

ศึกษาประสิทธิภาพไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. ควบคุมทากพามาริออน
Parmarion sp.

Study on Efficacy of Nematode *Steinernema* sp. Controlling of the
Parmarion sp.

ปราสาททอง พรหมเกิด ปิยาณี หนูกาฬ ดาราพร รินทะรักษ์
สมเกียรติ กล้าแข็ง วิไลวรรณ เวชยันต์ สาทิพย์ มาลี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ผลการทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae*, *S. riobrave* และ *S. glaseri* กับ ทากพามาริออน *Parmarion* sp. ใน ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร ตามแผนการทดลอง CRD จำนวน 7 กรรมวิธีๆ ละ 4 ซ้ำ โดยใช้ *S. carpocapsae*, *S. riobrave* และ *S. glaseri* แต่ละชนิด อัตรา 100,000 และ 200,000 ตัวต่อ กล่อง.และ กรรมวิธีไม่พ่นสาร หลังทดสอบ 3 วัน พบว่า ทากมีอัตราการตาย 0,0,0,0,16.66 % ตามลำดับ เมื่อทำการพิสูจน์ด้วยการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา ก็ไม่พบไส้เดือนฝอยเข้าไปในช่องว่างของลำตัวทั้งระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินหายใจ และ อวัยวะระบบสืบพันธุ์ของทาก และไม่พบเซลล์และเนื้อเยื่อ อวัยวะระบบทางเดินอาหาร อวัยวะระบบสืบพันธุ์ และ ระบบทางเดินหายใจถูกทำลาย ทากพามาริออน จึงไม่ตาย นั้นแสดงว่าไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงเหล่านี้ไม่เฉพาะเจาะจงกับทากพามาริออน

รหัสการทดลอง 03-04-54-01-04-01-02-54

คำนำ

หอยและทากเป็นศัตรูที่สำคัญในสวนกล้วยไม้ โดยจะกัดกินราก ต้นอ่อน ใบ และดอกกล้วยไม้ ทำให้ได้รับความเสียหาย และชะงักการเจริญเติบโต บางครั้งตัวหอยจะติดไปกับดอกกล้วยไม้ ที่ตัดดอกส่งขายในกลุ่มประเทศสหภาพยุโรป สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น เป็นต้น ซึ่งถ้าตรวจพบจะถูกเผาทำลายทันที เป็นการสูญเสียเงินตรา และยังถูกเข้มงวดการส่งออกดอกกล้วยไม้ครั้งต่อไปอีกด้วย

ทากพามาริออน *Parmarion* sp. ลำตัวมีรูปร่างยืดยาว (Longitudinal) ลำตัวอ่อนนุ่มสีเทาดำ มีเมือกมาก เปลือกจะลดรูปเป็นแผ่นเล็ก ๆ ติดอยู่ด้านบนของลำตัวมีแผ่นหนัง (mantle) สีเข้มเกือบดำหุ้มปกคลุมเปลือกอยู่ตรงกลางลำตัว ขนาดลำตัวยาว 30 – 40 มิลลิเมตร ส่วนหัวปลายสุดมีปากอยู่ต่ำลงมาด้านล่าง มีหนวด 1 คู่ อยู่ด้านบนเหนือปากยึดหดได้และมีตาอยู่ปลายหนวดแต่ละข้าง เวลาเคลื่อนที่ก็จะทิ้งเมือกไว้เป็นทาง มีสองในตัวเองกันแต่จับคู่ผสมข้ามตัว ออกไข่เป็นกลุ่มๆ ละ 30 – 50 ฟองตาม ซอกดิน หรือใต้วัสดุ ใบไม้ ที่ชุ่มชื้นเปลือกไข่ใสนิ่มเป็นพวกไคติน ทากออกหากินเวลากลางคืน โดยกัดกิน ลำต้น ใบ ดอกและช่อดอก ผลไม้ และพืชผัก จนเสียหายและการที่มีเมือกมาก จึงเป็นพาหนะนำโรคพืชทำให้พืชที่ถูกกัดเป็นแผลเน่าตาย (ปราสาททอง และ ชมพูนุท, 2550) เกษตรกรจึงทำการป้องกันกำจัดทากค่อนข้างยาก บางครั้งต้องใช้ไฟส่องหาจับเวลากลางคืนและการพ่นด้วยสารเคมีมักไม่ค่อยได้ผล เพราะการพ่นสารต้องให้ถูกตัว ดังนั้นจึงต้องหาวิธีการควบคุมทากอย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย จึงทำการศึกษาการควบคุม ทากโดยชีววิธี ด้วยการใส่ไส้เดือนฝอยมาควบคุมทากพามาริออน ซึ่งในต่างประเทศมีการใช้ไส้เดือนฝอย *Phasmarhabditis hermaphrodita* (Shneider) กำจัดหอยทากในแปลงปลูกพืช (Glen et. al, 1996) ปราสาททอง และ คณะ (2550) ได้ศึกษาประสิทธิภาพไส้เดือนฝอย 5 ชนิดควบคุมหอยทากชัคชิเนียในห้องปฏิบัติการ พบว่าไส้เดือนฝอยสามารถฆ่าหอยได้ การที่หอยทากมีลำตัวอ่อนนุ่มมีเมือกและอาศัยอยู่ตามที่ชื้นแฉะซึ่งเป็นสภาวะที่ไส้เดือนฝอยสามารถเจริญคงอยู่ได้ จึงน่าจะศึกษา วิจัย การใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมทาก เพื่อนำมาใช้เป็นเทคโนโลยีการควบคุมทากในสวนกล้วยไม้ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สัตว์ทดลอง

