สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช

Survey, Culture Collection and Identification of Entomopathogenic Nematodes

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการศึกษาสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยในวงศ์ Steinernematidae จำนวน 2 ไอโซเลท รหัส KPs No.2 (อำเภอคลองขลุง) และ KPs No.3 (อำเภอเมือง) จังหวัดกำแพงเพชร และวงศ์ Heterorhabditidae จำนวน 2 ไอโซเลท จากจังหวัดเพชรบุรี และร้อยเอ็ด รหัส PRh และ REh โดยนำทั้ง 4 ไอโซเลท มาทำการเก็บรักษาความมีชีวิตในน้ำกลั่น สภาพอุณหภูมิห้อง (27+2oซ) พบว่าในเวลา 3 เดือน KPs No.2, KPs No.3, PRh และ REh มีการตายเท่ากับ 17 12 25 และ 22 % ตามลำดับ โดยการเก็บนาน 4 เดือน มีการเปอร์เซ็นต์การตายมากกว่า 40 % หรือเท่ากับ 52 42 74 และ 70 % ตามลำดับ เมื่อนำไส้เดือนฝอย KPs No.2 และ PRh เพาะเลี้ยงในอาหารเทียมชนิดแข็งกึ่งเหลวสูตรไข่ไก่ผสมน้ำมันหมู โดยทำซ้ำ 2 ครั้ง ได้ผลผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 182 และ 47.5 ล้านตัวต่ออาหาร 500 กรัม ตามลำดับ จากนั้นนำมาทดสอบศักยภาพในการกำจัดเห็บวัว พบว่า *Heterorhabditis* sp. PRh ฆ่าเห็บวัวได้ 90 % ในเวลา 48 ชม. ในขณะที่ *Steinernema* sp. KPs No.2 ฆ่าได้เพียง 5 % แต่ *Steinernema* sp. KPs No.2 สามารถฆ่าหนอนด้วงมะพร้าวโดยวิธีใช้เข็มฉีดไส้เดือนฝอยเข้าลำตัวหนอนด้วง ทำให้หนอนด้วงตายภายในเวลาเพียง 6 ชม. และไส้เดือนฝอยสามารถเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ในซากหนอนด้วง และให้ไส้เดือนฝอยรุ่นใหม่เคลื่อนที่ออกจากซากหนอนจำนวน 122,000 ตัวต่อหนอน 1 ตัว เทียบได้กับการขยายไส้เดือนฝอยในหนอนกินไขผึ้ง ส่วนไส้เดือนฝอย KPs No.3 นำมาทดสอบเพาะเลี้ยงในสูตรไข่ไก่ผสมน้ำมันหมูและน้ำ ในอัตราส่วน 5 : 2 : 3 เปรียบเทียบกับสูตรหนังไก่ผสมน้ำ ในอัตราส่วน 7 : 3 และสูตรหนังไก่+ไข่ไก่+น้ำ อัตราส่วน 2 : 3 : 5 ได้ผลผลิตไส้เดือนฝอยเท่ากับ 420 52 และ 350 ล้านตัว/ลิตร เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดปลวกในไร่มันสำปะหลัง โดยนำไส้เดือนฝอยคลุกกับขี้เลื่อยไม้ยางพาราใส่ในภาชนะล่อ ผลการทดสอบพบว่า การฝังสถานีเหยื่อล่อในร่องมันฯ ระยะห่าง 1.5 เมตร ช่วยลดความเสียหายของท่อนพันธุ์ได้ โดยพบการทำลายของปลวกเพียง 16.88 % ในขณะที่ไม่ฝังท่อนพันธุ์เสียหายจากการทำลายของปลวกสูงถึง 59.38 %

รหัสการทดลอง 09-02-49-01

คำนำ

ไส้เดือนฝอย (Nematode) เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่ไม่มีกระดูกสันหลัง (invertebrate) มีลำตัวซีกซ้ายและซีกขวาเหมือนกัน (bilateria) เป็นพวกที่มีช่องลำตัวเทียม (pseudocoelomate) ลำตัวไม่เป็นข้อปล้อง (nonsegmented) มีผนังชั้นนอก (cuticle) เป็นรอยย่นยืดหยุ่นได้ (elastic cuticle) มีระบบต่างๆ ภายในลำตัวประกอบด้วยระบบขับถ่ายทางผิวหนัง (excretory system) ระบบประสาท (nervous system) ระบบทางเดินอาหาร (digestive system) ระบบสืบพันธุ์ (reproductive system) และระบบกล้ามเนื้อ (muscular system) ไม่พบระบบไหลเวียนโลหิต (circulatory system) และระบบหายใจ (respiratory system) ไส้เดือนฝอยมีรูปร่างลำตัวกลมยาวคล้ายเส้นด้าย (thread) หรือมีรูปร่างเป็นทรงกระบอก (cylindrical) บางชนิดหัวแหลมท้ายแหลม (filiform) ไส้เดือนฝอยมีชื่อเรียกอื่นๆ อีก เช่น หนอนตัวกลม (roundworm) พยาธิตัวกลม (eelworm) หรือพยาธิเส้นด้าย (threadworm) แบ่งแยกเป็นกลุ่มใหญ่ๆ ตามลักษณะของการดำรงชีวิตและการกินอาหารออกเป็น 4 กลุ่ม คือ ไส้เดือนฝอยที่พบในน้ำเค็ม (marine nematode) ไส้เดือนฝอยหากินอิสระในดินและน้ำ (free-living nematode) ไส้เดือนฝอยที่เป็นศัตรูพืช (plant parasitic nematode) และไส้เดือนฝอยที่เป็นศัตรูในคนและสัตว์ (animal parasitic nematode) ซึ่งในกลุ่มที่เป็นศัตรูคนและสัตว์นี้ แบ่งแยกย่อยเป็นไส้เดือนฝอยที่มีความสัมพันธ์กับแมลง พบมากกว่า 40 วงศ์ (family) เป็นพาราสิตภายในตัวแมลง (insect parasitic nematode) และมีไส้เดือนฝอยเพียง 2 วงศ์เท่านั้น ที่ทำให้เกิดโรคในแมลง (entomopathogenic nematode คือ family Steinernematidae และ Heterorhabditidae (นุชนารถ, 2544)

