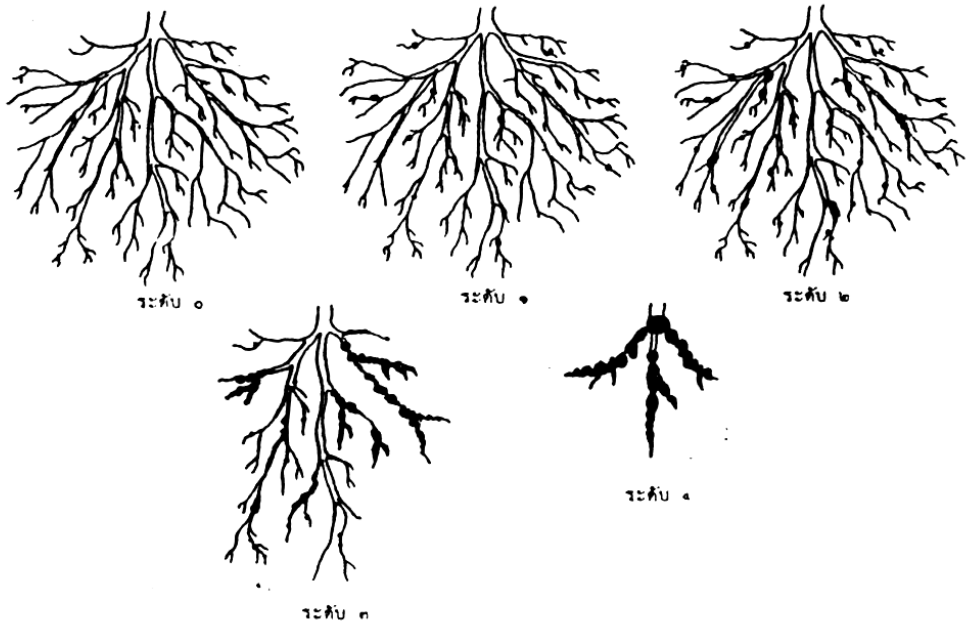
ภาพที่ ๖ การทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง (*Neonothopanus nambi*) ต่อไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) ในสภาพเรือนทดลอง

A: ลักษณะของเส้นใยก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงที่ถูกขยี้ให้ก้อนเชื้อแยกออกจากกัน

B: ย้ายปลูกพริกพันธุ์หัวเรือ อายุ ๓๐ วัน หลังรองก้นหลุมด้วยก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงตามอัตราที่กำหนด คือ ๑๐, ๒๐, ๓๐, ๔๐ และ ๕๐ กรัม

C: การใส่ไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* โดยใช้ micropipette ปริมาตร ๒,๐๐๐ ไมโครลิตร

D: จัดเรียงกระถางตามแผนการทดลองแบบ RCB



ภาพที่ ๗ ไดอะแกรมเปรียบเทียบระดับการเกิดปม ซึ่งเกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. ตั้งแต่ระดับ ๐-๔ โดยให้คะแนนระดับการเป็นโรครากปม ดังนี้ ระดับ ๐ ต้นพืชไม่มีปมในระบบรากเลย, ระดับ ๑ ต้นพืชมีปมที่ระบบราก ๑-๒๕% ของระบบราก, ระดับ ๒ ต้นพืชมีปมที่ระบบราก ๒๖-๕๐% ของระบบราก, ระดับ ๓ ต้นพืชมีปมที่ระบบราก ๕๑-๗๕ % ของระบบราก และระดับ ๔ ต้นพืชมีปมที่ระบบราก ๗๖-๑๐๐% ของระบบรากหรือต้นแห้งตาย (๔ เป็นระดับสูงสุด)

ที่มา: Kinloch (๑๙๙๐)

- **เวลาและสถานที่**

ระยะเวลา ๑ ปี **เริ่ม** ตุลาคม ๒๕๕๓ **สิ้นสุด** กันยายน ๒๕๕๔

สถานที่ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

๓. ผลการทดลองและวิจารณ์

๑. แหล่งที่มาของของสิ่งมีชีวิตที่ใช้ทดสอบ และไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*)

ไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ได้จากแปลงปลูกพริกที่มีการระบาดของโรครากปม ในแหล่งปลูกพริกในเขตพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี ซึ่งพบการระบาดของโรคนี้ และเห็ดเรืองแสง *N. nambi* ไอโซเลท PW๒ ได้จาก รศ.ดร. วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ ซึ่งเป็นไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ได้ดี

