บทนำ

1. ความเป็นมา และความสำคัญของปัญหา

ไส้เดือนฝอยโรคแมลง (Entomopathogenic Nematodes) เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่ถูกนำมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดย ชีววิธีอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน เนื่องจากมีความสามารถควบคุมแมลงได้มากกว่า 200 ชนิด ในปัจจุบันเกษตรกรที่ปลูกพืชผัก พืชไร่ ไม้ผล ประสบปัญหาแมลงศัตรูพืช โดยเฉพาะกลุ่มผลิตพืชผักปลอดสารพิษ รวมทั้งกลุ่มเกษตรกรที่ประสบปัญหาแมลงดื้อสารเคมี ปัญหาต่างๆเหล่านี้ทำให้ผลผลิตเสียหาย นอกจากนั้นสารเคมีที่ใช้มักก่อปัญหาต่อสภาพแวดล้อม ดังนั้นเกษตรกรจึงหันมาให้ความสนใจในการนำสารสกัดจากธรรมชาติ หรือการนำจุลินทรีย์มาใช้กำจัดแมลงศัตรูพืช รวมถึงในปัจจุบันมีการนำไส้เดือนฝอยโรคแมลงซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการเลือกใช้ควบคุมแมลงศัตรู ไส้เดือนฝอยโรคแมลงสามารถนำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรู เช่น ด้วงหมัดผัก หนอนกระทู้หอม หนอนคืบกะหล่ำ หนอนใยผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนเจาะใต้ผิวเปลือก หนอนกอกล้วย หนอนห่อใบข้าว เป็นต้น (Georgis and Manweiler 1994; Kaya, 1990; Klein, 1990; Nickle, 1984 และ Wouts, 1991) ไส้เดือนฝอยที่ใช้ในประเทศไทยเป็นสายพันธุ์ที่นำเข้า (importation) มาจากต่างประเทศ เช่น *Steinernema carpocapsae* สายพันธุ์ DD-136 ที่มีวางขายในท้องตลาดในรูปแบบผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ แต่เนื่องจากไส้เดือนฝอยแต่ละชนิดมีความรุนแรงในการทำลายแมลงและความจำเพาะต่อเหยื่อแตกต่างกัน ดังนั้น การสำรวจชนิดของไส้เดือนฝอยในพื้นที่เกษตรกรรมบริเวณภูมิภาคต่างๆในประเทศไทยจึงมีความสำคัญในการนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูที่พบในท้องถิ่นเช่นเดียวกัน ซึ่งอาจมีประสิทธิภาพในการทำลายแมลงได้ดีกว่าสายพันธุ์ต่างประเทศ และ/หรือไม่ต้องนำเข้าไส้เดือนฝอยโรคแมลงจากต่างถิ่น

ไส้เดือนฝอยที่ทำให้เกิดโรคกับแมลง ซึ่งเป็นที่รู้จักกันมาตั้งแต่ศตวรรษที่ 17 Glaser และ Fox มีการค้นพบไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* ในปี ค.ศ. 1930 ที่ทำลายตัวอ่อนของด้วง *Papilla japonica* ซึ่งเป็นแมลงศัตรูของหญ้าในสนามกอล์ฟ โดยได้นำมาเลี้ยงขยายปริมาณในห้องปฏิบัติการ และนำไปฉีดพ่นควบคุมแมลงชนิดนี้ในสนามกอล์ฟได้เป็นผลสำเร็จ (Kaya and Gaugler, 1993) ในประเทศไทยนักวิจัยได้ศึกษาไส้เดือนฝอยโรคแมลงในการควบคุมแมลงศัตรูต่างๆ วัชรี (ม.ป.ป.) ศึกษาวิจัยไส้เดือนฝอยในเกี่ยวกับการประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงศัตรูการเลี้ยงเพิ่มปริมาณ ธาริณี (2547) ได้ศึกษาวิจัยการจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยที่ทำให้เกิดโรคกับแมลงโดยเทคนิคทางชีวโมเลกุล และการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอย โดยสำรวจหาไส้เดือนฝอยในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือในประเทศไทย พื้นที่สำรวจตามแหล่งไม้ผล และพืชไร่พบไส้เดือนฝอยที่ทำให้เกิดโรคกับแมลงถึง 7 ไอโซเลต จากพื้นที่ 7 แห่ง ใน 6 จังหวัด ลักษณะดินที่พบไส้เดือนฝอยทุกไอโซเลตเป็นดินร่วนปนทราย

2. วัตถุประสงค์

2.1. สำรวจไส้เดือนฝอยที่ทำให้เกิดโรคกับแมลงในนาข้าว จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

2.2. ทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยที่สำรวจพบ

วรรณกรรม และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ไส้เดือนฝอย (Nematodes)

