

คัดเลือกและพัฒนาไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ท้องถิ่น *Steinernema siamkayai*
 Selection and Development of the Indigenous
 Entomopathogenic Nematode, *Steinernema siamkayai*

วิไลวรรณ เวชยันต์ สาทิพย์ มาลี อิศเรศ เทียนทัต
 กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

การทดลองย่อย เปรียบเทียบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของ *S. siamkayai*,
S. riobrave และ *S. carpocapsae* กับหนอนใยผักวัย 3

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบการก่อให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema siamkayai*,
Steinernema riobrave และ *Steinernema carpocapsae* ต่อหนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) ใน
 ห้องปฏิบัติการพบว่า การตายของหนอนใยผักอยู่ในช่วง 23-98.3 เปอร์เซ็นต์ โดย *S. riobrave*
 ก่อให้เกิดโรกับหนอนใยผักสูงสุด และ *S. siamkayai* ก่อให้เกิดโรคน้อยที่สุดในทุกความเข้มข้นของ
 ไส้เดือนฝอย ค่าความเข้มข้นของไส้เดือนฝอย *S. siamkayai*, *S. riobrave* และ *S. carpocapsae* ใน
 การทำให้หนอนใยผักตาย 50 เปอร์เซ็นต์ หลังจากทดสอบ 48 ชั่วโมง คือ 75.19, 1.73 และ 3.49 ตัว
 ต่อหนอนใยผัก 1 ตัว ตามลำดับ

คำหลัก หนอนใยผัก, *Plutella xylostella*, ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง, Entomopathogenic nematode,
Steinernema siamkayai *S. riobrave*, การควบคุมโดยชีววิธี

คำนำ

ไส้เดือนฝอยในวงศ์ Steinernematidae และ Heterorhabditidae เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสามารถเข้าทำลายและทำให้แมลงตายได้หลายชนิด (Poinar, 1979) “ตัวอ่อนระยะเข้าทำลายแมลง” (infective juvenile: IJ) ของไส้เดือนฝอยทั้ง 2 วงศ์ คือวัยที่ 3 ซึ่งในลำไส้ส่วนหน้าจะมีแบคทีเรียอาศัยอยู่ในลักษณะพึ่งพาอาศัย (symbiosis) ดังนั้นเมื่อไส้เดือนฝอยผ่านเข้าสู่ภายในผนังลำตัวแมลงจะปล่อยแบคทีเรียดังกล่าว เข้าสู่ระบบเลือดของแมลงทำให้แมลงตายอย่างรวดเร็วภายใน 24-48 ชั่วโมง (Poinar and Thomas, 1966) ปัจจุบันไส้เดือนฝอยสกุล *Steinernema* และ *Heterorhabditis* ได้รับการพัฒนาให้เป็นสารชีวอินทรีย์นำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชอย่างแพร่หลาย (Kaya, 1985; Klein, 1990)

กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ได้ศึกษาและนำ *S. carpocapsae* (Weiser) ไปควบคุมแมลงศัตรูพืชต่างๆ หลายชนิดได้เป็นผลสำเร็จ เช่น หนอนกินใต้ผิวเปลือกถั่วลิสง (วัชร และคณะ, 2529) ตัวอ่อนของด้วงหมัดผักในผักกาดหัว (วัชร และคณะ, 2534ก) ด้วงงวงมันเทศ (วัชร และคณะ, 2534ข) หนอนกระทู้หอมในดาวเรือง (วัชร และคณะ, 2537) ตลอดจนศึกษาและพัฒนาการผลิตขยายไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* (Weiser) ด้วยอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว (วัชร และพิมพ์พร, 2535ก, 2535ข) จนสามารถถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตไส้เดือนฝอยด้วยอาหารเทียมดังกล่าวสู่ภาคเอกชนและผลิตเป็นการค้า (วัชร และสุทธิชัย, 2544)