๒. แยกและเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยรากปม (*M. incognita*)

จากการนำตัวอย่างพริกที่แสดงอาการรากปมในเขตพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี มาตรวจสอบชนิดของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรูปแบบรอยย่นส่วนก้น (perineal pattern) ของตัวเต็มวัยเพศเมีย พบไส้เดือนฝอยรากปมในกลุ่ม *M. incognita* และทำการเพิ่มปริมาณของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในพริกพันธุ์หัวเรือ เป็นระยะเวลา ๓๐-๔๕ วัน เพื่อครบชีพจักรของไส้เดือนฝอยรากปม

๓. การทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง (*Neonothopanus nambi*) ต่อไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) ในสภาพเรือนทดลอง

จากการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การเกิดปมที่รากพริกพันธุ์หัวเรือ หลังปลูกเชื้อด้วยเส้นใยจากก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง *N. nambi* ในอัตรา ๑๐, ๒๐, ๓๐, ๔๐ และ ๕๐ กรัมต่อกระถาง ทดสอบกับไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* พบว่าทุกอัตราการใช้ก้อนจากเชื้อเห็ดเรืองแสง สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ดี โดยเฉพาะที่อัตรา ๑๐ กรัมต่อกระถาง สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ดีที่สุด ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากปมเพียง ๑๒.๔๐ เปอร์เซ็นต์ และอัตราการใช้ก้อนเชื้อเห็ดรองลงมาที่อัตรา ๒๐, ๔๐, ๓๐ และ ๕๐ กรัมต่อกระถาง ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากปม ๒๓.๒๐, ๒๕.๔๐, ๓๐.๐๐ และ ๓๐.๔๐ เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งทุกอัตราการใช้ก้อนจากเชื้อเห็ดเรืองแสง มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<๐.๐๕$) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่มีไส้เดือนฝอยรากปมเพียงอย่างเดียว หรือการใช้สารเคมี carbofuran® ที่พบการเกิดปมสูงถึง ๗๕.๖๐ และ ๖๐ เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ ๑ และภาพที่ ๘)

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเห็ดเรืองแสง *N. nambi* ต่อไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในสภาพเรือนทดลองที่ได้จะแปรผกผัน คือ การใช้เชื้อเห็ดเรืองแสงในอัตราที่มากขึ้น แต่กลับส่งผลให้การควบคุมไส้เดือนฝอย

รากปมยิ่งน้อยลง คือ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากปมที่สูงขึ้น เนื่องจากกรรมวิธีการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง ด้วยการรองก้นหลุมก่อนปลูก มีผลทำให้รากพริกไม่สามารถเจริญหรือแตกรากฝอยได้ เพราะปริมาณของก้อนเชื้อมีปริมาณมากเกินไป นอกจากนี้วัสดุเพาะเห็ดประกอบด้วยขี้เลื่อยยางพาราและยิปซั่ม ซึ่งมีผลต่อการงอกและการแตกรากของพริก เมื่อรากไม่สามารถแตกขยายได้ไส้เดือนฝอยที่ใส่ลงไปดินซึ่งอยู่ส่วนบนใกล้ๆ บริเวณโคนต้นพริกที่ทำการปลูกเชื้อ จึงทำให้ไส้เดือนฝอยเข้าทำลายได้ง่ายเพราะปกติไส้เดือนฝอยจะเคลื่อนที่ช้า และเข้าทำลายขนรากอ่อนที่เพิ่งแตกขยาย สืบศักดิ์ (๒๕๓๒) ซึ่งแตกต่างจากการใช้ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงในอัตรา ๑๐ กรัม ซึ่งเป็นปริมาณที่พอดีไม่มากหรือน้อยไปที่รากสามารถแตกรากขนอ่อนได้ง่ายและสามารถเจริญเติบโตได้ดี และไส้เดือนฝอยไม่สามารถเคลื่อนที่เข้าทำลายรากที่แตกขยายมาด้านล่างได้เนื่องจากมีก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงรองก้นหลุม ซึ่งมีสารออกฤทธิ์ที่มีผลต่อระบบประสาทของไส้เดือนฝอยรากปม Meyer และคณะ (๒๐๐๔) ดังนั้นไส้เดือนฝอยจึงเข้าทำลายได้เฉพาะบริเวณโคนต้นพริกเท่านั้น

การนำเอาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสงมาใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมของพืชนั้น ได้มีการศึกษาของ Anke และ Sterner (๑๙๙๗) และ Buchel และคณะ (๑๙๙๘) มาก่อนหน้านี้ ว่าเห็ดเรืองแสงในสกุล *Omphalotus* sp. สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ หรือ bioactive compound ที่สามารถยับยั้ง J๒ ของไส้เดือนฝอยรากปม ได้แก่ สาร omphalotin A, B, C และ D จากการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sterner และคณะ (๑๙๙๗) ที่รายงานว่าเห็ดเรืองแสงส่วนใหญ่ สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ได้ โดยเห็ดชนิดนี้จะปล่อยสารพิษ omphalotin ซึ่ง Meyer และคณะ (๒๐๐๔) รายงานว่า เห็ดที่อยู่ในกลุ่ม Omphalotaceae ส่วนใหญ่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ที่มีผลต่อไส้เดือนฝอยรากปมที่เป็นสาเหตุโรคพืชได้ เช่น เชื้อรา *Omphalotus olearius* ที่ผลิตสาร omphalotin ซึ่งเป็นพิษต่อระบบประสาทของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* เช่นเดียวกับงานวิจัยของ สุรีย์พร (๒๕๕๔) ศึกษาผลของสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสง *N. nambi* ต่อไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ซึ่งพบว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีผลต่อไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* คือ สาร aurisin A นั่นเอง ดังนั้นจากการศึกษานี้ชี้ให้เห็นถึงแนวทางการนำเอาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง *N. nambi* ไปใช้ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม ซึ่งจะนำไปสู่การใช้ประโยชน์ของสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงได้อย่างถูกต้อง และพัฒนาต่อไปเพื่อใช้ในการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี อันจะเป็นแนวทางในการอนุรักษ์สภาพแวดล้อม เพื่อช่วยลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในที่สุด

ตารางที่ ๑ เปอร์เซ็นต์การเกิดรากปมของพริกพันธุ์หัวเรือ เมื่อครบ ๔๕ วัน หลังได้รับไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* จำนวน ๒,๐๐๐ ฟอง/กระถาง

กรรมวิธี	%การเกิดปมที่ราก
ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง ๑๐ กรัม+Mi	๑๒.๔๐ b
ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง ๒๐ กรัม+Mi	๒๓.๒๐ c
ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง ๓๐ กรัม+ Mi	๓๐.๐๐ c
ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง ๔๐ กรัม+ Mi	๒๕.๔๐ c
ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง ๕๐ กรัม+ Mi	๓๐.๔๐ c
สารเคมี carbofuran® + Mi	๖๐.๐๐ d
Meloidogyne incognita only (Mi)	๗๕.๖๐ e
untreated	๐.๐๐ a
F-test	*
C.V.(%)	๑๙.๖๘

ภาพที่ ๘ ลักษณะการเกิดปมที่ระบบรากของพริกพันธุ์หัวเรือ เมื่อครบ ๔๕ วัน หลังจากปลูกเชื้อด้วยไข่ไส้เดือนฝอยรากปม ๒,๐๐๐ ฟอง/กระถาง และได้รับก้อนเชื้อจากเห็ดเรืองแสงในอัตราที่แตกต่างกัน

A: ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง ๑๐ กรัม

B: ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง ๒๐ กรัม

C: ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง ๓๐ กรัม

D: ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง ๔๐ กรัม

E: ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง ๕๐ กรัม

F: สารเคมี carbofuran®

G: *Meloidogyne incognita* only

H: untreated

๙. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสง *N. nambi* ต่อไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ที่อัตรา ๑๐, ๒๐, ๓๐, ๔๐ และ ๕๐ กรัมต่อกระถาง พบว่าทุกอัตราการใช้ก้อนจากเชื้อเห็ดเรืองแสง สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ดี โดยเฉพาะที่อัตรา ๑๐ กรัมต่อกระถาง สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ดีที่สุด ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากปมเพียง ๑๒.๔๐ เปอร์เซ็นต์ และอัตราการใช้ก้อนเชื้อเห็ดรองลงมาที่อัตรา ๒๐, ๔๐, ๓๐ และ ๕๐ กรัมต่อกระถาง ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากปม ๒๓.๒๐, ๒๕.๔๐, ๓๐.๐๐ และ ๓๐.๔๐ เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งทุกอัตราการใช้ก้อนจากเชื้อเห็ดเรืองแสง มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่มีไส้เดือนฝอยรากปมเพียงอย่างเดียว หรือการใช้สารเคมี carbofuran® ที่พบการเกิดปมสูงถึง ๗๕.๖๐ และ ๖๐ เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ ๑ และภาพที่ ๘)

