

ชุดโครงการ วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

โครงการ วิจัยและพัฒนาการควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตรทางชีวภาพ

การทดลอง ศึกษาประสิทธิภาพไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. ควบคุมทากพามาริออน *Parmarion* sp.

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

คณะผู้ดำเนินการ

หัวหน้าการทดลอง ปราสาททอง พรหมเกิด

ผู้ร่วมงาน ปิยาณี หนูกาฬ ดาราพร รินทะรักษ์ สมเกียรติ กล้าแข็ง วิไลวรรณ เวชยันต์ สาทิพย์ มาลี

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 0,0,0,0,0,16.66 % ตามลำดับ เมื่อทำการพิสูจน์ด้วยการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา ก็ไม่พบไส้เดือนฝอยเข้าไปในช่องว่างของลำตัวทั้งระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินหายใจ และอวัยวะระบบสืบพันธุ์ของทาก และไม่พบเซลล์และเนื้อเยื่อ อวัยวะระบบทางเดินอาหาร อวัยวะระบบสืบพันธุ์ และ ระบบทางเดินหายใจถูกทำลาย ทากพามาริออน จึงไม่ตาย นั้น แสดงว่าไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงเหล่านี้ไม่เฉพาะเจาะจงกับทากพามาริออน

คำนำ

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

ทากพามาริออน *Parmarion* sp. ลำตัวมีรูปร่างยืดยาว (Longitudinal) ลำตัวอ่อนนุ่มสีเทาดำ มีเมือกมาก เปลือกจะลดรูปเป็นแผ่นเล็กๆติดอยู่ด้านบนของลำตัวมีแผ่นหนัง (mantle) สีเข้มเกือบดำหุ้มปกคลุมเปลือกอยู่ตรงกลางลำตัว ขนาดลำตัวยาว 30 – 40 มิลลิเมตร ส่วนหัวปลายสุดมีปากอยู่ต่ำลงมาด้านล่าง มีหนวด 1 คู่อยู่ด้านบนเหนือปากยึดหดได้และมีตาอยู่ปลายหนวดแต่ละข้าง เวลาเคลื่อนที่จะทิ้งเมือกไว้เป็นทาง มีสองในตัวเดียวกันแต่จับคู่ผสมข้ามตัว ออกไข่เป็นกลุ่มๆละ 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 ชนิดควบคุมหอยทากชัคซิเนียในห้องปฏิบัติการ พบว่าไส้เดือนฝอยสามารถฆ่าหอยได้ การที่หอยทากมีลำตัวอ่อนนุ่มมีเมือกและอาศัยอยู่ตามที่ชื้นแฉะซึ่งเป็นสภาวะที่ไส้เดือนฝอยสามารถเจริญงอกอยู่ได้ จึงน่าจะศึกษา วิจัยการใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมทาก 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 บีกเกอร์ ปิเปต ที่ชชู อาหารปลา

2.3 กล้องจุลทรรศน์

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. riobrae* 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. เก็บรวบรวมหอยทากพามาริออน จากแปลงสวนเกษตรกรรมมาเลี้ยงที่ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร
 2. คัดแยกทากที่สมบูรณ์ออกใส่กล่อง ขนาด 6x 10x 3 เซนติเมตร กล่องละ 5 ตัว แล้วให้อาหารปลาชนิดเม็ดเก็บไว้ 1 คืน
 3. เตรียมใส่เดือนฝอยแต่ละชนิด จากกลุ่มงานปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา เพื่อนำมาทดสอบกับทากพามาริออน ตามแผนการทดลองที่กำหนด
2. ศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา
 1. เก็บรวบรวมหอยทากพามาริออน จากแปลงสวนเกษตรกรรมมาเลี้ยงที่ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยกีฏและสัตววิทยา
 2. คัดแยกทากที่สมบูรณ์ออกใส่กล่อง ขนาด 6 x 10x 3 เซนติเมตร กล่องละ 10 ตัว แล้วให้อาหารปลาชนิดเม็ดเก็บไว้ 1 คืน
 3. เตรียมใส่เดือนฝอยแต่ละชนิดโดยกลุ่มงานปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา เพื่อนำมาทดสอบกับทากพามาริออน ตามแผนการทดลอง จากนั้นนำทากมีชีวิตอยู่มาคงสภาพเพื่อเก็บเนื้อเยื่ออวัยวะต่าง ๆ มาคงสภาพด้วยฟอร์มาลิน 10 % นาน 1 วันแล้วล้างออกด้วยน้ำประปา แล้วเก็บรักษาในแอลกอฮอล์ 70 % นำชิ้นเนื้อเยื่อของทาก *Parmarion* sp มาตัดเป็นชิ้นเล็ก ขนาด 5 มิลลิเมตร ของอวัยวะระบบทางเดินอาหาร อวัยวะระบบสืบพันธุ์ (ovotestis) ระบบทางเดินหายใจ มาทำบล็อกพาราฟิน แล้วตัดแต่งหน้าบล็อก ตัดด้วยเครื่องไมโครทอม หนา 5 ไมโครเมตร ติดแผ่นเนื้อเยื่อบนสไลด์แก้ว อุณหภูมิแห้ง เก็บใส่กล่องสไลด์ เพื่อรย้อมสี ทำสไลด์ถาวร แล้วตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์