ในปี 2539 มีการสำรวจและเก็บตัวอย่างดินจากแหล่งต่างๆ เพื่อแยกไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงโดยใช้หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella* เป็นแมลงทดสอบ (วัชร, 2544) พบไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงชนิดใหม่ และได้ส่งตัวอย่างให้ผู้เชี่ยวชาญด้านอนุกรมวิธานของสหรัฐอเมริกาจำแนกชนิด ได้ตั้งชื่อว่า *Steinernema siamkayai* (Stock et al, 1998) และไส้เดือนฝอยดังกล่าวเป็นชนิดใหม่ของไทย ซึ่งยังไม่เคยปรากฏที่ใดในโลก นอกจากนี้ยังมีรายงานการค้นพบไส้เดือนฝอยชนิดใหม่ๆ ทั่วโลกเพิ่มมากขึ้น อาทิเช่น *S. riobrave* ค้นพบในเขตภูมิอากาศแถบร้อนที่มลรัฐเท็กซัส (Cabanillas, 1994) ไส้เดือนฝอยทั้ง 2 ชนิดมีความสามารถทนต่ออุณหภูมิได้สูงกว่า 35°C.

การทดลองในครั้งนี้เพื่อศึกษาศักยภาพของไส้เดือนฝอยในการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืชโดยเปรียบเทียบไส้เดือนฝอยที่ทนอุณหภูมิสูงทั้ง 2 ชนิด คือ *S. siamkayai* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ท้องถิ่น และ *S. riobrave* สายพันธุ์ต่างประเทศ กับ *S. carpocapsae* ซึ่งเป็นสายพันธุ์เดิมที่ผลิตเป็นการค้า ทั้งนี้เพื่อให้ได้ข้อมูลในการคัดเลือกและพัฒนาชนิดไส้เดือนฝอยที่มีประสิทธิภาพสูง สามารถควบคุมแมลงศัตรูพืชหลากหลายชนิดในสภาพนิเวศเกษตรของประเทศต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กล้องจุลทรรศน์, ตู้ควบคุมอุณหภูมิ, ตู้อบนิ่งฆ่าเชื้อ, ที่ดูดสารอัตโนมัติ (auto pipette) จานทดลอง (petridish) เส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร, ถาดหลุมขนาด 24 หลุม/ถาด พร้อมฝาปิด, culture flask, กล่องพลาสติก, กระจกทรง และผ้าขาวบาง
2. ไข่เดือนฝอย *Steinernema siamkayai*, *S. riobrave* และ *S. carpocapsae*
3. แมลงที่ใช้ทดสอบ คือ หนอนใยผักวัย 3
4. สารเคมีที่ใช้ เช่น ฟอรัมาลีน, Nutrient agar, Tryptic soy และ Alcohol
5. อาหารเทียมสำหรับเลี้ยงหนอนกินรังผึ้ง

วิธีการ

เปรียบเทียบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของ *S. siamkayai*, *S. riobrave* และ *S. carpocapsae* กับหนอนใยผักวัย 3

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี

- (1) ดัดแปลงจากวิธี soil bioassay (Glazer *et al.*, 2000) โดยใส่ทรายที่อบนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 1 กรัม รองก้นถาดหลุม ก่อนหยดไข่เดือนฝอยแต่ละชนิดลงบนทรายในถาดหลุม หลุมละ 150 ไมโครลิตร ใส่ใบปุ๋ยเลขนาน 1 ตารางเซนติเมตร จำนวน 1 ใบ เพื่อเป็นอาหารของหนอนใยผัก
- (2) เตรียมไข่เดือนฝอย *S. siamkayai* ในอัตราความหนาแน่น 10, 20, 40, 80 และ 100 ตัว ต่อน้ำ 150 ไมโครลิตร
- (3) หยดไข่เดือนฝอยลงบนอาหารเทียม หลุมละ 150 ไมโครลิตร
- (4) ใส่หนอนใยผักวัย 3 หลุมละ 1 ตัว ในแต่ละความเข้มข้นทำ 3 ซ้ำๆ ละ 20 ตัว แล้วนำถาดหลุมเก็บที่อุณหภูมิ 30 °ซ.
- (5) ตรวจนับและบันทึกจำนวนหนอนใยผักที่ตายภายในเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบทางสถิติเพื่อหาค่า LC₅₀ ต่อไป

