

ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ไทย *Steinernema thailandensis* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae)

A New Entomopathogenic Nematode, *Steinernema thailandensis* n. sp.
(Rhabditida: Steinernematidae) from Thailand

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด¹
Nuchanart Tangchitsomkid¹

ABSTRACT

A new entomopathogenic nematode, *Steinernema thailandensis* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae), isolated from soil samples from Kanchanaburi Province, Thailand, can be distinguished from other members of the genus by the length of infective juveniles and shape of spicule of first-generation males. The length of infective juveniles ranged from 404–406 (432) μm . D% and E% of the infective juveniles ranged from 30–37 (33) and 75–91 (83) and lateral field with 6 lines. *S. thailandensis* n.sp. was isolated in the tropical region and it was obvious to be heat tolerant strain from Thailand where it serves as a biological control agent for insect pest at high temperature. This is the first steinernematid recorded from Thailand.

key words : Entomopathogenic nematode, *Steinernema thailandensis* n.sp., morphology, taxonomy, heat tolerant strain.

บทคัดย่อ

ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema thailandensis* n. sp (Rhabditida: Steinernematidae) แยกได้จากตัวอย่างดินในพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี จากการศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอยระยะ infective juvenile และตัวเต็มวัย สามารถจำแนกออกจากชนิดอื่นๆ ในสกุล *Steinernema* โดยไส้เดือนฝอยระยะ infective juvenile มีความยาวเท่ากับ 432 (404–460) ไมครอน มีค่า D% และ E% เท่ากับ 33 (30–37) และ 83 (75–91) ตามลำดับ และมีเส้นข้างลำตัวจำนวน 6 เส้น ปลายหางของตัวเต็มวัยเพศผู้มีรูปลักษณะและตำแหน่งของอวัยวะสืบพันธุ์แตกต่างจากชนิดอื่น ไส้เดือนฝอย *S. thailandensis* n. sp. แยกได้จากเขตร้อนชื้น จัดเป็นสายพันธุ์ที่ทนร้อนและเป็นศัตรูธรรมชาติ

ของแมลง สามารถนำมาพัฒนาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชต่อไป งานวิจัยนี้เป็นรายงานการพบครั้งแรกและเป็นองค์ความรู้ใหม่ต่อการพัฒนางานทางด้านพื้นฐานของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในประเทศไทย

คำหลัก : ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง, *Steinernema thailandensis* n.sp., สัณฐานวิทยา, อนุกรมวิธาน, สายพันธุ์ที่ทนร้อน

คำนำ

ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง (entomopathogenic nematode) เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่พบอยู่ในดิน มีความสัมพันธ์ร่วมกับแบคทีเรียพวก *Xenorhabdus* spp. ที่อาศัยอยู่บริเวณลำไส้ส่วนหน้าของไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลาย (infective-stage juvenile) ในลักษณะ

¹กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

Nematology Section, Plant Pathology & Microbiology Division, Department of Agriculture, Chatuchak, Bangkok 10900

ฟิงพาอาศัยกัน (symbiosis) (Thomas and Poinar, 1979) สิ่งมีชีวิตทั้งสองชนิดนี้มีความสามารถในการทำให้แมลงตายได้ โดยไส้เดือนฝอยเข้าสู่แมลงทางช่องเปิดตามธรรมชาติและไปยังช่องว่างภายในลำตัวของแมลงที่มีน้ำเลือดไหลเวียน จากนั้นไส้เดือนฝอยจะปลดปล่อยเซลล์ของแบคทีเรียออกสู่น้ำเลือดของแมลง แบคทีเรียมีการแบ่งเซลล์เพิ่มปริมาณและเกิดสารพิษ (Akhurst and Boemare, 1990) เป็นผลให้แมลงเกิดอาการเลือดเป็นพิษ (septicemia) และตายในที่สุด ส่วนไส้เดือนฝอยมีการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ภายในตัวแมลงประมาณ 2-3 ชั่ว (generation) ขึ้นกับขนาดของแมลง โดยเซลล์ของแบคทีเรียนี้มีผลต่อการขยายพันธุ์ (reproduction) ของไส้เดือนฝอย เมื่อแมลงเหลือแต่ซาก ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยระยะที่ 3 ปรับสภาพตัวเองเป็นระยะที่เรียกว่า infective juvenile ซึ่งเป็นระยะที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมภายนอกมากที่สุด โดยจะสร้างผนังที่เรียกว่า cuticle คลุมตลอดลำตัว มีการสะสมไขมัน (lipid reserve) และดูดกลืนเซลล์แบคทีเรียเก็บไว้ที่ลำไส้ (intestinal lumen) ก่อนเคลื่อนที่ออกจากซากของแมลงลงสู่ดิน สามารถมีชีวิตรอดโดยไม่กินอาหารได้เป็นเวลานานเพื่อรอแมลงเหยื่อใหม่ต่อไป

ไส้เดือนฝอยจึงจัดเป็นศัตรูธรรมชาติของแมลงอีกชนิดหนึ่ง และถูกคัดเลือกให้เป็น biological control agent เนื่องจากมีคุณสมบัติที่ดีคือ