ทากพามาริออน *Parmarion* sp.

ไส้เดือนฝอย *Steinemema carpocapsae* *S. riobrave* *S. glaseri*

2. เครื่องมือ

2.1 กล่องพลาสติก ขนาด 6 x 10 x 3 เซนติเมตร

2.2 ปีกเกอร์ ปิเปต ที่ชซู อาหารปลา

2.3 กล่องจุลทรรศน์

2.4 เครื่องมือทางเนื้อเยื่อวิทยา

3. สารเคมี

3.1 ฟอร์มาลิน 10% แอลกอฮอล์ 70, 95 และ 100%

3.2 ไซลีน

4. สีย้อม

4.1 สีฮีมาท็อกไซลีน และสีอีโอซิน

วิธีการทดลอง

แผนการทดลอง แบบ CRD 7 กรรมวิธี 4 ซ้ำ

1. ใส่เดือนฝอย *S. carpocapsae* อัตรา 100,000 ตัวต่อ กล่อง
2. ใส่เดือนฝอย *S. carpocapsae* อัตรา 200,000 ตัวต่อ กล่อง
3. ใส่เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 100,000 ตัวต่อ กล่อง
4. ใส่เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 200,000 ตัวต่อ กล่อง
5. ใส่เดือนฝอย *S. glaseri* อัตรา 100,000 ตัวต่อ กล่อง
6. ใส่เดือนฝอย *S. glaseri* อัตรา 200,000 ตัวต่อ กล่อง
7. กรรมวิธีควบคุมให้อาหารปลาปกติ

การทดลอง

1. การทดสอบประสิทธิภาพในห้องปฏิบัติการ

1. เก็บรวบรวมหอยทากพามาเรียม จากแปลงสวนเกษตรกรรมมาเลี้ยงที่ห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร

2. คัดแยกทากที่สมบูรณ์ออกใส่กล่อง ขนาด 6x 10x 3 เซนติเมตร กล่องละ 5 ตัว แล้วให้อาหารปลาชนิดเม็ดเก็บไว้ 1 คืน

3. เตรียมใส่เดือนฝอยแต่ละชนิด จากกลุ่มงานปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา เพื่อนำมาทดสอบกับทากพามาเรียม ตามแผนการทดลองที่กำหนด

2. ศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา

1. เก็บรวบรวมหอยทากพามาเรียม จากแปลงสวนเกษตรกรรมมาเลี้ยงที่ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยกีฏและสัตววิทยา

2. คัดแยกทากที่สมบูรณ์ออกใส่กล่อง ขนาด 6 x 10x 3 เซนติเมตร กล่องละ 10 ตัว แล้วให้อาหารปลาชนิดเม็ดเก็บไว้ 1 คืน

