1. บทนำ

เห็บโค (*Boophilus microplus* Canestrini) เป็นพยาธิภายนอกที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อการเลี้ยงโคมากที่สุด เห็บโคมีแพร่กระจายอยู่ทั่วโลกที่มีการเลี้ยงโค และพบในสัตว์ป่าพวกสัตว์กีบและอาจพบได้ในแพะ แกะ สุกร และสุนัข (ณรงค์, 2549) อันตรายจากเห็บที่มีต่อสัตว์เลี้ยงคือ ดูดกินเลือดทำให้เกิดภาวะโลหิตจาง (amemia) ทำให้ผลผลิตเสียหายไม่ว่าจะเป็นในรูปของน้ำนมหรือผิวหนัง อาคม (2538) อ้างโดย พิเชษ (2540) รายงานว่าเห็บโคสามารถดูดเลือดได้ถึง 0.5-2.0 มิลลิลิตร ส่วนศินดากร (2534) อ้างโดย พิเชษ (2540) รายงานว่าน้ำนมโค 10 ลิตร ผลิตจากเลือด 1,500-5,000 ลิตร ดังนั้นโคนม 1 ตัวที่มีเห็บจำนวน 1,000 ตัว โดยเห็บดูดเลือดเฉลี่ยตัวละ 2 มิลลิลิตร ในเวลา 1 เดือน โคสูญเสียเลือดไปทั้งสิ้น 60,000 มิลลิลิตร (เท่ากับสูญเสียน้ำนม 18.46 ลิตร) สอดคล้องกับ Jonsson *et al.* (1998) ที่พบว่ากลุ่มโคที่ไม่มีเห็บสามารถผลิตน้ำนมได้มากกว่ากลุ่มโคที่มีเห็บถึง 2.86% และมีน้ำหนักตัวมากกว่า 10.6 กิโลกรัม นอกจากนั้นเห็บโคยังเป็นพาหะนำโรคติดเชื้อในกระแสเลือด ในโคนมที่เป็นชนิดเฉียบพลันตายทันที ชนิดรุนแรงทำให้สูญเสียผลผลิต น้ำนมลด และมีอาการทางประสาทส่วนกลางให้เห็น (จักริน และคณะ, 2551) อีกทั้งสร้างความรำคาญ ทำให้เกิดอาการแพ้ (allergy)

ในปัจจุบันการควบคุมกำจัดเห็บโคนิยมใช้สารฆ่าแมลงสังเคราะห์ในการกำจัด เพราะหาซื้อง่าย ใช้สะดวก และเห็บที่อยู่บนตัวโคตายทันที จากการรายงานของ Ribeiro *et al.* (2007) ยังพบว่ามีการใช้ cypermethrin (pyrethroid) และ amitraz (formamidine) ในการป้องกันกำจัดเห็บโค แม้ว่าการใช้สารฆ่าแมลงสังเคราะห์เห็นผลได้รวดเร็วและทันท่วงที แต่การใช้บ่อยครั้งทำให้เกิดผลเสียตามมาคือ เห็บมีความสามารถในการต้านทานสารฆ่าแมลงสังเคราะห์ที่ใช้ทำให้ต้องมีการนำเข้าสารออกฤทธิ์ใหม่อย่างต่อเนื่อง ซึ่งสารฆ่าแมลงสังเคราะห์ดังกล่าวต้องนำเข้าจากต่างประเทศจึงมีราคาแพงทำให้ในแต่ละปีประเทศไทยสูญเสียเงินเป็นจำนวนมาก และยังเกิดผลข้างเคียงกล่าวคือ เกิดการตกค้างของสารฆ่าแมลงสังเคราะห์ในเนื้อและผลิตภัณฑ์จากสัตว์ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อผู้บริโภค การทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยสาเหตุโรคแมลงเพื่อหาสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยและความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมเห็บโคเพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ลดปัญหาดังกล่าว และเป็นการควบคุมเห็บโคได้อย่างยั่งยืน

2. วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae, S. riobrave* และ *Heterorhabditis indica* ในการควบคุมเห็บโค (*B. microplus*)

3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

3.1 ได้สายพันธุ์ไส้เดือนฝอยและความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับควบคุมปริมาณเห็บโค

3.2 การใช้ไส้เดือนฝอยสาเหตุโรคแมลงเป็นการควบคุมแบบชีววิธีซึ่งปลอดภัยต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม

4. การตรวจเอกสาร

4.1 เห็บโค (Cattle tick)

4.1.1 ความสำคัญ

เห็บเป็นตัวเบียนที่สำคัญที่สุดของวงการปศุสัตว์ จัดเป็นเห็บแข็ง(hard ticks) ถ้ามีเห็บระบาดจำนวนมากทำให้โค มีสุขภาพทรุดโทรม ซูบผอม น้ำหนักและน้ำนมลดเนื่องจากภาวะโลหิตจาง นอกจากนี้บาดแผลที่เกิดจากเห็บเจาะดูดกินเลือดเป็นแหล่งที่แมลงวันคอกสัตว์บินมาวางไข่ เมื่อไข่ฟักเป็นตัวหนอน ชอนไชในบาดแผลต่อไป และทำให้ถึงตายได้เนื่องจากเห็บสามารถนำโรคไข้เห็บโค(cattle tick fever) หรือ babesiosis ที่เกิดจากเชื้อโปรโตซัว *Babesia bigemina* และ *B. bovis* ซึ่งเป็น parasite ในเม็ดเลือดแดงของโค โคที่เป็นโรคนี้แสดงอาการไข้สูง หอบ ปัสสาวะสีแดงถึงสีดำ ท้องเดิน เบื่ออาหาร โลหิตจาง และซูบผอม นอกจากนี้ยังเป็นพาหะนำโรค anaplasmosis ที่เกิดจากเชื้อ *Anaplasma marginale*

4.1.2 ลักษณะทางอนุกรมวิธาน

ชื่อสามัญ Tropical cattle tick

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Boophilus microplus* Canestrini

ชื่อพ้อง *Boophilus australis* วงศ์ Ixodidae อันดับ Acarina

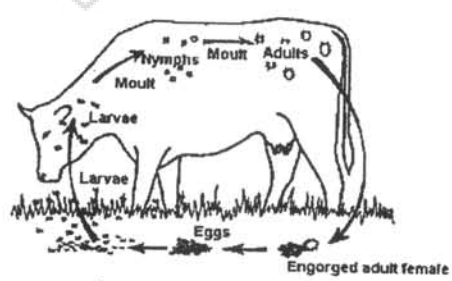
4.1.3 รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ

เห็บโคตัวเต็มวัยเพศเมียที่ลอกคราบใหม่ออกมาลำตัวมีลักษณะรูปไข่สีน้ำตาล มีความยาวประมาณ 2.0-3.0 มิลลิเมตร ความกว้างประมาณ 1.5-2.0 มิลลิเมตร ส่วนเห็บเพศผู้ลำตัวมีลักษณะรูปไข่สีน้ำตาล ที่ส่วนท้ายของลำตัวมีลักษณะคล้ายหางเล็กๆยื่นออกมา มีความยาวประมาณ 1.5-2.0 มิลลิเมตร ความกว้างประมาณ 1-1.5 มิลลิเมตร เห็บตัวเต็มวัยเพศผู้ผสมพันธุ์กับเพศเมียบนตัวโค เห็บตัวเต็มวัยเพศเมียดูดกินเลือดจนตัวเป่ง (engorged female) ลำตัวคล้ายเมล็ดถั่ว สีน้ำเงินปนดำเข้ม ความยาวประมาณ 8-10 มิลลิเมตร ความกว้างประมาณ 5-7 มิลลิเมตร ระยะ engorged female ใช้เวลาประมาณ 8-10 วัน จากนั้นทิ้งตัวจากโคลงพื้นดินตามบริเวณแปลงหญ้าเพื่อวางไข่ วงจรชีวิตของเห็บโคแบ่งออกเป็น 2 ส่วนได้แก่ parasitic part เป็นระยะที่ดูดเลือดอยู่บนตัวโค และ non-parasitic part เป็นระยะที่อยู่บนพื้นดิน (ภาพที่ 1) เห็บ engorged female มีระยะเตรียมตัววางไข่ประมาณ 2-3 วัน แล้วจึงวางไข่ โดยการโค้งส่วนหัวลงมาจนกระทั่งส่วนหัวทอดตัวไปตามพื้นผิวด้านล่างของลำตัวใกล้รูเปิดของระบบสืบพันธุ์ Gene 's organ ยื่น

ออกมาระหว่าง basis capituli และ scutum Gene 's organ ขยายใหญ่ออกเป็น 2 lobe ภายในอวัยวะดังกล่าวมีต่อมมากมายทำหน้าที่ขับสารที่เป็นขี้ผึ้ง เมื่อไข่ถูกขับออกมาจาก รูเปิดของระบบสืบพันธุ์ ไข่ได้รับขี้ผึ้งโดย lobe ของอวัยวะนี้ซึ่งห่อหุ้มไข่ของเห็บไว้ ขี้ผึ้งดังกล่าวป้องกันไข่ของเห็บจากการสูญเสียน้ำและทำให้ไข่สามารถติดกันเป็นก้อน(ภาพที่ 3 ก.) ระยะเวลาวางไข่ประมาณ 8-10 วัน เห็บเพศเมียวางไข่ได้ประมาณ 1275-2205 ฟอง (ภาพที่ 2) หลังการวางไข่เห็บเพศเมีย มีอายุประมาณ 6-15 วัน ไข่มีลักษณะรูปร่างกลมรี สีน้ำตาลอ่อน เมื่อไข่ใกล้ฟักสีเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแก่ ไข่มีความยาวประมาณ 0.8 มิลลิเมตร ความกว้างประมาณ 0.5 มิลลิเมตร ระยะไข่ของเห็บโคประมาณ 17-21 วัน จากนั้นฟักออกเป็นเห็บตัวอ่อนมี 6 ขา (larva) สีน้ำตาลปนแดง คลานขึ้นไปเกาะอาศัยตามใต้ปลายยอดและใต้ปลายใบหญ้า(ภาพที่ 3 ข.) เมื่อโคเดินผ่านมา เกาะติดไปกับขาหรือลำตัวโคจากนั้นคลานขึ้นไปเกาะตามบริเวณคอ และง่ามขาหลัง ดูดกินเลือดประมาณ 3-5 วัน เป็นเห็บตัวอ่อน engorged larva ลำตัวยาวประมาณ 1.0-1.5 มิลลิเมตร กว้างประมาณ 0.5-1.0 มิลลิเมตร และใช้เวลาในการลอกคราบประมาณ 2 วัน โดยใช้ปากเกาะติดบนตัวโคเห็บตัวอ่อนมีชีวิตอยู่ได้นาน 2-3 เดือน หรือถึง 6 เดือน ถ้าในแปลงหญ้ามีความชื้นสูง ระยะเห็บตัวอ่อน 6 ขา (larva) ประมาณ 5-7 วัน ลอกคราบออกมาเป็นเห็บตัวกลางวัย 8 ขา(nymph) ดูดกินเลือดประมาณ 5-7 วัน เปลี่ยนเป็น engorged nymph ลำตัวยาวประมาณ 2-3 มิลลิเมตร กว้างประมาณ 1.5-2.0 มิลลิเมตร จากนั้นใช้เวลาในการลอกคราบประมาณ 2 วัน โดยใช้ปากเกาะบนตัวโค ระยะเห็บตัวกลางวัย 8 ขา(nymph) ประมาณ 7-9 วัน ลอกคราบออกมาเป็นเห็บตัวเต็มวัยเพศผู้หรือเพศเมีย ดูดกินเลือดโคแล้วทำการผสมพันธุ์และวางไข่ต่อไป เห็บโคอาศัยดูดกินเลือดบนตัวโคตลอดเวลาเป็นชนิด one host tick ระยะเห็บตัวอ่อน 6 ขา ที่ฟักออกมาจากไข่แล้วเกาะดูดกินเลือดโคจนเป็นเห็บตัวเต็มวัยประมาณ 12-16 วัน ชีพจักรของเห็บโค ตั้งแต่ไข่จนเป็นตัวเต็มวัยเพศเมีย engorged female จนกระทั่งเริ่มวางไข่ประมาณ 39-50 วัน เห็บโคมีการขยายพันธุ์ประมาณ 4-5 ครั้ง/ปี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมและอาหาร

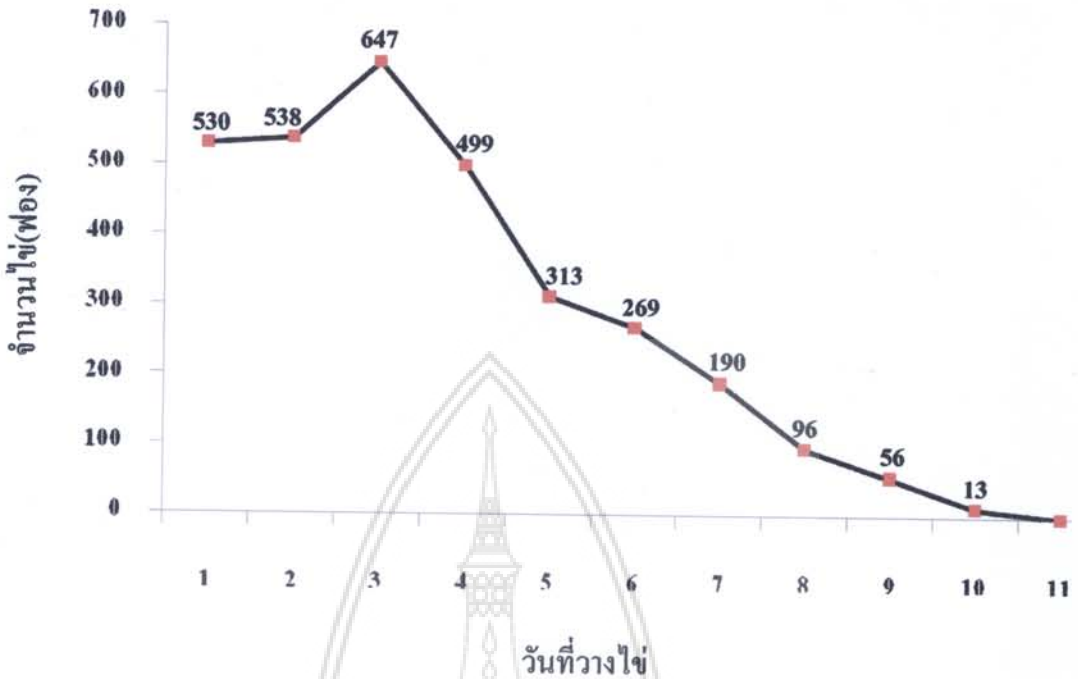
4.1.4 สัตว์อาศัย

พบในโค กระบือและสัตว์อื่นๆได้แก่ สุนัข แพะ ม้า แกะ กวาง สิงโตอัฟริกา แมวป่า กระบือน้ำอินเดีย จิงโจ้ หมู จิงโจ้เล็ก กระต่าย และพบได้น้อยในมนุษย์ เมื่อเห็บโคเข้าทำลายขั้นรุนแรง พบได้ทุกส่วนบนตัวโค(Radunz, 2003) โดยเฉพาะบริเวณซอกหลืบ เช่น ใบหูด้านใน เต้านม ซอกขาหนีบ โคนขา และแผงคอ เป็นต้น (ภาพที่ 4 ก. – จ.)



ภาพที่ 1 วงจรชีวิตของเห็บโค (*Boophilus microplus* Canestrini)

ที่มา: Hibberd (2007)



ภาพที่ 2 จำนวนไข่ของเห็บโค engorged female ต่อวัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 80%
ที่มา: ดัดแปลงจาก Sukhapesna *et al*. (1970)

4.1.5 การแพร่กระจาย

พบบริเวณที่มีอากาศร้อนชื้น ได้แก่ อินดีสตะวันตก เม็กซิโก อเมริกากลาง อเมริกาใต้ อัฟริกา ออสเตรเลีย และประเทศไทย เห็บชนิดนี้มีการระบาดทั้งปีและระบาดจำนวนมากในช่วงเดือนกุมภาพันธ์-มีนาคม

ภาพที่ 3 พฤติกรรมการวางไข่และการรอสัตว์อาศัยของเห็บโค

ก. การวางไข่ของเห็บโค

ข. เห็บโคตัวอ่อนเกาะบริเวณยอดหญ้า

ภาพที่ 4 บริเวณที่พบเห็บโคบนลำตัวโค

ก. บริเวณใบหูของโค ข. บริเวณเต้านมและซอกขาหนีบขาหลัง

ค. บริเวณซอกขาหนีบขาหน้า ง. บริเวณแผงคอ จ. บริเวณโคนขาหน้า

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

4.2 ไส้เดือนฝอยสาเหตุโรคของแมลง (entomopathogenic nematode)

ไส้เดือนฝอยในกลุ่มที่ทำให้เกิดโรคแมลง จัดเป็นศัตรูธรรมชาติของแมลงอีกชนิดหนึ่ง ถูกค้นพบครั้งแรกโดย Steiner ในประเทศเยอรมันนี ปี ค.ศ. 1923 เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กและเป็น obligate parasite ภายในตัวแมลง มีรูปร่างคล้ายหนอนหรือพยาธิ์ ลำตัวกลม ไม่มีข้อปล้องหรือระยางค์(นันทนา ,2538) เรียกอีกชื่อหนึ่งว่าหนอนตัวกลม (round worm) กลุ่มไส้เดือนฝอยโรคแมลงมีลักษณะทั่วไป คือ

มีขนาดเล็ก เส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 30 ไมครอน และมีความยาวเฉลี่ย 1,000 ไมครอน ลักษณะหัวเรียวท้ายเรียวเหมือนเส้นด้าย ปลายด้านหัวมีช่องเปิดของปาก เหนือปลายหางขึ้นมาเล็กน้อยทางด้านท้อง คือ ช่องทวารหนัก (anus) มี cuticle ห่อหุ้มภายนอกลำตัว ขณะที่เป็นตัวอ่อนลำตัวจะโปร่งแสง เมื่อโตเต็มวัย ลำตัวจะทึบแสง ไม่มีอวัยวะที่ใช้ในการเคลื่อนที่ จึงเคลื่อนที่ได้เฉพาะในของเหลวเท่านั้น ไม่มีระบบการหายใจ และระบบการหมุนเวียนที่แท้จริง ได้รับออกซิเจนจากการดูดซึมผ่านทาง cuticle เท่านั้น เพศผู้จะพบช่องเปิดโคลเอกา (cloaca opening) อยู่ใกล้ส่วนปลายของหาง มีเดือย (penial spicule) ยื่นออกมา 1 คู่อย่างชัดเจน ส่วนหางมีลักษณะม้วนงอ และขนาดลำตัวจะเล็กกว่าตัวเมีย ส่วนเพศเมียจะมีช่องสืบพันธุ์(genital opening) อยู่ตรงกลางลำตัวด้านท้อง ส่วนปลายหางจะยาวเรียว ไม่ม้วนงอ (จิตเกษม,มปป.;นันทนา,2538) ไส้เดือนฝอยศัตรูของแมลงถูกจัดให้อยู่ใน Family Steinernematidae และ Heterorhabditidae The United States Environmental Protection Agency (EPA)ได้รับรองถึงความปลอดภัยต่อพืช สัตว์เลือดอุ่น และสภาพแวดล้อมจาก ปัจจุบันมีการนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช เนื่องจากมีศักยภาพในการฆ่าแมลงตายภายในเวลาอันรวดเร็ว (24-48 ชม.) มีแมลงอาศัยกว้าง และสามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเทียมหลายชนิด

4.2.1 ชีววิทยาทั่วไปของไส้เดือนฝอยที่ทำให้เกิดโรคกับแมลง

ไส้เดือนฝอยกลุ่ม entomopathogenic nematode มีการเจริญเติบโตโดยลอกคราบ 4 ครั้ง ประกอบด้วย ตัวอ่อน 4 ระยะ ตัวเต็มวัยเพศผู้ และเพศเมีย และระยะไข่ (Blouin *et al.*, 1999) มีตัวอ่อนระยะที่ 3 เป็นระยะเข้าทำลายแมลง (infective juvenile: IJ) การขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยมี 2 แบบ ได้แก่ แบบที่ 1 คือ amphimictic มีการผสมพันธุ์ระหว่างเพศผู้และเพศเมียเป็นการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยในวงศ์ Steinernematidae ทุกชั่วอายุ และไส้เดือนฝอยในวงศ์ Heterorhabditidae ในชั่วอายุที่ 2 เป็นต้นไป ส่วนแบบที่ 2 คือ hermaphroditic ตัวเมียสร้างไข่และเสปิร์มภายในตัวผสมกันได้ ซึ่งเป็นลักษณะการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยในวงศ์ Heterorhaditidae ในชั่วอายุที่ 1 และเป็นข้อดีของไส้เดือนฝอยในวงศ์นี้กล่าวคือ ถึงแม้ไส้เดือนฝอยจะเข้าไปในตัวแมลงเพียงตัวเดียวก็สามารถขยายพันธุ์ได้ (Poinar, 1990)

ไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายเป็นไส้เดือนฝอยระยะเดียวที่สามารถทำให้เกิดโรคกับแมลงได้ ดำรงชีวิตเป็นอิสระในธรรมชาติโดยไม่กินอาหาร (free living) (Poinar, 1990) เพราะมีปากที่ปิดมีการพัฒนาเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาให้สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้เป็นเวลานานหลายเดือนขณะรอการเข้าทำลายแมลงอาศัย และมีผนังหุ้มลำตัวป้องกันอันตรายจากสภาพที่ไม่เหมาะสมได้ ลำตัวมีผนังบางๆ (cuticle) ปกคลุมเรียกว่า “ensheathed nematode” ช่วยป้องกันอุณหภูมิ และความชื้น มีการพัฒนาของ amphids และ papillae บริเวณส่วนหัวเพื่อค้นหาตำแหน่งที่อยู่อาศัยของแมลง พัฒนาส่วนปาก ทวาร และการทำงานของระบบย่อยอาหารลดลงเพื่อให้สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ มีการสะสมอาหารสำรองพวกไขมันบริเวณ hypodermal gland และ intestinal cell (Poinar and Himswort, 1967) เมื่อพบแมลงอาศัยไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายเข้าสู่ช่องว่างภายในลำตัวแมลง

(haemocoel) ทางรูเปิดตามธรรมชาติ ซึ่งเข้าได้หลายทางขึ้นกับชนิดและสายพันธุ์ของไส้เดือนฝอย ได้แก่ รูหายใจ (Kaya and Hara, 1981) ปาก และ ทวารหนัก (Kondo and Ishibashi, 1986) และเคลื่อนที่ผ่านท่อทางเดินอาหารส่วนต่างๆ ของแมลงอาศัยไส้เดือนฝอยวงศ์ Heterorhabditidae มีฟันที่แข็ง (dorsal tooth) อยู่บริเวณส่วนหัวของไส้เดือนฝอยระยะ infective juvenile ซึ่งเป็นลักษณะพิเศษที่พบในวงศ์นี้เท่านั้น ช่วยในการชอนไชเข้าผนังลำตัวของแมลง (Poinar, 1990) ไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายแมลงเริ่มเจริญเติบโตหลังจากเข้าสู่ระบบเลือดภายในช่องว่างลำตัวแมลง และเข้าสู่ระบบทางเดินอาหารส่วนกลางของแมลง จากนั้นไส้เดือนฝอยปล่อยแบคทีเรียที่มีความสัมพันธ์อยู่ร่วมกับไส้เดือนฝอย (sysmbiotic bacteria) ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของไส้เดือนฝอยออกมาสู่ระบบเลือดของแมลงอาศัย เมื่อแบคทีเรียแบ่งเซลล์เพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็วในช่องว่างลำตัวของแมลงและสร้างสารพิษ (Akhurst and Boemare, 1990) ทำให้แมลงเกิดอาการเลือดเป็นพิษ (septicemia) และตายภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง (Poinar and Thomas, 1966) Burman (1982) รายงานการสร้างสารพิษจากไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* เรียกว่า NGE (nematode growth extract) ที่ผลิตจากการเลี้ยงไส้เดือนฝอยในอาหารเทียม สารพิษที่ได้เมื่อนำไปฉีดเข้ากับแมลงทดสอบ พบว่าแมลงเกิดอาการอ่อนแอและตายภายในเวลา 24 ชั่วโมง หนอนที่ตายเนื่องจากไส้เดือนฝอยมีลักษณะเหนียวนิ่ม ไม่เน่าเละ สีของหนอนอาจเปลี่ยนเล็กน้อยเป็นซีดจางลงหรือสีเหลืองครีม หรือแดง ขึ้นกับชนิดของไส้เดือนฝอย ไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตขยายพันธุ์ภายในตัวแมลงได้ประมาณ 2-3ชั่วอายุ (generation) ขึ้นกับขนาดของแมลง โดยระดับปริมาณของเซลล์ของแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของไส้เดือนฝอย มีผลต่อการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอย (วัชรี และสุทธิชัย, 2542) เมื่อแมลงถูกทำลายจนเหลือแต่ซาก ตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยระยะ ที่ 3 ปรับสภาพตัวเองเป็นระยะเข้าทำลายแมลงและดูดกลืนเซลล์แบคทีเรียเก็บไว้ที่ลำไส้ (intestinal lumen) ก่อนเคลื่อนที่ออกจากซากของแมลงลงสู่ดินเพื่อรอแมลงอาศัย

4.2.2 แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ร่วมกับไส้เดือนฝอยทำให้เกิดโรคกับแมลง

แบคทีเรียที่มีความสัมพันธ์กับไส้เดือนฝอยโดยอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกัน (sysbiotic association) เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae (Poinar and Thomas, 1966) สกุล *Xenorhabdus* sp. (Poinar and Thomas, 1967) พบในไส้เดือนฝอยวงศ์ Steinernematidae และสกุล *Photorhabdus* sp. (Boemore *et al.*, 1993) พบในไส้เดือนฝอยวงศ์ Heterorhaditidae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ (Forst *et al.*, 1997) จึงไม่มีระยะที่ต้านทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ รูปร่างเป็นท่อน (rod-shaped) แบคทีเรียชนิดนี้ไม่สามารถมีชีวิตได้ด้วยตัวเองในสภาพธรรมชาติในดินหรือในน้ำ (Poinar, 1979) และไม่พบอยู่ตามดินในธรรมชาติเหมือนแบคทีเรียอื่นทั่วไป (Akhurst, 1980, 1983) พบในลำไส้ของไส้เดือนฝอยทุกระยะ เมื่อไส้เดือนฝอยเปลี่ยนเป็นระยะเข้าทำลายแมลงจะดูดกลืนเซลล์แบคทีเรียไว้ที่บริเวณลำไส้ส่วนกลาง เมื่อไส้เดือนฝอยเข้าสู่ช่องว่างภายในลำตัวแมลง และเข้าสู่ทางเดินอาหารส่วนกลางของแมลง ไส้เดือนฝอยจะปลดปล่อยเซลล์ของแบคทีเรียสู่ระบบเลือดของแมลงและเซลล์แบคทีเรียจะเพิ่มปริมาณมากขึ้นทำให้หนอนเกิดอาการเลือดเป็นพิษตาย ความสัมพันธ์ของแบคทีเรียกับ

ไส้เดือนฝอยเป็นแบบพึ่งพาอาศัยกันโดยไส้เดือนฝอยทำหน้าที่ช่วยป้องกันอันตรายและเป็นพาหะนำแบคทีเรียเข้าสู่ตัวแมลง ส่วนแบคทีเรียทำหน้าที่ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์อื่นที่อาศัยอยู่ภายในช่องว่างลำตัวแมลง แมลงที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายไม่พบจุลินทรีย์เข้าทำลายซ้ำเนื่องจากแบคทีเรียสร้างสารต้านจุลินทรีย์ (Paul *et al.*, 1981) ยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นและเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญต่อการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยภายในตัวแมลง (Poinar, 1990)

5. อุปกรณ์และวิธีการ

5.1 การเพิ่มปริมาณเห็บโค

ปล่อยตัวอ่อนเห็บโคที่ฟักจากไข่บนพื้นดินบริเวณคอกที่เลี้ยงโค (ภาพที่ 5) จากนั้นสังเกตการเจริญเติบโตของเห็บโคทุกวันจนกว่าเห็บโคเข้าสู่ระยะตัวแบนและระยะตัวเป่งใช้เวลาประมาณ 14 และ 21 วัน ตามลำดับ จึงนำไปใช้ทดลอง

ภาพที่ 5 โคที่ใช้เพิ่มปริมาณเห็บโค (*Boophilus microplus*)

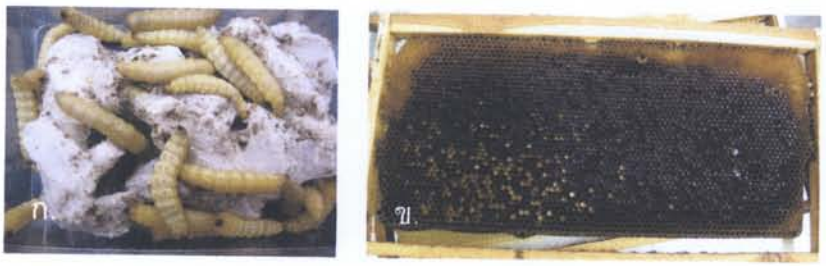
5.2 การทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอย

5.2.1 ไส้เดือนฝอย

ไส้เดือนฝอยที่ใช้ในการทดลองมี 3 ชนิดคือ *Steinernema carpocapsae, S. riobrave* และ *Heterorhabditis indica* ได้รับจากกรมวิชาการเกษตร

5.2.2 การเลี้ยงหนอนกินรังผึ้ง (*Galleria mellonella*)

เก็บหนอนกินรังผึ้งจากฟาร์มเลี้ยงผึ้ง บ้านโกทา อ.เมือง จ.ขอนแก่น มาเลี้ยงในกล่องพลาสติกด้วยรังผึ้ง เมื่อหนอนเข้าระยะดักแด้เก็บแยกกล่อง รอการฟักเป็นตัวเต็มวัย(เลี้ยงด้วยน้ำผึ้ง) ตัวเต็มวัยผสมพันธุ์และวางไข่ เมื่อไข่ฟักเป็น ตัวหนอนเลี้ยงด้วยรังผึ้งจนกระทั่งเป็นหนอนวัยสุดท้ายก่อนเข้าระยะดักแด้ (ภาพที่ 6 ก. และ ข.)