- 1) ช้ำแมลงตายภายในเวลารวดเร็วไม่เกิน 48 ชม. (Woodring and Kaya, 1998)
- 2) มีศักยภาพในการกำจัดแมลงได้มากกว่า 200 ชนิด (Poinar, 1990)
- 3) สามารถเลี้ยงเพิ่มปริมาณได้ง่ายในอาหารเทียม (Friedman, 1990)
- 4) ได้รับการรับรองความปลอดภัยต่อพืชและสัตว์เลือดอุ่นโดย The United States Environmental Protection Agency (EPA) (Gaugler and Kaya, 1990)

ไส้เดือนฝอยที่เป็นศัตรูแมลง ได้มีการศึกษามากกว่า 70 ปี ทั้งในด้านรูปร่างลักษณะพฤติกรรม ความอยู่รอด ศักยภาพในการกำจัดแมลง และทำการคัดเลือกสายพันธุ์ที่นำมาเพิ่มปริมาณเพื่อนำไปใช้

ประโยชน์ ในปัจจุบันพบว่ามีไส้เดือนฝอยที่มีศักยภาพในการฆ่าแมลง จัดอยู่ใน 2 families คือ Steinernematidae และ Heterorhabditidae ได้รับการยอมรับและนำมาใช้เพื่อการควบคุมแมลงศัตรูพืชอย่างกว้างขวาง มีการค้นหาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในภูมิภาคต่างๆ ของโลก พบว่า ใน family Steinernematidae ประกอบด้วย 2 สกุล (genera) คือ *Steinernema* spp. จำแนกออกเป็นชนิด (species) ได้ 23 ชนิด และสกุล *Neosteinerema* sp. 1. ชนิด มีการคัดเลือกชนิดและสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยนำมาผลิตเป็นการค้า ได้แก่ 6 ชนิด คือ *S. carpocapsae*, *S. glaseri*, *S. feltiae*, *S. riobravus*, *S. scapterisci* และ *S. kushidai* ใน family Heterorhabditidae พบ 1 สกุลคือ *Heterorhabditis* spp. จำแนกได้ 8 ชนิด คัดเลือกผลิตเป็นการค้า 2 ชนิด คือ *H. bacteriophora* และ *H. megidis* ทั้งสอง families นี้มีความสัมพันธ์กับแบคทีเรียในสกุล *Xenorhabdus*

สำหรับในประเทศไทยมีการศึกษาวิจัยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง โดยกรมวิชาการเกษตร นำไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* สายพันธุ์ All strain จากสหรัฐอเมริกา มาเพิ่มปริมาณในอาหารเทียมและนำไปใช้ในสภาพไร่ได้เป็นผลสำเร็จ เทคโนโลยีการผลิตได้ถ่ายทอดสู่ภาคเอกชนเพื่อผลิตเป็นการค้า งานวิจัยทางด้านการผลิตนี้ได้รับความสนใจและมีการศึกษาโดยกองกัญและสัตววิทยา ได้ทำการวิจัยเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* สายพันธุ์ All strain ในถังหมัก (fermenter) เพื่อผลิตให้ได้ปริมาณมากต้นทุนต่ำ โดยได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) นอกจากนั้นงานวิจัยด้านการสำรวจเพื่อค้นหาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ในประเทศไทย ได้ดำเนินงานวิจัยโดยกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา ซึ่งได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจาก สกว. เช่นกัน โดยมีเป้าหมายการวิจัยในขั้นพื้นฐานที่เป็นองค์ความรู้ใหม่ของประเทศ ในการค้นหาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ใหม่ที่พบในเขตร้อนชื้น นำมาเก็บรวบรวมเพื่อการจัดจำแนกชนิดและศึกษาชีววิทยา ตลอดจนพฤติกรรมความอยู่รอดและศักยภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืช เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่ดีต่อไป

งานสำรวจไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในประเทศไทย

เริ่มดำเนินงานตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2539 ถึงเดือนมีนาคม 2541 โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดินครอบคลุมพื้นที่ทุกภาคของประเทศไทย ใน 42 พื้นที่ (จังหวัด) รวมจำนวน 306 ตัวอย่างดิน สามารถแยกไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงได้ใน 9 พื้นที่ของประเทศ และพบไส้เดือนฝอยใน family Steinernematidae เป็นครั้งแรกในพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี และ family Heteromabditidae ในพื้นที่จังหวัดร้อยเอ็ด (Tangchitsomkid and Sontirat, 1998)

ไส้เดือนฝอย steinernematid ที่แยกได้จากจังหวัดกาญจนบุรี จัดเป็นไส้เดือนฝอยที่ค้นพบในเขตร้อนชื้นที่อุณหภูมิสูงถึง $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ จากการทดสอบศักยภาพของไส้เดือนฝอยในระดับอุณหภูมิต่างๆ พบว่ามีศักยภาพในการฆ่าแมลงทดสอบที่อุณหภูมิสูงถึง 38°C . (นุชนารถ, 2540) ความทนทานต่ออุณหภูมิที่สูงนี้เป็นคุณสมบัติที่ดีประการหนึ่งในการนำมาใช้ประโยชน์ในอนาคตต่อไป

