



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การวิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่อาศัยร่วมกับไส้เดือนฝอย
ศัตรูแมลงต่อการควบคุมไรไขปลาโดยชีววิธี

โดย ดร. ประภัศร บุษหมั่น

๒๑ พฤษภาคม พ.ศ. ๒๕๕๓

สัญญาเลขที่ MRG 5080066

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การวิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่อาศัยร่วมกับไส้เดือนฝอย
ศัตรูแมลงต่อการควบคุมไรไข่น้ำปลาโดยชีววิธี

โดย ดร. ประภัศร บุษหมั่น

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างสูงยิ่ง ศาสตราจารย์ ดร.อังศุมาลย์ จันทราปัติย์ ขอกราบขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ที่ได้สนับสนุนด้านงบประมาณ

ขอขอบคุณ คุณศิริพรรณ โสพานบัว คุณปิยรัตน์ นามเสนา และคุณจิรายุ สาอุตม์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ที่ให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดีในการใช้ห้องปฏิบัติการและคำแนะนำในการใช้เครื่องมือต่างๆ ในการทำวิจัยครั้งนี้

ท้ายสุดขอขอบคุณ ครอบครัวตระกูลไก่อ ที่ให้การสนับสนุนด้านกำลังใจด้วยดีตลอดมา ประโยชน์และคุณค่าของงานวิจัยนี้ ขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

ดร. ประภัสสร บุษหมั่น

ผู้วิจัย

Abstract

Project Code: MRG 5080066

Project Title: Research and development on efficacy of symbiotic bacteria of entomopathogenic nematode to control mushroom mite.

Investigator: Dr. PRAPASSORN BUSSAMAN

Faculty of Technology, Mahasarakham University.

E-mail Address: prapassorn.c@msu.ac.th,

Project Period: December 1, 2006 – November 30, 2008.

Luciaphorus sp. (Acari: Pygmephoridae) is the most destructive pest of mushroom cultivation in Thailand. This pygmephorid mite is responsible for the production losses of *Lentinus squarrosulus*, *L. polychrous*, *Auricularia auricula* and *Felmularia velutipes* mushrooms in the North and Northeast of Thailand. *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*, the bacteria symbiotically associated with heterorhabditid and steinernematid nematodes, are known to be highly pathogenic to insects. This research aims to investigate the efficacy of symbiotic bacteria for controlling mite (*Luciaphorus* sp.) which is a pest of several mushroom species. Six species of symbiotic bacteria, *Xenorhabdus* sp. (X1), *X. nematophila* (X2), *X. poinarii* (X4), *Xenorhabdus* sp. (X5), *Photorhabdus luminescens* (P1) and *P. luminescens* akhurstii (P2), were tested for activity against mushroom mites. Among these cells suspension of 1×10^8 cells/ml of *Xenorhabdus* sp. (X1) was shown to cause mite mortality up to 82.5%. Moreover, the 2- and 3- day old X1 bacterial cultures were found to be capable of causing mites mortality at 82.5 and 74.17%, respectively. In addition, the bacterial culture grown at an optimal temperature (30°C) could kill mites at a mortality rate of 83.33%. The cell-free supernatant of X1 was also found to kill effectively the mushroom mites at a rate as high as 90.83%. Furthermore, the cell-free supernatant of 2- and 3- day old X1 culture could result in mite mortality at 87.5 and 78.33%, respectively. From the X1 culture grown at 30°C, the cell-free supernatant could kill the mites at a rate of 87.5%. In conclusion, this study showed that both the cell suspensions and the cell-free supernatant of *Xenorhabdus* sp. (X1) bacteria has miticidal properties and that it possesses the potential as a biocontrol agent for controlling mites infesting the mushroom cultivation.

Key word: *Xenorhabdus* sp., *Luciaphorus* sp. biological control

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
ความสำคัญและที่มา	1
วัตถุประสงค์	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
2 วิธีดำเนินการวิจัย	3
ขั้นตอนดำเนินการวิจัย	3
การเตรียมการทดลอง	3
การทดสอบทางชีววิทยา	4
การวิเคราะห์ข้อมูล	5
3 ผลการทดลอง	6
การคัดเลือกสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงสุดต่อการทำลายไรโซปลา	6
การทดสอบความสามารถของแบคทีเรีย <i>Xenorhabdus</i> sp. (X1)	
ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการทำลายไรโซปลา	8
การทดสอบความสามารถของแบคทีเรีย <i>Xenorhabdus</i> sp. (X1)	
ที่อายุต่างกันในการทำลายไรโซปลา	11
การทดสอบความสามารถของแบคทีเรีย <i>Xenorhabdus</i> sp. (X1)	
ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ในการทำลายไรโซปลา	13
ผลของแบคทีเรีย <i>Xenorhabdus</i> sp. (X1) ต่อจำนวนลูกของไรโซปลา	15
4 สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	18
บรรณานุกรม	20
Output ที่ได้จากงานวิจัย	23
ผลงานตีพิมพ์ (Reprint)	25