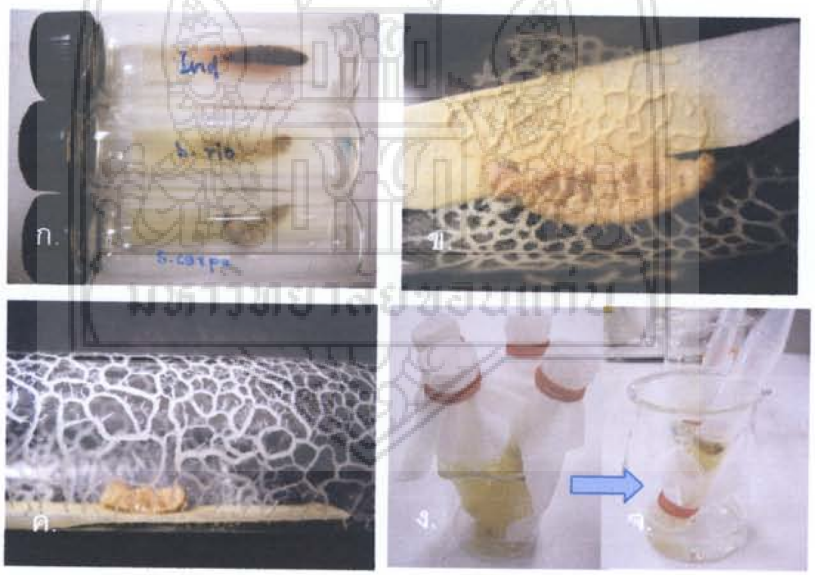
ภาพที่ 6 การเลี้ยงหนอนกินรังผึ้ง (*Galleria mellonella*)

ก. หนอนกินรังผึ้ง

ข. รังผึ้งใช้สำหรับเลี้ยงหนอนกินรังผึ้ง

5.2.3 การเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอย

ทำการล้างไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิดที่เก็บอยู่ในฟองน้ำด้วย formalin 0.1% จากนั้นนำมาเพิ่มปริมาณในหนอนกินรังผึ้ง โดยหยดสารแขวนลอยไส้เดือนฝอย 0.5 มิลลิลิตรลงบนกระดาษกรองแล้วใส่หนอนกินรังผึ้งวัยสุดท้ายก่อนเข้าระยะดักแด้ลงไป 1 ตัว/จานทดลอง เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ภาพที่ 7 ก., ข. และ ค.) เมื่อหนอนตายรอจนไส้เดือนฝอยออกมาจากตัวหนอนกรองด้วยผ้ากรองขนาด 32 ไมโครเมตร (ภาพที่ 7 ง. และ จ.) เพื่อให้ได้ไส้เดือนฝอยที่แข็งแรง และหาความเข้มข้นของไส้เดือนฝอย โดยการนับด้วยวิธี dilution counting ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สเตอริโอก่อนนำไปใช้



ภาพที่ 7 การเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในหนอนกินรังผึ้ง

ก. หนอนกินรังผึ้งเริ่มตายจากการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิด

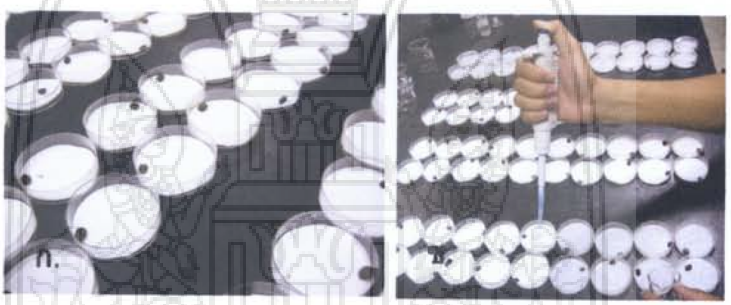
ข. และ ค. ไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลาย (IJ) เริ่มออกจากตัวหนอนกินรังผึ้ง

ง. และ จ. การกรองไส้เดือนฝอยด้วยผ้ากรองขนาด 32 ไมโครเมตร

5.2.4 การทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอย 3 ชนิดกับเห็บโค 3 ระยะ

5.2.4.1 ระยะตัวแบน(flat tick) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) 4 กรรมวิธี 4 ซ้ำ กรรมวิธีคือ ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ความเข้มข้น 0, 2,500 5,000 และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร แต่ละซ้ำใช้เห็บโค 5 ตัว โดยหยดสารแขวนลอยไส้เดือนฝอย 0.5 มิลลิลิตร ลงบนกระดาษกรอง จากนั้นใส่เห็บโค 1 ตัวต่อจานทดลอง (ขนาดจานทดลอง 5.5x5.5x1.6 ลูกบาศก์เซนติเมตร) ใช้ formalin 0.1% เป็นตัวเปรียบเทียบ เก็บไว้ในที่มืดและชื้นอุณหภูมิ 25±2 °ซ ตรวจนับการตายของเห็บโคทุก 24 ชั่วโมง ต่อเนื่องเป็นเวลา 5 วัน นอกจากนี้ได้มีการทดลองเปลี่ยนชนิดไส้เดือนฝอยเป็น *S. riobrave* และ *H. indica* โดยมีรายละเอียดดังกล่าวข้างต้น

5.2.4.2 ระยะตัวเป่ง (engorged female) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) 4 กรรมวิธี 4 ซ้ำ กรรมวิธีคือ ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ความเข้มข้น 0, 2,500 5,000 และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร แต่ละซ้ำใช้เห็บโค 5 ตัว โดยหยดสารแขวนลอยไส้เดือนฝอย 0.5 มิลลิลิตร ลงบนกระดาษกรอง จากนั้นใส่เห็บโค 1 ตัวต่อจานทดลอง ใช้ formalin 0.1% เป็นตัวเปรียบเทียบ(ภาพที่ 8 ก. และ ข.) เก็บไว้ในที่มืดและชื้นอุณหภูมิ 25±2 °ซ ตรวจนับการตายของเห็บโคทุก 24 ชั่วโมง ต่อเนื่องเป็นเวลา 5 วัน นอกจากนี้ได้มีการทดลองเปลี่ยนชนิดไส้เดือนฝอยเป็น *S. riobrave* และ *H. indica* โดยมีรายละเอียดดังกล่าวข้างต้น



ภาพที่ 8 เห็บโคและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง
ก. เห็บโค(engorged female)บนกระดาษกรอง 1 ตัว/จานทดลอง
ข. การหยดสารแขวนลอยไส้เดือนฝอย 0.5 มิลลิลิตรลงบนกระดาษกรอง

5.2.4.3 ระยะไข่ (egg) ทดลองกับไข่เห็บโคอายุ 5 และ 25 วัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) 4 กรรมวิธี 4 ซ้ำ กรรมวิธีคือ ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ความเข้มข้น 0, 2,500 5,000 และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร แต่ละซ้ำใช้ไข่ 100 ฟอง โดยหยดสารแขวนลอยไส้เดือนฝอย 0.5 มิลลิลิตร ลงบนกระดาษกรอง ใช้ formalin 0.1% เป็นตัวเปรียบเทียบ เก็บไว้ในที่มืดและชื้นอุณหภูมิ 25±2 °ซ ตรวจนับการตายของไข่เห็บและการฟักของเห็บโคตัวอ่อน นอกจากนี้ได้มีการทดลองเปลี่ยนชนิดไส้เดือนฝอยเป็น *S. riobrave* และ *H. indica* โดยมีรายละเอียดดังกล่าวข้างต้น

การตายจากไส้เดือนฝอย อันดับแรกให้สังเกตการเปลี่ยนสีของทางเดินอาหารจากสีขาวขุ่นเปลี่ยนเป็นสีแดง หรือสังเกตจากการเคลื่อนไหวของทางเดินอาหารจากนั้นให้สังเกตการเปลี่ยนสีของลำตัวจากเขียวปนน้ำเงินเปลี่ยนสีน้ำตาลแดง ต่อมาให้ตรวจสอบที่ขา และเพื่อเป็นการยืนยันให้ทำการผ่าหาไส้เดือนฝอยที่อยู่ภายในลำตัวของเห็บ

5.2.5 การทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยในดินกับเห็บโครยะตัวเป่ง (engorged female)

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) 4 กรรมวิธี 4 ซ้ำ กรรมวิธีคือไส้เดือนฝอยที่ทำให้เห็บโคเกิดโรคสูงสุด 1 ชนิด (จากการทดลองที่ 5.2.4) ความเข้มข้น 0, 2,500 5,000 และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร แต่ละซ้ำใช้เห็บโค 5 ตัว โดยใส่เห็บโค 1 ตัวลงในจานทดลอง ที่มีดินทรายกรองละเอียด 500 ไมโครเมตร 20 กรัม อบที่อุณหภูมิ 80 °ซ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งข้ามคืน จากนั้นใส่สารแขวนลอยไส้เดือนฝอย 5 มิลลิลิตร/จานทดลอง ใช้ formalin 0.1% เป็นตัวเปรียบเทียบ เก็บไว้ที่มืดและชื้นอุณหภูมิ 25±2 °ซ ตรวจนับการตายของเห็บโคทุก 24 ชั่วโมง ต่อเนื่องเป็นเวลา 5 วัน

5.2.6 การทดสอบความความรุนแรงของไส้เดือนฝอยในดินกับเห็บโครยะตัวเป่ง (engorged female)

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) 11 กรรมวิธี 4 ซ้ำ กรรมวิธีคือ ไส้เดือนฝอย ที่ทำให้เห็บโคเกิดโรคสูงสุด 1 ชนิด (จากการทดลองที่ 5.2.4) ความเข้มข้น 0, 25, 50, 100, 500, 1,000, 2,000, 4,000, 6,000, 8,000 และ 10,000 ตัว/จานทดลอง แต่ละซ้ำใช้เห็บโค 5 ตัว โดยใส่เห็บโค 1 ตัวลงในจานทดลองที่มีดินทรายกรองละเอียด 500 ไมโครเมตร 20 กรัม อบที่อุณหภูมิ 80 °ซ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งข้ามคืน จากนั้นใส่สารแขวนลอยไส้เดือนฝอย เก็บไว้ที่มืดและชื้นอุณหภูมิ 25±2 °ซ ตรวจนับการตายของเห็บโคทุก 24 ชั่วโมง ต่อเนื่องเป็นเวลา 5 วัน นำข้อมูลการตายที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในวันที่เห็บโคเกิดการตายสูงสุดมาคำนวณหาค่า LC_{50} (Median lethal concentration)

5.2.7 การทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยกับเห็บโครยะตัวเป่งในสภาพเลียนแบบธรรมชาติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) 3 กรรมวิธี 3 ซ้ำ กรรมวิธีคือ พื้นที่ 3 แบบ : ใต้ร่มไม้แสงแดดรำไร ในโรงเรือน และที่โล่งแจ้ง (ภาพที่ 9 ข., ค. และ ง.) แต่ละซ้ำใช้เห็บโค 15 ตัว ใช้กระบะพลาสติกขนาด 25x32x10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ดินร่วนปนทราย 20 กิโลกรัม/กระบะ ปล่อยให้หญ้าขึ้นโดยให้ความชื้นสม่ำเสมอ (ภาพที่ 9 ก.) ใส่เห็บโคในกระบะทิ้งข้ามคืน ใส่สารแขวนลอยไส้เดือนฝอยที่ทำให้เห็บโคเกิดโรคสูงสุด 1 ชนิด (จากการทดลองที่ 5.2.4) ความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด

(จากการทดลองที่ 5.2.6) โดยคำนวณเปรียบเทียบขนาดวัสดุที่ใช้ในการทดลอง ตรวจนับการตายของเห็บโค ทุก 24 ชั่วโมง

ภาพที่ 9 กระบะที่ใช้ในการทดลองปล่อยให้หญ้าขึ้น และสถานที่ในการทดลอง
ก. กระบะพลาสติกขนาด 25x32x10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปล่อยให้หญ้าขึ้น
ข. ใต้ร่มไม้ (ดอกโคเก่า) ค. ในโรงเรือน ง. ที่โล่งแจ้ง