การค้นพบไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในประเทศไทย จึงต้องมีการศึกษาจัดจำแนกในระดับชนิด (species) โดยมีวัตถุประสงค์ของงานวิจัยคือ เพื่อต้องการทราบชนิดของไส้เดือนฝอย steinernematid ที่พบในพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี โดยศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยา

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การศึกษาภายใต้กล้อง Ligth microscopy (LM)

ไส้เดือนฝอยสำหรับการวัดขนาดสัดส่วน เตรียมได้จากหนอนกินรังผึ้ง (wax moth, *Galleria mellonella*) ที่ปลูกเชื้อด้วยไส้เดือนฝอย steinernematid ระยะ infective juvenile (IJ) หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 3 และ 6 วัน นำหนอนมาฆ่าได้ด้วยตัวเต็มวัยเพศผู้เพศเมียใน 1st และ 2nd generation ตามลำดับ และไส้เดือนฝอยระยะ IJ ได้จากการเคลื่อนที่ออกมาจากซากของหนอนเมื่ออาหารในตัวหนอนหมด นำไส้เดือนฝอยทั้งหมดมาฆ่าด้วยน้ำอุ่น (40°C) เป็นเวลา 2 นาที เติมน้ำยา fixative (TAF) นำไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปผ่านกระบวนการดองน้ำออกจากตัวไส้เดือนฝอยและแทนที่ด้วยกลีเซอรินตามวิธีการของ Kaya and Stock (1998) ไส้เดือนฝอย

ที่ได้จากกระบวนการดังกล่าวนำไปทำสไลด์ถาวรเพื่อถ่ายภาพและวัดขนาดสัดส่วนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ LM โดยวัดรายละเอียดของส่วนต่างๆ ดังนี้

ความยาวลำตัว (L); ความกว้างลำตัว (W); ความยาววัดจากหัวถึง excretory pore (EP); ความยาววัดจากหัวถึง esophagus (ES); ความยาวหาง (Tail); ความกว้างบริเวณ anus; ความยาว spicule ความยาว gubemaculum; เปอร์เซ็นต์ vulva

นำมาคำนวณค่าสัดส่วน (ratio) โดยใช้ De Man's formula (Poinar, 1986) ดังนี้

ratio : $a = L/W$; $b = L/ES$; $c = L/Tail$;

$d = EP/ES$; $e = EP/Tail$

และคำนวณค่าพารามิเตอร์ตามวิธีการของ Nguyen (1993) ดังนี้

$D\% = EP/ES \times 100$; $E\% = EP/Tail \times 100$;

$SW = \text{spicule length}/\text{width of body at cloaca}$;

$GS = \text{gubemaculum length}/\text{spicule length}$

ถ่ายภาพรูปร่างลักษณะที่สำคัญของไส้เดือนฝอยระยะ IJ ด้วยตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Olympus รุ่น NBZ ที่มี Normarwky's interference contrast

ค่าการวัดขนาดสัดส่วนและรูปร่างลักษณะสำคัญของไส้เดือนฝอย นำไปเปรียบเทียบกับ Key to species of the genus *Steinernema* (Nguyen and Smart, 1996)

2. การศึกษาภายใต้กล้อง Scanning electron microscopy (SEM)

เตรียมไส้เดือนฝอยระยะ IJ ด้วยตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย ได้จากการเลี้ยงเพิ่มปริมาณในหนอนกินรังผึ้ง นำมาล้างด้วย NaCl 0.05% 3 ครั้ง และน้ำกลั่น 3 ครั้ง เพื่อล้างผิวของไส้เดือนฝอยให้สะอาด นำไส้เดือนฝอยทั้งหมดมาฆ่าในน้ำอุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 2 นาที

การเตรียมตัวอย่างเพื่อตรวจ SEM แบ่งเป็นขั้นตอนดังนี้

2.1 ขั้นตอน prefixed ใน 3% glutaraldehyde ใน 0.1 M sodium cacodylate buffer (pH 7.2) เป็นเวลา 24 ชม. ที่อุณหภูมิ 8°C หลังจากนั้นนำไส้เดือนฝอยมาล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง

2.2 ขั้นตอน postfixed นำใส่เต็อนฝอยจากข้อ 2.1
แช่ในสารละลายของ 2% osmium tetroxide เป็นเวลา
12 ชม. ที่อุณหภูมิ 25°C จากนั้นล้างน้ำ 1 ครั้ง

2.3 ขั้นตอนการ dehydrated ใน ethanol ระดับ
ต่างๆ ตั้งแต่ 30, 50, 70, 90, 95 และ 100%

2.4 ขั้นตอนการทำให้แห้ง (critical point dried)
ใน liquid CO₂

2.5 ขั้นตอนการจัดวางใส่เต็อนฝอยบน SEM stub
ภายใต้ stereo microscope

2.6 ขั้นตอนการ coat ด้วยทอง

2.7 นำไปตรวจภายใต้ SEM (JSM-35 CF
model) และถ่ายภาพ

ผลการทดลอง

จากการศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยา
ภายใต้กล้อง LM และ SEM ของตัวอ่อนใส่เต็อนฝอย
ระยะ J ตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย พบว่าใส่เต็อนฝอย
steinernematid ที่แยกจากจังหวัดกาญจนบุรี มีรูปร่าง
ลักษณะทางสัณฐานวิทยาแตกต่างจากใส่เต็อนฝอยชนิด
อื่น สามารถจัดจำแนกเป็นใส่เต็อนฝอยชนิดใหม่ (new
species) และเป็นสายพันธุ์ไทยที่ค้นพบเป็นครั้งแรก
โดยจัดลำดับขั้นตามระบบของอนุกรมวิธาน ได้ดังนี้

phylum Nematoda

class Secernentia

order Rhabditida

family Steinernematidae

genus *Steinernema*

species *thailandensis*

รายละเอียด : *Steinernema thailandensis* n.sp.

