

ปฏิสัมพันธ์ระหว่างไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและแมลงหางหนีบ,
Euborellia annulipes (Lucas) ในการทำลายหนอนผีเสื้อข้าวสาร,
Corcyra cephalonica (Stainton)

Interaction between entomopathogenic nematodes and the ring-legged
earwig, *Euborellia annulipes* (Lucas) against the rice moth larva,
Corcyra cephalonica (Stainton)

นิยาภรณ์ ขวัญเกตุ¹ และ อธิราช หนูสีด้า^{1*}

Niyaporn Khwanket¹ and Atirach Noosidum^{1*}

บทคัดย่อ: การทดลองนี้ได้ศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 3 ชนิด (*Steinernema glaseri*, *Steinernema siamkayai* และ *Heterorhabditis bacteriophora*) ที่มีต่อแมลงหางหนีบ (*Euborellia annulipes*) ในการเข้าทำลายหนอนผีเสื้อข้าวสาร (*Corcyra cephalonica*) ซึ่งการศึกษาความรุนแรงของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการเข้าทำลายแมลงหางหนีบ พบว่าไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิดทำให้ระยะตัวอ่อนวัย 1-5 และตัวเต็มวัยของแมลงหางหนีบตายเฉลี่ยเท่ากับ 3-20% หลังจากทดลองไป 4-7 วัน การศึกษาการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและแมลงหางหนีบที่มีต่อหนอนผีเสื้อข้าวสาร (*Corcyra cephalonica*) วัย 5 หลังพบการทำลายโดยคู่แข่งกันแล้ว พบว่าแมลงหางหนีบสามารถกินซากหนอนที่ติดเชื้อไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิดได้ไม่แตกต่างกับชุดควบคุม โดยมีค่าการกินเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 40-80% ในวันที่ 7 และไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิดยังสามารถเข้าทำลายซากหนอนผีเสื้อข้าวสารที่ตายจากแมลงหางหนีบได้ 100% ในระยะเวลา 3 วัน นอกจากนั้นการศึกษการใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงร่วมกับแมลงหางหนีบในการควบคุมหนอนผีเสื้อข้าวสารวัยที่ 5 พบว่าไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิดเข้าทำลายหนอนผีเสื้อข้าวสารได้ไม่แตกต่างกับการใช้ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว ซึ่งที่เวลา 3 วัน มีค่าการตายของหนอนผีเสื้อข้าวสารอยู่ระหว่าง 95-100% และแมลงหางหนีบสามารถกินหนอนผีเสื้อข้าวสารอยู่ระหว่าง 50-75% อย่างไรก็ตามไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิดเข้าทำลายแมลงหางหนีบได้ไม่เกิน 25%

คำสำคัญ: เชื้อก่อโรคกับแมลง, การควบคุมโดยชีววิธี, แมลงหางหนีบ, ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง

ABSTRACT: This study was to evaluate the interaction of three EPNs (*Steinernema glaseri*, *Steinernema siamkayai* and *Heterorhabditis bacteriophora*) to the ring-legged earwig (*Euborellia annulipes*) against the rice moth larva (*Corcyra cephalonica*). The virulence study of the EPNs against *E. annulipes* found that 1st-5th nymphal stages and adult stage of *E. annulipes* were infected by all three EPNs for 3-20% at four to seven days after testing. The nematode infections or insect eating to the 5th larval stage of *C. cephalonica* which were prior killed by *E. annulipes* were examined. The numbers of infected cadaver by the three EPNs which were eaten by *E. annulipes* were not different to control and ranged from 40-80% at seven days. The *C. cephalonica* cadavers which were prior killed by *E. annulipes* were all infected by the three EPNs for 100% at three days. Moreover, the study of the combined application between the three EPNs and *E. annulipes* to control 5th larval stage of *C. cephalonica* found that the infection to *C. cephalonica* larvae by the three EPNs from the combination treatments were not different

¹ ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok, 10900

* Corresponding author: fagrarn@ku.ac.th

from the only EPNs application. The mortalities of *C. cephalonica* larvae in all treatments were 95-100% at three days. Numbers of *C. cephalonica* larvae were still eaten by *E. annulipes* for 50-75% at seven days. However, *E. annulipes* were killed by all three EPNs less than 25%.

Keywords: insect pathogen, biological control, earwig, entomopathogenic nematode

บทนำ

ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง (entomopathogenic nematode) ในวงศ์ Steinernematidae และ Heterorhabditidae อยู่ในอันดับ Rhabditida เป็นหนอนตัวกลมขนาดเล็กที่ก่อโรคกับแมลง (Poinar, 1990; Kaya and Gaugler, 1993) โดย ระยะตัวอ่อนวัยที่ 3 ของไส้เดือนฝอยทั้ง 2 วงศ์ เป็นระยะเข้าทำลายแมลงอาศัย (Infective Juvenile หรือ IJ) ไส้เดือนฝอยระยะ IJ จะเข้าสู่ช่องว่างลำตัวของแมลง โดยการเจาะไชผ่านผนังลำตัวแมลงโดยตรง หรือเข้าทางช่องเปิดต่างๆ เช่น ปาก รูหายใจ และทวาร (Kaya and Gaugler, 1993; Grewal et al., 2005) หลังจากนั้นไส้เดือนฝอยจะปล่อยแบคทีเรียร่วมอาศัย (symbiotic bacteria) ออกสู่ช่องว่างลำตัวแมลงทำให้เลือดของแมลงเป็นพิษ (septicemia) และแมลงอาศัยตายภายใน 24-48 ชม. โดยไส้เดือนฝอยในสกุล *Steinernema* และ *Heterorhabditis* จะทำงานร่วมกับแบคทีเรียในสกุล *Xenorhabdus* และ *Photorhabdus* ตามลำดับ (Ehlers et al., 1998) ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเป็นชีวภัณฑ์ชนิดหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ในทางการค้าเพื่อกำจัดแมลงศัตรูพืชในหลายประเทศทั่วโลก (Grewal et al., 2005; Lewis and Clarke, 2012) เนื่องจากมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดแมลงที่อาศัยอยู่ตามพื้นดิน เช่น หนอนด้วง หนอนแมลงวัน และหนอนผีเสื้อหลายชนิด (Grewal et al., 2005; Lewis et al., 2015; Noosidum et al., 2016) นอกจากนี้ยังมีความปลอดภัยต่อพืช สัตว์เลื้อยคลาน มนุษย์ และไม่ส่งผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม (Georgis et al., 1991; Kaya and Gaugler, 1993; Ehlers et al., 1998; Grewal et al., 2005; Lewis et al., 2015)

การใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงกำจัดแมลงศัตรูพืชนั้นเกษตรกรมักฉีดพ่นลงดินหรือส่วนของพืชบริเวณใกล้พื้นดิน ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงส่วนใหญ่จึงตกลงดินและอาศัยอยู่ในดินเพื่อรอเข้าทำลายเหยื่อในช่วงเวลาที่เหมาะสม (Grewal et al., 2005) ซึ่งโดยทั่วไปในแปลง

เพาะปลูกนอกจากจะมีแมลงศัตรูพืชแล้ว พื้นที่ยังมีแมลงศัตรูธรรมชาติที่มีประโยชน์หลายชนิดจำนวนมากด้วยเช่นกัน เช่น ตัวเต่าลาย ตัวดิน หนอนแมลงวัน ดอกไม้ และแมลงหางหนีบ เป็นต้น (สุภาภา, 2537; วิวัฒน์, 2539; Douang-Boupha et al., 2006) การใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงอาจส่งผลกระทบต่อแมลงศัตรูธรรมชาติเหล่านั้นได้ ซึ่งมีงานวิจัยหลายเรื่องชี้ให้เห็นว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสามารถเข้าทำลายแมลงศัตรูธรรมชาติได้ เช่น ตัวอ่อนของตัวเต่าลาย และตัวอ่อนของแมลงช้างปีกใส (Rojht et al., 2009) แต่ในทางตรงกันข้ามไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงไม่เข้าทำลายแมลงศัตรูธรรมชาติและสามารถใช้ร่วมกันได้ด้วย เช่น มดตัวห้ำ (McCoy et al., 2000) และตัวงักกระดก (Tourtois and Grieshop, 2015) เป็นต้น การใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในแปลงพืชจึงมีโอกาสที่ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและแมลงศัตรูธรรมชาติจะมีโอกาสเกิดปฏิสัมพันธ์ร่วมกันได้