5.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SAS (Statistical Analysis System version 6.12) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ 95 เปอร์เซ็นต์ การคำนวณค่า LC_{50} (Median lethal concentration) ของไส้เดือนฝอยด้วยวิธี Probit analysis

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

6. ผลการทดลอง

6.1 ผลการทดสอบการใช้ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema. riobrave* และ *Heterorhabditis indica* กับเห็บโค

6.1.2 การทดสอบการใช้ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema riobrave* และ *Heterorhabditis indica* กับเห็บโครยะตัวแบน (flat tick)

ไส้เดือนฝอย *H. indica* ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร มีประสิทธิภาพสูงสุดสามารถทำให้เห็บโคเกิดโรคตาย 100% ภายใน 5 วัน ส่วนความเข้มข้น 5,000 และ 2,500 ตัว/มิลลิลิตร มีประสิทธิภาพรองลงมาคือสามารถทำให้เห็บโคเกิดโรคและตาย 90 และ 80% ในวันที่ 5 ของการทดลอง (ตารางที่ 1 และ

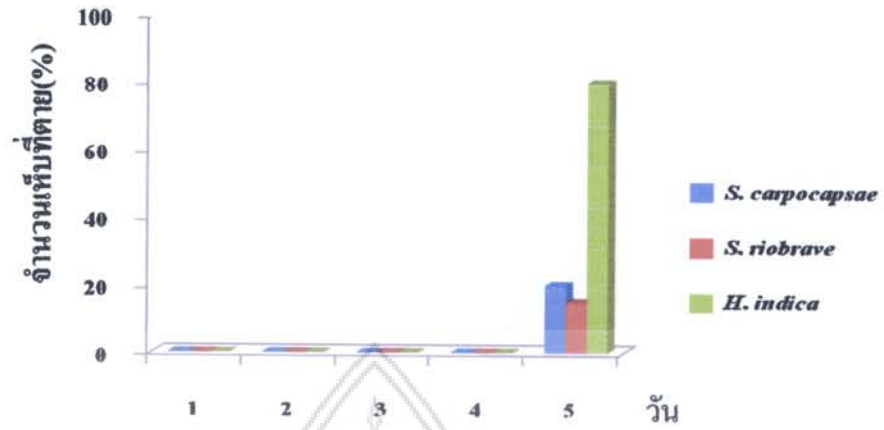
ภาพที่ 10 ก.- ค.) และไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร มีประสิทธิภาพสูงสุด สามารถทำให้เห็บโคเกิดโรคและตาย 25% ภายใน 5 วัน ส่วนความเข้มข้น 2,500 และ 5,000 ตัว/มิลลิลิตร มีประสิทธิภาพรองลงมาคือสามารถทำให้เห็บโคเกิดโรคและตาย 20 และ 15% ในวันที่ 5 ส่วนไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ทุกความเข้มข้นประสิทธิภาพค่อนข้างต่ำทำให้เห็บโคเกิดโรคและตาย 15, 5 และ 5% ที่ความเข้มข้น 2,500, 5,000 และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การตายของเห็บโค (*Boophilus microplus*) ระยะตัวแบน (flat tick) เมื่อทดสอบกับไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema riobrave* และ *Heterorhabditis indica* ที่ความเข้มข้นต่างๆ

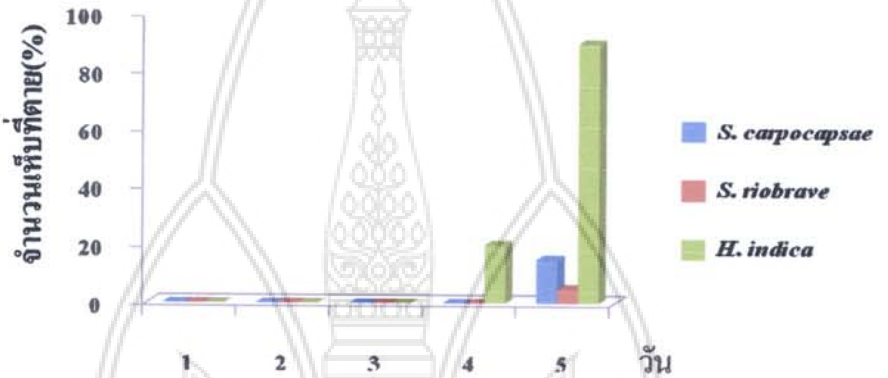
ไส้เดือนฝอย	ความเข้มข้น (ตัว/มิลลิลิตร)	การตายสะสม/วัน[1/] (%)				
		1	2	3	4	5
S. carpocapsae	0	0	0	0	0	0
	2,500	0	0	0	0	20
	5,000	0	0	0	0	15
	10,000	0	0	0	0	25
S. riobrave	0	0	0	0	0	0
	2,500	0	0	0	0	15
	5,000	0	0	0	0	5
	10,000	0	0	0	0	5
H. indica	0	0	0	0	0	0 b
	2,500	0	0	0	0	80 a
	5,000	0	0	0	20	90 a
	10,000	0	0	0	30	100 a

[1/] ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันในไส้เดือนฝอยชนิดเดียวกันที่มีอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Chi-square 95%)

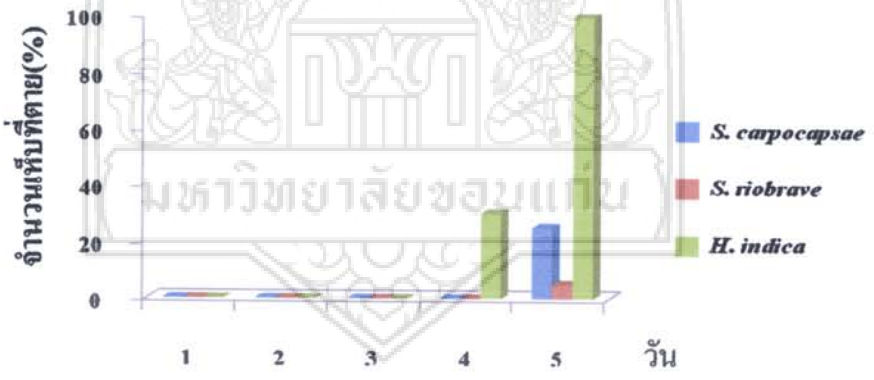
มหาวิทยาลัยขอนแก่น



ก. ความเข้มข้น 2,500 ตัว/มิลลิลิตร



ข. ความเข้มข้น 5,000 ตัว/มิลลิลิตร



ค. ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร

ภาพที่ 10 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของเห็บโคระยะตัวแบนเมื่อทดสอบกับไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae*, *S. riobrave* และ *Heterorhabditis indica* ที่ความเข้มข้นต่างๆ

6.2 การทดสอบการใช้ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae, Steinernema riobrave* และ *Heterorhabditis indica* กับเห็บโคระยะตัวเป่ง (engorged female)

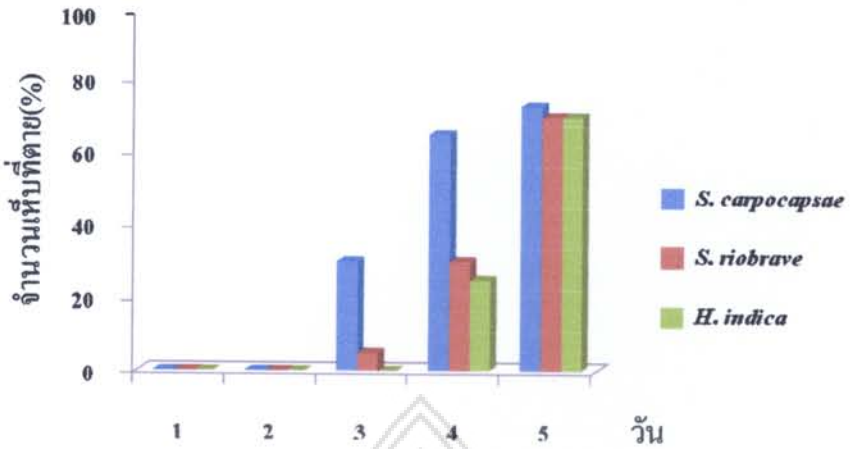
ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร มีประสิทธิภาพสูงสุดสามารถทำให้เห็บโคเกิดโรคและตาย 100% ภายใน 5 วัน แตกต่างจากกรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) ส่วนความเข้มข้น 5,000 และ 2,500 ตัว/มิลลิลิตร ทำให้เห็บโคเกิดโรคและตาย 90 และ 73% ตามลำดับ (ตารางที่ 2 และ ภาพที่ 11 ก. – ค.) ไส้เดือนฝอย *S. riobravee* ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร มีประสิทธิภาพสูงสุดสามารถทำให้เห็บโคเกิดโรคและตาย 100% ภายใน 5 วัน แตกต่างจากกรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) ส่วนความเข้มข้น 5,000 และ 2,500 ตัว/มิลลิลิตร ทำให้เห็บโคตาย 80 และ 70% ตามลำดับ ไส้เดือนฝอย *H. indica* ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร มีประสิทธิภาพสูงสุดสามารถทำให้เห็บโคตาย 93% ภายใน 5 วัน แตกต่างจากกรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) ส่วนความเข้มข้น 5,000 และ 2,500 ตัว/มิลลิลิตร ทำให้เห็บโคตาย 85 และ 75% ตามลำดับ (ภาพที่ 12 ก. และ ข.)