1.1 การจำแนก และชีววิทยาไส้เดือนฝอย

ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง เป็นไส้เดือนฝอยที่ทำให้เกิดโรคกับแมลงจัดอยู่ในอันดับ Rhabditida แยกเป็นกลุ่มย่อยได้ 2 กลุ่ม คือ steinernematids และ heterorhabdtitids อาศัยอยู่ร่วมกับแบคทีเรีย(symbiotic bacteria) กินแบคทีเรียเป็นอาหาร ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงทั้ง 2 วงศ์ มีระยะที่เข้าทำลายแมลง (Infective Juvenile หรือ IJ) คือตัวอ่อนวัยที่ 3 ซึ่งมีแบคทีเรีย อาศัยอยู่ในลำไส้ส่วนหน้า เมื่อไส้เดือนฝอยเข้าสู่ภายในลำตัวแมลงจะปล่อยแบคทีเรียชนิดดังกล่าว ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้แมลงอาศัยตาย แบคทีเรียที่อาศัยร่วมกับไส้เดือนฝอยระยะ IJ ในวงศ์ Steinernematidae และ Heterorhabditidae เป็นแบคทีเรียในสกุล *Xenorhabdus* และ *Photorhabdus* ตามลำดับ

ตารางที่ 1 สายพันธุ์ *Steinnema* และ *Heterorhabditis* และ แบคทีเรียอาศัย *Xenorhabdus*

Nematode genus	Nematode species	*Xenorhabdus* species
Steinernema	*affinis*	*bovienii*
	anomaly	undescribed
	carpocapsae	*nematophilus*
	feltiae (= bibionis)	*bovienii*
	glaseri	*poinarii*
	intermedia	*bovienii*
	kushidai	undescribed
	rara	undescribed
	ritteri	undescribed
	scapterisci	undescribed
	undescribed	*beddingii*
Heterorhabditis	*bacteriophora (= heliothidis)*	*luminescens*
	megidis	*luminescens*
	zealandica	*luminescens*

ที่มา : ดัดแปลงจาก Kaya and Gaugler (1993)

1.2 แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ร่วมกับไส้เดือนฝอย (Symbiotic bacteria)

Xenorhabdus spp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบ หายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน จัดอยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae มีอยู่ 5 สายพันธุ์ที่มีการระบุชนิด แบคทีเรีย *Xenorhabdus* spp. จะมี 2 phase โดยทั้งสองจะมีความแตกต่างกันทางรูปร่างสัณฐานวิทยา แบคทีเรีย phase แรกจะสามาถผลิตสารที่ยับยั้งการเติบโตของเชื้ออื่นๆ และสังเกตได้จาก colony ของแบคทีเรียจะติดสีฟ้าของ bromothymol blue ที่ผสมอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย ส่วนphase 2 ไม่สามารถผลิตสารที่ยับยั้งการเติบโตของเชื้ออื่นๆติด และcolony ของแบคทีเรียจะติดสีแดงของ phenol red ที่ผสมอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย (Akhurst and Boemare, 1990)

1.3 การทำให้เกิดโรคกับแมลง และวงจรชีวิต

ไส้เดือนฝอยโรคแมลงระยะเข้าทำลายแมลง (Infective Juvenile, IJ III) เป็นตัวอ่อนไส้เดือนฝอยวัยที่ 3 เข้าสู่ภายในลำตัวแมลงทางปาก ทวาร รูหายใจ หรือไชผ่านผนังลำตัวของแมลงโดยตรง หลังไส้เดือนฝอยเข้าสู่ภายในลำตัวแมลงจะชอนไชทะลุผ่านผนังลำไส้ของแมลงเข้าสู่ช่องว่างภายในลำตัว และขับถ่ายแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไส้เดือนฝอยออกมาและเพิ่มปริมาณในเลือดของแมลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้แมลงตายภายใน 24 – 48 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายจะกินแบคทีเรียสารอาหารต่าง ๆ ที่แบคทีเรียสร้างขึ้น และเนื้อเยื่อของแมลง จากนั้นเจริญเป็นตัวอ่อนวัยที่ 4, ตัวเต็มวัยเพศผู้เพศเมียของชั่วอายุขัยแรก ผสมพันธุ์ เพศเมียวางไข่ฟักตัวออกมาเป็นตัวอ่อนวัยที่ 1 แล้วลอกคราบเป็นวัยที่ 2, 3, 4 และตัวเต็มวัย เพศผู้และเพศเมียที่อยู่ในชั่วอายุที่ 2 ผสมพันธุ์แล้วเพศเมียจะวางไข่ แล้วฟักเป็นตัวอ่อนวัยที่ 1 และวัยที่ 2 ในช่วงปลายของวัยที่ 2 นี้จะหยุดกินอาหารเนื่องจากอาหารในตัวแมลงหมด และแบคทีเรียอาศัย (symbiotic bacteria) จะฝังตัวอยู่ในลำไส้ของไส้เดือนฝอย เจริญเป็นไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลาย ซึ่งมีลักษณะพิเศษ คือ จะมีผนังลำตัวซึ่งเป็นคิวติเคิล (cuticle) ของตัวอ่อนวัยที่ 2 หุ้มตัวไส้เดือนฝอย จะเรียกไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายนี้ว่า ensheath nematode (Figure 1)ผนังหุ้มนี้จะช่วยให้ไส้เดือนฝอยอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่างๆได้ หลังจากนั้นไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายจะออกจากหนอนเพื่อหาแมลงอาศัยใหม่ต่อไป ในแมลงบางชนิดไม่มีการพัฒนาในช่วงอายุขัยที่ 2 ไข่ของเพศเมียในชั่วอายุแรกจะพัฒนาไปสู่ไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลาย จากการศึกษาในหนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella* ช่วงระยะเวลาตั้งแต่ไส้เดือนฝอยวัยที่ 3 (ระยะ IJ) เข้าสู่ตัวแมลงแล้วเจริญพัฒนาขยายพันธุ์ 2 รุ่นจนได้ไส้เดือนฝอยวัยที่ 3 ระยะ IJ รุ่นใหม่ที่ออกจากตัวแมลงอาศัยใช้เวลาประมาณ 21 วัน ที่อุณหภูมิ 25^{O}ซ (Wouts, 1979, 1991; วัชรีและสุทธิชัย, 2541) (Figure 2)