3. เตรียมไส้เดือนฝอยแต่ละชนิดโดยกลุ่มงานปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา เพื่อนำมาทดสอบกับทากพามาริออน ตามแผนการทดลอง หลังจากฟนไส้เดือนฝอย 1-3วัน แล้วสุ่มเก็บทากมีชีวิตอยู่มาคงสภาพเพื่อเก็บเนื้อเยื่ออวัยวะต่างๆ ด้วยฟอร์มมาลิน 10 % นาน 1 วัน แล้วล้างออกด้วยน้ำประปา แล้วเก็บรักษาในแอลกอฮอล์ 70 % นำชิ้นเนื้อเยื่อของทาก *Parmarion* sp มาตัดเป็นชิ้นเล็ก ขนาด 5 มิลลิเมตร ของอวัยวะระบบทางเดินอาหาร อวัยวะระบบสืบพันธุ์ (ovotestis) ระบบทางเดินหายใจ มาทำบล็อกพาราฟิน แล้วตัดแต่งหน้าบล็อก ตัดด้วยเครื่อง ไมโครทอมหนา 5 ไมโครเมตร ตัดแผ่นเนื้อเยื่อบนสไลด์แก้ว อุณหภูมิแห้ง เก็บใส่กล่องสไลด์ เพื่อร้อยย้อมสี ทำสไลด์ถาวร แล้วตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์

4. เก็บข้อมูล

4.1. อัตราการตายของทากพามาริออน ในห้องปฏิบัติการ

4.2. ศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อดูการทำลายของไส้เดือนฝอยต่อทาก

เวลาและสถานที่ เริ่ม ตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2558 แต่เนื่องจากไส้เดือนฝอยที่นำมาทดสอบไม่มีประสิทธิภาพกำจัดทากพามาริออนได้ จึงขอยุติการทดลองใน ปี 2555 รวม 2 ปี

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กรมวิชาการเกษตร และแปลงสวนของเกษตรกร จังหวัด นครปฐม จังหวัด สมุทรสาคร และ จังหวัด กาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

. การทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอย *Steinemema carpocapsae*, *S. riobrave* และ *S. glaseri* กับ ทากพามาริออน *Parmarion* sp. ใน ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร ตามแผนการทดลอง CRD จำนวน 7 กรรมวิธีๆ ละ 4 ซ้ำ โดยใช้ *S. carpocapsae*, *S. riobrave* และ *S. glaseri* แต่ละชนิด อัตรา 100,000 และ 200,000 ตัวต่อ กล่อง.และ กรรมวิธีไม่พ่นสาร โดยคัดแยกทากพามาริออน ที่สมบูรณ์ใส่กล่อง ขนาด 6 x 10 x 3 เซนติเมตร กล่องละ 5 ตัว แล้วให้อาหารปลาชนิดเม็ดเก็บไว้ 1 คืน จึงทำการทดลองด้วยการฟนไส้เดือนฝอยแต่ละชนิดตามอัตราที่กำหนด ตามแผนการทดลอง ลงในกล่อง หลังทดสอบ ตรวจนับหอย และทำการทดลองซ้ำข้างต้นเพื่อการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาด้วยการเก็บทากที่มีชีวิตอยู่หลังทดสอบที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมงซ้ำละ 1 ตัว มาคงสภาพ

ด้วยฟอร์มาลิน 10% นาน 24 ชั่วโมง แล้วล้างน้ำประปา นาน 1 ชั่วโมงเก็บไว้ใน แอลกอฮอล์ 70% นำมาศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาด้วยการทำสไลด์ถาวรและตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่า

หลังการทดสอบ 1 วัน พบว่า ทากพามาริออน ที่ทดสอบด้วย *S. carpocapsae*, *S. riobrave* และ *S. glaseri* แต่ละชนิด อัตรา 100,000 และ 200,000 ตัวต่อ กล่อง.และ กรรมวิธีไม่พ่นสาร ไม่มี ทากตายในแต่ละกรรมวิธีคือ 0, 0, 0, 0, 0, 0 และ 0 % ตามลำดับ