Infective-stage juvenile: ผลการวัดขนาดสัดส่วน
ตัวอ่อนระยะ infective juvenile จำนวน 20 ตัว (Table
1) มีรูปร่างผอมบาง ขนาดความยาวและความกว้างลำ
ตัวเล็ก (L=432 µm; W=22 µm) มี sheath ใสหุ้มตลอด
ลำตัว ปิดส่วนปาก ช่องขับถ่ายและช่องเปิดอื่นๆ ริมฝีปาก
ต่อเชื่อมลำตัวไม่แบ่งแยก labial papillae ยังไม่เจริญ
ส่วน cuticle เรียบ มีเส้นข้างลำตัว (lateral line) จำนวน
6 เส้น ปลายหางแหลม (tail tip pointed) ไม่มีติ่ง
(mucron) (Figure 1 A-C)

Female, first generation : ผลการวัดขนาดสัดส่วน
ส่วนตัวเต็มวัยเพศเมียจำนวน 10 ตัว (Table 2) ตัวเต็ม
วัยเพศเมียมีความยาวลำตัวเป็น 3 เท่าของตัวเต็มวัย
เพศผู้ (6,927 vs 2,008) ส่วนของผนังลำตัว (cuticle)
เรียบ ส่วนหัวกลมมีอวัยวะรับความรู้สึก (sensory organ)
ประกอบด้วย 10 papilla แบ่งเป็น 6 labial และ 4 cephalic
ช่องปากช่วงบน (cheilorhabdion) หนา แยกออกจากส่วน
ทางเดินอาหารตอนหน้า ตำแหน่งของช่องขับถ่ายผิว
หนัง (excretory pore) อยู่บริเวณทางเดินอาหารส่วน
กลาง (mid-metacarpus) ส่วนต่อระหว่างฐานของท่อ
ทางเดินอาหาร (esophagus) กับลำไส้ส่วนหน้า (intes-
tine) จะมี junction ที่มีรูปร่างแบบ elliptically shaped
ระบบสืบพันธุ์มีท่อรังไข่เป็นแบบ gonads didelphic
ส่วนปลายของรังไข่ทั้งสองด้านจะ reflexed มีการผสม
พันธุ์แบบ amphimictic อวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย (vulva)
อยู่กลางลำตัว (52%) มีลักษณะนูนเป็นเนิน (pro-
tuberance) ไม่เป็นแบบ flapped epiptygma ความยาว
หาง (28.4 µm) สั้นกว่าความกว้างลำตัวบริเวณ anus
(91.3 µm) ปลายหางมีติ่ง (Figure 1 D,E)

Female, second generation : ผลการวัดขนาด
สัดส่วนตัวเต็มวัยเพศเมียจำนวน 10 ตัว (Table 2) มี
รูปร่างลักษณะโดยทั่วไปเหมือนกับใน first generation
แต่มีขนาดความยาวและความกว้างลำตัวเล็กกว่า
และมีปลายหางที่เรียวแหลมกว่า (Figure 1F, G)

Allotype (Female, first generation, in glycerine):
Length 7,078.0 µm; width 214.1 µm; head to ex-
cretory pore 117.6 µm; head to end of esophagus
278.3 µm; body width at anus 82.3 µm; tail length
27.4 µm; vulva 52.0%

Male, first generation : ผลการวัดขนาดสัดส่วน
ตัวเต็มวัยเพศผู้จำนวน 10 ตัว (Table 3) ตัวเต็มวัยเพศ
ผู้มีขนาดเล็กกว่า 1 ใน 3 เท่าของตัวเต็มวัยเพศเมีย
รูปร่างลำตัวได้สัดส่วนกันจากหัวถึงปลายหาง ส่วน
ปลายหางโค้งเป็นรูป C-shaped เมื่อฆ่าด้วยความร้อน
มีท่อสร้าง sperm ข้างเดียว (testis single) ซึ่งปลาย
testis จะโค้งงอกลับ (reflexed) ส่วนของอวัยวะสืบพันธุ์
(spicule) เป็นคู่ มีสีน้ำตาลเข้ม มีรูปร่างโค้ง ส่วน
ปลายแหลมเป็นเหลี่ยมมุม ส่วนของ gubernaculum ยาว

ส่วนตัวเต็มวัยเพศผู้จำนวน 10 ตัว (Table 3) ตัวผู้ใน second generation มีลักษณะรูปร่างทั่วไปเหมือนกับใน first generation ยกเว้นมีความยาวลำตัวสั้นกว่า (1360 vs 2007 μm) และความกว้างลำตัวเป็นครึ่งหนึ่งของ first generation (84 vs 154 μm) และความกว้างลำตัวเป็นครึ่งหนึ่งของ first generation (84 vs 154 μm)