บัญชีตาราง

ตาราง	หน้า
1 ชนิดของไส้เดือนฝอยและแบคทีเรียที่มีประโยชน์อยู่ร่วมกับไส้เดือนฝอย.....	4
2 ผลของเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย <i>Xenorhabdus</i> sp. (X1) ต่อจำนวนลูกของไรโซปลา บ่มที่อุณหภูมิต่างกันและที่ระดับความเข้มข้น 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร.....	16
3. ผลของส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย <i>Xenorhabdus</i> sp. (X1) ต่อจำนวนลูก ของไรโซปลา บ่มที่อุณหภูมิต่างกัน.....	17

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ

หน้า

1. เปอร์เซ็นต์การตายของไรโซปลาหลังจากได้รับเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย
ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และบ่มที่อุณหภูมิ
28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน 7
2. เปอร์เซ็นต์การตายของไรโซปลาหลังจากได้รับส่วนไสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย
บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน 8
3. เปอร์เซ็นต์การตายของไรโซปลาเพศเมียหลังจากได้รับเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย
Xenorhabdus sp. (X1) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส
เป็นเวลา 5 วัน 9
4. เปอร์เซ็นต์การตายของไรโซปลาเพศเมียหลังจากได้รับส่วนไสที่ผ่านการกรองเซลล์ของ
แบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และบ่มที่อุณหภูมิ 28
องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน 10
5. เปอร์เซ็นต์การตายของไรโซปลาเพศเมียหลังจากได้รับเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย
Xenorhabdus sp. (X1) ที่มีอายุต่างกัน ที่ความเข้มข้น 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตรและ
บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน 11
6. เปอร์เซ็นต์การตายของไรโซปลาเพศเมียหลังจากได้รับส่วนไสที่ผ่านการกรองเซลล์ของ
แบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) อายุต่างกันและบ่มที่อุณหภูมิ
28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน 12
7. เปอร์เซ็นต์การตายของไรโซปลาเพศเมียหลังจากได้รับเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย
Xenorhabdus sp. (X1) บ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ เมื่อเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย
อายุ 2 วันและที่ระดับความเข้มข้น 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็น 5 วัน 14
8. เปอร์เซ็นต์การตายของไรโซปลาเพศเมียหลังจากได้รับส่วนไสที่ผ่านการกรองเซลล์ของ
แบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) บ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ เมื่อส่วนไสที่ผ่านการกรองเซลล์
ของแบคทีเรียอายุ 2 วัน และบ่มเป็นเวลา 5 วัน 15

บทนำ

ความสำคัญและที่มา

เกษตรกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือนิยมเพาะเห็ดขอนขาวกันมาก เนื่องจากเป็นเห็ดที่ให้ผลผลิตเร็วกว่าเห็ดชนิดอื่น ราคาดีและเป็นที่ต้องการของตลาดแต่การเพาะเห็ดขอนขาวต้องประสบปัญหาที่สำคัญประการหนึ่งคือการเข้าทำลายของไรไขปลา ซึ่งเป็นไรที่มีขนาดเล็กมากยากต่อการมองเห็นด้วยตาเปล่า ต้องใช้แว่นขยายขนาด 10 เท่าส่องดู ตัวเต็มวัยเมื่ออยู่ในระยะตั้งท้องจะมองเห็นด้วยตาเปล่าเป็นจุดเล็กๆ สีขาวใสกระจายเต็มไปหมด ลักษณะดังกล่าวนี้จะคล้ายไขปลาจึงทำให้เกษตรกรผู้เพาะเห็ดเรียกไรชนิดนี้ว่าไรไขปลา

ไรไขปลามีวงจรชีวิตสั้นมาก จึงสามารถแพร่ระบาดได้อย่างรวดเร็วและรุนแรงจนเกิดความเสียหายโดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะที่เส้นใยเห็ดกำลังแผ่ออกไป หากมีไรดังกล่าวระบาดก็จะทำให้เส้นใยขาดออกจากกันและไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ ไรไขปลาชอบกัดกินส่วนของเส้นใยเห็ดที่กำลังเจริญอยู่ในถุงก้อนเชื้อ ทั้งในระยะบ่มเส้นใยและในระยะเปิดดอก ไรจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากเส้นใยเห็ด จึงทำให้เส้นใยเห็ดสีขาวที่เดินเต็มถุงแล้วนั้นฝ่อไป เหลือแต่วัสดุที่ใช้เพาะซึ่งเป็นก้อนขี้เลื่อยสีน้ำตาลแดง หากไรเข้าทำลายในระยะเปิดดอกจะทำให้ดอกเห็ดแคระแกร็นจำหน่ายไม่ได้ราคา (เทวินทร์, 2546) ความเสียหายที่เกิดจากไรไขปลารุนแรงมากจนทำให้เกษตรกรบางรายต้องเลิกกิจการไปในที่สุด (ชาญยุทธ์ และนงนุช, 2540) นอกจากนี้ไรไขปลายังเป็นศัตรูของเห็ดอื่นๆ เช่น เห็ดกระด้าง เห็ดเข็มทองและเห็ดหลินจือ (ฉัตรชัย และคณะ, 2543)