ปัจจุบันการควบคุมแมลงศัตรูพืชนั้นนิยมใช้หลายวิธีร่วมกัน เพื่อลดการใช้สารเคมีที่เป็นพิษกับสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะการนำวิธีการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีแบบต่างๆ มาประยุกต์ใช้ร่วมกันจะช่วยลดปริมาณประชากรศัตรูพืชได้ดีขึ้น ซึ่งทั้งไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและแมลงหางหนีบ (ring-legged earwig, *Euborellia annulipes* (Lucas) นั้นมีรายงานการนำไปใช้เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืชทั้งในพืชผักและพืชไร่ (ชาญณรงค์, 2525) โดยแมลงหางหนีบเป็นแมลงตัวห้ำที่สำคัญ ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของแมลงหางหนีบมีพฤติกรรมเป็นตัวน้ำกัดกินไข่และตัวอ่อนของแมลงและสัตว์ที่มีขนาดเล็ก (Klostermeyer, 1942; Situmorang and Gabriel, 1988) เช่น เพลี้ยอ่อน หนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้าย (Mueller et al., 1988; Nonci, 2005; Douang-Boupha et al., 2006) แมลงหางหนีบอาศัยอยู่ในที่ชื้นและมีดิน เช่น ใต้เศษซากพืช ใบไม้ กาบใบ เปลือกไม้ในแปลงพืช (Klostermeyer, 1942; Nonci, 2005; Douang-Boupha et al., 2006) แปลงข้าวโพด แปลงอ้อย และแปลงพืชผัก

(สุอาภา, 2537; วิวัฒน์, 2539) จะพบว่า อาหารและถิ่นที่อยู่อาศัยของแมลงหางหนีบนั้นมีความใกล้เคียงกับไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ซึ่งทั้งคู่อาจเกิดการแข่งขันในการล่าเหยื่อหรือแมลงหางหนีบอาจถูกไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเข้าทำลายได้ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาความรุนแรงของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการเข้าทำลายแมลงหางหนีบ การแข่งขันในการล่าเหยื่อระหว่างแมลงหางหนีบและไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง และปฏิสัมพันธ์ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและแมลงหางหนีบที่มีต่อเหยื่อเมื่อมีการใช้ร่วมกันในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้หนอนฝัสดั่วข้าวสารเป็นเหยื่อ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการทดลองจะสามารถนำไปช่วยพัฒนาและวางแผนการใช้ศัตรูธรรมชาติได้อย่างถูกต้องและมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

วิธีการศึกษา

1. การเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง แมลงหางหนีบ และมีเชื้อข้าวสาร

1.1 ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง

เพาะเลี้ยงและเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *Steinernema glaseri* Steiner, *Steinernema siamkayai* Stock, Somsook & Reid, และ *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar ตามวิธีการซึ่งดัดแปลงจาก Noosidum et al. (2016) โดยหยดสารแขวนลอยไส้เดือนฝอยปริมาณ 200 IJs/น้ำกลั่น 700 ไมโครลิตร ลงในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5 ซม. ที่มีกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 จำนวน 2 แผ่น วางที่ก้นจานเลี้ยงเชื้อ จากนั้นใส่หนอนกัณฐ์ฝักรั้วที่ 5 จำนวน 5 ตัว/จาน ปิดฝาและทิ้งไว้ในห้องมืดที่อุณหภูมิ 25 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 75% หลังจากนั้นประมาณ 2 วัน นำหนอนที่ตายมาทำ modified White trap (White, 1972) โดยเปิดฝาจานเลี้ยงเชื้อออก และนำไปวางในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 ซม. ที่มีน้ำกลั่นอยู่ 8 มล. เพื่อรักษาความชื้น จากนั้นประมาณ 3-4 วัน ไส้เดือนฝอยจะเคลื่อนที่ออกจากซากแมลงอาศัยลงในน้ำกลั่น จากนั้นเก็บไส้เดือนฝอยที่ออกจากหนอนอายุ 48-72 ซม. ไว้ในขวดพลาสติกเลี้ยงเชื้อขนาด 225 มล. และนำไปเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 °C เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

1.2 แมลงหางหนีบ *E. annulipes*

นำแมลงหางหนีบที่ได้รับความอนุเคราะห์จาก กองส่งเสริมการอารักขาพืชและการจัดการดินปุ๋ย กรมส่งเสริมการเกษตร มาเพาะขยายพันธุ์โดยใช้ตัวเต็มวัยเพศผู้ 10 ตัว และเพศเมีย 10 ตัว ใส่ลงในกล่องพลาสติก ขนาด 12×10×5 ซม. ที่บรรจุดินอบฆ่าเชื้อแล้ว ความชื้น 10% ปริมาณ 200 ก. ใส่อาหารแมลงบดละเอียดปริมาณ 10 ก. ในฝาด้วยขนาดเล็กและนำไปวางในกล่องเลี้ยงแมลงหางหนีบ เปลี่ยนอาหารทุกๆ 3 วัน เลี้ยงแมลงหางหนีบที่อุณหภูมิ 25 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 75% แมลงหางหนีบจะวางไข่บริเวณด้านล่างของกล่องหรือแทรกบริเวณเนื้อดินเมื่อเวลาผ่านไป 5-7 วัน จากนั้นจึงแยกเอาไข่และแม่พันธุ์ไปเลี้ยงในกล่องดินใบใหม่ต่อไป

1.3 การเลี้ยงหนอนฝัสดั่วข้าวสาร *C. cephalonica*

การทดลองนี้ใช้หนอนฝัสดั่วข้าวสารเป็นเหยื่อของศัตรูธรรมชาติทั้งสองชนิด เนื่องจากหนอนฝัสดั่วข้าวสารนั้นสามารถเพาะเลี้ยงได้ง่ายในห้องปฏิบัติการ มีวงจรชีวิตสั้น และสามารถใช้เป็นเหยื่อเพื่อเพาะเลี้ยงทั้งไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและแมลงหางหนีบได้ (นุชรีย์ และคณะ, 2546) จึงมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการทดลองครั้งนี้ ซึ่งมีวิธีการเลี้ยงและเพิ่มปริมาณดังนี้ ผสมรำละเอียด 60 กก. ปลาข้าว 3 กก. และน้ำตาลทราย 1 กก. แล้วอบส่วนผสมในตู้อบที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 8 ชม. จากนั้นนำอาหารที่อบแล้ว 1 กก. ใส่ในกล่องพลาสติกขนาด 12×10×5 ซม. และโรยไข่หนอนฝัสดั่วข้าวสารปริมาณ 0.1 ก. บนอาหารให้ทั่วกล่อง ปิดฝาที่เจาะและบุด้วยตะแกรงลวดตาถี่นำไปเก็บในห้องที่มีอุณหภูมิ 28 °C เป็นเวลา 30-45 วัน จับตัวเต็มวัยฝัสดั่วข้าวสารทั้งเพศผู้และเพศเมียรวมกันใส่ในกรงตาข่ายไนลอนขนาดรู 1.58 มม. นำไปเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 25 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 75% เพื่อให้ฝัสดั่วข้าวสารผสมพันธุ์กัน รองด้านล่างถาดด้วยถาดทิ้งไว้ 1 คืน ใช้แปรงปัดที่กรงเพื่อแยกเอาไข่ออกใส่ถาด ซึ่งจะนำไปเพาะขยายพันธุ์ในรุ่นต่อไป

2. การศึกษาความรุนแรงของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ในการเข้าทำลายแมลงหางหนีบ

ทดสอบความสามารถของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *S. glaseri*, *S. siamkayai* และ *H. bacteriophora* ในการเข้าทำลายแมลงหางหนีบระยะตัวอ่อนวัย 1-5 และระยะตัวเต็มวัย โดยหยดไส้เดือนฝอยแต่ละชนิดปริมาณ 100 IJs/น้ำ 25 ไมโครลิตร ลงบนดินที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อปริมาณ 4 ก. ในกล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด 3×3×2 ซม. และใช้น้ำเปล่าเป็นชุดควบคุม จากนั้นใส่แมลงหางหนีบแต่ละระยะจำนวน 1 ตัว/กล่อง วางอาหารแมวบดละเอียดที่ใส่ในช้อนพลาสติกขนาดเล็ก ปริมาณ 0.5 กรัม ลงในกล่องพลาสติกข้างต้นเพื่อเป็นอาหารของแมลงหางหนีบ หลังจากนั้นปิดด้วยผ้าขาวบาง ขนาด 4×4 ซม. จำนวน 2 แผ่น ปิดทับด้วยฟากกล่องที่มีการเจาะรูขนาดเล็กตรงกลางเพื่อระบายอากาศ วางไว้ในห้องมืดที่อุณหภูมิ 25 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 75% ทำการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ โดยใช้แมลงหางหนีบจำนวน 10 ตัว/ซ้ำ/ชนิดของไส้เดือนฝอย จากนั้นบันทึกการตายของแมลงหางหนีบทุกวัน

3. การศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและแมลงหางหนีบ

3.1 การเข้าทำลายเหยื่อของแมลงหางหนีบหลังจากเหยื่อถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลาย

หยดไส้เดือนฝอยในแต่ละชนิด ได้แก่ *S. glaseri*, *S. siamkayai* และ *H. bacteriophora* ปริมาณ 100 IJs/น้ำ 200 ไมโครลิตร ลงในกล่องสี่เหลี่ยมพลาสติก ขนาด 3×3×2 ซม. ที่มีกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 จำนวน 2 แผ่น วางอยู่ที่ก้นกล่อง จากนั้นใส่หนอนผีเสื้อข้าวสารวัย 5 จำนวน 1 ตัว ลงในกล่องปิดฝาและเก็บในที่มืด เมื่อหนอนตายนำซากหนอนที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายและแมลงหางหนีบระยะตัวอ่อนวัย 5 จำนวน 1 ตัว ที่อดอาหารเป็นเวลา 4 ชม. ใส่ลงในกล่องสี่เหลี่ยมพลาสติกขนาด 3×3×2 ซม. ปิดฝาและเก็บไว้ตามวิธีการที่ 2 ทำการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ โดยใช้แมลงหางหนีบจำนวน 10 ตัว/ซ้ำ/เหยื่อที่ถูกไส้เดือนฝอยแต่ละชนิดเข้าทำลาย จากนั้นบันทึกการกินเหยื่อของแมลงหางหนีบทุกวัน สำหรับชุดควบคุมใช้หนอนผีเสื้อข้าวสารที่ไม่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายเป็นเหยื่อ

3.2 การเข้าทำลายเหยื่อของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงหลังจากเหยื่อถูกแมลงหางหนีบกินตาย

นำแมลงหางหนีบระยะตัวอ่อนวัย 5 จำนวน 1 ตัว ที่อดอาหารเป็นเวลา 4 ชม. และหนอนผีเสื้อข้าวสารวัย 5 จำนวน 1 ตัว ใส่ลงในกล่องสี่เหลี่ยมพลาสติกขนาด 3×3×2 ซม. ปิดฝาและเก็บไว้ตามวิธีการที่ 2 เป็นเวลา 24 ชม. จากนั้นนำซากหนอนผีเสื้อข้าวสารที่โดนแมลงหางหนีบกินตายแล้ว ใส่ลงในกล่องทดสอบใบใหม่ที่มีกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 จำนวน 2 แผ่น วางอยู่ที่ก้นกล่องและหยดไส้เดือนฝอยในแต่ละชนิด ได้แก่ *S. glaseri*, *S. siamkayai* และ *H. bacteriophora* ปริมาณ 100 IJs/น้ำ 200 ไมโครลิตร ปิดฝาและทิ้งไว้ในห้องมืดที่อุณหภูมิ 25 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 75% ทำการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ โดยใช้เหยื่อจำนวน 10 ตัว/ซ้ำ/ไส้เดือนฝอยแต่ละชนิด บันทึกการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยในแต่ละชนิดทุกวัน สำหรับชุดเปรียบเทียบให้ใช้หนอนผีเสื้อข้าวสารที่มีชีวิตตัวใหม่มาเป็นเหยื่อของไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิด และชุดควบคุมให้หยดด้วยน้ำเปล่า 200 ไมโครลิตร

3.3 ปฏิสัมพันธ์ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและแมลงหางหนีบที่มีต่อเหยื่อเมื่อมีการใช้ร่วมกัน

นำแมลงหางหนีบระยะตัวอ่อนวัย 5 จำนวน 1 ตัว ที่อดอาหารเป็นเวลา 4 ชม. และหนอนผีเสื้อข้าวสารวัย 5 จำนวน 1 ตัว ใส่ลงในกล่องสี่เหลี่ยมพลาสติก ขนาด 3×3×2 ซม. ที่มีกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 จำนวน 2 แผ่น วางอยู่ที่ก้นกล่อง จากนั้นหยดไส้เดือนฝอยในแต่ละชนิด ได้แก่ *S. glaseri*, *S. siamkayai* และ *bacteriophora* ปริมาณ 100 IJs/น้ำ 200 ไมโครลิตร ทันที ปิดฝาและเก็บไว้ตามวิธีการที่ 2 โดยใช้น้ำเปล่ากับแมลงหางหนีบและหนอนผีเสื้อข้าวสารเป็นชุดควบคุม ทำการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ โดยใช้หนอนผีเสื้อข้าวสารจำนวน 10 ตัว ใน 1 ซ้ำ/แมลงหางหนีบ/ไส้เดือนฝอยแต่ละชนิด สำหรับชุดเปรียบเทียบประกอบด้วยการใช้ไส้เดือนฝอยแต่ละชนิด ได้แก่ *S. glaseri*, *S. siamkayai* และ *H. bacteriophora* หรือ แมลงหางหนีบเพียงอย่างเดียว กับหนอนผีเสื้อข้าวสาร และชุดควบคุมให้หยดด้วยน้ำเปล่า 200 ไมโครลิตร บันทึกการเข้าทำลายหนอนผีเสื้อข้าวสารของไส้เดือนฝอยแต่ละชนิด หรือการเข้าทำลายหนอนผีเสื้อข้าวสารของแมลงหางหนีบทุกวัน

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

ทุกการทดลองวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) นำผลการทดลองมาแปลงค่าด้วยวิธี square root ($x+1$) และนำไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน โดยใช้ one way ANOVA (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรม R i386 version 3.4.1 (R Core Team, 2016)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การศึกษาความรุนแรงของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการเข้าทำลายแมลงหางหนีบ

การศึกษาความรุนแรงในการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย *S. glaseri*, *S. siamkayai* และ *H. bacteriophora* ที่มีต่อแมลงหางหนีบ *E. annulipes* พบว่า ไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิด ไม่สามารถทำให้ระยะตัวอ่อนวัย 1-5 และตัวเต็มวัยของแมลงหางหนีบตายในวันที่ 1-3 ของการทดลอง แมลงหางหนีบเริ่มตายจากการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิดในวันที่ 4 เป็นต้นไป โดยอัตราการตายของแมลงหางหนีบในการทดลองวันที่ 4-7 มีค่าการตายสะสมเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 3.9-20% แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างการตายในแต่ละวัยของแมลงหางหนีบที่เกิดจากการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิดเมื่อเปรียบเทียบในแต่ละวัน ($F = 0.9-1.9$; $df = 18, 75$; $P > 0.05$) จากการทดลองยังพบว่า ไส้เดือนฝอยที่ทดสอบไม่สามารถทำให้แมลงหางหนีบตายได้ทุกวัย โดยไม่พบการตายของระยะตัวอ่อนวัยที่ 1 และวัยที่ 3 ของแมลงหางหนีบที่เกิดจากเข้าทำลายของ *S. glaseri* ระยะตัวอ่อนวัยที่ 1 และวัยที่ 4 ของแมลงหางหนีบที่เกิดจากเข้าทำลายของ *S. siamkayai* และระยะตัวอ่อนวัยที่ 1, 5 และตัวเต็มวัยของแมลงหางหนีบที่เกิดจากเข้าทำลายของ *H. bacteriophora* (Table 1) ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า ไส้เดือนฝอยสามารถเข้าทำลายแมลง