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

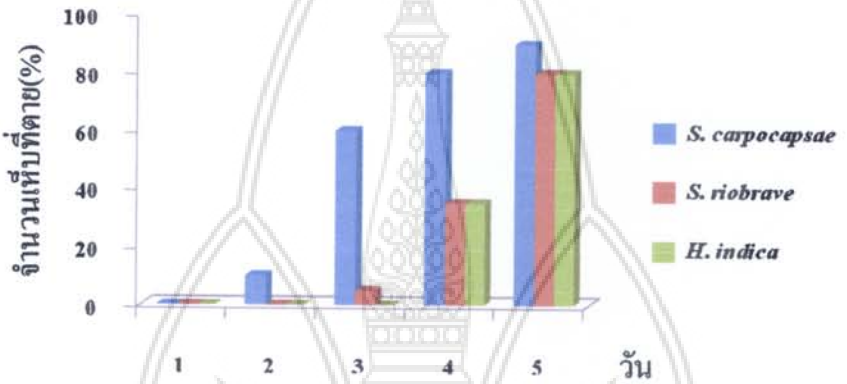
ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การตายของเห็บโค (*Boophilus microplus*) ระยะตัวเปง(engorged female) เมื่อทดสอบกับไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae*, *S. riobrave* และ *Heterorhabditis indica* ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ไส้เดือนฝอย	ความเข้มข้น	การตายสะสม/วัน(%) $\overline{X} \pm SD$[1/]				
	(ตัว/มิลลิลิตร)	1	2	3	4	5
S. carpocapsae	0	0	0 b	0 b	0 b	0 c
	2,500	0	0 b	30 ± 11.55 a	65 ± 25.17 a	73 ± 11.55 b
	5,000	0	10 ± 11.55 ab	60 ± 28.28 a	80 ± 20.00 a	90 ± 14.14 b
	10,000	0	25 ± 25.17 a	65 ±30.00 a	86 ± 23.09 a	100 a
F			*	**	**	**
C.V.(%)			131.41	47.95	38.25	20.79
S. riobrave	0	0	0	0	0 b	0 b
	2,500	0	0	5 ± 10.00	30 ± 25.82 a	70 ± 38.30 a
	5,000	0	0	5 ± 10.00	35 ± 19.15 a	80 ± 16.33 a
	10,000	0	0	10 ± 10.00	45 ± 34.16 a	100 a
F				ns	**	**
C.V.(%)				182.57	71.48	52.47
H. indica	0	0	0	0	0 b	0 b
	2,500	0	0	0	25 ± 10.00 a	70 ± 11.55 a
	5,000	0	0	0	35 ± 10.00 a	85 ± 10.00 a
	10,000	0	0	5 ± 10	65 ± 25.17 a	93 ± 11.55 a
F				ns	*	**
C.V.(%)				400	38.80	20.48

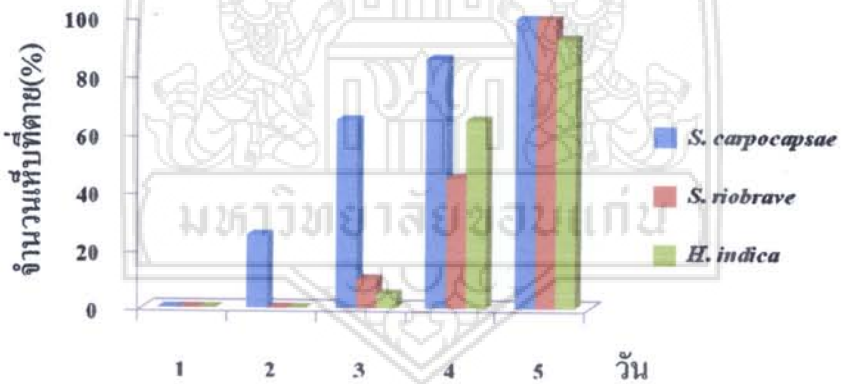
[1/] ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P>0.05(DMRT)



ก. ความเข้มข้น 2,500 ตัว/มิลลิลิตร



ข. ความเข้มข้น 5,000 ตัว/มิลลิลิตร



ค. ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร

ภาพที่ 11 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของเห็บโคระยะตัวเป่งเมื่อทดสอบกับไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae*, *S. riobrave* และ *Heterorhabditis indica* ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ภาพที่ 12 ลักษณะการตายของเห็บโครระยะตัวเป่งเมื่อทดสอบด้วยไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae*, *S. riobrave* และ *Heterorhabditis indica*

ก. เห็บโคปกติ

ข. เห็บโคตายด้วยไส้เดือนฝอย

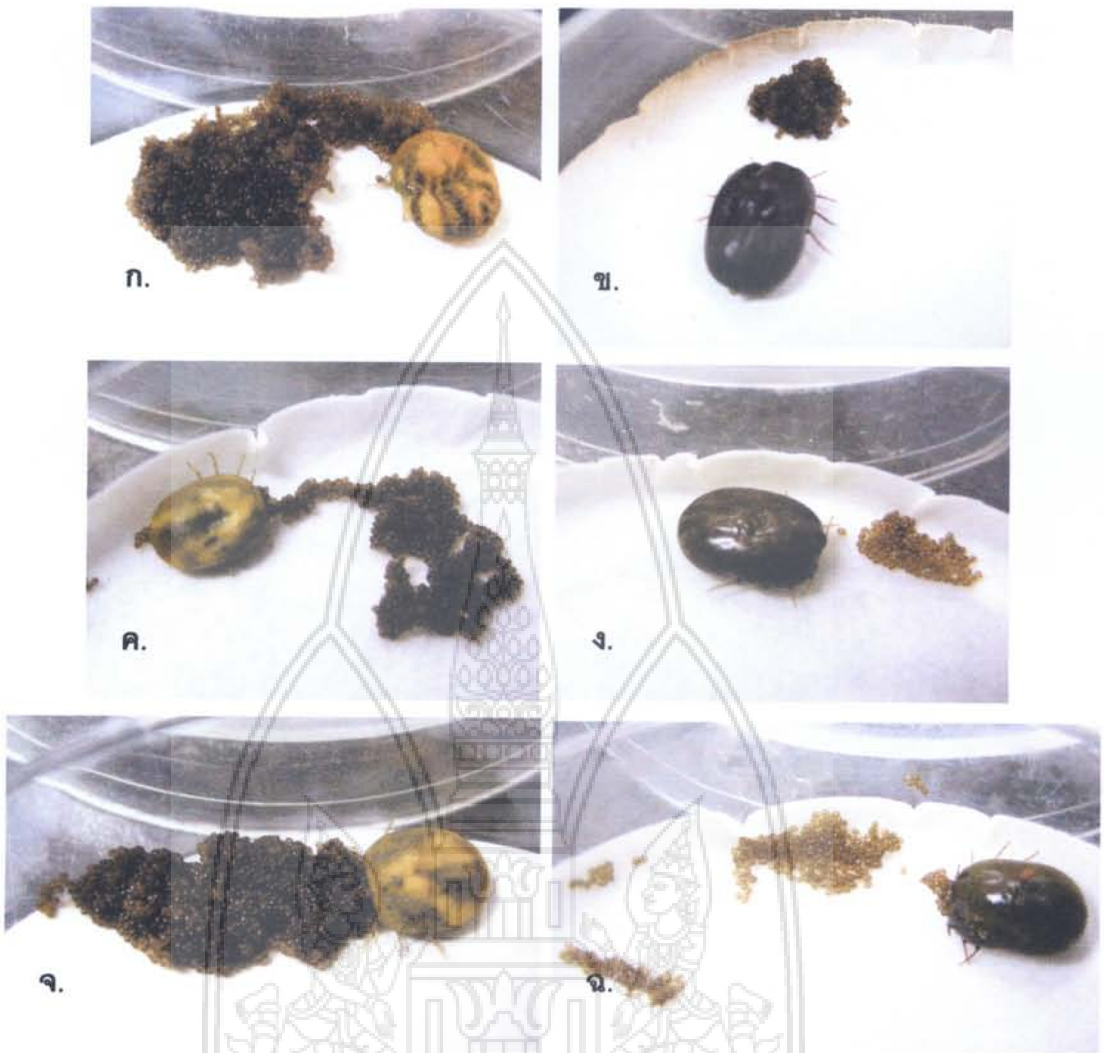
นอกจากนี้พบว่าจากการทดสอบไส้เดือนทั้ง 3 ชนิดกับเห็บโครระยะตัวเป่งมีผลต่อการวางไข่ของเห็บโค ซึ่งไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิดทำให้อัตราการวางไข่ของเห็บโคลดลงอย่างต่อเนื่องและมีความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม(ตารางที่ 3) โดยไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ทำให้อัตราการวางไข่ลดลง 50.08, 80.29 และ 74.62% ที่ความเข้มข้น 2,500, 5,000 และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร ตามลำดับ(ภาพที่ 13 ก. และ ข.) ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ทำให้อัตราการวางไข่ลดลง 70.25, 71.63 และ 77.69% ที่ความเข้มข้น 2,500, 5,000 และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 13 ค. และ ง.) และไส้เดือนฝอย *H. indica* ทำให้อัตราการวางไข่ลดลง 62.41, 57.90 และ 69.10% ที่ความเข้มข้น 2,500, 5,000 และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 13 จ. และ ฉ.)

ตารางที่ 3 จำนวนการวางไข่ของเห็บโค (*Boophilus microplus*) เมื่อทดสอบกับไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema riobrave* และ *Heterorhabditis indica* ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ไส้เดือนฝอย	ความเข้มข้น (ตัว/มิลลิลิตร)	จำนวนการวางไข่/ตัว $\overline{X} \pm SD$[1/]
S. carpocapsae	0	1292.56 ± 303.47 a
	2,500	645.30 ± 484.58 b
	5,000	254.81 ± 227.68 b
	10,000	327.99 ± 208.20 b
F		**
C.V.(%)		51.55
S. riobrave	0	1271.37 ± 183.82 a
	2,500	378.21 ± 263.55 b
	5,000	360.69 ± 359.66 b
	10,000	283.65 ± 267.23 b
F		**
C.V.(%)		48.07
H. indica	0	1485.25 ± 461.51 a
	2,500	558.15 ± 125.38 b
	5,000	625.35 ± 161.78 b
	10,000	458.88 ± 195.04 b
F		**
C.V.(%)		34.61

[1/] ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันในไส้เดือนฝอยชนิดเดียวกันที่มีอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P>0.05(DMRT)

มหาวิทยาลัยขอนแก่น



ภาพที่ 13 การวางไข่ของเห็บโคระยะตัวเปง(engorged female) เมื่อทดสอบด้วยไส้เดือนฝอยชนิดต่างๆ

ก. ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ความเข้มข้น 0 ตัว/มิลลิลิตร

ข. ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร

ค. ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ความเข้มข้น 0 ตัว/มิลลิลิตร

ง. ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร

จ. ไส้เดือนฝอย *H. indica* ความเข้มข้น 0 ตัว/มิลลิลิตร

ฉ. ไส้เดือนฝอย *H. indica* ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร

6.3 การทดสอบการใช้ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae*, *S. riobrave* และ *Heterorhabditis indica* กับเห็บโครระยะไข่ (egg) ที่อายุ 5 และ 25 วัน

การทดสอบพบว่าที่อายุไข่ 5 วันไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ทุกความเข้มข้นมีผลทำให้อัตราการเกิดโรคและตายของไข่เห็บโคโดยทำให้ไข่ไม่ฟักสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น ทำให้อัตราการเกิดโรคและตายของไข่เห็บโคสูงขึ้น 15.00, 43.00 และ 70.00% ที่ความเข้มข้น 2,500, 5,000 และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร ตามลำดับ(ตารางที่ 4 และ ภาพที่ 15) ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ทำให้อัตราการเกิดโรคและตายของไข่เห็บโคสูงขึ้น 10.67, 15.67 และ 43.67% ที่ความเข้มข้น 2,500, 5,000 และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนไส้เดือนฝอย *H. indica* ทั้ง 3 ความเข้มข้นไม่มีผลต่อการเกิดโรคและตายของไข่เห็บโค (ภาพที่ 14)