4. เก็บข้อมูล

4.1. อัตราการตายของทากพามาริออน ในห้องปฏิบัติการ

4.2. ศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อดูการทำลายของไส้เดือนฝอยต่อทาก

เวลา และ สถานที่ทำการทดลอง เริ่ม ตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2558 แต่เนื่องจากไส้เดือนฝอยที่นำมาทดสอบไม่มีประสิทธิภาพกำจัดทากพามาริออนได้ จึงขอยุติการทดลองใน ปี 2555 รวมเวลา 2 ปี

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กรมวิชาการเกษตร และแปลงสวนของเกษตรกร จังหวัด นครปฐม จังหวัด สมุทรสาคร และ จังหวัด กาญจนบุรี

ผล และวิจารณ์ผลการทดลอง

. 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 จึงทำการทดลองด้วยการ พ่นไส้เดือนฝอยแต่ละชนิดตามอัตราที่กำหนด ตามแผนการทดลอง ลงในกล่อง หลังทดสอบ ตรวจนับหอย และทำการทดลองซ้ำข้างต้นเพื่อการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาด้วยการเก็บทากที่มีชีวิตอยู่หลังทดสอบที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมงซ้ำละ 1 ตัว มาคงสภาพด้วยฟอร์มาลีน 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 ไม่มีทากตายในแต่ละ กรรมวิธีคือ 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 ไม่มีทากตายในแต่ละ กรรมวิธีคือ 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 ไม่มีทากตายในแต่ละ กรรมวิธีคือ 0, 0, 0, 0, 0, 16.66 และ 0 % ตามลำดับ

ผลการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา

เมื่อนำเนื้อเยื่อ อวัยวะระบบทางเดินอาหาร อวัยวะระบบสืบพันธุ์ และ ระบบทางเดินหายใจ ของทากมา ตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ปรากฏว่าไม่พบไส้เดือนฝอยในช่องว่างของลำตัวทั้งระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินหายใจ และอวัยวะระบบสืบพันธุ์ของทาก และเซลล์และเนื้อเยื่อ อวัยวะระบบทางเดินอาหาร อวัยวะระบบสืบพันธุ์ และ ระบบทางเดินหายใจ เป็นปกติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ใช้ไส้เดือนฝอย จึงเป็นการบ่งบอกหรือพิสูจน์ได้ว่าไส้เดือนฝอยที่นำมาทดสอบประสิทธิภาพกับทากพามาริออนนั้น ไม่สามารถเข้าไปในตัวทากได้ นั้นแสดงว่าไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงเหล่านี้ไม่เฉพาะเจาะจงกับทากพามาริออน ดังภาพ

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

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 นั้นแสดงว่าไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงเหล่านี้ไม่เฉพาะเจาะจงกับทากพามาริออน

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ได้อัตราไส้เดือนฝอยที่สามารถกำจัดทากได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่จากผลการทดลองพบว่าทากพามาริออนไม่ตาย และทำการพิสูจน์ด้วยการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา ก็ไม่พบไส้เดือนฝอยเข้าไปในช่องว่างของลำตัว นั้นแสดงว่าไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงเหล่านี้ไม่เฉพาะเจาะจงกับทากพามาริออน จึงสามารถนำไปใช้อ้างอิงได้สำหรับนักวิจัยและผู้ที่เกี่ยวข้องต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ปราสาททอง พรหมเกิด ชมพูนุท จรรยาเพศ วชิรี สมสุข และวิไลวรรณ เวชยันต์. 2550. การศึกษา

ประสิทธิภาพไส้เดือนฝอย 5 ชนิดกับหอยชัคซีเนียในห้องปฏิบัติการ. ในบทคัดย่อ การประชุมวิชาการ

อารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 8. อ. เมือง จ. พิษณุโลก. หน้า 20-21.