หางหนีบได้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Hodson et al. (2011) ซึ่งอธิบายว่า ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงตอบสนองกับผิวหนังชั้นนอก (cuticle) ของแมลงหางหนีบ *Forficula auricularia* L. เพราะมีลักษณะคล้ายกับผิวหนังชั้นนอกของหนอนกินรังผึ้ง ไส้เดือนฝอยจึงมีพฤติกรรมการจดจำแมลงอาศัยต่อแมลงหางหนีบและเข้าทำลายแมลงหางหนีบได้ โดยมีค่า LC_{50} ของไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* Nguyen and Smart ที่ทำให้แมลงหางหนีบ *F. auricularia* ตายมีค่าเท่ากับ 226 IJs/แมลงหางหนีบ 1 ตัว จากการทดลองยังพบว่า ไส้เดือนฝอยสามารถเข้าทำลายแมลงหางหนีบวัย 4-5 ที่มีขนาดลำตัวใหญ่กว่าวัย 1-2 ได้มากกว่า เนื่องมาจากในแมลงที่มีขนาดตัวที่ใหญ่กว่าจะพบว่ามีแหล่งอาหารภายในตัวแมลงอาศัยที่เหมาะสมสำหรับแบคทีเรียร่วมอาศัยของไส้เดือนฝอยมากกว่า และเพียงพอให้ไส้เดือนฝอยเกิดกระบวนการพัฒนาและเจริญเติบโตอย่างสมบูรณ์ การพัฒนาตัวภายในตัวแมลงอาศัย 1-3 รุ่น จะขึ้นอยู่กับแหล่งอาหารภายในตัวแมลงและขนาดของตัวแมลงอาศัยเป็นสำคัญ (Chen et al., 2004; Hodson et al., 2011) ในทำนองเดียวกัน Rantala et al. (2007) ยังพบว่า แมลงหางหนีบ *F. auricularia* เพศผู้ มีความแข็งแรงและสามารถป้องกันตนเองจากการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงได้มากกว่าแมลงหางหนีบเพศเมีย และแมลงหางหนีบเพศผู้ที่มีขนาดเล็กกว่าแมลงหางหนีบเพศเมียจะมีอัตราการตายต่ำกว่าแมลงหางหนีบเพศเมีย อย่างไรก็ตามการทดลองครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าไส้เดือนฝอยสามารถเข้าทำลายแมลงหางหนีบได้น้อยมาก ($< 20\%$) ซึ่งอธิบายได้โดย Georgis et al. (1991) ที่รายงานว่า ไม่พบการทำลายของไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* และ *H. bacteriophora* ที่มีต่อแมลงหางหนีบ *Labidura riparia* Pallas ที่ความเข้มข้น 20 IJs/ตร.ซม. ซึ่งเกิดจากพฤติกรรมการป้องกันตัวของแมลงหางหนีบ ที่จะใช้ขาทั้ง 3 คู่ ทำความสะอาดตัวเองและปัดรยางค์บ่อยๆ ที่อาจส่งผลให้ไส้เดือนฝอยหลุดไปจากตัวได้ (Hodson et al., 2011)

Table 1 Percentage mortality (mean±SE) of different stages of *E. annulipes* when exposed to *Steinernema glaseri*, *Steinernema siamkayai* and *Heterorhabditis bacteriophora* at a concentration of 100 IJs/ insect after 1-7 days.

Treatments	Stages of <i>E. annulipes</i>	Mortality of <i>E. annulipes</i> (%) ^{ns/}				
		1 st -3 rd day	4 th day	5 th day	6 th day	7 th day
<i>S. glaseri</i>	1 st nymph	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	2 nd nymph	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	3.9 ± 3.9	3.9 ± 3.9
	3 rd nymph	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	4 th nymph	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	5.0 ± 5.0	10.0 ± 5.8	10.0 ± 5.8
	5 th nymph	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	10.0 ± 5.8	20.0 ± 8.2
<i>S. siamkayai</i>	adult	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	5.0 ± 5.0	5.0 ± 5.0	10.0 ± 5.8
	1 st nymph	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	2 nd nymph	0.0 ± 0.0	3.9 ± 3.9	3.9 ± 3.9	3.9 ± 3.9	13.2 ± 8.7
	3 rd nymph	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	3.9 ± 3.9	3.9 ± 3.9	3.9 ± 3.9
	4 th nymph	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
<i>H. bacteriophora</i>	5 th nymph	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	5.0 ± 5.0
	adult	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	5.0 ± 5.0
	1 st nymph	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	2 nd nymph	0.0 ± 0.0	7.9 ± 4.6	7.9 ± 4.6	7.9 ± 4.6	7.9 ± 4.6
	3 rd nymph	0.0 ± 0.0	3.9 ± 3.9	3.9 ± 3.9	3.9 ± 3.9	3.9 ± 3.9
Control	4 th nymph	0.0 ± 0.0	5.0 ± 5.0	5.0 ± 5.0	20.0 ± 0.0	20.0 ± 0.0
	5 th nymph	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	adult	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Control	all stages	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

^{ns/} Means±SE in the same column are not significantly different by Duncan's multiple range test at $P > 0.05$.

การศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง และแมลงหางหนีบ

การเข้าทำลายเหยื่อของแมลงหางหนีบหลังจากเหยื่อถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลาย

เมื่อนำซากหนอนผีเสื้อข้าวสารที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายเป็นเวลา 24 ชม. มาเป็นอาหารให้แมลงหางหนีบพบว่าแมลงหางหนีบกินซากหนอนผีเสื้อข้าวสารที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายมาก่อนได้ไม่แตกต่างกับชุดควบคุมทุกช่วงเวลา ($F = 0.6-1.2$; $df = 3, 15$; $P > 0.05$) ซึ่งในช่วง 1-2 วันแรก โดยมีค่าการกินสะสมเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 20.0-65.0% เมื่อเวลาผ่านไป 3-7 วัน แมลงหางหนีบกินซากหนอนผีเสื้อข้าวสารที่ถูกไส้เดือนฝอย *S. glaseri*, *S. siamkayai* และ *H. bacteriophora* เข้าทำลายก่อน เท่ากับ 40, 60 และ 50% ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกับชุดควบคุมที่มีค่า 70-80% (Table 2) ผลการทดลองครั้งนี้ที่สอดคล้องกับ McCoy et al. (2000) ที่รายงานว่ามดตัวห้ำ *Solenopsis invicta* Buren และ

Brachymyrmex obscurior Forel ซึ่งเป็นศัตรูธรรมชาติที่สำคัญของด้วงงวง *Diaprepes abbreviates* (L.) ส่งผลให้การดำรงชีพของไส้เดือนฝอย *Steinernema riobrave* Cabanillas, Poinar & Raulston, *Heterorhabditis indica* Poinar, Karunaker & David และ *H. bacteriophora* ลดลงเนื่องจากมดดังกล่าวจะแย่งกินซากหนอนที่ติดเชื้อไส้เดือนฝอย เนื่องจากแมลงผู้ล่าที่อาศัยอยู่ตามพื้นดินจะมีกลไกในการป้องกันตัวจากการเข้าทำลายโดยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงได้ดี (Kaya, 2002) ในทางตรงกันข้ามแมลงบางชนิดจะไม่กีดกันเหยื่อที่ถูกเข้าทำลายโดยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงมาก่อน เนื่องจากมีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย (Kaya, 2002; Ulug et al., 2014) และเป็นผลมาจากสาร (scavenger deterrent factor, SDF) ที่ถูกปล่อยออกมาจากแบคทีเรียร่วมอาศัยของไส้เดือนฝอย เพื่อป้องกันการกินซากของแมลงอื่นๆ หลังจากเหยื่อถูกเข้าทำลายโดยไส้เดือนฝอยแล้ว (Gulcu et al., 2012)

Table 2 Percentage consumption (mean±SE) of *E. annulipes* to *C. cephalonica* cadaver which was prior infected by *Steinernema glaseri*, *Steinernema siamkayai* and *Heterorhabditis bacteriophora* at a concentration of 100 IJs/insect after 1- 7 days.