Holotype (male, first generation, in glycerine)

: Length 1,934.9 μm ; width 157.6 μm ; head to excretory pore 94.6 μm ; head to end of esophagus 198.1 μm ; body width at anus 51.2 μm ; tail length 31.5 μm ; spicule length 88.7 μm ; gubernaculum length 63.0 μm

Type locality : แปลงปลูกมะพร้าว จังหวัดกาญจนบุรี

Type specimens:

Holotype (male, first generation) : แยกจาก hemocoel ของหนอนกินรังผึ้ง slide no. SM-01 เก็บที่กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

Allotype (female, first generation) : แยกจาก hemocoel ของหนอนกินรังผึ้ง slide no SF-01 เก็บที่กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

Paratypes (first generation males, first generation females and infective stage juvenile): แยกจาก hemocoel ของหนอนกินรังผึ้ง จำนวน 20 ตัวของเพศผู้และเพศเมีย และ 10,000 ของระยะ infective juveniles ในน้ำยา fixative (TAF) Vial no. SMFIJ-01 เก็บที่กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

Diagnosis : *Steinernema thailandensis* n. sp.

Steinernema thailandensis n. sp. สามารถแยกออกจากไส้เดือนฝอย species อื่นๆ ใน family Steinernematidae โดยพิจารณาขนาดสัดส่วนของไส้เดือนฝอยระยะ infective juvenile ที่มีขนาดลำตัว ความยาวและความกว้าง ค่า D% และ E% ที่แตกต่าง

(Table 4) เมื่อพิจารณาลักษณะรูปร่างปลายหางของเพศผู้มีความแตกต่างจากไส้เดือนฝอยชนิดอื่น (Figure 2) และจากภาพถ่าย SEM แสดงส่วนหัวของตัวเมียมีลักษณะกลมมน มีส่วนนูนเป็นลักษณะเนินกลม 6 เนิน และเป็นตำแหน่งที่ตั้งของ labial papillae มีจำนวน 6 papillae (Figure 1D) ลักษณะเนินกลมเป็นวงนี้จัดเป็นความแตกต่างที่สำคัญจากไส้เดือนฝอยในชนิดอื่นๆ ดังนั้น สามารถจัดจำแนกเป็น new species ได้ตามการศึกษาลักษณะพื้นฐานทาง morphological characteristic

ข้อพิจารณาอื่นๆ ประกอบการเป็น new species มีเหตุผลสนับสนุนคือ 1) แมลงทอดสอบ (*G. mellonella*) เมื่อถูกเข้าทำลายจะมีสีน้ำตาลดำ-ดำ แตกต่างจาก *S. carpocapsae* All strain ที่มีสีน้ำตาล 2) มีการเพิ่มปริมาณได้เร็วมากในแมลงเหยื่อที่อุณหภูมิสูงถึง 30-38 °ซ. เนื้อเยื่อของแมลงเหยื่อจะแตกและพบไส้เดือนฝอยระยะที่เป็นตัวอ่อนและตัวเต็มวัยอยู่ทั้งด้านในและด้านนอกของซากแมลง 3) ไส้เดือนฝอยระยะ J เก็บในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 28±2°ซ. ใต้นานประมาณ 5 เดือน และยังมีศักยภาพทำลาย แต่ถ้าเก็บที่อุณหภูมิ 10°ซ. J จะตายภายในเวลา 2-3 วัน จัดเป็นไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ทนร้อน (heat tolerant strain) เช่นเดียวกับไส้เดือนฝอย *S. riobravus* ที่พบในรัฐ Texas (Cabanillas et al., 1994) และ *S. abbasi* สายพันธุ์ที่พบในประเทศ Oman (Elawad et al., 1997)

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไส้เดือนฝอย steinernematid ที่แยกได้จากพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี พบว่าเป็นไส้เดือนฝอยชนิดใหม่และเป็นสายพันธุ์ไทยที่ค้นพบเป็นครั้งแรกตั้งชื่อชนิดไส้เดือนฝอยตามแหล่งที่พบคือ *Steinernema thailandensis* n.sp. โดยมีรูปร่างลักษณะและขนาดสัดส่วนแตกต่างจากไส้เดือนฝอยชนิดอื่น และจัดว่าเป็นสายพันธุ์ไทยที่ทนร้อน ความทนร้อนเป็นคุณสมบัติที่ดีประการหนึ่งของการนำขึ้นมาพัฒนาใช้เป็น bio-control agent และ

Table 1. Measurements (in μm) of infective-stage juvenile of *Steinernema thailandensis* n.sp. (n=20).

Character	Mean	SD	Range
Body length	432	13	404 - 460
Greatest width	22	0.6	22 - 24
EP (head to excretory pore)	35	2	34 - 39
ES (head to end of esophagus)	106	4	99 - 112
Tail length	42	2	37 - 47
Ratio:a	20	0.8	18 - 21
Ratio:b	4	0.1	3.8 - 4.3
Ratio:c	10	0.4	9 - 11
D%	33	1.7	30 - 37
E%	83	5	75 - 91

Table 2. Measurements (in μm) of first-generation and second-generation females of *Steinernema thailandensis* n.sp. (n=10.)