เกษตรกรไทยมักแก้ปัญหาการแพร่ระบาดของไรไขปลาโดยใช้สารเคมี แต่การใช้สารเคมีเหล่านี้นานๆ จะทำให้ไรไขปลาพัฒนาตัวเองเพื่อให้ต้านทานต่อสารเคมีหรือเกิดการดื้อต่อสารเคมี ทำให้ต้องเพิ่มอัตราการใช้สารเคมีมากขึ้นเพื่อกำจัดไรไขปลา นอกจากนั้นการใช้สารเคมีปริมาณมากๆ จะทำให้เกิดปัญหาสารเคมีตกค้างในดอกเห็ด ซึ่งก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ อันอาจเป็นผลทำให้เกิดการกีดกันทางการค้าและกระทบกระเทือนต่อเศรษฐกิจของประเทศโดยรวมได้

การควบคุมโดยชีววิธี (biological control) เป็นการนำเอาแมลงหรือศัตรูของศัตรูพืชในธรรมชาติ และจุลินทรีย์มาใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช ซึ่งเป็นวิธีการที่ไม่ต้องใช้สารเคมี และจากการตรวจเอกสารพบว่าแบคทีเรีย *Xenorhabdus* และ *Photorhabdus* ที่อาศัยร่วมกับไส้เดือนฝอยวงศ์ *Steinernematidae* และ *Heterorhabditidae* สามารถนำมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และเมื่อใช้ในปริมาณมากก็ไม่ก่ออันตรายต่อผู้บริโภค ไม่มีสารตกค้างและแมลงศัตรูพืชไม่สามารถพัฒนาตัวเองให้ต้านทานต่อแบคทีเรียได้ ดังรายงานวิจัยของ Bussaman และคณะ (2006) พบว่าแบคทีเรียที่อาศัยร่วมกับไส้เดือนฝอยชื่อ *Photorhabdus* และ *Xenorhabdus* แสดงความเป็นพิษต่อไรศัตรูเห็ดขอน และพบว่า GPS 12 และ GPS 11 จาก *Photorhabdus luminescens* ssp. *laumondii* สามารถฆ่าไรได้ 90 – 95 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 2 วัน ผลการศึกษานี้เป็นรายงานแรกในการค้นพบคุณสมบัติในการฆ่าทำลายไรของแบคทีเรียที่อาศัยร่วมกับไส้เดือนฝอยกลุ่ม *Photorhabdus* และ *Xenorhabdus*

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความสามารถของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* spp. และ *Photorhabdus* spp. ในการทำลายไรไขปลา เพื่อเป็นแนวทางในการแก้ไขปัญหาการแพร่ระบาดของไรศัตรูพืชที่ก่อความเสียหายให้กับผลผลิตทางการเกษตรต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาคุณสมบัติ ทดสอบความเป็นพิษและประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่อาศัยร่วมกับไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงต่อการควบคุมไรไขปลาโดยชีววิธี
2. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่อาศัยร่วมกับไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง กับสารกำจัดแมลงที่ใช้ในปัจจุบัน
3. เพื่อแนวทางในการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบคุณสมบัติ ความเป็นพิษและประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่อาศัยร่วมกับไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงต่อการควบคุมแมลงศัตรูพืชบางชนิดโดยชีววิธี
2. ทราบประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่อาศัยร่วมกับไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ต่อการควบคุมแมลงศัตรูพืช เปรียบเทียบกับสารกำจัดแมลงที่ใช้ในปัจจุบัน
3. เป็นแนวทางในการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี

วิธีดำเนินการวิจัย

ขั้นตอนดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมการทดลอง

1.1 การเตรียมเส้นใยเห็ดขอนขาว (*Lentinus squarrosulus*) นำหัวเชื้อเห็ดขอนขาวจากกรมวิชาการเกษตรมาทำการเพาะเลี้ยง 2 วิธี คือ

1.1.1 นำเส้นใยเห็ดขอนขาวมาทำการเพาะบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ในจานเพาะเชื้อเพื่อใช้เป็นอาหารของไรโซปลาที่ใช้ในการทดสอบ โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตรเจาะวันที่มีเส้นใยขึ้นอยู่เต็ม ไปวางคว่ำลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร PDA และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

1.1.2 นำเชื้อเห็ดขอนขาวมาเพาะในขวดแก้วฝาเกลียวขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 8.5 เซนติเมตร เพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับการเตรียมไรโซปลาที่ใช้ทดสอบ โดยใส่ส่วนผสมของวัสดุเพาะที่ใช้ในการเพาะเห็ด ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากฟาร์มเห็ดศิริพรรณ อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม ให้มีความสูงประมาณ 3 เซนติเมตรจากก้นขวด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อแล้วแช่เส้นใยเห็ดขอนขาวลงไป บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์