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2551 – เดือนกันยายน 2552

สถานที่ : ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย 3 ชนิด คือ *Steinernema siamkayai*, *S. riobrave*, *S. carpocapsae* กับหนอนใยผักวัย 3 ในห้องปฏิบัติการ โดยทำการทดลองในถาดหลุม ภายในไส้ทรายอบ 1 g ก่อนหยดไส้เดือนฝอยอัตรา 10, 20, 40, 80 และ 100 ตัว จากนั้นใส่หนอนใยผักวัย 3 จำนวนหลุมละ 1 ตัว เก็บที่อุณหภูมิ 30 °C พบว่า ภายในเวลา 48 ชั่วโมง พบหนอนใยผักตายด้วย *S. siamkayai* เท่ากับ 25, 35, 40, 50 และ 55 % *S. riobrave* มีค่าเท่ากับ 80, 85, 90, 95 และ 100 % และ *S. carpocapsae* มีค่าเท่ากับ 70, 75, 85, 90 และ 95 %ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

เมื่อนำประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิดมาวิเคราะห์หาค่า LC_{50} พบว่า *S. riobrave* ก่อให้เกิดโรคกับหนอนใยผักสูงสุด และ *S. siamkayai* ก่อให้เกิดโรคน้อยที่สุดในทุกความเข้มข้นของไส้เดือนฝอย โดยค่าความเข้มข้นของไส้เดือนฝอย *S. siamkayai*, *S. riobrave* และ *S. carpocapsae* ในการทำให้หนอนใยผักตาย 50 เปอร์เซ็นต์ หลังจากทดสอบ 48 ชั่วโมง คือ 75.19, 1.73 และ 3.49 ตัวต่อหนอนใยผัก 1 ตัว

S. siamkayai สามารถทำให้เกิดโรคกับหนอนใยผักได้ โดยมีค่า LC_{50} ของหนอนใยผักวัย 3 มีค่าเท่ากับ 75.19 ต่ำกว่า (ตารางที่ 1) เช่นเดียวกับการทดลองของ Chongchitmate (2505) พบว่า ค่า LC_{50} ของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัย 4 เท่ากับ 22.5 ตัวต่อหนอน 1 ตัว และ LC_{50} ของหนอนใยผัก เท่ากับ 18 ตัวต่อหนอน 1 ตัว Kaya (1985) รายงานว่า *S. feltiae* สามารถเข้าทำลายหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* วัยแก่ได้มากกว่าหนอนวัยอ่อน เนื่องจากหนอนที่ฟักจากไข่และหนอนระยะแรกสามารถเคลื่อนที่เข้าหาแสงและเคลื่อนที่ได้รวดเร็วกว่าหนอนที่อายุมากและวัยก่อนเข้าดักแด้ และ Forscher *et al.* (1991) พบว่า ค่า LC_{50} ของ *S. carpocapsae* และ *Heterorhabditis heliothidis* กับหนอนด้วง *Phyllophaga hirticula* (Knoch) วัย 3 มีค่าเท่ากับ 210 และ 12 ตัวต่อหนอนหนึ่งตัว ตามลำดับ Geden *et al.* (1986) รายงานว่า *S. glaseri* มีค่า LC_{50} เท่ากับ 2,000 ตัวต่อหนอนแมลงวัน *Musca domestica* วัย 2 ซึ่งสูงกว่าค่า LC_{50} ของหนอนกิ้งกิ้งมิ่ง จากการทดลองจะเห็นว่าอัตราความหนาแน่นของไส้เดือนฝอยที่สามารถทำให้แมลงทดสอบตาย 50% (LC_{50}) มีความแตกต่างกันตามชนิดของไส้เดือนฝอย ค่า LC_{50} ที่ต่ำกว่าแสดงถึงความสามารถในการทำให้เกิดโรคและทำให้แมลงศัตรูนั้นๆ ตายได้ดีกว่าค่า LC_{50} ที่สูง ผู้ใช้สามารถเลือกใช้ชนิดหรือสายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยให้เหมาะสมกับแมลงศัตรูนั้นๆ ได้

สรุปผลการทดลอง

ไส้เดือนฝอย *S. siamkayai*, *S. riobrave* และ *S. carpocapsae* สามารถทำให้หนอนใยผัก ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 48 ชั่วโมง ได้แตกต่างกัน โดย *S. siam kayai* ก่อให้เกิดโรคน้อย ที่สุดในทุกความเข้มข้นของไส้เดือนฝอย มีค่าเท่ากับ 75.19, 1.73 และ 3.49 ตัวต่อหนอนใยผัก 1 ตัว