Treatments	Consumption of <i>E. annulipes</i> (%) ^{ns/}			
	1 st day	2 nd day	3 rd -6 th day	7 th day
<i>C. cephalonica</i> infected by <i>S. glaseri</i>	25.0 ± 18.9	40.0 ± 14.1	40.0 ± 14.1	40.0 ± 14.1
<i>C. cephalonica</i> infected by <i>S. siamkayai</i>	45.0 ± 22.2	60.0 ± 16.3	60.0 ± 16.3	60.0 ± 16.3
<i>C. cephalonica</i> infected by <i>bacteriophora</i>	20.0 ± 8.2	40.0 ± 14.1	50.0 ± 17.3	50.0 ± 17.3
Control (untreated <i>C. cephalonica</i>)	65.0 ± 17.1	65.0 ± 17.1	70.0 ± 19.1	80.0 ± 15.0

^{ns/} Means±SE in the same column are not significantly different by Duncan's multiple range test at P > 0.05.

การเข้าทำลายเหยื่อของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงหลังจากเหยื่อที่ถูกแมลงหางหนีบกัดตาย

เมื่อนำซากหนอนผีเสื้อข้าวสารที่ถูกแมลงหางหนีบกัดตายเป็นเวลา 24 ชม. มาเป็นเหยื่อให้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง พบว่าไส้เดือนฝอย *S. glaseri* และ *S. siamkayai* เข้าทำลายซากหนอนผีเสื้อข้าวสารได้ไม่แตกต่างกับชุดเปรียบเทียบซึ่งใช้หนอนผีเสื้อข้าวสารปกติที่ไม่ถูกแมลงหางหนีบกัดตายมาก่อน แต่แตกต่างกับชุดควบคุมตั้งแต่วันแรก (F = 13.5; df = 6, 27; P < 0.01) โดยเข้าทำลายซากหนอนผีเสื้อได้ 40-100% และเมื่อเวลาผ่านไปพบว่าไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิดเข้าทำลายซากหนอนผีเสื้อข้าวสารแตกต่างจากชุดควบคุม (F = 98.7; df = 6, 27; P < 0.05) โดยในวันที่ 2 ไส้เดือนฝอย *S. glaseri*, *S. siamkayai* และ *H. bacteriophora* เข้าทำลายซากหนอนผีเสื้อข้าวสารที่ถูกแมลงหางหนีบกัดตายมาก่อนเท่ากับ 60, 100 และ 100% ตามลำดับ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกับไส้เดือนฝอยทั้ง

3 ชนิดที่สามารถเข้าทำลายหนอนผีเสื้อข้าวสารที่ไม่ถูกแมลงหางหนีบกัดตายมาก่อนเท่ากับ 100% สำหรับในวันที่ 3 ไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิด สามารถเข้าทำลายซากหนอนที่ถูกแมลงหางหนีบกัดตายและหนอนที่ยังมีชีวิตได้ 100% (Table 3) สอดคล้องกับการทดลองของ San-Blas et al. (2008) พบว่า ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงไม่ได้เป็นเพียงปรสิตของแมลงเท่านั้น ในหนอนกิ้งกิ้งมั้งนั้น ไส้เดือนฝอยสามารถเข้าทำลายซากของแมลงและสามารถสืบพันธุ์ให้ลูกหลานได้ และเมื่อไส้เดือนฝอยเข้าสู่ร่างกายแมลงที่เป็นเหยื่อได้แล้ว ไส้เดือนฝอยจะทำงานร่วมกับแบคทีเรียร่วมอาศัยเพื่อปรับสภาพแวดล้อมในตัวเหยื่อให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยและแบคทีเรีย และยังสร้างสารยับยั้งหรือต่อต้านการรุกรานของศัตรูธรรมชาติชนิดอื่นอีกด้วย (Ehlers et al., 1998; Kaya, 2002; Lewis et al., 2015)

Table 3 Infectivity of *Steinernema glaseri*, *Steinernema siamkayai* and *Heterorhabditis bacteriophora* at a concentration of 100 IJs/insect to *C. cephalonica* cadaver which was prior killed by *E. annulipes* after 1- 7 days.

Treatments	Nematode infection (%) ^{1/}		
	1 st day	2 nd day	3 rd day
<i>S. glaseri</i> ^{a/}	40.0 ± 14.1bc	60.0 ± 14.1bc	100.0 ± 0.0b
<i>S. siamkayai</i> ^{a/}	100.0 ± 0.0c	100.0 ± 0.0c	100.0 ± 0.0b
<i>H. bacteriophora</i> ^{a/}	15.0 ± 9.6ab	100.0 ± 0.0c	100.0 ± 0.0b
<i>S. glaseri</i> ^{b/}	100.0 ± 0.0c	100.0 ± 0.0c	100.0 ± 0.0b
<i>S. siamkayai</i> ^{b/}	100.0 ± 0.0c	100.0 ± 0.0c	100.0 ± 0.0b
<i>H. bacteriophora</i> ^{b/}	100.0 ± 0.0c	100.0 ± 0.0c	100.0 ± 0.0b
Control (untreated <i>C. cephalonica</i>)	0.0 ± 0.0a	0.0 ± 0.0a	0.0 ± 0.0a

^{1/} Means±SE followed by the same letters in the same column are not significantly different by Duncan's multiple range test at P > 0.05.

^{a/} EPN was applied to *C. cephalonica* cadaver which were prior killed by *E. annulipes*.

^{b/} EPN was applied to live *C. cephalonica* larva.

ปฏิสัมพันธ์ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและแมลงหางหนีบที่มีต่อเหยื่อเมื่อมีการใช้ร่วมกัน

ไส้เดือนฝอย *S. glaseri* และ *H. bacteriophora* ที่ใช้ร่วมกับแมลงหางหนีบมีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนผีเสื้อข้าวสารได้มีค่าสูงและไม่มีความแตกต่างกับการใช้ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียวในวันที่ 1-2 ของการทดลอง โดยมีค่าการเข้าทำลายถึง 100% แต่การใช้ไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* ร่วมกับแมลงหางหนีบมีค่าการเข้าทำลายเท่ากับ 85% ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับการใช้ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว ($F = 1128.9$; $df = 3, 15$; $P < 0.01$) อย่างไรก็ตาม ในวันที่ 3 ของการทดลองเป็นต้นไป ไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิดที่ใช้ร่วมกับแมลงหางหนีบและการใช้ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียวสามารถเข้าทำลายหนอนผีเสื้อข้าวสารได้ไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 95-100% โดยไส้เดือนฝอย *S. glaseri* และ *H. bacteriophora* เข้าทำลายหนอนผีเสื้อข้าวสารได้ 100% ไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* เข้าทำลายหนอนผีเสื้อข้าวสารในช่วงวันที่ 3-5 หลังการทดสอบเท่ากับ 95% และเข้าทำลายเพิ่มขึ้นถึง 100% ในวันที่ 6 (Table 4)