ดังนั้นอัตราการใช้ก้อนเชื้อที่เหมาะสมในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* แนะนำให้ใช้ที่อัตรา ๑๐ กรัมต่อกระถาง เนื่องจากมีประสิทธิภาพมากที่สุด คือสามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดรากที่ปมเพียง ๑๒.๔๐ เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น และใช้ก้อนเชื้อเห็ดปริมาณเล็กน้อย ประหยัด แต่มีประสิทธิภาพดี ซึ่งสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ที่ต้องการ คือใช้เห็ดเรืองแสงในรูปแบบก้อนเชื้อเห็ด เพื่อความสะดวก ประหยัดและง่ายต่อการนำไปใช้ประโยชน์ได้จริง และควรมีการศึกษารูปแบบการใช้ก้อนเห็ดเรืองแสงด้วยการผสมก้อนเชื้อเห็ดในดินก่อนปลูกพริก เนื่องจากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดเรืองแสงน่าจะมีกระจายได้ทั่วถึงมากกว่าการรองก้นหลุมก่อนปลูก

๑๐. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

๑๑. คำขอบคุณ (ถ้ามี)

๑๒. เอกสารอ้างอิง

กนกพรรณ โสมาศรี. ๒๕๔๔. ศักยภาพของเชื้อราในดินสำหรับการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม(*Meloidogyne incognita* Chitwood) เชิงวิธีในมะเขือเทศ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาโรคพืชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

จรัส ชื่นราม, มนตรี เอี่ยมวิมังสา, และสมควร คีรีวัลย์. ๒๕๓๔. การป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood ศัตรูพริกโดยวิธีการปลูกพืชหมุนเวียน. วารสารวิชาการเกษตร ๙(๒):๘๘-๙๒.

นิรมิต ประทุมรัตน์. ๒๕๒๙. แนวทางในการควบคุมไส้เดือนฝอยศัตรูพืชโดยชีววิธี. แก่นเกษตร ๑๔(๔): ๑๗๕-๑๘๐.

ยุวดี ชูประภาวรรณ, วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์, อนันต์ หิรัญสาลี, และนิวัฒ เสนาะเมือง. ๒๕๕๐. การประเมินประสิทธิภาพเชื้อราในดินต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* สาเหตุโรครากปมพริก. วารสารแก่นเกษตร ๓๕(๒): ๑๘๙-๑๙๕.

วรรณภา เสนาดี, อทิพัฒน์ บุญเพิ่มราศี, และรุจินี สันติกุล. ๒๕๕๐. พริกพืชผักเศรษฐกิจชุบชีวิตชาวสวนไทย. วารสารเคหการเกษตร ๓๑(๑๒): ๗๓-๘๐.

ศศิธร วุฒิวณิชย์. ๒๕๔๕. โรคของผักและการควบคุมโรค. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน์. ๒๕๓๒. โรคพืชที่เกิดจากไส้เดือนฝอย. สำนักพิมพ์ส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน์. ๒๕๓๘. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในประเทศไทย. สำนักพิมพ์รั้วเขียว, กรุงเทพฯ.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน์. ๒๕๔๑. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช. สำนักพิมพ์รั้วเขียว, กรุงเทพฯ.

สุรีย์พร บัวอาจ. ๒๕๔๖. ผลของสาร secondary metabolite ของเห็ดเรืองแสง (*Omphalotus* sp.) ต่อไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita* Chitwood). ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาโรคพืชวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุรีย์พร บัวอาจ. ๒๕๕๐. ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนไรโบโซมอลดีเอ็นเอของเห็ดเรืองแสง และผลของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดต่อไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita* Chitwood) วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาโรคพืชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุรีย์พร บัวอาจ. ๒๕๕๔. ผลของสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสง (*Neonothopanus nambi* Speg.) ต่อไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita* Chitwood) และสิ่งที่มีชีวิตนอกเป้าหมาย วิทยานิพนธ์ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อนันต์ หิรัญสาลี. ๒๕๒๕. การใช้อินทรีย์วัตถุป้องกันกำจัดโรคพืชที่เกิดจากไส้เดือนฝอย. แก่นเกษตร๑๐(๕) :๑๓๑-๑๓๔.

Anke, H. and O. Sterner. ๑๙๙๗. Nematicidal metabolites from higher fungi. Current Organic Chemistry ๑: ๓๖๑-๓๗๔.