การทดสอบที่อายุไข่ 25 วัน พบว่าไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิด และทั้ง 3 ความเข้มข้นไม่มีผลต่อการเกิดโรคและตายของเห็บโครระยะไข่ (ตารางที่ 5 และ ภาพที่ 16)

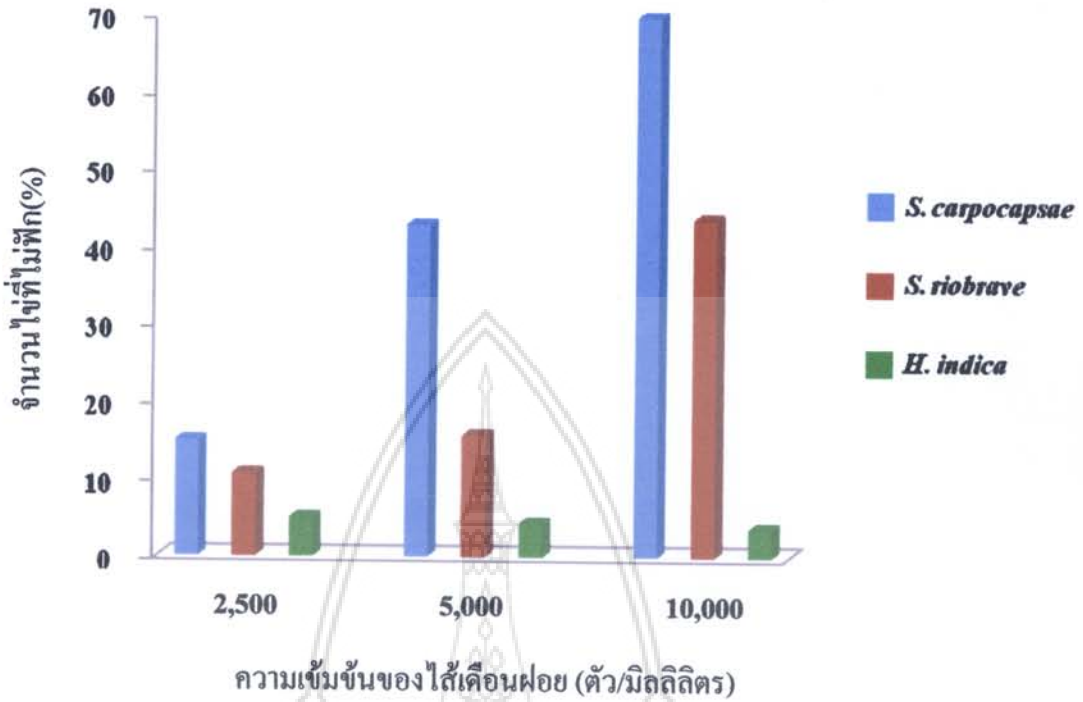
ภาพที่ 14 การฟักของไข่เห็บโคอายุ 5 วัน เมื่อทดสอบด้วยไส้เดือนฝอย *Heterorhabditis indica* ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร

หอสมุดกลาง มหาวิทยาลัยขอนแก่น
กฎ
SB
933.334
ท364

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae, Steinernema riobrave* และ *Heterorhabditis indica* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อเห็บโคระยะไข่ที่อายุ 5 วัน

ไส้เดือนฝอย	ความเข้มข้น (ตัว/มิลลิลิตร)	ไข่ที่ไม่ฟัก(%) $\overline{X} \pm SD$[1/]
S. carpocapsae	0	7.33 ± 6.81c
	2,500	15.00 ± 12.12 bc
	5,000	43.00 ± 20.66 ab
	10,000	70.00 ± 18.08 a
F		**
C.V.(%)		45.49
S. riobrave	0	14.67 ± 7.04 b
	2,500	10.67 ± 5.13 b
	5,000	15.67 ± 10.41 b
	10,000	43.67 ± 18.50 a
F		*
C.V.(%)		67.90
H. indica	0	9.00 ± 10.15
	2,500	4.33 ± 0.58
	5,000	4.33 ± 2.08
	10,000	3.67 ± 2.52
F		ns
C.V.(%)		100.10

[1/] ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันในไส้เดือนฝอยเดียวชนิดเดียวกันที่มีอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P>0.05 (DMRT)



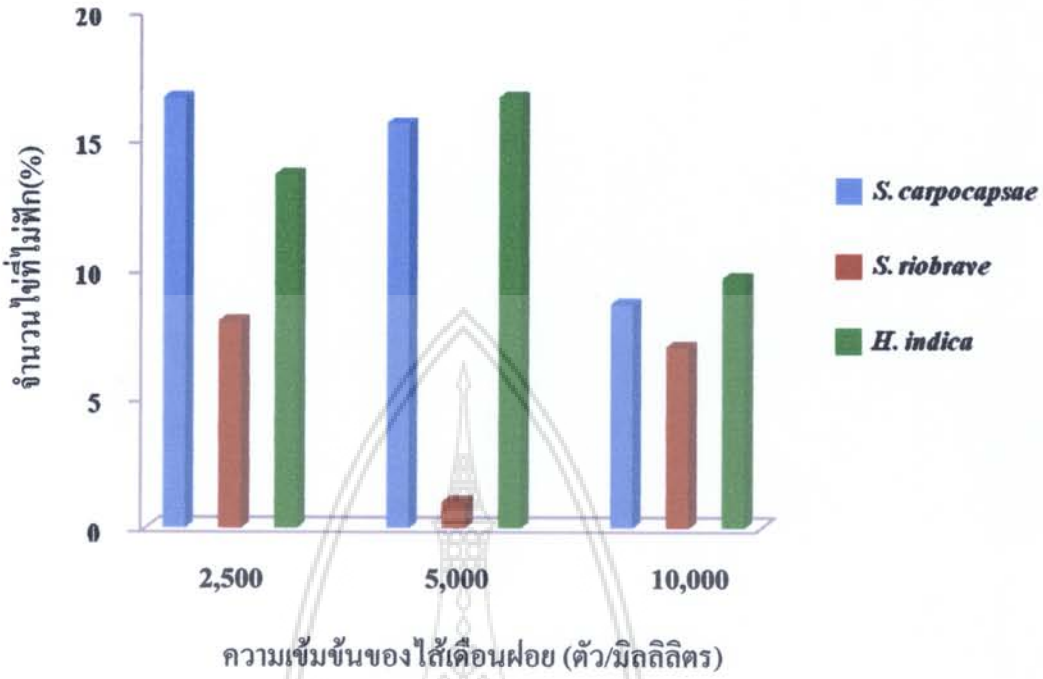
ภาพที่ 15 เปอร์เซ็นต์ของไข่เห็บโคอายุ 5 วัน ที่ไม่ฟักเมื่อทดสอบกับไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae*, *Steinernem riobrave* และ *Heterorhabditis indica* ที่ความเข้มข้นต่างๆ

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae, Steinernema riobrave* และ *Heterorhabditis indica* ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อเห็บโครยะไข่ที่อายุ 25 วัน

ไส้เดือนฝอย	ความเข้มข้น (ตัว/มิลลิลิตร)	ไข่ที่ไม่ฟัก(%) $\overline{X} \pm SD$
S. carpocapsae	0	13.67 ± 3.51
	2,500	16.67 ± 10.12
	5,000	15.67 ± 8.08
	10,000	8.67 ± 8.02
F		ns
C.V.(%)		57.19
S. riobrave	0	14.67 ± 10.69
	2,500	8.00 ± 9.64
	5,000	1.00 ± 0
	10,000	7.00 ± 7.94
F		ns
C.V.(%)		107.22
H. indica	0	15.33 ± 10.07
	2,500	13.67 ± 13.28
	5,000	16.67 ± 5.51
	10,000	9.67 ± 11.59
F		ns
C.V.(%)		79.02

มหาวิทยาลัยขอนแก่น



ภาพที่ 16 เปอร์เซ็นต์ของไข่เห็บโคอายุ 25 วัน ที่ไม่ฟักเมื่อทดสอบกับไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae*, *Steinernem riobrave* และ *Heterorhabditis indica* ที่ความเข้มข้นต่างๆ

6.4 การทดสอบการใช้ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ในดินกับเห็บโครยะตัวเป่ง (engorge female)

ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น สามารถทำให้เห็บโคตาย 100% ภายใน 4 วัน แตกต่างจากกรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) (ตารางที่ 6 และ ภาพที่ 17 ก. และ ข.) ส่วนจำนวนไข่ของเห็บโคลดลงมากอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม คือ 99.42, 98.86 และ 99.65% ที่ความเข้มข้น 2,500, 5,000 และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 7 และ ภาพที่ 18 ก. และ ข.)

6.5 การทดสอบความความรุนแรงของไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ในดินกับเห็บโครยะตัวเป่ง (engorged female)

อัตราความเข้มข้นของไส้เดือนฝอย 2,000, 4,000, 6,000, 8,000 และ 10,000 ตัว/มิลลิลิตร ทำให้เห็บโคตายไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 8) โดยในวันที่ 4 ความเข้มข้น 2,000 ตัว/มิลลิลิตร ทำให้เห็บโคตาย 100% ซึ่งไม่แตกต่างจากความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร แต่แตกต่างจากกรรมวิธีควบคุมอย่างมี

นัยสำคัญยิ่งทางสถิติ($p<0.01$) และพบว่าอัตราความเข้มข้นของไส้เดือนฝอยเท่ากับ 602.13 ตัว/มิลลิลิตร ทำให้เห็บโคตายร้อยละ 50 (ภาพที่ 19) นอกจากนี้ยังพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างอัตราความเข้มข้นของไส้เดือนฝอยต่อเปอร์เซ็นต์การตายของเห็บโคเป็นไปในทิศทางเดียวกัน($r = 0.976$) (ภาพที่ 20) ส่วนจำนวนการวางไข่ของเห็บโคลดลงมากอย่างต่อเนื่องจากความเข้มข้นน้อยไปมากซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม(ตารางที่ 9) โดยลดลง 99.69% ที่ความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์การตายของเห็บโค (*Boophilus microplus*) ระยะตัวเป่ง(engorged female) เมื่อทดสอบกับไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ในดินที่ความเข้มข้นต่างๆ