Character	First generation			Second generation		
	Mean	SD	Range	Mean	SD	Range
Body length	6,927	871	5,332 - 8,332	3,318	332	2,857 - 3854
Greatest width	230	16	206 - 259	219	10	204 - 243
EP (head to excretory pore)	129	16	94 - 153	86	7	71 - 94
ES (head to end of esophagus)	275	11	256 - 294	271	11	255 - 290
Anal body width	91	11	75 - 106	51	7	39 - 59
Tail length	28	5	20 - 35	42	4	36 - 47
Vulva%	53	0.9	52 - 55	56	1.6	53 - 58

Table 3. Measurements (in μm) of first-generation and second-generation males of *Steinernema thailandensis* n.sp. (n=10.)

Character	First generation			Second generation		
	Mean	SD	Range	Mean	SD	Range
Body length	2,008	120	1,784 - 2,260	1,360	130	1,047 - 1,530
Greatest width	155	8	145 - 172	85	8	70 - 94
EP (head to excretory pore)	93	6	85 - 103	87	8	67 - 98
ES (head to end of esophagus)	188	7	175 - 197	147	8	130 - 159
Anal body width	51	7	39 - 63	29	2	27 - 33
Tail length	33	4	24 - 41	20	3	17 - 27
Spicule length	94	5	24 - 41	85	4	78 - 92
Gubernaculum length	67	4	61 - 79	58	7	43 - 69
D%	50	4	44 - 56	59	6	42 - 64
SW	1.9	0.3	1.3 - 2.5	2.9	0.3	2.4 - 3.3
GS	0.7	0.05	0.6 - 0.8	0.7	0.1	0.5 - 0.8

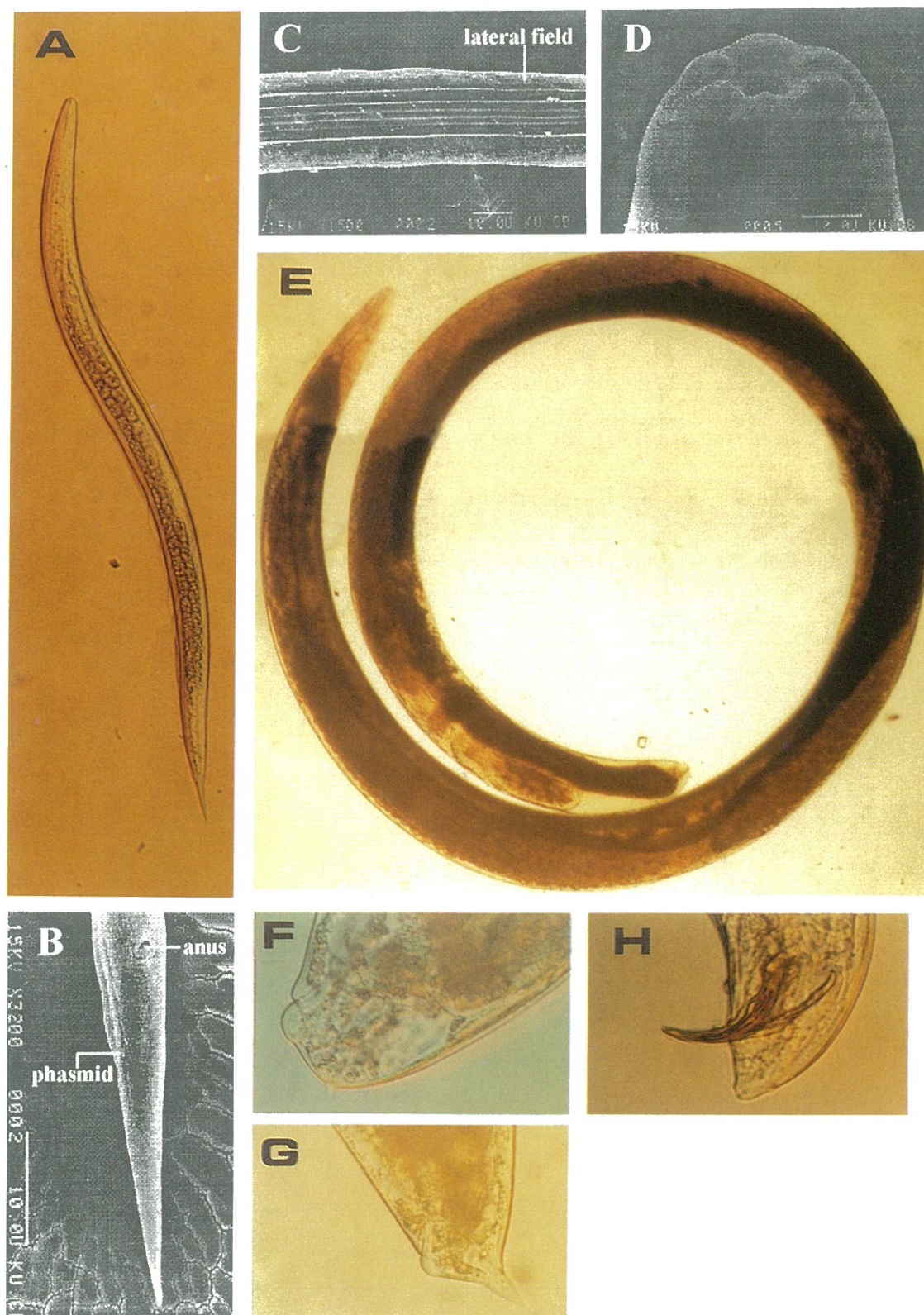


Figure 1. LM and SEM photographs of some structures of *Steinernema thailandensis* n.sp. Infective juveniles, A : Entire body; B : Tail; C : Lateral field. Females, D : Anterior region; E : Entire body; F : 1st generation tail; G : 2nd generation tail. Males, H : Posterior region.