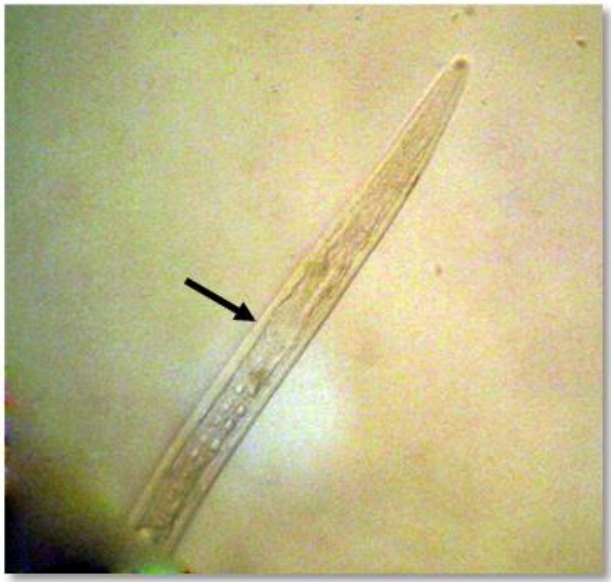

Figure 1 Ensheath nematode

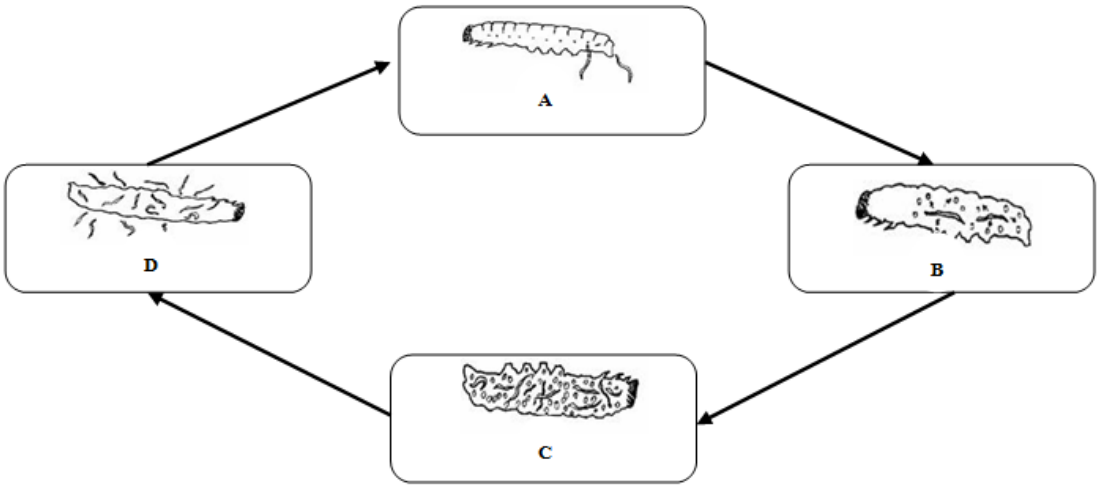

Figure 2 Life cycle of entomopathogenic nematodes

Modified from: สำนักงานเกษตรอำเภอเมืองนครปฐม (2550)

1.5 การแพร่กระจาย และการหาแมลงอาศัยของไส้เดือนฝอย

ไส้เดือนฝอยมีการแพร่กระจายโดยการคืบคลานด้วยตนเอง และการแพร่กระจายแบบมีพาหะนำไป ปัจจัยที่มีผลต่อการแพร่กระจายของไส้เดือนฝอย และการหาแมลงอาศัยในดินได้แก่ ความชื้น อุณหภูมิ แมลงอาศัย ลักษณะเนื้อดินเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการแพร่กระจาย เช่น ดินเหนียวจะจำกัดความสามารถในการเคลื่อนที่ของไส้เดือนฝอย Molyneux and Bedding (1984) รายงานว่าในสภาพห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* และ *S. glaseri* สามารถเข้าทำลายแมลงที่อาศัยในดินร่วนไส้เดือนฝอยสามารถเข้าทำลายแมลงได้ดีกว่าดินทราย เนื่องจากดินทรายมีการอุ้มน้ำได้น้อยกว่าในดินร่วน และดินทรายมีหยดน้ำเกาะตามผิวซึ่งมีผลดักการเคลื่อนที่ของไส้เดือนฝอย มีรายงานการศึกษาภาคสนามว่าส้เดือนฝอยมีประสิทธิภาพการหาแมลงอาศัยที่อุณหภูมิสูงกว่า 20°ซ แต่อุณหภูมิต่ำกว่า 20°ซ แบคทีเรียอาศัยที่อยู่ในตัวไส้เดือนฝอยก็ยังสามารถทำให้แมลงตายได้ (Kaya and Gaugler, 1993)