1.2 การเตรียมไรโซปลา (*Luciaphorus perniciosus*) สำหรับใช้ทดสอบทางชีววิทยา

นำไรโซปลาจากก้อนเห็ดที่มีไรโซปลาระบาดอยู่จากฟาร์ม ระพีพรรณ จังหวัดขอนแก่น ใส่ลงในขวดแก้วที่มีเชื้อเห็ดขอนขาวเจริญอยู่เต็ม (จากข้อ 1.1.2) จากนั้นนำขวดเลี้ยงไรโซปลาไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส

1.3 การเตรียมแบคทีเรีย

1.3.1 การแยกแบคทีเรียที่อาศัยร่วมกับไส้เดือนฝอย ขั้นตอนการแยกแบคทีเรียจากไส้เดือนฝอยตามวิธีการ Kaya และ Stock (1997 : 281-324) โดยทำการแยกเชื้อแบคทีเรียจากไส้เดือนฝอยที่ก่อโรคในแมลง (ตาราง 1) โดยการปล่อยไส้เดือนฝอยระยะ infective juvenile ให้เข้าสู่หนอนผีเสื้อกินไข่ผึ้ง หลังจากหนอนผีเสื้อกินไข่ผึ้งตายจึงใช้กรรไกรผ่าตัดตัดช่องท้องเพื่อให้เกิดช่องเปิด จากนั้นใช้หลอดเขี่ยเชื้อตะของเหลวที่ไหลออกมาจากช่องท้องของหนอนผีเสื้อกินไข่ผึ้งไปปลูกผ่านบนอาหาร NBTA และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำโคโลนีมาแยกใหม่จนได้โคโลนีเดี่ยวๆ ของแบคทีเรียแล้วเก็บในอาหารแข็ง LB slant สำหรับเก็บรักษาแบคทีเรียเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

ตาราง 1 ชนิดของไส้เดือนฝอยและแบคทีเรียที่มีประโยชน์อยู่ร่วมกับไส้เดือนฝอยที่ใช้ในการทดลอง

สายพันธุ์ของไส้เดือนฝอย	สายพันธุ์ของแบคทีเรีย	รหัส
<i>Steinernema siamkayai</i>	<i>Xenorhabdus</i> sp.	X1
<i>S. carpocapsae</i>	<i>X. nematophila</i>	X2
<i>S. glaseri</i>	<i>X. poinarii</i>	X4
<i>S. riobrave</i>	<i>Xenorhabdus</i> sp.	X5
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	<i>Photorhabdus luminescens</i>	P1
<i>H. indica</i>	<i>P. luminescens akhurstii</i>	P2

1.3.2 การเตรียมแบคทีเรียเพื่อใช้ในการทดลอง

1.3.2.1 ขั้นตอนการเตรียมเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย (cell suspensions)

ถ่ายแบคทีเรียบริสุทธิ์ซึ่งแยกได้จากข้อ 1.3.1 ลงในอาหารเหลว (LB broth) ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร เขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

1.3.2.2 ขั้นตอนการเตรียมส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย

นำเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียจากข้อ 1.3.2.1 มาปั่นเหวี่ยงในเครื่องปั่นแยกตะกอนที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15-20 นาที จากนั้นจึงนำเอาเฉพาะส่วนใสไปกรองผ่านกระดาษกรองที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 0.22 ไมโครเมตร และนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

2. การทดสอบทางชีววิทยา

2.1 ทดสอบความสามารถของแบคทีเรียในการทำลายไรโซปลา ตามวิธีการของ Bussaman และคณะ (2006) ดังนี้

2.1.1 ทดสอบความสามารถของเซลล์แขวนลอยและส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียในการทำลายไรโซปลา

นำเซลล์แขวนลอยหรือส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียซึ่งเตรียมจากเซลล์แขวนลอยที่ความเข้มข้น 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 500 ไมโครลิตร มาทดสอบ โดยการฉีดพ่นด้วย foggy ลงบนจานเพาะเชื้อที่บรรจุอาหาร PDA ซึ่งมีเส้นใยเห็ดเจริญเต็มบนผิวหน้าอาหาร จากนั้นจึงนำไรเพคเมียซึ่งออกจากท้องแม่ประมาณ 1 วัน จำนวน 100 ตัววางบนจานเพาะเชื้อที่บรรจุอาหาร PDA และนำจานเพาะเชื้อที่บรรจุอาหารทั้งหมดไปบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส บันทึกการตายของไรโซปลาทุกวันเป็นเวลา 5 วัน ชุดควบคุมใช้อาหารเหลว LB broth และสารฆ่าไร (propargite) ทำการทดลอง 4 ซ้ำ และคัดเลือกเซลล์แขวนลอยและส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ดีที่สุดต่อการทำลายไรโซปลาใช้ในการทดลองต่อไป

2.1.2 ทดสอบความเข้มข้นของเซลล์แขวนลอยและส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียต่อการทำลายไรโซปลา