Table 4. Morphometrics (in μm) of infective stage juveniles of *Steinernema thailandensis* n.sp. compared with other *Steinernema* species.

Species	Morphometric character ¹⁾ (Range)									
	L	W	EP	ES	T	a	b	c	D%	E%
<i>S. anomali</i>	1,034 (724-1,408)	46 (28-77)	83 (76-86)	138 (123-160)	75 (64-84)	26 (17-34)	7.6 (5.9-10.8)	13.8 (9.4-16.9)	56 (52-59)	119 (106-130)
<i>S. carpocapsae</i>	558 (438-650)	25 (20-30)	38 (30-60)	120 (103-190)	53 (46-61)	21 (19-24)	4.4 (4.0-4.8)	10.0 (9.1-11.2)	26 (23-28)	60 (54-66)
<i>S. glaseri</i>	1,130 (864-1,448)	43 (31-50)	102 (87-110)	162 (158-168)	78 (62-87)	29 (26-35)	7.3 (6.3-7.8)	14.7 (13.6-15.7)	65 (58-71)	131 (122-138)
<i>S. feltiae</i>	849 (763-950)	26 (22-29)	62 (53-67)	136 (115-150)	81 (70-92)	31 (29-33)	6.0 (5.3-6.4)	10.4 (9.2-12.6)	45 (42-51)	78 (69-86)
<i>S. kushidai</i>	589 (542-662)	26 (22-31)	46 (42-50)	111 (106-120)	50 (44-59)	22.5 (19-25)	5.3 (4.9-5.9)	11.7 (9.9-12.9)	41 (38-44)	92 (84-95)
<i>S. rara</i>	511 (443-573)	23 (18-26)	38 (32-40)	102 (89-120)	51 (44-56)	23 (20-26)	4.7 (4.1-5.6)	9.8 (8.7-11.0)	35 (30-39)	72 (63-80)
<i>S. riobravisi</i>	622 (561-701)	28 (26-30)	56 (51-64)	114 (109-116)	54 (46-59)	23 (20-24)	5.4 (4.9-6.0)	11.6 (10.1-12.4)	49 (45-55)	105 (93-111)
<i>S. scapterisci</i>	572 (517-609)	24 (18-30)	39 (36-48)	127 (143-134)	54 (48-60)	24 (20-31)	4.5 (4.0-4.6)	10.7 (9.2-11.7)	31 (27-40)	73 (60-80)
<i>S. thailandensis</i>	432 (404-460)	22 (22-24)	35 (33-39)	106 (99-112)	42 (37-47)	20 (18-21)	4.1 (3.8-4.3)	10.4 (9.4-11.0)	33 (30-37)	83 (75-91)

1) L = length; W = greatest width; EP = distance from anterior end to excretory pore; ES = esophagus length; T = tail length; a = L/W; b = L/ES; c = L/T; D% = EP/ES $\times$ 100; E% = EP/T $\times$ 100

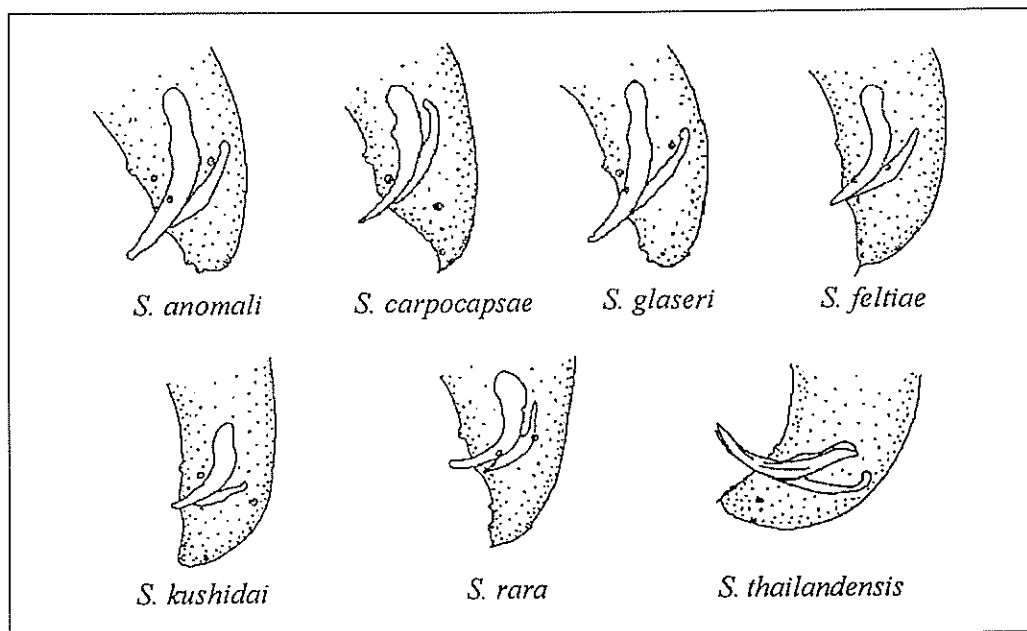


Figure 2. Schematic drawings of male tails of *Steinernema thailandensis* n. sp. compared with other *Steinernema* species.