ไส้เดือนฝอยในวงศ์ Steinernematidae เรียกชื่อสามัญ (common name) ว่า steinernematid ค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1923 โดย Steiner ในประเทศเยอรมัน ได้มีการศึกษาและพัฒนาไส้เดือนฝอยชนิดนี้เป็นเวลามากกว่า 80 ปี ซึ่งพบว่า ไส้เดือนฝอยมีแบคทีเรียแกรมลบในวงศ์ Enterobacterioceae สกุล *Xenorhabdus* sp. อยู่ร่วมกันในลักษณะพึ่งพาอาศัยหรือเรียกว่า symbiosis โดยเซลล์ของแบคทีเรียเหล่านี้อาศัยอยู่บริเวณลำไส้ส่วนหน้าของไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลาย (infective-stage juvenile) ไส้เดือนฝอยเป็นตัวพาแบคทีเรียเข้าสู่ตัวแมลง โดยผ่านทางช่องเปิดตามธรรมชาติของแมลง ได้แก่ ทางปาก ช่องขับถ่าย และรูหายใจทางผิวหนัง (spiracle) จากนั้นเข้าสู่ช่องว่างภายในตัวแมลง (haemocoel) ซึ่งมีน้ำเลือด (haemolymph) ไส้เดือนฝอยจะปลดปล่อยแบคทีเรียสู่กระแสเลือดแมลง และร่วมกันสร้างสารพิษ (toxin) ทำให้แมลงเกิดภาวะเลือดเป็นพิษ (septicemia) และตายอย่างรวดเร็วภายในเวลาไม่เกิน 48 ชม. เซลล์ของแบคทีเรียสามารถเพิ่มปริมาณในน้ำเลือดของแมลง และไส้เดือนฝอยจะเจริญเติบโตโดยใช้เซลล์ของแบคทีเรียในการขยายพันธุ์ ซึ่งเป็นแบบจับคู่ผสมพันธุ์ระหว่างเพศผู้และเพศเมีย เรียกการผสมพันธุ์แบบนี้ว่า amphimictic ไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตอยู่ภายในแมลงที่ตายแล้วประมาณ 2-3 ชั่วอายุ (generation) ขึ้นอยู่กับขนาดของแมลง เมื่อแมลงเริ่มแห้งเป็นซาก (cadaver) ไส้เดือนฝอยตัวอ่อน

ระยะที่สาม (third-stage juvenile) จะสะสมอาหารสำรอง (food reserve) ประเภทไขมันสะสม (lipid stroage) บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่ระหว่างผิวหนังกับกล้ามเนื้อช่องท้อง (hypodermal chord) และดูดกลืนเซลล์แบคทีเรียเก็บไว้ในช่อง lumen ของลำไส้ส่วนหน้า และเคลื่อนตัวออกจากซากของแมลง เพื่อรอแมลงเหยื่อตัวใหม่ต่อไป (Akhurst and Boemare, 1990)

ความสัมพันธ์ร่วมกันระหว่างไส้เดือนฝอยและแบคทีเรีย(nematode-bacterium complex) ได้รับความสนใจจากนักวิทยาศาสตร์ที่จะพัฒนาศัตรูธรรมชาติของแมลงชนิดนี้มาใช้ประโยชน์ โดยเฉพาะใช้กำจัดแมลงระยะตัวหนอนที่เป็นศัตรูสำคัญในพืช จึงมีการศึกษาและพัฒนาไส้เดือนฝอยในกลุ่มนี้ตั้งแต่เริ่มค้นพบครั้งแรกจนถึงปัจจุบัน มีการพัฒนาการเพาะเลี้ยงขยายปริมาณไส้เดือนฝอยในอาหารเทียม (artificial media) ได้สำเร็จตั้งแต่ปี ค.ศ. 1931 โดย Glaser ซึ่งเป็นวิธีการเพาะเลี้ยงแบบ axenic culture ที่ไม่มีเซลล์ของ symbiotic bacteria ร่วมด้วย ต่อมามีการพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงเป็นแบบ monoxenic culture ที่มี symbiotic bacteria ร่วมด้วย (Bedding, 1981) ซึ่งให้ผลผลิตไส้เดือนฝอยสูงกว่าแบบเดิม นอกจากนี้ ไส้เดือนฝอยยังได้รับการรับรองจาก The United States Environmental Protection Agency (EPA) ถึงความปลอดภัยต่อพืช สัตว์เลือดอุ่นและมนุษย์ รวมทั้งปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม (Gaugler and Kaya, 1990) ไส้เดือนฝอยจึงได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางทั่วโลก ที่จะพัฒนาให้นำมาใช้ประโยชน์เช่นเดียวกับแบคทีเรียบีที (*Bacillus thuringiensis*, Bt) และไวรัสเอ็นพีวี (nuclear polyhedrosis virus, NPV) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์กำจัดแมลงศัตรูสำคัญต่างๆ โดยเฉพาะแมลงศัตรูพืชในพื้นที่ทำการเกษตร เป็นการป้องกันกำจัดโดยชีววิธี (biological control agent) เพื่อช่วยลดการใช้สารเคมีกำจัดแมลง ซึ่งเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตทุกชนิดและสภาพแวดล้อม

นอกจากนั้น นักวิจัยยังให้ความสำคัญในการค้นหาชนิดและสายพันธุ์ใหม่ในเขตต่างๆ ทั่วโลก ทั้งในยุโรป อเมริกา ออสเตรเลีย เอเชีย และบางประเทศในแอฟริกา เพื่อได้สายพันธุ์พื้นเมืองหลากหลายชนิด และศึกษาการกระจายตัวของไส้เดือนฝอยในธรรมชาติของถิ่นที่อยู่ จากรายงานการกระจายตัวของไส้เดือนฝอย steinernematid ในภูมิภาคต่างๆ พบว่าในยุโรปตอนเหนือเท่ากับ 37-49 % และพบในทุกประเทศที่มีการสำรวจในทวีปยุโรป ได้แก่ สาธารณรัฐเชคโกสโลวาเกีย 36.8 % สวีเดน 25 % ฟินแลนด์ 5.8 % สาธารณรัฐไอร์แลนด์ 10.4 % นอร์เวย์ 18.3 % และสวิสเซอร์แลนด์ 26.5 % ในทวีปอเมริกามีการศึกษาการกระจายตัวและรายงานใน 5 ประเทศของอเมริกาเหนือ-กลางคือ แคนาดา สหรัฐอเมริกา เม็กซิโก คิวบา และเปอร์โตริโก และใน 3 ประเทศของอเมริกาใต้คือ บราซิล อุรุกวัย และอาร์เจนตินา นอกจากนั้นยังมีรายงานในประเทศออสเตรเลียและนิวซีแลนด์ ส่วนในทวีปเอเชียมีการสำรวจและศึกษาการแพร่กระจายของไส้เดือนฝอย รายงานใน 9 ประเทศ คือ ญี่ปุ่น จีน อินเดีย ศรีลังกา เกาหลี โอมาน มาเลเซีย เวียตนาม และไทย ในทวีปแอฟริกาได้รายงานการสำรวจค้นพบในประเทศเคนยา