การเข้าทำลายเหยื่อของแมลงหางหนีบเมื่อใช้ร่วมกับไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิด พบว่าแมลงหางหนีบที่ใช้ร่วมกับไส้เดือนฝอย *S. glaseri* กินหนอนผีเสื้อข้าวสารเพียง 15% ซึ่งแตกต่างจากการใช้แมลงหางหนีบร่วมกับ *H. bacteriophora* และการใช้แมลงหางหนีบเพียงอย่างเดียว ($F = 11.3$; $df = 3, 15$; $P < 0.05$) ที่สามารถกินหนอนผีเสื้อ

ข้าวสารเท่ากับ 65% ในวันแรก แมลงหางหนีบที่ใช้ร่วมกับไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิด กินหนอนผีเสื้อข้าวสารเพิ่มขึ้นในวันที่ 2 ของการทดลองเป็นต้นไป โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 45-75% และมีค่าไม่แตกต่างกันในทุกชุดการทดลอง ($P > 0.05$) เมื่อเวลาผ่านไป 7 วัน แมลงหางหนีบที่ใช้ร่วมกับไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิด กินหนอนผีเสื้อข้าวสารอยู่ระหว่าง 50-75% ซึ่งไม่แตกต่างกับการใช้แมลงหางหนีบเพียงอย่างเดียว ($P > 0.05$) ที่กินหนอนผีเสื้อข้าวสารได้ 80% (Table 5)

สำหรับการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยที่มีต่อแมลงหางหนีบนั้น ไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิดสามารถเข้าทำลายระยะตัวอ่อนวัยที่ 5 ของแมลงหางหนีบในวันแรกของการทดสอบ และมีค่าการตายเพียง 5-15% ซึ่งไม่แตกต่างกับชุดควบคุม ($F = 2.0$; $df = 3, 15$; $P = 0.17$) เมื่อเวลาผ่านไปพบว่าไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิด สามารถเข้าทำลายระยะตัวอ่อนวัยที่ 5 ของแมลงหางหนีบได้เพิ่มมากขึ้น โดยในวันที่ 2 และ 3 ของการทดลอง ไส้เดือนฝอย *S. glaseri* และ *S. siamkayai* สามารถเข้าทำลายระยะตัวอ่อนของแมลงหางหนีบได้ 25% ซึ่งมีค่าแตกต่างกับไส้เดือนฝอย *H. bacteriophora* และชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($F = 14.6$; $df = 3, 15$; $P < 0.05$) และเมื่อเวลาผ่านไป 5-7 วัน พบว่าไส้เดือนฝอย *S. glaseri*, *S. siamkayai* และ *H. bacteriophora* สามารถเข้าทำลายระยะตัวอ่อนของแมลงหางหนีบไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 25, 25 และ 20% ตามลำดับ (Table 6)

Table 4 Percentage mortality (mean±SE) of *C. cephalonica* larva when exposed to a combination between *E. annulipes* and EPN (*Steinernema glaseri*, *Steinernema siamkayai* or *Heterorhabditis bacteriophora*) at a concentration of 100 IJs/insect after 1- 7 days.

Treatments	Nematode infection (%) ^{1/}		
	1 st -2 nd day	3 rd -5 th day	6 th -7 th day
<i>S. glaseri</i> + <i>E. annulipes</i>	100.0 ± 0.0c	100.0 ± 0.0b	100.0 ± 0.0b
<i>S. siamkayai</i> + <i>E. annulipes</i>	85.0 ± 5.0b	95.0 ± 5.0b	100.0 ± 0.0b
<i>H. bacteriophora</i> + <i>E. annulipes</i>	100.0 ± 0.0c	100.0 ± 0.0b	100.0 ± 0.0b
<i>S. glaseri</i>	100.0 ± 0.0c	100.0 ± 0.0b	100.0 ± 0.0b
<i>S. siamkayai</i>	100.0 ± 0.0c	100.0 ± 0.0b	100.0 ± 0.0b
<i>H. bacteriophora</i>	100.0 ± 0.0c	100.0 ± 0.0b	100.0 ± 0.0b
Control (untreated <i>C. cephalonica</i>)	0.0 ± 0.0a	0.0 ± 0.0a	0.0 ± 0.0a

^{1/} Means±SE followed by the same letters in the same column are not significantly different by Duncan's multiple range test at $P > 0.05$.

Table 5 Percentage consumption (mean±SE) of *E. annulipes* to *C. cephalonica* cadaver when exposed to a combination between *E. annulipes* and EPN (*Steinernema glaseri*, *Steinernema siamkayai* or *Heterorhabditis bacteriophora*) at a concentration of 100 IJs/insect after 1- 7 days.

Treatments	Consumption of <i>E. annulipes</i> (%) ^{1/}			
	1 st day	2 nd day	3 rd - 6 th day	7 th day
<i>S. glaseri</i> + <i>E. annulipes</i>	15.0 ± 5.0b	45.0 ± 15.0b	50.0 ± 17.3b	50.0 ± 17.3b
<i>S. siamkayai</i> + <i>E. annulipes</i>	35.0 ± 12.6bc	60.0 ± 8.2b	65.0 ± 9.6b	65.0 ± 9.6b
<i>H. bacteriophora</i> + <i>E. annulipes</i>	65.0 ± 5.0c	75.0 ± 5.0b	75.0 ± 5.0b	75.0 ± 5.0b
<i>E. annulipes</i>	65.0 ± 5.0c	65.0 ± 5.0b	70.0 ± 19.1b	80.0 ± 15.0b
Control (untreated <i>C. cephalonica</i>)	0.0 ± 0.0a	0.0 ± 0.0a	0.0 ± 0.0a	0.0 ± 0.0a

^{1/} Means±SE followed by the same letters in the same column are not significantly different by Duncan's multiple range test at P > 0.05.

Table 6 Percentage mortality (mean±SE) of *E. annulipes* when applied together with the EPN (*Steinernema glaseri*, *Steinernema siamkayai* or *Heterorhabditis bacteriophora*) at a concentration of 100 IJs/insect after 1- 7 days.

Treatments	Mortality of <i>E. annulipes</i> (%) ^{1/}			
	1 st day	2 nd -3 rd day	4 th day	5 th -7 th day
<i>S. glaseri</i> + <i>E. annulipes</i>	15.0 ± 5.0a	25.0 ± 5.0b	25.0 ± 5.0b	25.0 ± 5.0b
<i>S. siamkayai</i> + <i>E. annulipes</i>	10.0 ± 5.8a	25.0 ± 5.0b	25.0 ± 5.0b	25.0 ± 10.0b
<i>H. bacteriophora</i> + <i>E. annulipes</i>	5.0 ± 5.0a	5.0 ± 5.0a	10.0 ± 5.8a	20.0 ± 8.1b
Control (untreated <i>E. annulipes</i>)	0.0 ± 0.0a	0.0 ± 0.0a	0.0 ± 0.0a	0.0 ± 0.0a

^{1/} Means±SE followed by the same letters in the same column are not significantly different by Duncan's multiple range test at P > 0.05.

การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในปัจจุบันเกษตรกรนิยมใช้หลายๆ วิธีร่วมกัน โดยเฉพาะการใช้ชีวภัณฑ์กำจัดแมลงร่วมกัน หรือการใช้ชีวภัณฑ์กำจัดแมลงร่วมกับแมลงศัตรูธรรมชาติ อาจก่อให้เกิดปฏิสัมพันธ์เชิงส่งเสริมประสิทธิภาพ ลดประสิทธิภาพ หรือไม่มีผลใดๆ เลยก็ได้ (McCoy et al., 2000; Everard et al., 2009; Lordan et al., 2014) ในความสัมพันธ์นี้ความหลากหลายของผู้แข่งขัน (competitor), ผู้ล่า (predator), ปรสิต (parasite) และเชื้อก่อโรค (pathogen) มีอิทธิพลต่อการอยู่รอดและการสืบพันธุ์ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง (Lewis et al., 2015) ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าแมลงหางหนีบและไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงทั้ง 3 ชนิด สามารถใช้ร่วมกันได้โดยไม่ทำให้ประสิทธิภาพของแมลงหางหนีบและไส้เดือนฝอยลดลง ถึงแม้ว่าแมลงหางหนีบจะถูก

ไส้เดือนฝอยเข้าทำลายบ้างก็ตาม ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยหลายเรื่องที่ได้รายงานไว้ว่า ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสามารถใช้ร่วมกับศัตรูธรรมชาติได้ เช่น ไส้เดือนฝอย *S. riobrave*, *H. indica*, *H. bacteriophora*, มดตัวห้ำ *S. invicta* และ *B. obscurior* สามารถอยู่ร่วมกันเป็นศัตรูธรรมชาติที่สำคัญของด้วงงวง *D. abbreviates* (McCoy et al., 2000) หรือการใช้ไส้เดือนฝอย *H. bacteriophora* และ *Steinernema feltiae* Filipjev ร่วมกับไรตัวห้ำ *Hypoaspis aculeifer* (Canestrini) สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยไฟดอกไม้ตะวันตก *Frankliniella occidentalis* (Pergande) ได้เป็นอย่างดี (Premachandra et al., 2003) นอกจากนั้น Shapiro-Ilan and Cottrell (2005) รายงานว่า การใช้ไส้เดือนฝอย *H. bacteriophora* และ *S. carpocapsae* ไม่มีผลกระทบ

ต่อด้วงเต่าลาย *Coleomegilla maculata* (Trusted) ในการป้องกันกำจัดหอนกระทุ้งดำ *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) หรือการใช้ไส้เดือนฝอย *S. feltiae* และ *H. bacteriophora* สามารถใช้ร่วมกับแมลงก้นกระดก *Dalotia coriaria* Kraatz ได้ในเวลาเดียวกันเพื่อควบคุมปริมาณเพลี้ยไฟดอกไม้ *F. occidentalis* และหอนกิน เชื้อเห็ด *Bradysia* spp. (Tourtois and Grieshop, 2015) เนื่องจากแมลงศัตรูธรรมชาติหลายชนิดมีพฤติกรรมในการป้องกันตัวเองจากการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงได้ เช่น แมลงหางหนีบสามารถป้องกันตัว และหลบซ่อนตัวจากไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและยังมีปฏิสัมพันธ์ในเชิงบวกในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชของแอปเปิล (Lordan et al., 2014)

อย่างไรก็ตามงานวิจัยหลายเรื่องได้ชี้ให้เห็นว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสามารถเข้าทำลายแมลงศัตรูธรรมชาติได้ เช่น ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงลดกระบวนการสร้างดักแด้ของแตนเบียน *Bracon hylobii* Ratzeburg ในด้วงงวง *Hylobius abietis* L. แต่อัตราการเป็นตัวเต็มวัยไม่ลดลงเมื่อไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเข้าทำลายในกระบวนการสร้างดักแด้ที่สมบูรณ์ แต่ตัวเต็มวัยที่ออกจากดักแด้จะถูกเข้าทำลายด้วยไส้เดือนฝอยทั้งหมด (Everard et al., 2009) และ Rojht et al. (2009) พบว่าไส้เดือนฝอย *S. feltiae*, *S. carpocapsae*, *H. bacteriophora* มีผลกระทบต่อตัวอ่อนของด้วงเต่า *Adalia bipunctata* L. และตัวอ่อนของแมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea* Stephens อีกด้วย

จากการทดลองเมื่อใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงทั้ง 3 ชนิดร่วมกับแมลงหางหนีบ พบว่าแมลงหางหนีบยังคงเข้าทำลายแมลงศัตรูพืชและกัดกินแมลงศัตรูพืชที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายแล้ว ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Ulug et al., (2014) ที่รายงานว่า แมลงหางหนีบ *Labidura riparia* Pallas กินบางส่วนของซากผีเสื้อหอนกินรังผึ้งที่ถูกเข้าทำลายโดยไส้เดือนฝอย *S. feltiae* แต่แมลงหางหนีบไม่สามารถกินได้ทั้งหมด เนื่องจากซากหอนกินรังผึ้ง *G. mellonella* มีขนาดใหญ่เกินกว่าแมลงหางหนีบจะกินได้หมด และซากที่มีความอุดมสมบูรณ์จึงมีโอกาสนำให้ราเริ่มเจริญเติบโตบนซาก และไม่พบไส้เดือนฝอยที่บันทึกได้ นอกจากนั้นยังมีแมลงกินซากบางชนิดกินแมลงที่ถูกทำลายโดยไส้เดือนฝอย *S. feltiae* เช่น

จิ้งหรีด *Gryllus bimaculatus* De Geer, แมลงสาบอเมริกัน *Periplaneta Americana* L., มด *Tetramorium cheketti* Forel, *Pheidole pallidula* Nylander, ไว *Sancassania polyphyllae* Zachvatkin, แมลงหางดีด *Sinella curviseta* Brook และ *Folsomia candida* Willem (Ulug et al., 2014) ดังนั้นผลกระทบจากผู้บริโภคในธรรมชาติจึงเป็นปัจจัยสำคัญในการลดประสิทธิภาพของการควบคุมโดยชีววิธี ด้วยการลดประชากรของไส้เดือนฝอยในดิน และลดอัตราการสืบพันธุ์ในแมลงอาศัยของไส้เดือนฝอยในทางตรงกันข้ามไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเองก็มีวิธีการป้องกันการรุกรานของศัตรูหรือผู้แข่งขัน เช่น แบคทีเรียร่วมอาศัยของไส้เดือนฝอยในบางชนิดผลิตสารประกอบเพื่อป้องกันมด ant deterrent factor (Zhou et al., 2002) และแมลงกินซาก scavenger deterrent factor (Gulcu et al., 2012) เพื่อปกป้องไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจากการกินของผู้บริโภคอื่นในระหว่างการสืบพันธุ์ภายในซากของแมลง ซึ่งแบคทีเรียร่วมอาศัยมีส่วนช่วยในการป้องกันซากของแมลง โดยมีผลกระทบต่อการตัดสินใจเลือกอาหารของแมลงและสัตว์กินซาก (Griffin, 2012) อย่างไรก็ตาม ปฏิสัมพันธ์ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและแมลงหางหนีบยังขึ้นอยู่กับปัจจัยแวดล้อมอีกหลายด้าน การศึกษาเพิ่มเติมในสภาพแปลงด้วยปัจจัยแวดล้อมต่างๆ กันจะช่วยให้ทราบแนวทางการพัฒนาเทคนิคในการนำไปใช้ที่เหมาะสมได้ดียิ่งขึ้น

สรุป

ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 3 ชนิด สามารถเข้าทำลายแมลงหางหนีบได้ทั้งในระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย แต่มีค่าน้อย ทั้งนี้เนื่องจากแมลงหางหนีบมีการป้องกันตัวจากการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยตามธรรมชาติ การใช้ศัตรูธรรมชาติทั้ง 2 ชนิด ในแปลงพืชจึงไม่ส่งผลต่อจำนวนประชากรของแมลงหางหนีบมากนัก ในทางตรงข้ามแมลงหางหนีบสามารถเข้ากัดกินซากของแมลงที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายก่อนหน้านี้ซึ่งส่งผลให้การขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยนั้นไม่สมบูรณ์และไม่สามารถคงอยู่ในธรรมชาติได้ และเมื่อทดลองใช้ไส้เดือนฝอยร่วมกับแมลงหางหนีบเพื่อกำจัดแมลงศัตรูพืชก็พบว่าทั้งคู่ง่ายๆ ทำหน้าที่ในการกำจัดแมลงได้ดี