หลังการทดสอบ 2 วัน พบว่า ทากพามาริออน ที่ทดสอบด้วย *S. carpocapsae*, *S. riobrave* และ *S. glaseri* แต่ละชนิด อัตรา 100,000 และ 200,000 ตัวต่อ กล่อง.และ กรรมวิธีไม่พ่นสาร ไม่มี ทากตายในแต่ละกรรมวิธีคือ 0, 0, 0, 0, 0, 0 และ 0 % ตามลำดับ

หลังการทดสอบ 3 วัน พบว่า ทากพามาริออน ที่ทดสอบด้วย *S. carpocapsae*, *S. riobrave* และ *S. glaseri* แต่ละชนิด อัตรา 100,000 และ 200,000 ตัวต่อ กล่อง.และ กรรมวิธีไม่พ่นสาร ไม่มี ทากตายในแต่ละกรรมวิธีคือ 0, 0, 0, 0, 0, 16.66 และ 0 % ตามลำดับ

ผลการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา

เมื่อนำเนื้อเยื่อ อวัยวะระบบทางเดินอาหาร อวัยวะระบบสืบพันธุ์ และ ระบบทางเดินหายใจ ของทากมาตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ปรากฏว่าไม่พบไส้เดือนฝอยในช่องว่างของลำตัวทั้งระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินหายใจ และอวัยวะระบบสืบพันธุ์ของทาก และเซลล์และเนื้อเยื่อ อวัยวะระบบทางเดินอาหาร อวัยวะระบบสืบพันธุ์ และ ระบบทางเดินหายใจ เป็นปกติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ใช่ไส้เดือนฝอย จึงเป็นการบ่งบอกหรือพิสูจน์ได้ว่าไส้เดือนฝอยที่นำมาทดสอบประสิทธิภาพกับทากพามาริออนนั้น ไม่สามารถเข้าไปในตัวทากได้ นั่นแสดงว่าไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงเหล่านี้ไม่เฉพาะเจาะจงกับทากพามาริออน ดังภาพ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอย *Steinemema carpocapsae*, *S. riobrave* และ *S. glaseri* กับ ทากพามาริออน *Parmarion* sp. ใน ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร ตามแผนการทดลอง CRD จำนวน 7 กรรมวิธีๆ ละ 4 ซ้ำ โดยใช้ *S. carpocapsae*, *S. riobrave* และ *S. glaseri* แต่ละชนิด อัตรา 100,000 และ 200,000 ตัวต่อ กล่อง.และ กรรมวิธีไม่พ่นสาร หลังทดสอบ 3 วัน ไม่พบทากตาย ในแต่ละกรรมวิธี เมื่อทำการพิสูจน์ด้วยการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา ก็ไม่พบไส้เดือนฝอยเข้าไปในช่องว่างของลำตัวทั้งระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินหายใจ และอวัยวะระบบสืบพันธุ์ของทาก และไม่พบเซลล์และเนื้อเยื่อ อวัยวะระบบทางเดินอาหาร อวัยวะระบบสืบพันธุ์ และ ระบบทางเดินหายใจถูกทำลาย ทากพามาริออนจึงไม่ตาย นั่นแสดงว่าไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงเหล่านี้ไม่เฉพาะเจาะจงกับทากพามาริออน

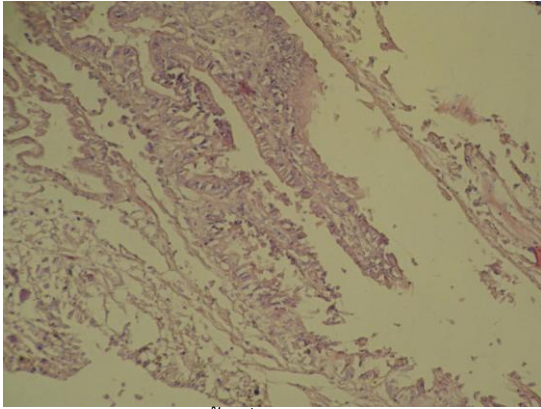
การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ได้อัตราไส้เดือนฝอยที่สามารถกำจัดหาคได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่จากผลการทดลองพบว่า หาคพามาริออนไม่ตาย และทำการพิสูจน์ด้วยการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา ก็ไม่พบไส้เดือนฝอยเข้าไปในช่องว่างของลำตัว นั่นแสดงว่าไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงเหล่านี้ไม่เฉพาะเจาะจงกับหาคพามาริออน จึงเป็นข้อมูลสามารถนำไปใช้อ้างอิงได้สำหรับนักวิจัยและผู้ที่เกี่ยวข้องต่อไป