ปราสาททอง พรหมเกิด ชมพูนุท จรรยาเพศ .2552. หอยศัตรูพืชเศรษฐกิจในประเทศไทย เอกสาร

ประกอบการอบรมหลักสูตร แมลง- สัตว์ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด ครั้งที่ 14 สำนักวิจัยพัฒนาการ

อารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร. 42-64.

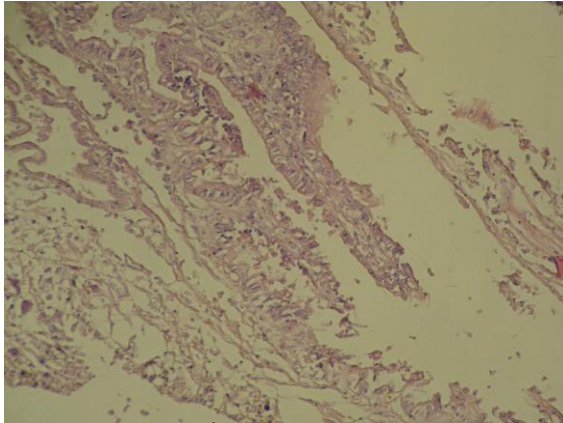
Glen, D. M., M.J. Wilson, L. Hughes, P. Cargeey and A. Hajijar. 1996. Exploring and

exploiting the potential of the rhabditis nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* as a

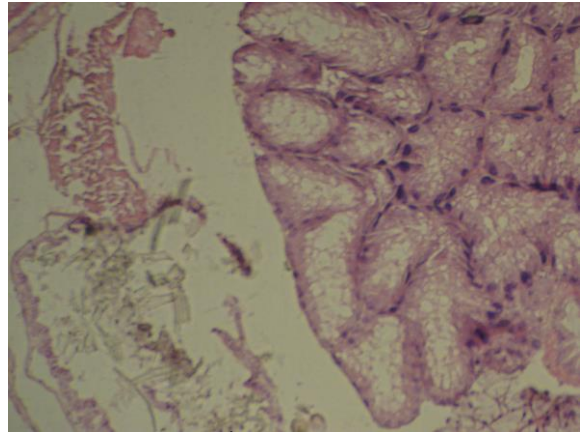
bio-control snail pests in agriculture. Monograph No. 66 British Crop Protection, Council,

Famham .

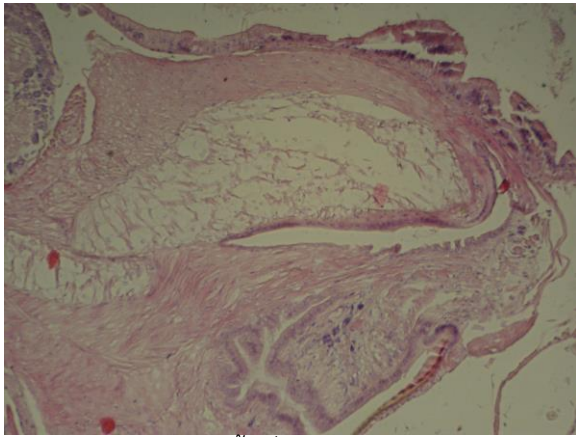
รูปภาพ เนื้อเยื่อวัยระของทาากพามาริออนที่ทดสอบด้วยไส้เดือนฝอย 3วัน



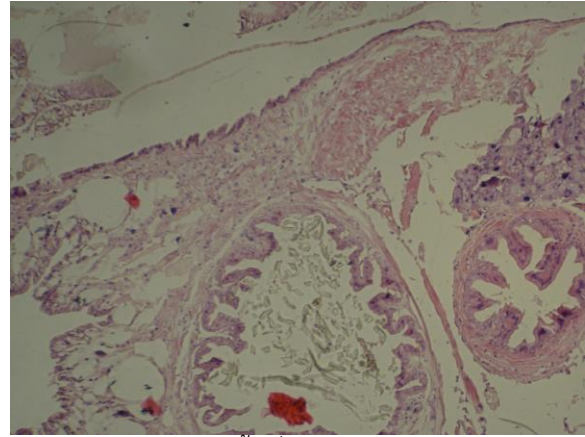
กรรณวิธีควบคุม เนื้อเยื่อทางเดินอาหารปกติ



ไม่พบไส้เดือนฝอย เนื้อเยื่อปกติ



ไม่พบไส้เดือนฝอย เนื้อเยื่อกระเพาะอาหาร



ไม่พบไส้เดือนฝอย เนื้อเยื่อทางเดินอาหาร