1.6 ความอยู่รอดของไส้เดือนฝอย

ปัจจัยที่มีผลต่อการอยู่รอดของไส้เดือนฝอย ได้แก่ ความชื้น และอุณหภูมิ ไส้เดือนฝอยสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในที่มีความชื้นสูง และสามารถดำรงชีวิตอยู่ในที่อุณหภูมิต่ำ ๆ ได้ แต่อย่างไรก็ตามไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ heterorhabditid ในเขตอบอุ่นไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 10°ซ ส่วนไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ *S. carpocapsae* และ *S. glaseri* ดำรงชีวิตได้ในดินร่วนปนทราย หรือดินทราย การที่ไม่มีอากาศภายในดินมากพอ อาจจะเป็นปัจจัยสำคัญของการดำรงชีวิตของไส้เดือนฝอยในดินเหนียว(Kaya and Gaugler, 1993)

1.7 การเลี้ยงขยายปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง

ไส้เดือนฝอย Steinernematidae และ Heterorhabditidae สามารถเลี้ยงและขยายปริมาณได้ในแมลงอาศัย เช่น หนอนกินรังผึ้ง (*Galleria mellonella*) ซึ่งเป็นอาหารธรรมชาติ หรือเลี้ยงด้วยอาหารเทียมทั้งชนิดกึ่งแข็งกึ่งเหลว (Dutky *et al*., 1964, Bedding, 1981, 1984; วัชรี และพิมลพร, 2535, 2538) และอาหารเหลว (Friedman, 1990; Friedman *et al*., 1991) สำหรับอาหารเทียมชนิดกึ่งแข็งกึ่งเหลวมักใช้เครื่องในสัตว์หรือเศษชิ้นเนื้อสัตว์นำมาป่นให้ละเอียดคลุกกับชิ้นฟองน้ำสังเคราะห์ อบนึ่งฆ่าเชื้อ ใส่ symbiotic bacteria ลงไปเลี้ยงก่อน 24 ชั่วโมง แล้วจึงใส่ไส้เดือนฝอยลงไปเลี้ยงร่วมกันเป็นเวลา 15 วัน ทำการเก็บและแยกไส้เดือนฝอยวัยที่ 3 ระยะ IJ จากชิ้นฟองน้ำและเศษอาหารหลังจากผ่านการล้างให้สะอาดแล้วนำไปเก็บรักษาเพื่อที่จะนำไปใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชต่อไป

วิธีการดำเนินงานวิจัย

1. พื้นที่ศึกษา

พื้นที่ศึกษา คือพื้นที่ในการสำรวจไส้เดือนฝอยที่ทำให้เกิดโรคกับแมลงในเขต 8 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือ กาฬสินธุ์ ขอนแก่น ชัยภูมิ มหาสารคาม สกลนคร อุดรธานี หนองบัวลำภู และนครราชสีมา

2. วิธีการเก็บรวมรวบข้อมูล

2.1 การสำรวจไส้เดือนฝอย

สำรวจไส้เดือนฝอยที่ทำให้เกิดโรคกับแมลงในพื้นที่นาข้าวบริเวณ(ภมรทิพย์, 2526) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ของประเทศไทยทำการสำรวจแบบสุ่ม ในนาข้าว 1 แปลงจะทำการเก็บตัวอย่างดิน 3 จุด แต่ละจุดเก็บดินลึกจากผิวดิน 30 เซนติเมตร และหน้าดินกว้าง 15 เซนติเมตร ใส่ถุงพลาสติก ปิดปากถุง บันทึก วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่าง สถานที่เก็บ ลักษณะตัวอย่างดิน ลักษณะภูมิประเทศ และรายละเอียดต่าง ๆ ของตัวอย่างดิน

2.2 ขั้นตอนในการแยกไส้เดือน

แยกไส้เดือนฝอยในห้องปฏิบัติการ โดยวิธีการใช้หนอนกินรังผึ้ง (*Galleria mellonella* L.) เป็นเหยื่อล่อ (insect-baited traps) โดยใส่ดินลงในกระบอกพลาสติก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร ลึก 5 เซนติเมตร โดยใส่ดินครึ่งกระบอก นำหนอนกินรังผึ้งวัยสุดท้ายใส่ลงในกระบอกจำนวน 5 ตัว แล้วใส่ดินกลบทับตัวหนอน ปิดฝาและนำมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

ตรวจสอบและนำหนอนที่ตายด้วยไส้เดือนฝอย (คือมีลักษณะผนังลำตัวไม่แตกเละ มาตรวจสอบด้วยวิธี White's water trap (White, 1927)) โดยนำหนอนวางบนกระดาษกรองที่หล่อน้ำไว้รอบ ๆ บนจานทดลอง นำไปไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ตรวจดูไส้เดือนฝอยที่ออกมาจากตัวหนอนทุก ๆ 24 ชั่วโมง เมื่อพบมีไส้เดือนฝอยออกจากหนอนกินรังผึ้ง นำมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในหนอนกินรังผึ้ง