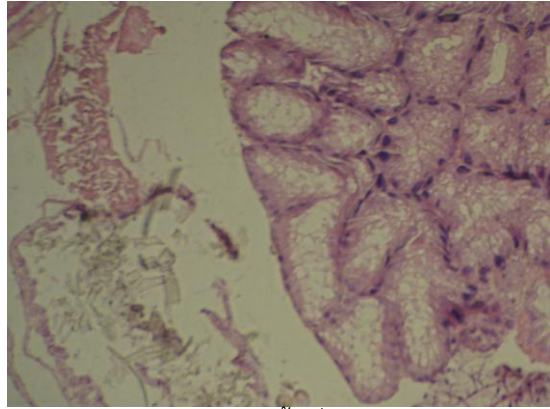
เอกสารอ้างอิง

- ปราสาททอง พรหมเกิด ชมพูนุท จรรยาเพศ วัชรีย์ สมสุข และวิไลวรรณ เวชยันต์. 2550. การศึกษาประสิทธิภาพไส้เดือนฝอย 5 ชนิดกับหอยซัคซิเนียในห้องปฏิบัติการ. ในบทคัดย่อ การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 8. อ. เมือง จ. พิษณุโลก. หน้า 20-21.
- ปราสาททอง พรหมเกิด ชมพูนุท จรรยาเพศ .2552. หอยศัตรูพืชเศรษฐกิจในประเทศไทย เอกสารประกอบการอบรมหลักสูตร แมลง- สัตว์ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด ครั้งที่ 14 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร. 42-64.
- Glen, D. M., M.J. Wilson, L. Hughes, P. Cargeey and A. Hajjar. 1996. Exploring and exploiting the potential of the rhabditiis nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* as a bio-control snail pests in agriculture. Monograph No. 66 British Crop Protection, Council, Farnham .

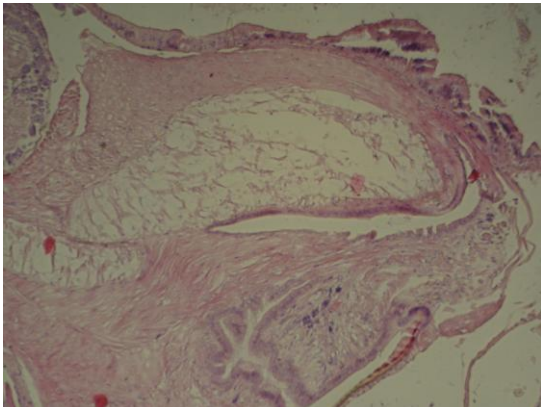
รูปภาพ เนื้อเยื่ออวัยวะของทากพามาริออนที่ทดสอบด้วยไส้เดือนฝอย 3 วัน



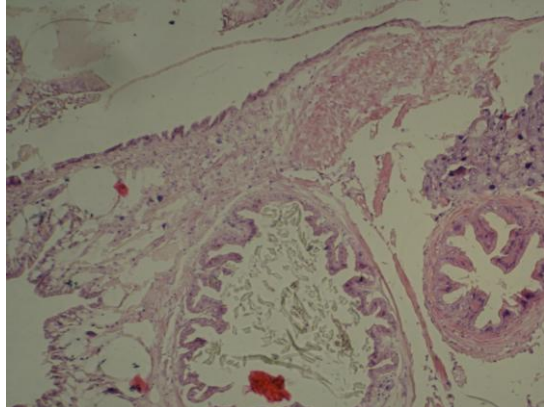
กรรมวิธีควบคุม เนื้อเยื่อทางเดินอาหารปกติ



ไม่พบไส้เดือนฝอย เนื้อเยื่อปกติ



ไม่พบไส้เดือนฝอย เนื้อเยื่อกระเพาะอาหาร



ไม่พบไส้เดือนฝอย เนื้อเยื่อทางเดินอาหาร