ในปัจจุบันไส้เดือนฝอยมีบทบาทสำคัญในการนำมาใช้กำจัดแมลงหลายชนิด โดยเฉพาะแมลงศัตรูสำคัญในพืชเศรษฐกิจ ได้แก่ กลุ่มหนอนผีเสื้อในอันดับ (order) Lepidoptera เช่น หนอนกระทู้

ผัก (common leafworm, *Spodoptera litura*) หนอนกระทู้หอม (beet armyworm, *S. exigua*) และหนอน เจาะสมอฝ้าย (American bollworm, *Heliothis armigera*) กลุ่มหนอนด้วง ในอันดับ Coleptera เช่น ด้วงหมัดกระโดด (flea betle, *Phyllotreta sinuata*) หนอนด้วง Japanese beetle และด้วงงวงองุ่น (vine weevil, *Otiorhynchus sulcatus*) เป็นต้น ได้มีการ คัดเลือกชนิดและสายพันธุ์ไส้เดือนฝอย steinernematid นำมาผลิตเป็นการค้า 6 ชนิด คือ *S. carpocapsae, S. glaseri, S. feltiae, S. riobrave, S. scapterisci* และ *S. kushidai* ผลิตเป็น ผลิตภัณฑ์จำหน่ายทั่วโลกมากกว่า 40 บริษัท ทั้งในยุโรป อเมริกา ออสเตรเลีย และเอเชีย ได้แก่ บริษัท MicroBio ผลิตไส้เดือนฝอย *S. feltiae* ควบคุมหนอนแมลงวันทำลายเห็ด (mushroom sciarids) ในผลิตภัณฑ์ชื่อ Nemasys และไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ควบคุมด้วงงวงองุ่น (vine weevil) ในผลิตภัณฑ์ชื่อ Nemasys บริษัท Biosys ผลิตไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ควบคุม หนอนด้วง Japanese beetle และบริษัท Ciba-Geigy ผลิตไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* (S25) และ *S. feltiae* (S27) ควบคุมด้วงงวงองุ่นสีดำ (black vine weevil)

ปัจจุบันไส้เดือนฝอยในสกุล *Steinernema* จำแนกได้ 37 ชนิด และสกุล *Heterorhabditis* จำแนกได้ 8 ชนิด นอกจากนั้นในปี 1994 Nguyen & Smart ได้ค้นพบไส้เดือนฝอยสกุลใหม่ คือ *Neosteinernema* และจำแนกเป็น *N. longicurvicauda* Nguyen & Smart, 1994

การค้นหาจุลินทรีย์และศัตรูธรรมชาติที่มีประโยชน์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ เพื่อนำขึ้นมาพัฒนา และนำกลับไปใช้ควบคุมศัตรูพืช ได้เพิ่มความสำคัญและมีการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องในหลายๆ ด้าน โดย เฉพาะงานวิจัยขั้นพื้นฐาน ซึ่งดำเนินงานโดยนักวิจัยในแต่ละสาขาเพื่อค้นหาจุดสำคัญของการ นำมาใช้ให้มีประสิทธิภาพสูงสุด จุลินทรีย์หรือศัตรูธรรมชาติแต่ละชนิดมีข้อจำกัดในการนำไปใช้ แตกต่างกันไป เช่น ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ในดินร่วนปนทราย ที่ อุณหภูมิสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส (Kaya, 1977) เป็นต้น ข้อจำกัดดังกล่าวจึงต้องมีการค้นคว้าวิจัย ข้อมูลพื้นฐานทั้งด้านชีววิทยา นิเวศวิทยา และพฤติกรรมการดำรงชีวิต ซึ่งข้อมูลทางวิชาการเหล่านี้มี ความสำคัญยิ่งต่อการพัฒนา bio-agent ที่พบตามธรรมชาติให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่าง แท้จริง การพยายามค้นหาสายพันธุ์ใหม่ในเขตต่างๆ ซึ่งมีความแตกต่างของสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ ความชื้น ความเข้มของแสงอุลตราไวโอเลต แมลงอาศัย ชนิดและคุณสมบัติของดิน เพื่อนำสาย พันธุ์พื้นเมืองมาใช้ควบคุมศัตรูพืชในท้องถิ่นที่มีสภาพแวดล้อมเดิม จึงเป็นงานวิจัยที่ได้รับความสนใจ จากนักวิจัยทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทยได้เริ่มมีการสำรวจเก็บรวบรวมไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเป็น ครั้งแรกในปี พ.ศ. 2539 สามารถแยกได้ไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงจำนวน 9 ไอโซเลท จัดอยู่ใน family Steinernematidae จำนวน 8 ไอโซเลท โดยกำหนดรหัสตามจังหวัดที่พบคือ จังหวัด กาญจนบุรี (KBs) พิจิตร (PCs) อยุธยา (AYs) กาฬสินธุ์ (KSs) มหาสารคาม (MKs) ขอนแก่น (KKs) หนองคาย (NKs) และสระแก้ว (SKs) และ family Heterorhabditidae จำนวน 1 ไอโซเลท คือ ร้อยเอ็ด (REh) นำมาเก็บรวบรวมเป็น culture collection ณ กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กองโรคพืช และจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร (นุชนารถ และคณะ, 2543)