นำเซลล์แขวนลอยหรือส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียที่ผ่านการคัดเลือกจากข้อ 2.1.1 โดยเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียที่ระดับความเข้มข้น 0 , 1×10^2 , 1×10^4 , 1×10^6 , 1×10^8 และ 1×10^{10} เซลล์ต่อมิลลิลิตร หรือส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียดังกล่าวข้างต้น มาทดสอบโดยการฉีดพ่นเซลล์แขวนลอยหรือส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียปริมาตร 500 ไมโครลิตร บนจานเพาะเชื้อที่บรรจุอาหาร PDA ที่มีเส้นใยเห็ดเจริญเต็มผิวหน้าอาหาร นำไรเฟสเมียมที่ออกจากท้องแม่อายุประมาณ 1 วัน จำนวน 100 ตัววางบนอาหาร PDA และนำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปป้อนในที่มีดที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส บันทึกการตายของไรโซปลาทุกวันเป็นเวลา 5 วัน ชุดควบคุมใช้สารฆ่าไร (propargite) ทำการทดลอง 4 ซ้ำ

2.1.3 ทดสอบประสิทธิภาพของเซลล์แขวนลอยและส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียที่อายุต่างกันต่อการทำลายไรโซปลา

นำเซลล์แขวนลอยหรือส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียที่ระดับความเข้มข้นที่สามารถทำลายไรโซปลาได้ดีที่สุดจากข้อ 2.1.2 มาเลี้ยงในอาหารเหลว (LB broth) นาน 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน แล้วนำมาทดสอบกับไรโซปลาโดยการฉีดพ่นแบคทีเรียในรูปแบบเซลล์แขวนลอยหรือส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงบนจานเพาะเชื้อเห็ดขอนขาว จากนั้นนำไรเฟสเมียมที่ออกจากท้องแม่ประมาณ 1 วัน จำนวน 100 ตัว วางในจานเพาะเชื้อ นำจานเพาะเชื้อไปป้อนในที่มีดที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส บันทึกการตายของไรโซปลาทุกวันเป็นเวลา 5 วัน ชุดควบคุมใช้อาหารเหลว LB broth และสารฆ่าไร (propargite) ทำการทดลอง 4 ซ้ำ

2.1.4 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมของเซลล์แขวนลอยและส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียต่อการทำลายไรโซปลา

นำเซลล์แขวนลอยหรือส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียชนิดที่สามารถทำลายไรโซปลาได้ดีที่สุดจากข้อ 2.1.3 มาทดสอบโดยการฉีดพ่นเซลล์แขวนลอยหรือส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงไปบนจานเพาะเชื้อ นำไรเฟสเมียมที่ออกจากท้องแม่ประมาณ 1 วัน จำนวน 100 ตัว วางในจานเพาะเชื้อ นำจานเพาะเชื้อไปป้อนในที่มีดที่อุณหภูมิ 20, 25, 30 และ 35 องศาเซลเซียส บันทึกการตายของไรโซปลาทุกวันเป็นเวลา 5 วันและนับจำนวนลูกของไรรุ่นใหม่ที่เกิดขึ้นโดยแยกเป็นเพศผู้และเพศเมีย ชุดควบคุมใช้อาหารเหลว LB broth และสารฆ่าไร (propargite) ทำการทดลอง 4 ซ้ำ

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One – way Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเป็นรายคู่โดยใช้ LSD -test ของโปรแกรม SAS (1990)

ผลการทดลอง

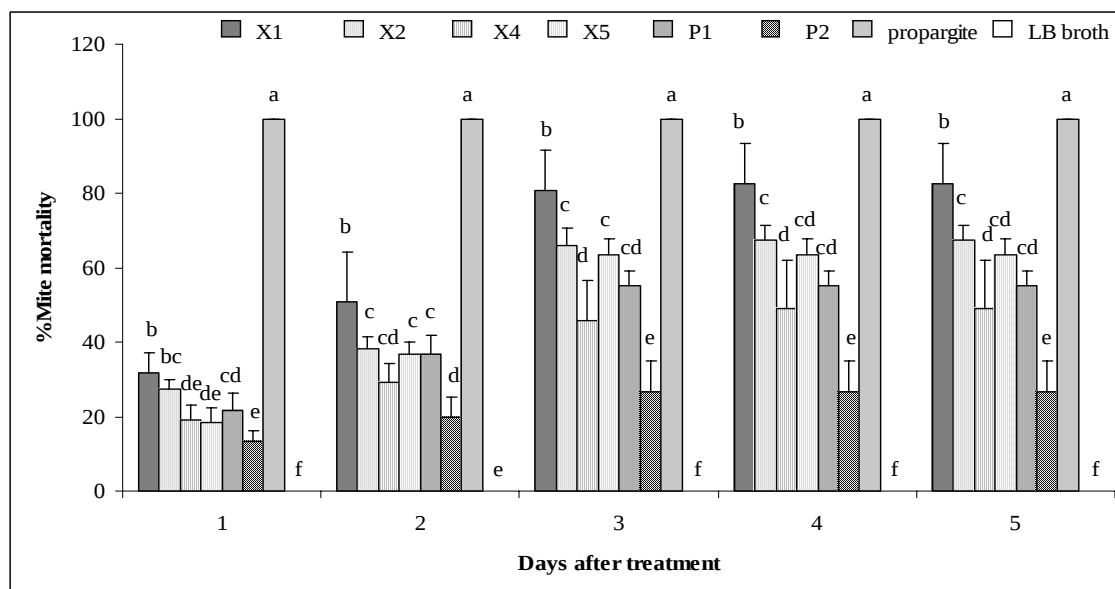
1. การคัดเลือกสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงสุดต่อการทำลายไรโซปลา