2.3 การเลี้ยงเพิ่มปริมาณหนอนกินรังผึ้ง

เลี้ยงขยายหนอนกินรังผึ้งด้วยอาหารเทียมในกล่องพลาสติกขนาด 20x25x10 เซนติเมตร โดยใช้รังผึ้งเปล่า เพิ่มหรือเปลี่ยนรังผึ้งเมื่ออาหารหมด ดูแลกันอย่าให้มดหรือสัตว์อื่นรบกวน เมื่อได้หนอนวัยสุดท้ายก็นำมาใช้เลี้ยงขยายไส้เดือนฝอย เหลือหนอนไว้เลี้ยงขยายพันธุ์ต่อ และมีการแลกเปลี่ยนกับstockอื่นๆเป็นครั้งคราวเพื่อป้องกันการ inbreeding

2.4 การเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนที่ทำให้เกิดโรคกับแมลง

เลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยโดยวิธี filter paper bioassay (Dutky et al., 1964) นำไส้เดือยฝอยที่รวบรวมได้แต่ละไอโซเลตล้างด้วยฟอร์มาลีน 0.1% กรองผ่านผ้ากรองขนาด 32 ไมโครเมตร เป็นเวลา 30 นาที ใส่ไส้เดือนฝอยจำนวน 500 ตัวต่อหนอน 1 ตัว ในฟอร์มาลีน 0.1% ปริมาตร 500 ไมโครลิต เมื่อหนอนตายเก็บใส่ในหลอดทดลองที่ใส่กระดาษกรอง รอไส้เดือนฝอยออกจากซากหนอนและเก็บไว้ทดสอบต่อไป

2.5 การทดสอบประสิทธิภาพการทำให้เกิดโรคกับแมลงของไส้เดือนฝอย (Filter paper bioassay)

ทำการทดลองในจานทดลองขนาด 6.0 X 1.5 เซนติเมตร รองด้วยกระดาษกรอง (Whatman # 1) จำนวน 1 แผ่น ล้างหนอนกินรังผึ้งวัยสุดท้ายด้วยฟอร์มาลีน 0.1% ย้ายหนอนลงในจานทดลองจานละ 1 ตัว ใส่ไส้เดือนฝอยไอโซเลตที่ศึกษาจากดินในนาข้าวที่ล้างด้วยฟอร์มาลีน 0.1% และกรองผ่านผ้ากรองขนาด 32 ไมโครเมตร ในอัตรา 0 (Control), 1, 5, 13, 20, 25, 50, 200, 400, และ 800 ตัวต่อจานทดลอง ได้จากการนับแบบ dilution counting เป็นเวลา 30 นาที ทำการทดลองความเข้มข้นละ 20 ซ้ำ นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 25°ซ ตรวจเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงทดสอบที่เวลา 48 ชั่วโมง ทำการทดลองแบบเดิมอีกเป็นจำนวน 3 ครั้ง

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

3.1 การวิเคราะห์ผลการทดสอบประสิทธิภาพการทำให้เกิดโรคกับแมลง ของไส้เดือนฝอย

การวิเคราะห์จำนวนไส้เดือนฝอยที่ทำให้หนอนกินรังผึ้งตาย 50% (Median Lethal Concentration : LC_{50}) ของไส้เดือนฝอยแต่ละไอโซเลตที่พบ ด้วยวิธี Probit analysis และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย LC_{50} ของสายพันธุ์ต่าง ๆ ด้วย Duncan's new multiple range test (DMRT)

ผลการวิจัย

1. การสำรวจไส้เดือนฝอย

จากการสำรวจ และเก็บตัวอย่างดินเพื่อแยกหาไส้เดือนฝอยที่ทำให้เกิดโรคกับแมลงจากดินในนาข้าวพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ของประเทศไทย ได้แก่ กาฬสินธุ์ ขอนแก่น ชัยภูมิ นครราชสีมา มหาสารคาม สกลนคร หนองบัวลำภู อุดรธานีจำนวน 61 แห่ง พบว่า ในตารางที่ 1 ดินที่พบจากการสำรวจมีลักษณะเป็นดินร่วนปนทราย ดินทราย ร่วมถึงดินเหนียว เมื่อนำดินที่เก็บมาทำการแยกไส้เดือนฝอยในห้องปฏิบัติการ โดยใช้หนอนกินรังผึ้งเป็นเหยื่อล่อ (insect – baited traps) จากจำนวนตัวอย่างดินทั้งหมด 308 ตัวอย่างดินทั้งหมดพบไส้เดือนฝอย 1 ไอโซเลต ที่ ตำบลดอนโมง อำเภอหนองเรือ จังหวัดขอนแก่น ระบุชื่อแทนว่า DM isolate