การสำรวจ เก็บรวบรวม และคัดเลือกไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ใหม่ๆ เพื่อนำไปสู่การวิจัยและพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์กำจัดแมลงศัตรูพืช จึงเป็นงานวิจัยที่สามารถนำไปสู่ผู้ใช้ประโยชน์จากผลงานได้อย่างเป็นรูปธรรม โดยไส้เดือนฝอยที่ค้นพบจากความหลากหลายทางชีวภาพในระบบนิเวศที่แตกต่างและกระจัดกระจายตามถิ่นที่อยู่อาศัย (Habitat) โดยเฉพาะในเขตพื้นที่ป่าของประเทศไทยที่ตั้งอยู่ในเขตร้อนชื้นและยังไม่เคยมีการสำรวจนั้น มีความแตกต่างของชนิดและสายพันธุ์ ทั้งทางชีววิทยา นิเวศวิทยา พฤติกรรมและศักยภาพในการกำจัดแมลงตามสภาพถิ่นที่อยู่อาศัย และการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ (Geographical distribution) ไส้เดือนฝอยที่แยกได้จากเขตหนาว-อบอุ่นจะไม่ทนทานต่ออุณหภูมิสูง จึงไม่เหมาะที่จะนำมาใช้กำจัดแมลงในเขตร้อน-ร้อนชื้น ในทางตรงข้ามไส้เดือนฝอยที่แยกจากเขตร้อน-ร้อนชื้น จะไม่ทนทานอุณหภูมิต่ำ การได้สายพันธุ์พื้นเมืองชนิดใหม่ในเขตร้อนชื้น จึงมีเป้าหมายสู่การนำไปใช้ประโยชน์อย่างเหมาะสม โดยเฉพาะนำกลับไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชในถิ่นที่อยู่เดิมอย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งงานวิจัยมุ่งเน้นการเก็บรวบรวม นำมาแบ่งแยกสกุลและจำแนกชนิด พร้อมกำหนดรหัสไส้เดือนฝอย (nema code) เป็น culture collection ให้คงความมีชีวิต พร้อมทั้งประเมินศักยภาพเบื้องต้นในการเป็น Bio-agent เพื่อนำไปพัฒนาในด้านต่างๆ ให้เกิดเป็นมูลค่าทั้งในเชิงอนุรักษ์อย่างยั่งยืนและเชิงพาณิชย์ของการนำทรัพยากรธรรมชาติขึ้นมาใช้ประโยชน์อย่างแท้จริง ดังนั้น การสำรวจเพื่อค้นหาไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ไทยชนิดใหม่ในเขตพื้นที่ป่า ที่ประกอบด้วยป่าฝนกึ่งดิบ ป่าฝนภูเขา ป่าผลัดใบชื้น ซึ่งจัดเป็นเขตชีวภูมิศาสตร์ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง การสำรวจค้นหาไส้เดือนฝอยและนำมาเก็บรวบรวม แบ่งแยกสกุลและจำแนกชนิด พร้อมกำหนดรหัสไส้เดือนฝอยเป็น culture collection เพื่อใช้ศึกษาและพัฒนาไปใช้ประโยชน์ในอนาคต จึงเป็นประเด็นสำคัญของการวิจัย โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจเก็บรวบรวมไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงในพื้นที่ต่างๆ ของประเทศ จำนวนตัวอย่างดินไม่น้อยกว่าปีละ 100-150 จุดเก็บ นำมาเก็บรวบรวม จัดจำแนก และอนุรักษ์ให้คงความมีชีวิต อย่างน้อยปีละ 1 ไอโซเลท และนำมาคัดเลือกโดยประเมินศักยภาพในการเป็น bio-agent เพื่อนำไปพัฒนาใช้ประโยชน์ทางการเกษตร อย่างน้อย 1 สายพันธุ์

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereo microscope และ Compound microscope เครื่องแก้ว เครื่องชั่ง ตู้ควบคุมอุณหภูมิ และกระดาษกรอง Whatman#2 เป็นต้น

2. สารเคมีและอาหารที่มีโปรตีนและไขมัน ได้แก่ Hyamine แอลกอฮอล์ ไข่ไก่ และน้ำมันหมู หนังไก่ เป็นต้น

3. วัสดุ-อุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย ได้แก่ ภาชนะเพาะเลี้ยง ฟองน้ำคลุกอาหาร ถังนึ่งชนิดไม่มีแรงดัน หัวเตาพร้อมแก๊ส เครื่องปั่นผสมอาหาร ชั้นแยกล้างผลผลิต เป็นต้น

4. แมลงที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ หนอนด้วงมะพร้าว เห็บวัว และปลวก

วิธีการ

1. การเก็บรักษาไส้เดือนฝอย นำตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยในระยะเข้าทำลาย (Infective Juvenile stage, IJ) ของสกุล *Steinernema* sp. KPs No.2 และ KPs No.3 ไส้เดือนฝอยสกุล *Heterorhabditis* sp. PRh และ REh จัดเก็บในขวดพลาสติกชนิด culture flask ขนาด 250 มล. ที่มีน้ำกลั่น 10 มล. โดยใส่ไส้เดือนฝอย IJ จำนวนไอโซเลทละ 1,000 + 100 ตัว วางขวดในแนวนอน นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 27+2 ๐ซ และนำมาตรวจนับเปอร์เซ็นต์การตายของ IJ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ทุก 1 เดือน และสิ้นสุดการตรวจนับเมื่อพบไส้เดือนฝอยตายมากกว่า 40 %

2. การเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยในอาหารเทียม

2.1 การเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No. 2 และ *Heterorhabditis* sp. PRh โดยนำไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2, และ *Heterorhabditis* sp. PRh เพาะเลี้ยงในอาหารเทียมชนิดแข็งกึ่งเหลวสูตรไข่ไก่ผสมน้ำมันหมูและน้ำกลั่น ที่อัตราส่วน 5 : 2 : 3 ในสภาพอาหารเพาะเลี้ยงแบบ axenic culture ตามเทคนิคของนุชนารถ (2550) ทำการเตรียมอาหารตามสูตรกำหนด จากนั้นนำอาหารมาคลุกกับก้อนฟองน้ำตัดขนาด 1x1 ซม. อัตราอาหาร : ฟองน้ำ (500 กรัม : 30 กรัม) บรรจุในถังขนาด 10 ลิตร อบนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งที่ใช้ความร้อนจากแก๊ส เป็นเวลา 2 ชม. 30 นาที เมื่ออาหารเย็นทำการใส่ไส้เดือนฝอยของแต่ละไอโซเลท จำนวน 500,000+50,000 ตัว/ถังเพาะ ไอโซเลทละ 5 ถังเพาะ นำไปตั้งวางเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (27+2 oซ) เป็นเวลา 7 วัน และนำมาตรวจนับจำนวนผลผลิตไส้เดือนฝอยที่ได้ในแต่ไอโซเลท เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของผลผลิต ปฏิบัติซ้ำ 2 ครั้ง