เอกสารอ้างอิง

- วัชรีย์ สมสุข. 2540. หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella*. ว. กীฏ. สัตว.19(2): 107-109.
- วัชรีย์ สมสุข. 2544. เทคนิคในการค้นหาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจากดินในธรรมชาติ. ว. กীฏ. สัตว. 23(3): 205-207.
- วัชรีย์ สมสุข และ สุทธิชัย สมสุข. 2544. ผลงานวิจัยโครงการวิจัยและพัฒนาการผลิตไส้เดือนฝอย ศัตรูแมลงในระดับการค้า ในรายงานผลงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ จัดพิมพ์โดย กรมวิชาการ เกษตร สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. 172 หน้า.
- อุทัย เกตุญาติ. 2544. การควบคุมแมลงศัตรูพืชด้วยไวรัส NPV. ใน: เอกสารวิชาการ การควบคุม แมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีเพื่อการเกษตรยั่งยืน. กองกীฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 141-187.
- Cabanillas, H.E., G.O. Poinar and J.R. Raulston. 1994. *Steinernema riobrave* n. sp (Rhabditida: Steinernematidae) from Texas. Fundam. Appl. Nematol. 17(2): 123-131.
- Chongchitmate, P. 2005. Bionomics of entomopathogenic nematode *Steinernema siamkayai* Stock, Somsook and Reid (n.sp.) and its efficacy against *Helicoverpa armigera* Hubner (Lepidoptera : Noctuidae). Ph.D. Thesis, Kasetsart University
- Forschler, B.T., and W. Gardner. 1991. Parasitism of *Phyllophaga hirticula* (Coleoptera: Scarabidae) by *Heterorhabditis heliothis* and *Steinernema carpocapsae*. J. Invertebr. Pathol. 58: 369-407.
- Geden, C.J., R.C. Axtell, and W.M. Brooks. 1986. Susceptibility of the house fly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae), *S. glaseri* (Steinernematidae), and *Heterorhabditis heliothis* (Heterorhabditidae). J. Med. Entomol. 23: 326-332.
- Grewal, P.S., S. Selvan and R. Gaugler. 1994. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: niche breadth for infection, establishment, and reproduction. J. Thermal Biology.19: 245-253.

- Glazer, I. and E.E. Lewis. 2000. Bioassays for entomopathogenic nematode, pp. 229-247. *In* A. Navon and K.R.S. Ascher (eds.). Bioassays of Entomopathogenic Microbes and Nematodes. CAB International. London
- Klein, M.G. 1990. Efficacy against soil inhabiting insect pests, pp. 195-214. *In* R. Gaugler and H.K. Kaya (eds.). Entomopathogenic nematodes in biological control. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Kaya, H.K. 1985. Entomopathogenic Nematodes for Insect Control in IPM Systems, pp. 283-302. *In* M.A. Hoy and D.C. Herzog (eds.). Biological control in agricultural IPM systems. Orlando, FL., Academic Press.
- Poinar, G.O. Jr. 1979. Nematodes for Biological Control of Insects. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. 277 pp.
- Poinar, G.O. Jr. and G.M. Thomas. 1966. Significance of *Achromobacter nematophilus* Poinar and Thomas (Achromobacteriaceae: Eubacteriales) in the development of the nematode DD-136 (*Neoaplectana* sp. *Steinernematidae*). Parasitology. 56: 385-390.
- Sasnarukkit, A. 2003. Efficacy of an Entomopathogenic Nematode, *Steinernema siamkayai* Stock, Somsook and Reid on Controlling Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus). Ph.D. Thesis, Kasetsart University.
- 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.

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักวัย 3 ด้วยไส้เดือนฝอย *Steinernema siamkayai*, *Steinernema riobrave* และ *Steinernema carpocapsae* ความเข้มข้นต่างๆ ที่ อุณหภูมิ 30 °ซ. ภายในเวลา 48 ชั่วโมง

ชนิดของไส้เดือนฝอย ความเข้มข้น ^{1/}	เปอร์เซ็นต์การตายของหนอน ^{2/}				
	10	20	40	80	100
<i>S. siamkayai</i>	23.3	35	41.7	50	56.7
<i>S. riobrave</i>	78.3	90	91.7	95.0	98.3
<i>S. carpocapsae</i>	88.3	75.0	91.7	91.7	91.7

^{1/} ความเข้มข้นของไส้เดือนฝอยต่อหนอน 1 ตัว

^{2/} ตัวเลขที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