Barker, K.R. ๑๙๘๕. Nematode extraction and bioassay. Pp: ๑๙-๓๕ in K.R. Barker, C.C. Carter, and J.N. Sasser (eds.) An Advanced Treatise on Meloidogyne, Vollume II, Methodogy. North Carolina State University Graphics. Raleigh, North Calorina.

Buchel, E., U. Martini, A. Mayer, H. Anke, and O. Sterner. ๑๙๙๘. Omphalotins B, C and D, nematicidal cylopeptides from *Omphalotus olearius*: Absolute configuration of omphalotin A. Tetrahedron ๕๔: ๕๓๔๕-๕๓๕๒.

Jatala, P. ๑๙๘๕. Biological control of nematodes. Pp๐๓-๓๐๘ in: Sasser, J.N. and C.C. Carter(eds.). An Advanced Ttratise on *Meloidogyne*, Vol. I: Biology and Control. NCSU Plant Pathology and USAID, USA.

Jatala, P. ๑๙๘๖. Biological control of plant-parasitic nematodes. Annual Review of Phytopathology ๒๔: ๔๕๓-๔๘๙.

Kinloch RA. ๑๙๙๐. Screening for resistance to root-knot nematodes. In: Starr JL, editor. Methods for Evaluating Plant Species for Resistance to Plant-Parasitic Nematodes. Hyattsville: The Society of Nematologists. pp. ๑๖–๒๓.

Mayer, A., H. Anke, and O. Sterner. ๑๙๙๗. Omphalotin, a new cyclic peptide with potent nematicidal activity from *Omphalotus olearius* I. fermentation and biological activity. Natural Product Letters ๑๐: ๒๕-๓๒.

Meyer, L.F., R.N. Huettel, X.Z. Liu, R. A. Humber, J. Jaba, and K. Nitao. ๒๐๐๔. Activity of fungal culture filtrates against soybean cyst nematode and root-knot nematode egg hatch and juvenile motility. Nematology ๖(๑): ๒๓-๓๒.

Sterner, O., W. Etzel, A. Mayer, and H. Anke. ๑๙๙๗. Omphalotin, a new cyclic peptide with potent nematicidal activity from *Omphalotus olearius* I. Fermentation and biological activity. Natural Product Letters ๑๐: ๓๓-๓๘.

๑๓. ภาคผนวก

การเตรียมหัวเชื้อข้าวฟ่าง

๑. ล้างเมล็ดข้าวฟ่างให้สะอาด คัดเมล็ดลีบและเสียออก แล้วแช่ทิ้งไว้ ๒๔ ชั่วโมง

๒. นำเมล็ดข้าวฟ่างที่แช่มาล้างน้ำใหม่ ๒-๓ ครั้ง ให้หมดกลิ่นเปรี้ยว

๓. นำไปนึ่งในหวดนึ่งข้าวเหนียว ให้เมล็ดข้าวฟ่างปริเล็กน้อยไม่ต้องสุกมาก

๔. นำเมล็ดข้าวฟ่างไปผึ่งลม

๕. เมื่อเมล็ดข้างฟ่างเย็นแล้วกรอกลงในขวดที่สะอาด ประมาณ ๒ ใน ๓ ของขวด

๖. ปิดจุกสำลี และหุ้มด้วยกระดาษ จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ ๑๒๑ องศาเซลเซียส นาน ๓๐ นาที

การเตรียมหัวเชื้อขี้เลื่อยเห็ดเรืองแสง

ขี้เลื่อยยางพารา	๓๐	กิโลกรัม
รำละเอียด	๓	กิโลกรัม
ดีเกลือ	๖๐	กรัม
ยิปซั่ม	๖๐	กรัม
ปูนขาว	๓๐	กรัม
ความชื้น	๖๐-๗๐	เปอร์เซ็นต์

ชั่งวัสดุต่างๆ ตามสูตร เทส่วนผสมต่างๆ ลงบนขี้เลื่อย ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน เติมน้ำแล้วผสมให้เข้ากัน โดยให้มีความชื้นประมาณ ๖๐-๗๐ เปอร์เซ็นต์ จากนั้นบรรจุลงในถุงพลาสติกใสทนร้อนขนาด ๗x๑๔ นิ้ว ใส่คอขวด และอุดจุกสำลี นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ ๑๒๑ องศาเซลเซียส นาน ๒ ชั่วโมง รอให้เย็น จึงเขี่ยเชื้อ