2.2 การเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.3 ในสูตรอาหาร 3 สูตรคือ สูตรไข่ไก่ผสมน้ำมันหมูและน้ำ ในอัตราส่วน 5 : 2 : 3 สูตรหนังไก่ผสมน้ำ ในอัตราส่วน 7 : 3 และสูตรหนังไก่+ไข่ไก่+น้ำ ในอัตราส่วน 2 : 3 : 5 ปฏิบัติเช่นเดียวกับข้อ 2.1

3. การทดสอบศักยภาพของไส้เดือนฝอยในการกำจัดแมลง โดยทำการทดสอบในจานเพาะเลี้ยง (Petri dish) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 และ 9 ซม. ตามขนาดของแมลงทดสอบ วางด้วยกระดาษกรอง Whatman # 2 ใส่ไส้เดือนฝอยแต่ละไอโซเลท จำนวน 1,000 และ 2,000 ตัวในน้ำ 0.5 และ 1.0 มล. ตามขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ Petri dish 5 และ 9 ซม. ตามลำดับ นำแมลงแต่ละชนิดใส่ 3-10 ตัวต่อ Petri dish (ขึ้นกับขนาดของแมลง) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทำการตรวจนับการตายของแมลงแต่ละชนิดที่เวลา 48 ชม.

4. การทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยในสภาพไร่ โดยทำการทดสอบไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.3 กำจัดปลวกในไร่มันสำปะหลัง ณ แปลงเกษตรกร อ.ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีการระบาดของปลวกสกุล *Odontotermes* sp.

การเตรียมไส้เดือนฝอยในรูปแบบสถานีเหยื่อล่อ

1) ใช้กระปุกพลาสติกสีขาวทึบเป็นรูปทรงกระบอกด้านบนมีฝาปิด-เปิดแบบหมุนเกลียวเป็น สถานีเหยื่อล่อ โดยกระปุกพลาสติกมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 8.5 เซนติเมตร สูง 10 เซนติเมตร ฝาด้านบนเจาะเป็นวงกลม 5 วง รอบฝา ใช้เป็นทางเข้าของปลวก โดยฝาด้านในบุด้วยตาข่ายที่มีรูขนาดที่ปลวกสามารถเข้า-ออกได้ ภายในใช้ตาข่ายม้วนเป็นแท่งทรงกระบอกสำหรับใส่เหยื่ออาหารผสมไส้เดือนฝอย โดยที่แท่งบรรจุเหยื่อนี้มีขนาดเล็กกว่ากระปุก

2) อาหารเหยื่อล่อปลวกผสมไส้เดือนฝอย มีองค์ประกอบและอัตราส่วนของเหยื่ออาหารผสมไส้เดือนฝอยต่อแท่งคือ ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 20 กรัม + ผงเซลลูโลส 1 กรัม + โพลิเมอร์ 70 กรัม + น้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอย 1 ล้านตัว

วางแผนการทดลอง แบบ RCB ประกอบด้วย 4 กรรมวิธี 4 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 ฝังแท่งสถานีเหยื่อล่อรอบพื้นที่ปลูก 30 ตร.ม. ระยะห่าง 1.0 เมตร (30 แท่ง)

กรรมวิธีที่ 2 ฝังแท่งสถานีเหยื่อล่อรอบพื้นที่ปลูก 30 ตร.ม. ระยะห่าง 1.5 เมตร (20 แท่ง)

กรรมวิธีที่ 3 ฝังแท่งสถานีเหยื่อล่อรอบพื้นที่ปลูก 30 ตร.ม. ระยะห่าง 2.0 เมตร (16 แท่ง)

กรรมวิธีที่ 4 ไม่ฝังแท่งสถานีเหยื่อล่อ (control)

กำหนดพื้นที่ทดสอบในแปลงมันสำปะหลังเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า โดยเลือกร่องมันสำปะหลังติดแนวป่าละเมาะซึ่งมีรังปลวก โดยใช้พื้นที่กว้าง 3 เมตร (หรือเท่ากับ 4 ร่อง) ความยาวแถว 10 เมตร (เท่ากับพื้นที่ทดสอบ 30 ตร.ม./ซ้ำ) ทำการปลูกท่อนพันธุ์โดยมีระยะห่าง 0.5 เมตร จำนวน 20 ท่อน/ร่อง ทดลองพร้อมติดตั้งแท่งสถานีเหยื่อล่อโดยทำการฝังดินตามกรรมวิธีกำหนด เป็นเวลา 1 เดือน

บันทึกผล นับจำนวนท่อนพันธุ์มันสำปะหลังที่ถูกปลวกเข้าทำลายและแห้งตายในแต่ละกรรมวิธีหลังจากฝังแท่งสถานีเหยื่อล่อเป็นระยะเวลา 1 เดือน โดยนับแถวกลาง 2 แถวๆ ละ 20 ต้น รวม 40 ต้น วิเคราะห์ข้อมูลตามแผนการทดลอง เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

เวลาสถานที่

เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2549 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ

1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม.

2. แปลงเกษตรกรปลูกมันสำปะหลัง จ.กาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเก็บรักษาไส้เดือนฝอย

ผลการเก็บรักษาไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2 และ *Heterorhabditis* sp. PRh และ REh ในน้ำกลั่นบรรจุในขวดชนิด culture flask ปริมาตรน้ำ 10 มล. ตั้งวางที่อุณหภูมิ 27 + 2 oซ เมื่อนำมาตรวจนับเปอร์เซ็นต์การตายของไส้เดือนฝอยที่อายุการเก็บรักษา 1 เดือน พบเปอร์เซ็นต์การตายของไส้เดือนฝอยเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ เท่ากับ 2 5 และ 3 % ของไส้เดือนฝอย KPs No.2 PRh และ REh ตามลำดับ และเมื่อระยะเวลาผ่านไป 2 และ 3 เดือน ไส้เดือนฝอยทุกไอโซเลทมีการตายเพิ่มขึ้น คิดเป็น 4 11 และ 8 % ของเดือนที่ 2 และ 17 25 และ 22 % ของเดือนที่ 3 ตามลำดับ เมื่อตรวจนับที่ระยะเวลาการเก็บ 4 เดือน พบการตายของไส้เดือนฝอยทุกไอโซเลทมีเปอร์เซ็นต์การตายมากกว่า 50 % มีจำนวนเท่ากับ 52 74 และ 70 % ตามลำดับ