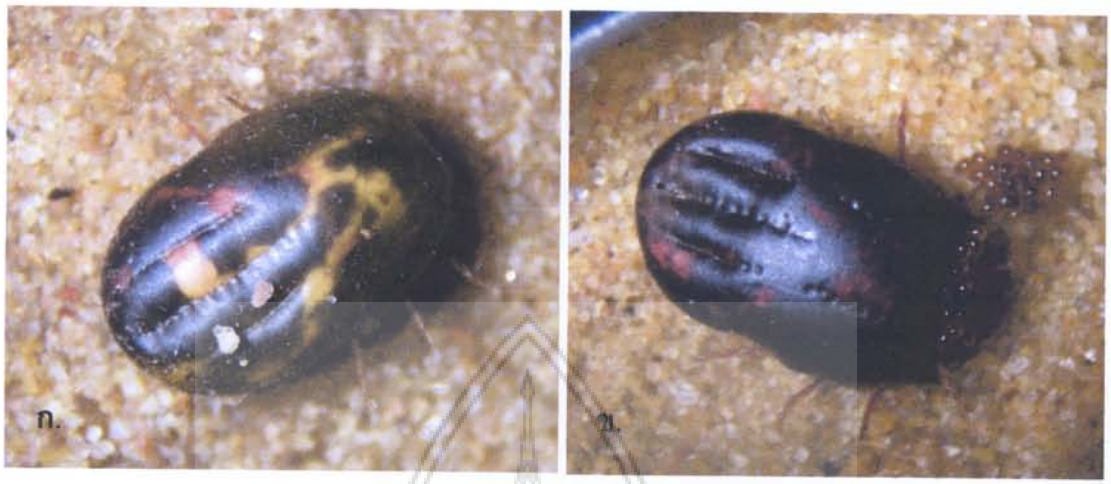
ความเข้มข้น	การตายสะสม/วัน (%) $\overline{X} \pm SD$[1/]			
(ตัว/มิลลิลิตร)	1	2	3	4
0	0	0	0 b	0 b
2,500	0	0	80 ± 16.33 a	100 a
5,000	0	0	95 ± 10.00 a	100 a
10,000	0	5 ± 10	85 ± 10.00 a	100 a
F		ns	**	**
C.V.(%)		400	23.84	0

[1/] ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P>0.05(DMRT)

ตารางที่ 7 จำนวนการวางไข่ของเห็บโค (*Boophilus microplus*) ในดินเมื่อทดสอบกับไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ไส้เดือนฝอย	ความเข้มข้น (ตัว/มิลลิลิตร)	จำนวนการวางไข่/ตัว $\overline{X} \pm SD$[1/]
S. carpocapsae	0	2171.47 ± 200.22 a
	2,500	12.50 ± 21.17 b
	5,000	24.79 ± 12.64 b
	10,000	7.50 ± 7.05 b
F		**
C.V.(%)		18.07

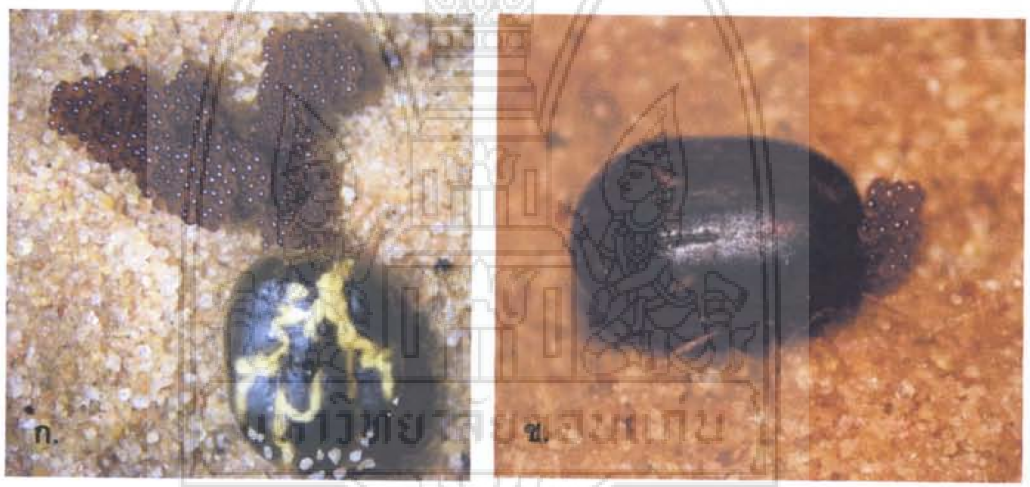
[1/] ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P>0.05(DMRT



ภาพที่ 17 ลักษณะการตายของเห็บโคระยะตัวเปั่ง(engorged female) เมื่อทดสอบด้วยไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ในดิน

ก. ระยะเริ่มต้นของการตาย

ข. ระยะสุดท้ายของการตาย



ภาพที่ 18 การวางไข่ของเห็บโคระยะตัวเปั่ง(engorged female) เมื่อทดสอบด้วยไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ในดิน

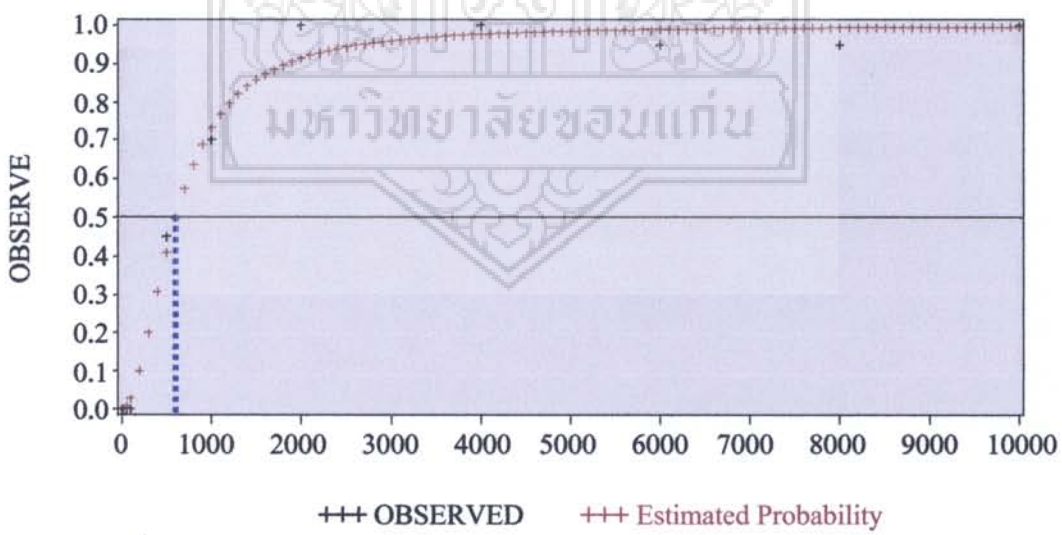
ก. การวางไข่ของเห็บโคเมื่อทดสอบด้วยไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ในดินความเข้มข้น 0 ตัว/มิลลิลิตร

ข. การวางไข่ของเห็บโคเมื่อทดสอบด้วยไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ในดินความเข้มข้น 10,000 ตัว/มิลลิลิตร

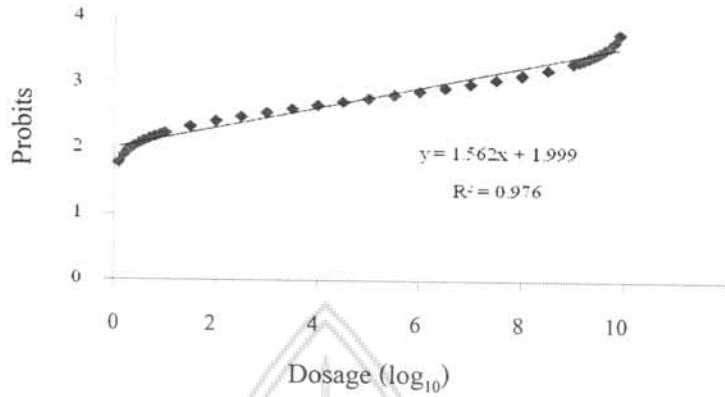
ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์การตายของเห็บโค (*Boophilus microplus*) ระยะตัวเป่ง(engorged female) เมื่อทดสอบกับไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ในดินที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น	การตายสะสม/วัน(%) $\overline{X} \pm SD$[1/]				
(ตัว/มิลลิลิตร)	3	4	5	6	7
0	0 d	0 d	0 c	0 b	0 c
25	0 d	0 d	0 c	0 b	10 ± 11.55 bc
50	0 d	0 d	5 ± 10.00 c	10 ± 10.00 b	15 ± 10.00 b
100	0 d	0 d	15 ± 10.00 c	15 ± 10.00 b	20 ± 10.00 b
500	15 ± 10.00 c	45 ± 10.00 c	70 ± 11.55 b	80 ± 14.14 a	85 ± 28.28 a
1,000	35 ± 10.00 b	70 ± 11.55 b	95 ± 10.00 a	100 a	-
2,000	90 ± 11.55 a	100 a	-	-	-
4,000	90 ± 11.55 a	100 a	-	-	-
6,000	90 ± 11.55 a	95 ± 10.00 a	100 a	-	-
8,000	85 ± 10.00 a	95 ± 10.00 a	100 a	-	-
10,000	95 ± 10.00 a	100 a	-	-	-
F	**	**	**	**	**
C.V.(%)	26.94	10.89	30.21	61.73	51.69

[1/] ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P>0.05(DMRT)



ภาพที่ 19 กราฟแสดงการหาค่า LC_{50} (Lethal concentration) ของไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ในดินในวันที่ 4 ของการทดลอง



ภาพที่ 20 ความสัมพันธ์ของอัตราความเข้มข้นของไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ในดินต่อเปอร์เซ็นต์การตายของเห็บโค (*Boophilus microplus*) ระยะตัวเปิ่ง(engorged female) ในวันที่ 4 ของการทดลอง

ตารางที่ 9 จำนวนการวางไข่ของเห็บโค (*Boophilus microplus*) เมื่อทดสอบกับไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ในดินที่ความเข้มข้นต่างๆ

ไส้เดือนฝอย	ความเข้มข้น (ตัว/มิลลิลิตร)	จำนวนการวางไข่/ตัว $\overline{X} \pm SD$[1/]
S. carpocapsae	0	2,717.95 ± 359.61 a
	25	1,726.50 ± 237.77 b
	50	1,500.00 ± 162.04 b
	100	1,606.84 ± 962.51 b
	500	544.87 ± 139.36 c
	1,000	162.39 ± 29.23 d
	2,000	32.05 ± 15.81 d
	4,000	14.96 ± 7.48 d
	6,000	47.01 ± 23.06 d
	8,000	51.28 ± 25.64 d
	10,000	8.55 ± 4.26 d
F		**
C.V.(%)		31.71

[1/] ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P>0.05(DMRT)

มหาวิทยาลัยขอนแก่น