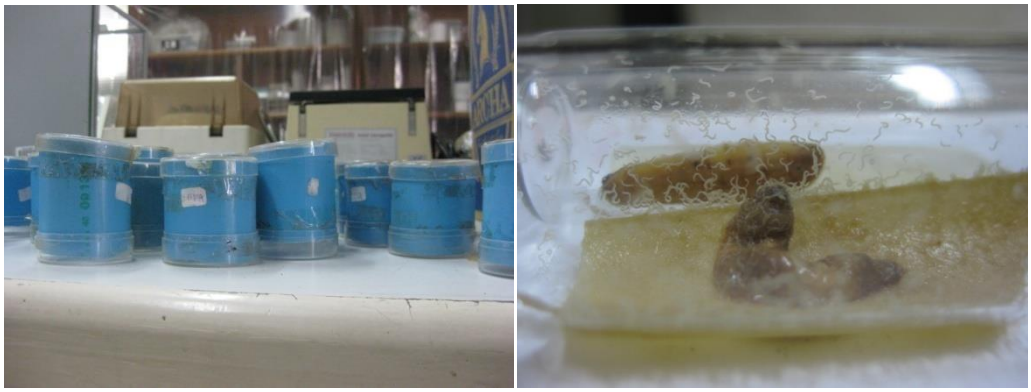

Figure 3 Insect – baited traps and DM isolate of entomopathogenic nematode, emerging from *Galleria*

Table 2 Collecting site and ecological data for entopathogenic nematode.

Location	Ecological data and soil type	Number of sample	Number of isolate	Note
Kalasin				
Mueang Kalasin District	Paddy, Upland area, Sandy soil	6		
Sahatsakhan District	Paddy, Upland area, Sandy soil	6		
Yang Talat District	Paddy, Upland area, Sandy soil	3		
Na Mon District	Paddy, Upland area, Sandy soil	3		
Khon Kaen				
Mueang Khon Kaen District	Paddy, Wetland area, Clay soil, Sandy loam soil	29		
Mancha Khiri District	Paddy, Wetland area, Clay soil, Sandy loam soil	17		
Khok Pho Chai District	Paddy, Wetland area, Sandy loam soil	3		
Non Sila District	Paddy, Wetland area, Sandy soil	3		
Ban Phai District	Paddy, Wetland area, Sandy soil	3		
Ban Haet District	Paddy, Wetland area, Sandy soil	3		
Phra Yuen District	Paddy, Wetland area, Clay and sandy soil	10		
Ubolratana District	Paddy, Wetland area, Clay and sandy soil	10		
Nam Phong District	Paddy, Wetland area, Clay and sandy soil	10		
Ban Fang District	Paddy, Wetland area, Sandy soil	9		
Nong Ruea District	Paddy, Wetland area, Sandy soil	21	1 isolate	DonMong
Nong Na Kham District	Paddy, Wetland area, Sandy soil	6		
Wiang Kao District	Paddy, Wetland area, Sandy soil	6		

Table 2 (Con) Collecting site and ecological data for entopathogenic nematode.

Location	Ecological data and soil type	Number of sample	Number of isolate	Note
Chaiyaphom				
Mueang Chaiyaphum District	Paddy, Upland area, Clay soil	16		
Khon Sawan District	Paddy, Upland area, Sandy loam soil	5		
Mahasarakham				
Mueang Maha Sarakham District	Paddy, Upland area, Sandy soil	6		
Kosum Phisai District	Paddy, Upland area, Sandy soil	13		
Chiang Yuen District	Paddy, Upland area, Sandy soil	3		
Kantharawichai District	Paddy, Upland area, Sandy soil	5		
Sakon Nakhon				
Phang Khon District	Paddy, Wetland area, Clay soil	6		
Sawang Daen Din District	Paddy, Wetland area, Clay soil	3		
Noung Bua Lam Phu				
Mueang Nong Bua Lam Phu District	Paddy, Wetland area, Clay and sandy soil	30		
Non Sang District	Paddy, Wetland area, Clay and sandy soil	16		
Udontani				
Kumphawapi District	Paddy, Wetland area, Clay soil	2		
Ku Kaeo District	Paddy, Wetland area, Clay soil	1		
Nong Han District	Paddy, Wetland area, Clay and sandy soil	11		

Table 2 (Con) Collecting site and ecological data for entopathogenic nematode.

Location	Ecological data and soil type	Number of sample	Number of isolate	Note
Udontani				
Mueang Udon Thani District	Paddy, Wetland area, Clay and sandy soil	20		
Phen District	Paddy, Wetland area, Clay and sandy soil	10		
Phibun Rak District	Paddy, Wetland area, Clay soil	4		
Nakhon Ratchasima				
Bua Yai District	Paddy, Wetland area, Clay soil	6		
Sida District	Paddy, Wetland area, Clay soil	3		
Summary		308	DM isolate[1/]	

[1/] DM isolate = entomopathogenic nematode found in Don Mong

2. ผลการทดสอบประสิทธิภาพ การทำให้เกิดโรคกับแมลง (LC_{50}) ของไส้เดือนฝอย DM isolate

Table 3. Probit analysis of DM isolate and DD-136 strain against wax moth larvae in filter paper-substrate petri dish bioassays. Determine for mortality with in 48h.