จากผลการเก็บรักษาพบว่าไส้เดือนฝอยไอโซเลท KPs No.2 จัดอยู่สกุล *Steinernema* มีเปอร์เซ็นต์การตายในทุกระยะการเก็บรักษาน้อยที่สุด สำหรับไอโซเลท PRh และ REh เป็นไส้เดือนฝอยในสกุล *Heterorhabditis* มีเปอร์เซ็นต์การตายที่สูงกว่า โดยเฉพาะในช่วงการเก็บรักษา 2 เดือนแรก ไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2 มีการตายเฉลี่ยเพียง 4 % เท่านั้น

2. การเพาะเลี้ยงขยายปริมาณไส้เดือนฝอย

2.1 ผลการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No. 2 และ *Heterorhabditis* sp. PRh ในอาหารสูตรเดียวกันและสภาพการเลี้ยงแบบ axenic culture ทำซ้ำ 2 ครั้ง พบว่า *Steinernema* sp. KPs No. 2 มีการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ในอาหารเทียมได้ผลผลิตสูงเท่ากับ 186 และ 178 ล้านตัวต่ออาหาร 500 กรัม ของครั้งที่ 1 และ 2 หรือมีค่าเฉลี่ยผลผลิตเท่ากับ 182 ล้านตัวต่ออาหาร 500 กรัม โดยที่การเพาะเลี้ยง *Heterorhabditis* sp. PRh ให้ผลผลิตเท่ากับ 53 และ 42 ล้านตัวต่ออาหาร 500 กรัม ของครั้งที่ 1 และ 2 หรือมีค่าเฉลี่ยผลผลิตเท่ากับ 47.5 ล้านตัวต่ออาหาร 500 กรัม เมื่อนำผลผลิตของไส้เดือนฝอยทั้ง 2 สกุล เปรียบเทียบกันพบว่า ไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No. 2 ให้ผลผลิตสูงกว่า *Heterorhabditis* sp. PRh เท่ากับ 134.5 ล้านตัว (182-47.5=134.5 ล้านตัว) หรือมากกว่า 3.83 เท่า

2.2 ผลการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.3 ในสูตรอาหาร 3 สูตรคือ สูตรไข่ไก่ผสมน้ำมันหมูและน้ำ ในอัตราส่วน 5 : 2 : 3 สูตรหนังไก่ผสมน้ำ ในอัตราส่วน 7 : 3 และสูตรหนังไก่+ไข่ไก่+น้ำ ในอัตราส่วน 2 : 3 : 5 ได้ผลผลิตไส้เดือนฝอยเท่ากับ 420 52 และ 350 ล้านตัว/ลิตร (ค่าเฉลี่ยจากการทดสอบเพาะเลี้ยง 2 ครั้ง)

3. การทดสอบศักยภาพของไส้เดือนฝอยในการกำจัดแมลง

ผลการทดสอบศักยภาพการเป็นสารชีวภัณฑ์ของไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2 ที่แยกได้จากพื้นที่ จ.กำแพงเพชร และ *Heterorhabditis* sp. PRh ที่แยกได้จากพื้นที่ จ.เพชรบุรี ในการกำจัดเห็บวัว โดยปลูกเชื้อไส้เดือนฝอยทั้งสองสกุลที่ผลิตได้จากอาหารเทียมชนิดแข็งกึ่งเหลวสูตรไข่ไก่ผสมน้ำมันหมูและน้ำ (อัตราส่วน 5 : 2 : 3) สภาพการเพาะเลี้ยงแบบ axenic culture โดยใช้ผลผลิตไส้เดือนฝอยที่อัตรา 30,000 ตัวต่อพื้นที่ 40 ตร.ซม. พบว่า *Heterorhabditis* sp. PRh มีศักยภาพในการฆ่าเห็บวัวตาย 90 % ที่เวลา 48 ชม. แต่ *Steinernema* sp. KPs No.2 ฆ่าเห็บวัวได้เพียง 5 % เท่านั้น จากผลการทดสอบแสดงว่าไส้เดือนฝอยในสกุล *Heterorhabditis* sp. มีความเฉพาะเจาะจงกับเห็บ สามารถนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ในคอกสัตว์ได้ในอนาคต แต่ไส้เดือนฝอยจะไม่สามารถขยายพันธุ์ได้ในเห็บวัว เมื่อนำซากของเห็บที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายมาวางบนกระดาษชุ่มน้ำเป็นเวลา 10 วัน ไม่พบไส้เดือนฝอยรุ่นใหม่เคลื่อนที่ออกจากซากเห็บ อาจเป็นผลจากเห็บวัวมีน้ำเลือดน้อยไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยที่อยู่ในซากเห็บ

เมื่อนำ *Steinernema* sp. KPs No.2 มาทดสอบศักยภาพในการกำจัดหนอนด้วงมะพร้าว โดยวิธีพ่นไส้เดือนฝอยบนตัวหนอนด้วง เป็นเวลา 48 ชม. เปรียบเทียบกับวิธีฉีดเข้าทางลำตัวหนอนด้วยเข็มฉีดยา พบว่าหนอนด้วงไม่ตายเมื่อใช้วิธีการพ่นบนตัวหนอน แต่หนอนด้วงตาย 100 % และตายภายในเวลาเพียง 6 ชม. เท่านั้นเมื่อใช้วิธีฉีดเข้าทางลำตัวหนอน และเมื่อนำหนอนด้วงที่ตายด้วยไส้เดือนฝอยไปวางบนกระดาษชุ่มน้ำเป็นเวลา 10 วัน พบว่าไส้เดือนฝอยสามารถขยายพันธุ์ให้ลูกรุ่นใหม่ได้ดีในซากหนอน โดยพบไส้เดือนฝอยตัวอ่อนระยะที่ 3 เคลื่อนที่ออกจากซากหนอน นับได้จำนวนเฉลี่ย 122,000 ตัวต่อหนอนด้วง 1 ตัว จากผลการทดสอบศักยภาพของ *Steinernema* sp. KPs No.2 ในการฆ่าหนอนด้วงแสดงให้เห็นว่า ถ้าไส้เดือนฝอยสามารถเข้าสู่ตัวหนอนได้ จะมีศักยภาพในการเกิดโรคเลือดเป็นพิษในตัวหนอนและหนอนตายในที่สุด และการใช้เข็มฉีดไส้เดือนฝอยเข้าลำตัวนั้น มีผลต่อการตายของหนอนได้รวดเร็ว แต่การพ่นไส้เดือนฝอยบนตัวหนอนด้วงพบว่าไส้เดือนฝอยไม่สามารถเข้าสู่รูเปิดทางผิวของหนอนด้วงได้ หนอนด้วงจึงไม่ตาย อย่างไรก็ตามในทางปฏิบัติโดยวิธีใช้เข็มฉีดไส้เดือนฝอยเข้าทางลำตัวหนอนด้วง ไม่ใช่แนวทางการนำไปใช้กำจัดหนอนด้วง แต่สามารถนับไปปรับใช้ในการผลิตหัวเชื้อไส้เดือนฝอยเพื่อทดแทนการผลิตหัวเชื้อไส้เดือนฝอยจากหนอนกินไขผึ้งซึ่งมีราคาแพงได้

4. การทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยในสภาพไร่

จากการทดสอบนำสถานีเหยื่อล่อฝังดินรอบพื้นที่ปลูกท่อนพันธุ์มันสำปะหลัง เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า 3x10 เมตร (30 ตร.ม.) ที่ระยะห่างตั้งแต่ 1.0 1.5 และ 2.0 เมตร เปรียบเทียบกับไม่ฝัง เป็นเวลา 1 เดือน เมื่อทำการตรวจนับท่อนพันธุ์มันสำปะหลังที่ถูกปลวกเข้าทำลายไส้ในจนไม่สามารถแตกใบและเจริญเติบโตได้ในร่องที่ไม่มีการฝังสถานีเหยื่อล่อ พบท่อนพันธุ์เสียหายเนื่องจากปลวกเท่ากับ 23.75 ท่อน จากการตรวจนับ 40 ท่อนพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 59.38 ซึ่งแตกต่างทางสถิติ

อย่างมีนัยสำคัญกับการฝังทุกระยะห่าง โดยการฝังที่ระยะห่าง 1.0 และ 1.5 เมตร รอบพื้นที่ทดสอบพบท่อนพันธุ์มันสำปะหลังเสียหายเท่ากับ 4.25 และ 6.75 ท่อน หรือคิดเป็นร้อยละ 10.63 และ 16.88 ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ สำหรับการวางระยะที่ 2 เมตร พบว่าท่อนพันธุ์เสียหาย 13.25 ท่อน หรือร้อยละ 33.13 (ตารางที่ 1)

การทดสอบฝังสถานีเหยื่อล่อของทุกระยะห่าง สามารถลดการเข้าทำลายท่อนพันธุ์มันสำปะหลังจากปลวกได้ โดยปลวกเลือกเข้ากินอาหารเหยื่อล่อภายในแท่งมากกว่าการกินไส้ของท่อนพันธุ์ ซึ่งภายในแท่งประกอบด้วยอาหารขี้เลื่อยไม้ยางพารา รวมทั้งมีความชื้นจากสารโพลิเมอร์ ดึงดูดให้ปลวกเข้ามาภายในสถานีเหยื่อล่อ เมื่อปลวกกินอาหารเหยื่อล่อ มีผลทำให้ปลวกตายเนื่องจากกินไส้เดือนฝอยเข้าไปด้วย ซึ่งสามารถพบซากของปลวกตายเป็นกลุ่ม ๆ ทั้งภายในแท่งเหยื่อ และภายนอก เมื่อทำการสุ่มตรวจทุกวัน และสามารถยืนยันการตายของปลวกที่เกิดจากการรับไส้เดือนฝอยเข้าสู่ลำตัว โดยนำซากปลวกมาตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตภายในลำตัวของปลวก ดังนั้น วิธีการฝังเหยื่อล่อที่ผสมไส้เดือนฝอยซึ่งเป็นสารสำคัญในการฆ่าปลวก จึงเป็นอีกหนึ่งวิธีที่เกษตรกรในเขตปลูกมันสำปะหลัง จ.กาญจนบุรี ให้ความสนใจเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากพื้นที่ดังกล่าวปลูกเฉพาะมันสำปะหลังในช่วงแล้งที่มีอากาศร้อน เกษตรกรไม่ปลูกพืชอื่นๆ ที่ต้องใช้น้ำมาก เช่น พืชผัก และไม้ดอกไม้ประดับ แต่มันสำปะหลังเป็นพืชที่ต้องการน้ำน้อยในช่วงแรก โดยสามารถใช้อาหารที่สะสมในลำต้นหรือท่อนพันธุ์เพื่อการเจริญเติบโตในระยะแรกของช่วงฤดูแล้ง ซึ่งเพียงพอต่อการแตกใบ แต่ปลวกคือปัญหาที่ทำให้ท่อนพันธุ์เสียหายในช่วงแรกของการปลูก เกษตรกรบางรายเสียหายทั้งหมด บางรายต้องเสียเวลาปลูกซ่อมทดแทนท่อนพันธุ์ที่ตาย โดยการทดสอบในครั้งนี้เกษตรกรได้มีส่วนร่วมในการตรวจผล และผลการทดสอบดังกล่าวประสบผลสำเร็จในระดับที่น่าพอใจ เกษตรกรในพื้นที่ จ.กาญจนบุรี ให้การยอมรับ แต่อย่างไรก็ตาม ยังต้องมีการปรับใช้ให้เหมาะสมกับต้นทุนการผลิตมันสำปะหลัง และต้นทุนของสถานีเหยื่อล่อ ซึ่งค่อนข้างมีราคาสูง เมื่อนำไปใช้ในสภาพไร่มันฯ ขนาดใหญ่ โดยต้องคำนวณพื้นที่เพื่อฝังระยะห่าง 1.5 เมตร ฝังเฉพาะร่องมันที่ติดป่าละเมาะหรือแหล่งอาศัยของปลวก นอกจากนั้น ต้องปรับโครงสร้างของสถานีเหยื่อล่อให้มีราคาถูกหรือเกษตรกรสามารถทำได้เอง เช่น ใช้กระบอกไม้ไผ่เป็นโครงสร้าง ด้านบนเปิดและคลุมด้วยตาข่ายเพื่อเป็นช่องทางให้ปลวกเข้ามากินขี้เลื่อยผสมไส้เดือนฝอย สำหรับไส้เดือนฝอยซึ่งเป็นชีวินทรีย์ฆ่าปลวก เกษตรกรสามารถเพาะเลี้ยงเชื้อสดใช้เองได้ตามวิธีการของนุชนารถ (2552)