1.1 การคัดเลือกเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดต่อการทำลายไรโซปลา

ผลการศึกษาความสามารถของแบคทีเรียทั้ง 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Xenorhabdus* sp. (X1), *X. nematophila* (X2), *X. poinarii* (X4), *Xenorhabdus* sp. (X5), *P. luminescens* (P1) และ *P. luminescens akhurstii* (P2) ในการทำลายไรโซปลาศัตรูพืชเห็ดขอนขาว โดยใช้เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหารเหลว (LB broth) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง มาปรับระดับความเข้มข้นให้เป็น 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาทดสอบกับไรโซปลา โดยฉีดพ่นเซลล์แขวนลอยด้วย foggy ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงบนเส้นใยเห็ดก่อนปล่อยไรโซปลาเพาะเห็ดระยะก่อนทอ และตรวจสอบการตายของไรโซปลาในแต่ละวันเป็นเวลา 5 วัน พบเปอร์เซ็นต์การตายของไรโซปลาแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ 0.05 โดยในวันแรกของการทดลองเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียทุกสายพันธุ์ยกเว้น *P. luminescens akhurstii* (P2) สามารถทำลายไรโซปลาในระยะตัวเต็มวัยได้ไม่แตกต่างกัน โดยทำลายไรโซปลาได้ 18.33-27.5 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ *Xenorhabdus* sp. (X1) สามารถทำลายไรโซปลาได้ดีที่สุด (31.67 เปอร์เซ็นต์) ส่วน *P. luminescens akhurstii* (P2) สามารถทำลายไรโซปลาได้น้อยที่สุด (13.33 เปอร์เซ็นต์) และไม่มีความแตกต่างกับ LB ซึ่งเป็นชุดควบคุม และเมื่อเทียบกับสารเคมีควบคุมไร (propargite) พบว่าสารเคมีควบคุมไรสามารถทำลายไรได้สูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างจากแบคทีเรียทุกสายพันธุ์รวมถึงชุดควบคุม LB

ในวันที่ 2 ของการทดลองพบว่าแบคทีเรียทุกสายพันธุ์สามารถทำลายไรโซปลาได้เพิ่มขึ้น 1.4-2 เท่า ทั้งนี้การทำลายไรโซปลาของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ยังคงไม่ทำให้ไรตายต่างกัน ยกเว้น *P. luminescens akhurstii* (P2) แม้จะทำให้ไรตายเพิ่มขึ้นถึง 1.5 เท่า (20 เปอร์เซ็นต์) แต่ก็ยังคงมีอัตราการตายของไรโซปลาต่ำกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นๆ ที่ใช้ทดสอบและเปอร์เซ็นต์การตายของไรไม่มีความแตกต่างกับ LB ซึ่งเป็นชุดควบคุม ทั้งนี้ *Xenorhabdus* sp. (X1) สามารถทำลายไรโซปลาได้ดีที่สุด (50.83 เปอร์เซ็นต์) และเมื่อเทียบกับสารเคมีควบคุมไร (propargite) พบว่าสารเคมีควบคุมไรสามารถทำลายไรได้สูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างจากแบคทีเรียทุกสายพันธุ์รวมถึงชุดควบคุม LB อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ 0.05 ส่วนในวันที่ 3-5 ของการทดลองแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ทำให้ไรตายเท่ากับ 82.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเพิ่มขึ้นจากวันที่ 2 ของการทดลอง 1.6 เท่า และเปอร์เซ็นต์การทำลายไรสูงกว่า *X. poinarii* (X4), *P. luminescens akhurstii* (P2) และชุดควบคุม LB อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ 0.05 แต่เมื่อเทียบกับสารเคมีควบคุมไรพบว่าอัตราการตายของไรที่เกิดจากแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) นี้ไม่แตกต่างกับการใช้สารเคมีควบคุมไร (propargite) ซึ่งทำให้ไรมีอัตราการตายสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในการทดลองพบว่าแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ไม่สามารถทำให้ไรตายเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียใช้เวลาในการฆ่าไรได้สูงสุด 3 วันหลังการฉีดพ่น และ *Xenorhabdus* sp. (X1) เป็นแบคทีเรียที่ฆ่าไรได้ดีที่สุดและให้ผลไม่แตกต่างกับ propargite ในขณะที่ *X. nematophila* (X2), *Xenorhabdus* sp. (X5) และ *P. luminescens* (P1) แม้จะสามารถทำลายไรโซปลาได้ไม่ต่างจาก *Xenorhabdus* sp. (X1) แต่ก็ทำลายไรได้น้อยกว่า propargite (ภาพที่1)