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปีงบประมาณ 2559 (รหัสโครงการ ก-๒ (ค) 61.59) ขอขอบคุณกองส่งเสริมการอารักขาพืชและการจัดการดินปุ๋ย กรมส่งเสริมการเกษตร นายวีระชัย สมศรี นางสาวอัจฉริยานิกรกุล และนางสาวสิริรัตน์ แมงทับ ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- ชาญณรงค์ ดวงสะอาด. 2552. พื้นฐานการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี. โรงพิมพ์ดีพรินทร์, เชียงใหม่.
- นุชรีศรี ศิริ ทศนีย์ แจ่มจรรยา และอนันท์ ภาวระพรมราช. 2546. การควบคุมแมลงศัตรูด้วยแมลงเบียน. น. 1-16 ใน: รายงานการวิจัยประจำปี 2546. ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืช โดยชีววิธีแห่งชาติ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ตอนบน.
- วิวัฒน์ เสือสะอาด. 2539. แมลงศัตรูธัญพืชและพืชไร่และศัตรูธรรมชาติ. ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติ ภาคกลาง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม. 199 หน้า.
- สุอาภา ดิสถาพร. 2537. การส่งเสริมการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี. กลุ่มงานชีววิธีป้องกันและกำจัดศัตรูพืช กรมส่งเสริมการเกษตร. 131 หน้า.
- Chen, Z., S. Chen, and D. W. Dickson. 2004. Nematology-Advances and Perspective. pp.1098-1099. CABI Publishing. Wallingford, UK.
- Douang-Boupha, B., T. Jamjanya, W. Khlibsuwan, N. Siri, and Y. Hanboonsong. 2006. Monitoring of insect pests, natural enemies of sweet corn and study on control methods in Khon Kaen University. Khon Kaen Agr. J. 34(1): 1-11.
- Ehlers, R. U., S. Linau, O. Krasomil, and K. H. Osterfield. 1998. Liquid culture of entomopathogenic nematode bacterium complex (*Heterorhabditis megidis* Poinar, Jackson & Klein)/(*Photorhabdus luminescence*) Bio. Control. 43(1): 77-88.
- Everard, A., C. T. Griffin, and A. B. Dillon. 2009. Competition and intraguild predation between the braconid parasitoid (*Bracon hylobii* Ratz) and the entomopathogenic nematode (*Heterorhabditis downesi* Stock) natural enemies of the large pine weevil (*Hylobius abietis* L.). 99: 151-161.
- Georgis, R., H. K. Kaya, and R. Gaugler. 1991. Effect of steinemematid and heterorhabditid nematodes on non target arthropods. Environ. Entomol. 20: 815-822.
- Grewal, P. S., R. U. Ehlers, and D. I. Shapiro-Ilan. 2005. Nematodes as Biocontrol Agents. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Griffin, C. T. 2012. Perspectives on the behavior of entomopathogenic nematodes from dispersal to reproduction: traits contributing to nematode fitness and biocontrol efficacy. J. Nematol. 44(2): 177-184.
- Gulcu, B., S. Hazirb, and H. K. Kaya. 2012. Scavenger deterrent factor (SDF) from symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes. J. Invertebr. Pathol. 110: 326-333.
- Hodson, A. K., M. L. Friedman, L. N. Wu, and E. E. Lewis. 2011. European earwig (*Forficula auricularia*) as a novel host for the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* J. Invertebr. Pathol. 107: 60-64.
- Kaya, H. K. 2002. Natural enemies and other antagonists. pp.189-203. In: R. Gaugler. Entomopathogenic Nematology. CABI Publishing, UK.
- Kaya, H. K., and R. Gaugler. 1993. Entomopathogenic nematodes. Ann. Rev. Entomol. 38: 181-206.
- Klostermeyer, E. C. 1942. The life history and habits of the ringlegged earwig, *Euborellia annulipes* (Lucas) (Order Dermaptera). J. Kans. Entomol. Soc. 15(1): 13-18.
- Lewis, E. E., and D. J. Clarke. 2012. Nematode parasites and entomopathogens. pp.395-424. In: F. Vega, and H. K. Kaya. Insect Pathology, 2nd Edition. Elsevier, Amsterdam, Netherlands.

- Lewis, E. E., S. Hazir, A. Hodson, and B. Gulcu. 2015. Trophic relationships of entomopathogenic nematodes in agricultural habitats. pp.139-163. In: R. Campos-Herrera. Nematode Pathogenesis of Insects and Other Pests. Springer International Publishing, Switzerland.
- Lordan, J., S. Alegre, G. Alins, M. J. Sarasúa, A. Morton, and F. García del Pino. 2014. Compatibility between *Forficula auricularia* and entomopathogenic nematodes to be used in pome fruit pest management. J. Appl. Entomol. 138: 635-643.
- McCoy, C. W., D. I. Shapiro-Ilan, L. W. Duncan, and K. Nguyen. 2000. Entomopathogenic nematodes and other natural enemies as mortality factors for larvae of (*Diaprepes abbreviates* L.) (Coleoptera: Curculionidae) Biol. Control. 19: 182-190.
- Mueller, T. F., L. H. M. Blommers, and P. J. M. Mols. 1988. Earwig (*Forficula auricularia*) predation on the woolly apple aphid (*Eriosoma lanigerum*). Entomol. Exp. Appl. 47: 145-152.
- Nonci, N. 2005. Biology and intrinsic growth rate of earwig *Euborellia annulata*. Indones. J. Agric. Sci. 6(2): 69-74
- Noosidum, A., P. Satwong, A. Chandrapatya, and E. E. Lewis. 2016. Efficacy of *Steinernema* spp. plus anti-desiccants to control two serious foliage pests of vegetable crops, *Spodoptera litula* F. and *Plutella xylostella* L. Biol. Control. 97: 48-56.
- Poinar Jr., G. O. 1990. Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. pp. 23-61. In: R. Gaugler, and H. K. Kaya. Nematodes in Biological Control. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Premachandra, D. W. T. S., C. Borgemeister, O. Berndt, R. U. Ehlers, and H. M. Poehling. 2003. Combined releases of entomopathogenic nematodes and the predatory mite *Hypoaspis aculeifer* to control soil-dwelling stages of western flower thrips *Frankliniella occidentalis*. Biocontrol. 48: 529-541.
- R Core Team. 2016. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Available: <http://www.R-project.org>. Accessed May 5, 2017.
- Rantala, M. J., D. A. Roff, and L. M. Rantala. 2007. Forceps size and immune function in the earwig *Forficula auricularia* L. Biol J Linnean. Soc. 90(3): 509-516.
- Riga, E., J. Whistlecraft, and J. Potter. 2001. Potential of controlling insect pests of corn using entomopathogenic nematodes. Can. J. Plant. Sci. 81: 783-787.
- Rojht, H., M. Kač, and S. Trdan. 2009. Nontarget effect of entomopathogenic nematodes on larvae of two spotted lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae) and green lacewing (Neuroptera: Chrysopidae) under laboratory conditions. J. Econ. Entomol. 102(4): 1440-1443.
- San-Blas, E., and S. R. Gowen. 2008. Facultative scavenging as a survival strategy of entomopathogenic nematodes. Int. J. Parasitol. 38: 85-91.
- Shapiro-Ilan, D. I., and T. E. Cottrell. 2005. Susceptibility of lady beetles (Coleoptera: Coccinellidae) to entomopathogenic nematodes. J. Invertebr. Pathol. 89: 150-156.
- Situmorang, J., and B. P. Gabriel. 1988. Biology of two species of predatory earwigs *Nala lividipes* (Dufour) (Dormaptera: Labiduridae) and *Euborellia annulata* (Fabricius) (Dermaptera: Carconophoridae). Philipp. Entomol. 7(3): 215-238.
- Tourtois, J., and M. J. Grieshop. 2015. Susceptibility of *Dalotia coriaria* (Kraatz) (Coleoptera: Staphylinidae) to entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae and Steinernematidae). Insects. 6(1): 224-235.
- Ulug, D., S. Hazir, H. K. Kaya, and E. Lewis. 2014. Natural enemies of natural enemies: the potential top-down impact of predators on entomopathogenic nematode populations. Ecol. Entomol. 39: 462-469.
- White, G. F. 1972. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. Science. 66(1709): 302-303.
- Zhou, X. S., H. K. Kaya, K. Heungens, and H. Goodrich-Blair. 2002. Response of ants to a deterrent factor(s) produced by the symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes. Appl. Environ. Microbiol. 68: 6202-6209.