ตารางที่ 1 จำนวนท่อนพันธุ์มันสำปะหลังที่ถูกปลวกเข้าทำลายและแห้งตาย ของร่องปลูก 2 แถว กลาง แถวละ 20 ท่อน (รวม 40 ท่อนพันธุ์) ที่มีการฝังสถานีเหยื่อล่อ รอบพื้นที่ 30 ตร.ม. โดยมีระยะห่างของสถานีเหยื่อล่อที่ 1.0 1.5 และ 2.0 เมตร เปรียบเทียบกับไม่ฝัง เป็นเวลา 1 เดือน ในไร่มันสำปะหลัง จ. กาญจนบุรี ช่วงฤดูแล้ง

กรรมวิธี	จำนวนท่อนพันธุ์มันสำปะหลังที่ถูกปลวกเข้าทำลายและแห้งตาย[1/]
1. ฝังในร่องมันฯ ระยะห่าง 1.0 เมตร (30 แท่ง/ซ้ำ)	4.25 c[2/]
2. ฝังในร่องมันฯ ระยะห่าง 1.5 เมตร (20 แท่ง/ซ้ำ)	6.75 c
3. ฝังในร่องมันฯ ระยะห่าง 2.0 เมตร (16 แท่ง/ซ้ำ)	13.25 b
4. ไม่ฝังสถานีเหยื่อล่อ (control)	23.75 a
CV. (%)	27.32

[1/]ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ (แปลง)

[2/]ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมภ์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การเก็บรักษาไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2 และ *Heterorhabditis* sp. PRh และ REh ในน้ำกลั่นได้นานที่สุด 3 เดือน ในสภาพอุณหภูมิห้อง (27+-2 oซ) โดย *Steinernema* sp. KPs No.2 มีความอยู่รอดได้ดีกว่า *Heterorhabditis* sp. PRh และ REh เมื่อนำ *Steinernema* sp. KPs No.2 และ *Heterorhabditis* sp. PRh มาเพาะเลี้ยงในอาหารเทียมชนิดแข็งกึ่งเหลวสูตรไข่ไก่ผสมน้ำมันหมูและน้ำ ที่อัตราส่วน 5 : 2 : 3 สภาพการเพาะเลี้ยงแบบ axenic culture พบว่า *Steinernema* sp. KPs No.2 เจริญเติบโตและขยายพันธุ์ให้ผลผลิตได้สูงกว่า *Heterorhabditis* sp. PRh เท่ากับ 134.5 ล้านตัวต่ออาหาร 500 กรัม (182-47.5=134.5 ล้านตัว) หรือมากกว่า 3.83 เท่า ผลผลิตของไส้เดือนฝอยทั้งสองสกุลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเทียมดังกล่าว นำมาทดสอบศักยภาพในการกำจัดเห็บวัว พบว่า *Heterorhabditis* sp. PRh ฆ่าเห็บวัวได้ 90 % ในเวลา 48 ชม. สามารถนำไปประยุกต์ใช้กำจัดเห็บวัวในคอกสัตว์ได้ ในขณะที่ *Steinernema* sp. KPs No.2 ฆ่าได้เพียง 5 % แต่ *Steinernema* sp. KPs No.2 สามารถฆ่าหนอนด้วงมะพร้าวโดยวิธีใช้เข็มฉีดไส้เดือนฝอยเข้าลำตัวหนอนด้วง ทำให้หนอนด้วงตายภายในเวลาเพียง 6 ชม. และไส้เดือนฝอยสามารถเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ในซากหนอนด้วง และให้ไส้เดือนฝอยรุ่นใหม่เคลื่อนที่ออกจากซากหนอนจำนวน 122,000 ตัวต่อหนอน 1 ตัว เทียบได้กับการขยาย

ไส้เดือนฝอยในหนอนกินไขผึ้ง สามารถนำไปปรับใช้ทดแทนหนอนกินไขผึ้งเพื่อการผลิตหัวเชื้อไส้เดือนฝอย

สำหรับไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.3 นำมาทดสอบเพาะเลี้ยงในสูตรไข่ไก่ผสมน้ำมันหมูและน้ำ ในอัตราส่วน 5 : 2 : 3 เปรียบเทียบกับสูตรหนังไก่ผสมน้ำ ในอัตราส่วน 7 : 3 และสูตรหนังไก่+ไข่ไก่+น้ำ อัตราส่วน 2 : 3 : 5 ได้ผลผลิตไส้เดือนฝอยเท่ากับ 420 52 และ 350 ล้านตัว/ลิตร ตามลำดับ เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดปลวกในไร่มันสำปะหลัง โดยนำไส้เดือนฝอยคลุกกับขี้เลื่อยไม้ยางพาราใส่ในภาชนะล่อ ผลการทดสอบพบว่า การฝังสถานีเหยื่อล่อในร่องมันฯ ระยะห่าง 1.5 เมตร ช่วยลดความเสียหายของท่อนพันธุ์ได้ โดยพบการทำลายของปลวกเพียง 16.88 % ในขณะที่ไม่ฝัง ปลวกทำความเสียหายสูงถึง 59.38 %

เอกสารอ้างอิง

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2543. ไส้เดือนฝอยที่มีประโยชน์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช, น. 223-246. ใน พัฒนาการเกษตรไทยยุคเทคโนโลยีชีวภาพ, สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยี ชีวภาพ. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2544. อนุกรมวิธานไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง STEINERNEMATID. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 63 หน้า.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2550. การพัฒนาโรงงานต้นแบบและเทคโนโลยีการผลิตชีวภัณฑ์ไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงในเชิงพาณิชย์. ใน ผลงานวิจัยฉบับเต็ม เงินรายได้จากการดำเนินงานวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

Akhurst, R.J. and N.E. Boemare. 1990. Biology and taxonomy of *Xenorhabdus*. Pages 75-90. In : Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.

Bedding, R.A. 1981. Low cost in vitro mass production of Neoaplectana and *Heterorhabditis* species (Nematoda) for field control of insect pests. Nematologica 27 : 109-114.

Glaser, R.W. 1931. The cultivation of a nematode parasite of an insect. Science 614.

Gaugler, R. and H.K. Kaya. 1990. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Inc. Florida. 365 p.

Kaya, H.K. 1977. Development of DD-136 strain of *Neoaplectana carpocapsae* at constant temperature. J. Nematol. 9 : 346-349.

Nguyen, K.B. 1993. Identification to Entomopathogenic Nematode Species of the Genus Steinernema.

Steiner, G. 1923. *Aplectana kraussei* n.sp. der Blattwespe Lyda sp. parasitierende Nematoden-form, nebst Bemerkungen uber das Steitenorgan der parasitischen Nematoden. Page 24. In : Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.