นอกจากนั้น *Xenorhabdus* sp. (X1) เป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ได้จากไส้เดือนฝอยในประเทศไทย ดังนั้นจึงคัดเลือกแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) เพื่อนำไปศึกษาหาความเข้มข้น ที่เหมาะสมต่อการทำลายไรไข่ปลาต่อไป

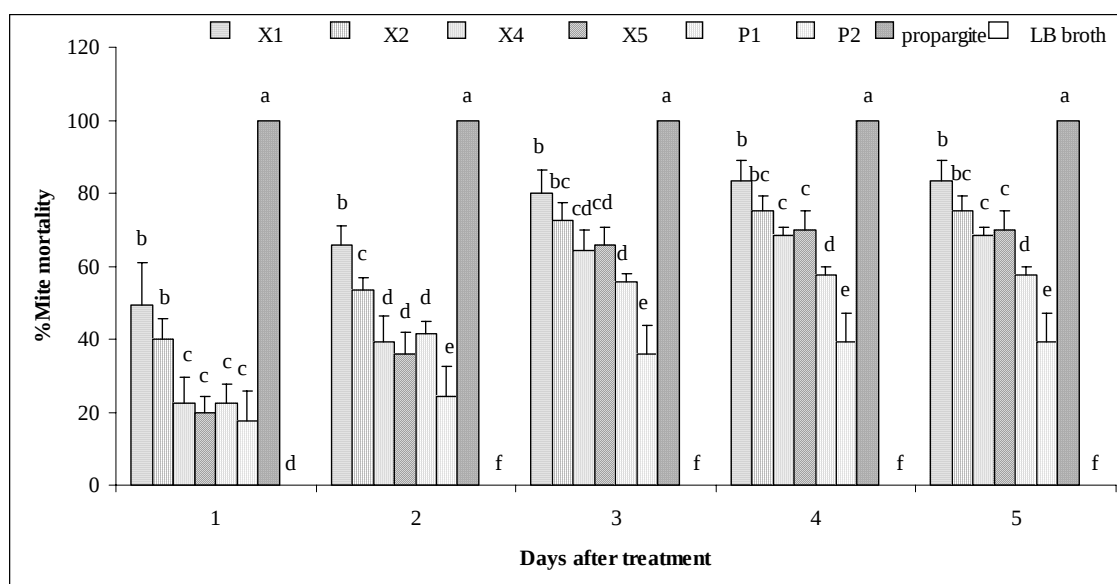


ภาพที่ 1 เปอร์เซนต์การตายของไรไข่ปลาหลังจากได้รับเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

1.2 การคัดเลือกส่วนสีที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดต่อการทำลายไรไข่ปลา

จากการศึกษาความสามารถของแบคทีเรียทั้ง 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Xenorhabdus* sp. (X1), *X. nematophila* (X2), *X. poinarii* (X4), *Xenorhabdus* sp. (X5), *P. luminescens* (P1) และ *P. luminescens akhurstii* (P2) ในการทำลายไรไข่ปลาศัตรูเห็ดขอนขาว โดยใช้ส่วนสีที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียซึ่งเตรียมได้จากเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหารเหลว LB เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทดสอบกับไรไข่ปลา โดยฉีดพ่นส่วนสีที่ผ่านการกรองเซลล์ด้วย foggy ปริมาตร 500 ไมโครลิตรลงบนเส้นใยเห็ดก่อนปล่อยไรไข่ปลาเพศเมียระยะก่อนท้อง และตรวจสอบการตายของไรไข่ปลาในแต่ละวันเป็นเวลา 5 วัน พบเปอร์เซนต์การตายของไรไข่ปลาแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ 0.05 ซึ่งเปอร์เซนต์การตายของไรหลังจากทดสอบด้วยส่วนสีที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียทุกสายพันธุ์ ให้ผลไปในทางเดียวกับเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย โดยในวันที่ 1 แบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) สามารถฆ่าไรได้สูงสุด 49.17 เปอร์เซนต์ ซึ่งฆ่าไรได้สูงกว่าแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X5), *P. luminescens akhurstii* (P2) และชุดควบคุม LB แต่เมื่อเทียบอัตราการฆ่าไรของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) กับสารเคมีฆ่าไรพบว่าสามารถฆ่าไรได้ต่ำกว่าสารเคมีควบคุมไร (propargite) ซึ่งฆ่าไรได้สูงสุด 100 เปอร์เซนต์ ส่วนในวันที่ 2 พบการตายของไรไข่ปลาซึ่งเกิดจากแบคทีเรียทุกสายพันธุ์เพิ่มมากขึ้น (1.3-1.9 เท่า) โดยแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) มีประสิทธิภาพในการทำลายไรไข่ปลาสูงกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นๆ (65.83 เปอร์เซนต์) แต่ไม่แตกต่างกับ *X. nematophila* (X2) ซึ่งทำให้ไรตาย 53.33