Strain/isolate	LC_{50} [2/]	S.E.	DOSE 95 Percent Fiducial Limits	
			Lower	Upper
DM isolate	32.31 a	12.50	22.80	46.00
Steinernema carpocapsae DD- 136	34.30 a	1.00	26.51	44.81

[2/] ค่า LC_{50} : median lethal concentration, P-value = 0.8629

Within each column, values followed by the same letter indicate no significantly different

จากการทดสอบประสิทธิภาพ การทำให้เกิดโรคกับแมลงโดยวิธี Filter paper bioassay และนำมาคำนวณด้วยวิธี Probit analysis ในโปรแกรม SAS โดยเปรียบเทียบกับไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ DD-136 พบว่า ไส้เดือนฝอย strain DM isolate มีค่า LC_{50} เท่ากับ 32.31 หมายถึง ไส้เดือนฝอยจำนวน 32.21 ตัว สามารถทำให้หนอนกินรังผึ้งตายลง 50% ที่ความเชื่อมั่น 95% ค่า Fiducial Limits เป็น 22.80 - 46.00 ส่วน stain DD-

136 มีค่า LC_{50} เท่ากับ 34.30 คือ จำนวนไส้เดือนฝอย 34.30 ตัว สามารถทำให้หนอนกินรังผึ้งตายลง 50% ที่ความเชื่อมั่น 95% ค่า Fiducial Limits เป็น 26.51 - 44.81 จากค่า LC_{50} (Table 2) ที่ได้ของทั้งสองไอโซเลต จะนำไปวิเคราะห์เปรียบเทียบค่า LD_{50} ของไส้เดือนฝอยทั้งสองไอโซเลต ด้วยวิธี Duncan's multiple range test (SAS/ Stat, 1985) เพื่อดูผลทดสอบประสิทธิภาพ การทำให้เกิดโรคกับแมลง

3. ผลการวิเคราะห์ เปรียบเทียบค่า LD_{50} ของไส้เดือนฝอยของทั้ง 2 isolate ด้วย Duncan's multiple range test

ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่า LD_{50} ระหว่าง DM isolate และ DD- 136 จากการทดลองซ้ำ พบว่าทั้งสองสายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกันทางผลการทดสอบประสิทธิภาพการทำให้เกิดโรคกับแมลงในทางสถิติ โดยสายพันธุ์ DD-136 มีค่าเฉลี่ยของ LD_{50} 35.0 ตัว ในขณะที่สายพันธุ์ DM isolate มีค่าเฉลี่ยของ LD_{50} 32.667 ตัว

สรุป วิจารณ์ผลงานวิจัย

จากการสำรวจเก็บตัวอย่างดินในนาข้าว 8 จังหวัด 61 แห่ง 308 ตัวอย่าง จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ของประเทศไทย คือ กาฬสินธุ์ ขอนแก่น ชัยภูมิ นครราชสีมา มหาสารคาม สกลนคร หนองบัวลำภู อุดรธานี เมื่อนำมาแยกด้วยวิธีการใช้หนอนกินรังผึ้งเป็นเหยื่อล่อ (insect – baited trab) พบไส้เดือนฝอย 1 ไอโซเลตจากตัวอย่างดินใน ตำบลดอนโมง อำเภอหนองเรือ จังหวัดขอนแก่น ระบุชื่อให้เป็น DM isolate จากผลที่ได้ทำให้ทราบว่าในดินนาก็สามารถที่จะพบไส้เดือนฝอยโรคแมลงได้ แต่ในแหล่งสำรวจที่ไม่พบนั้น อาจเนื่องจากลักษณะดินในนาข้าวไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของไส้เดือยฝอย เพราะลักษณะดินในนาข้าวมีทั้งดินที่เป็นดินเหนียว และส่วนใหญ่จะน้ำท่วมขัง ทำให้ไส้เดือนฝอยอยู่รอดและแพร่กระจายได้ไม่ดี แมลงอาศัยในดินซึ่งมีไม่มากชนิดก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่จำกัดการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอย โดยปัจจัยการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยนั้นมีอยู่หลายปัจจัยด้วยกัน เช่น อุณหภูมิ ความชื้น ศัตรูธรรมชาติ และลักษณะของเนื้อดิน โดยทั่วไปที่สภาพความชื้นต่ำ ไส้เดือนฝอยจะมีชีวิตอยู่รอดในดินทรายหรือดินร่วนปนทรายที่มีอุณหภูมิ 15-25 องศาเซลเซียส ได้ดีกว่าในดินเหนียวที่มีอุณหภูมิสูงกว่า 25 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส (วัชรี, ม.ป.ป)

เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพ การทำให้เกิดโรคกับหนอนกินรังผึ้ง พบว่า มีค่า LC_{50} เท่ากับ 32.31 ตัว นั้นคือ หมายถึงประสิทธิภาพที่ทำให้หนอนกินรังผึ้งตาย 50% และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ *S. carpocapsae* DD-136 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ได้รับการพัฒนาให้ผลิตออกวางจำหน่ายในรูปแบบต่าง ๆ ในเชิงอุตสาหกรรมเพื่อกำจัดแมลงศัตรู โดย DD- 136 ที่มีค่า LC_{50} เท่ากับ 34.30 ตัว เมื่อนำค่า LC_{50} ของทั้งสองสายพันธุ์จากการทดลองซ้ำมาเปรียบเทียบ โดยใช้ Duncan's new multiple range test พบว่าทั้งสองสายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างในการ ทำให้เกิดโรคกับแมลง ในทางสถิติ ซึ่งหมายความว่า สายพันธุ์ DM isolate ประสิทธิภาพในการทำให้เกิดโรคกับแมลงใกล้เคียงกับ *S. capocapsea* DD-136 Stock, Somsook และ Reid (1998) สำรวจไส้เดือนฝอยโรคแมลงในประเทศไทยระหว่างเดือนพฤษภาคม 2539 พื้นที่สำรวจสวนมะขามหวาน อำเภอหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์ ภาคเหนือของประเทศไทย เมื่อนำตัวอย่างดิน มาทำการแยกหาไส้เดือนฝอยพบเป็นไส้เดือนฝอยใหม่ สายพันธุ์แรกของไทย ให้ชื่อว่า *S. siamkayai* n. sp. Tangchitsomkid และ Sontirat (1998) สำรวจไส้เดือนฝอยโรคแมลงใน 42 จังหวัดในประเทศไทยระหว่างเดือนมิถุนายน 2539 ถึงเดือนมีนาคม 2541 พบไส้เดือนฝอยจำนวน 9 ไอโซเลต จาก 42 จังหวัด 8 ไอโซเลตเป็นสกุล *Steinernematids* sp. และ 1 ไอโซเลตเป็นสกุล *Heterorhabditis* sp. ธาริณี (2547) ได้ศึกษาวิจัยการจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยที่ทำให้เกิดโรคกับแมลงโดยเทคนิคทาง ชีวโมเลกุล และการทดสอบ

ประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอย โดยสำรวจหาไส้เดือนฝอยในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือในประเทศไทย พื้นที่สำรวจตามแหล่งไม้ผล และพืชไร่พบไส้เดือนฝอยที่ทำให้เกิดโรคกับแมลง 7 ไอโซเลต จากพื้นที่ 7 แห่ง ใน 6 จังหวัด ลักษณะดินที่พบไส้เดือนฝอยทุกไอโซเลตเป็นดินร่วนปนทราย วิไลวรรณ และสาทิพย์ ศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ท้องถิ่น *S. siamkayai* ในการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืชตระกูลกะหล่ำ พบว่า จากการคัดเลือกไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ท้องถิ่น *S. siamkayai* จำนวน 7 ประชากร มีเพียง 3 ประชากรที่แข็งแรง มีประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงมากกว่า 80% และเมื่อนำไส้เดือนฝอยที่คัดเลือกได้มาทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงชนิดต่าง ๆ โดยทดสอบหนอนกินรังผึ้ง หนอนกระทู้ผัก และหนอนใยผัก ที่อุณหภูมิต่าง ๆ พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมคือไม่เกิน 25°ซ

ข้อมูลจากการวิจัยนี้จะเป็นแนวทางช่วยในการหา biological control agent ที่เหมาะสมเพื่อนำมาใช้กับแมลงศัตรูในนาข้าว ไส้เดือนฝอย DM isolate เป็นสายพันธุ์ในท้องถิ่นที่ปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมในธรรมชาติได้ดี สามารถนำมาพัฒนาเพาะเลี้ยงเพื่อการค้าได้

ปัญหา อุปสรรคและการแก้ไข

-

เอกสารอ้างอิง

ธาริณี นาแสวง. 2547. การจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยที่ทำให้เกิดโรคกับแมลงโดยเทคนิคทางชีวโมเลกุล และ ทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชากีฏวิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ภมรทิพย์ อักษรทอง. 2526. ตำรา เทคนิคและวิธีการในทางปฏิบัติเกี่ยวกับไส้เดือนฝอย. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

มนต์ชัย ดวงจินดา. การใช้โปรแกรม SAS เพื่อวิเคราะห์งานวิจัยทางสัตว์. ภาควิชาสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 313 หน้า

วัชรี สมสุข. (ม.ป.ป.). ไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช. เอกสารวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี. กลุ่มงานวิจัยปราบศัตรูพืชชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

วิไลวรรณ เวชยันต์ และ สาทิพย์ มาลี. ศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ท้องถิ่น *Steinernema siamkayai* กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

Akhurst,RJ; Boemare,NE (1990): Biology and taxonomy of Xenorhabdus. In: Entomopathogenic nematodes in biological control. (Eds: Gaugler,R; Kaya,HK) CRC Press, Boca Raton, FL, 75-90.

Kaya, H.K. and R. Gaugler. 1993. Entomopathogenic Nematodes. Annual Reviews Inc 38: 181-206.

Molyneux, A. S, and Bedding, R. A. 1984. Inßuence of soil texture and moisture on the infectivity of *Heterorhabditis*sp. D1 and *teinernema glaseri* for larvae of the sheep blowßy *Lucilia cuprina.* Nematologica 30: 358-365.

Stock, S.P., V. Somsook and A.P. Reid. 1998. *Steinernema siamkayai* n. sp.(Rhabditida: Steinernematidae), an entomopathogenic nematode from Thailand. Syst. Parasitol. 41:105-113.

Tangchitsomkid, N. and S. Sontirat. 1998. Occurrence of entomopathogenic nematodes in Thailand. Kasetsart J. 32 : 359-366.

White, G.F. 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. Science 66: 302-303.