และแยกออกจาก spicule ส่วนหลัง (posterior) ชัดเจน และในส่วนหน้า (anterior) อยู่ติดกับ spicule เพื่อเป็น ตัวบังคับทิศทางและช่วยพยุง spicule ในขณะผสมพันธุ์ และปลายหางมีติ่ง (mucron) (Figure 1H)

Male, second generation : ผลการวัดขนาดสัด นำกลับมาใช้กับแมลงศัตรูพืชในสภาพแวดล้อมเดียวกัน ความทนทานและศักยภาพในการทำลายย้อมดีกว่า สายพันธุ์จากแหล่งอื่น แต่อย่างไรก็ตาม การคัดเลือกสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่พบในประเทศไทยและเป็น new species เพื่อนำไปผลิตเป็นการค้า นั้น มีข้อพิจารณาอื่นๆ ประกอบอีกมาก นอกเหนือจาก ความทนร้อน ควรจะทำการศึกษาด้านชีววิทยาและ นิเวศวิทยาของไส้เดือนฝอยที่พบในประเทศไทย ซึ่งจัด

เป็นงานพื้นฐานที่มีความสำคัญในแง่ของการนำไป ใช้ประโยชน์ที่ต้องเข้าใจธรรมชาติและพฤติกรรม ของสายพันธุ์ใหม่และเป็นข้อมูลทางวิชาการเพื่อการ เผยแพร่ต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่ให้ทุนอุดหนุนงานวิจัย คุณลักษณะ วรณเกียรติ์ ผู้อำนวยการกองโรงพืชและจุลชีววิทยา ให้การสนับสนุนในการดำเนินงานวิจัย คุณองุ่น ลีวานิช และคุณสม หมาย ชื่นราม กองกีฏและสัตววิทยา ให้คำแนะนำใน การตั้งชื่อชนิดของไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ไทย

เอกสารอ้างอิง

- นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2540. การค้นพบไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง สายพันธุ์ใหม่ของประเทศไทย. ข่าวสารโรคพืชและ จุลชีววิทยา 7: 15-19.
- Akhurst, R.J. and N.E. Boemare. 1990. Biology and taxonomy of *Xenorhabdus*. In R. Gaugler and H.K. Kaya (eds.). Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. 75-90 pp.
- Cabanillas, H.E., G.O.Jr. Poinar and J.R. Raulston. 1994. *Steinernema riobravo* n.sp. (Rhabditida: Steinernematidae) from Texas. Fundamental and Applied Nematology 17: 123-131.
- Elawad, S., W. Ahmad and A.P. Reid. 1997. *Steinernema abbasi* sp.n. (Nematoda: Steinernematidae) from the Sultanate of Oman. Fundamental and Applied Nematology 20(5): 435-442.
- Friedman, M.J. 1990. Commercial production and development. In R. Gaugler and H.K. Kaya (eds.). Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. 153-172 pp.
- Gaugler, R. and H.K. Kaya. 1990. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. 365 p.
- Kaya, H.K. and S.P. Stock. 1988. Techniques in Insect Nematology. Department of Nematology. University of California, Davis. California. 100 p.
- Nguyen, K.B. 1993. Identification to Entomopathogenic Nematode Species of the Genus *Steinernema*. Department of Entomology & Nematology. IFAS, University of Florida, Gainesville. 24 p.
- Nguyen, K.B. and G.C. Smart, Jr. 1996. Identification of entomopathogenic nematodes in the Steinernematidae and Heterorhabditidae (Nemata : Rhabditida). Journal of Nematology 28: 286-300.
- Poinar, G.O., Jr. 1986. Recognition of *Neoaplectana* species (Steinernematidae : Rhabditida). Proc. Helminthol. Soc. Wash. 53: 121-129.
- Poinar, G.O., Jr. 1990. Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae, pp. 23-61. In R. Gaugler and H.K. Kaya (Eds.). Entomopathogenic nematodes in biological control. Boca Raton. CRC Press.
- Tangchitsomkid, N. and S. Sontirat. 1998. Occurrence of entomopathogenic nematodes in Thailand. The Kasetsart Journal (In press).
- Thomas, G.M. and G.O. Poinar, Jr. 1979. *Xenorhabdus* gen. nov., a genus of entomopathogenic, nematophilic bacteria of the family Enterobacteriaceae. International Journal Systematic Bacteriology 29: 352-360.
- Woodring, J.L. and H.K. Kaya. 1988. Steinernematid and heterorhabditid nematodes : a handbook of techniques. Southern Cooperative Series Bulletin. 331. Arkansas Agricultural Experiment Station. Fayetteville, AK. 30 p.