เปอร์เซ็นต์ นอกจากนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ *P. luminescens akhurstii* (P2) ให้ผลไม่ต่างกับชุดควบคุม LB โดยทำลายไรได้ต่ำสุด (24.17 เปอร์เซ็นต์) และเมื่อเทียบอัตราการทำลายไรของ *X. nematophila* (X2) กับ สารเคมีควบคุมไร (propargite) พบว่าสารเคมีควบคุมไรสามารถทำลายไรได้สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสามารถทำลายไรได้สูงกว่าแบคทีเรียทุกสายพันธุ์รวมถึงชุดควบคุม LB ในวันที่ 3-5 ของการทดลองพบว่า ส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียทุกสายพันธุ์ยังคงทำให้ไรไขปลาตายเพิ่มขึ้น โดย *X. nematophila* (X1) มีอัตราการตายสูงสุด 83.33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอัตราการทำลายไรสูงกว่า *P. luminescens* (P1), *P. luminescens akhurstii* (P2) และ ชุดควบคุม LB แต่อัตราการทำลายไรของ *X. nematophila* (X1) ไม่แตกต่างจากสารฆ่าไร (propargite) ซึ่งทำให้ไรตาย 100 เปอร์เซ็นต์ การเพิ่มเวลาในการทดลองเป็น 4 และ 5 วันไม่ได้ทำให้ส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์แบคทีเรียมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 2) ดังนั้นจึงคัดเลือกส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ไปศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการทำลายไรไขปลาต่อไป



ภาพที่ 2 เปอร์เซ็นต์การตายของไรไขปลาหลังจากได้รับส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

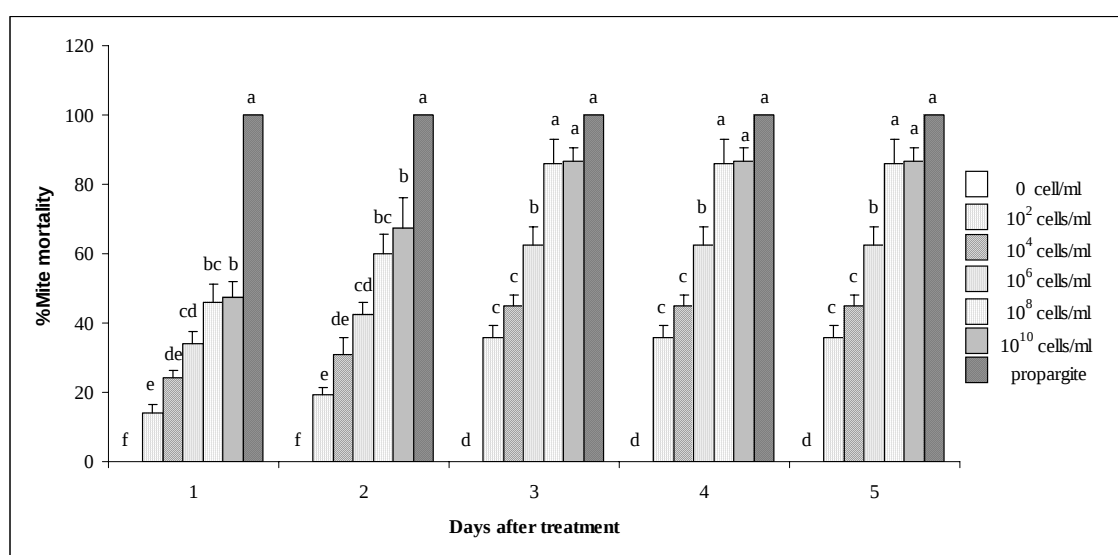
2. การทดสอบความสามารถของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการทำลายไรไขปลา

2.1 การทดสอบความสามารถของเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการทำลายไรไขปลา

จากการนำเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) มาศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทำลายไรไขปลาได้มากที่สุด โดยใช้เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหารเหลว (LB broth) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง มาปรับระดับความเข้มข้นให้เป็น 0, 1×10^2 , 1×10^4 , 1×10^6 , 1×10^8 และ 1×10^{10} เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาทดสอบกับไรไขปลา โดยฉีดพ่นเซลล์แขวนลอยด้วย foggy ปริมาตร 500 ไมโครลิตรลงบนเส้นใยเห็ดก่อนปล่อยไรไขปลาเพศเมียระยะก่อนท้อง และตรวจสอบ

การตายของไรโซปลาในแต่ละวันเป็นเวลา 5 วัน พบว่าแบคทีเรียที่ความเข้มข้นทุกระดับทำให้ไรโซปลาตายต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ 0.05 โดยในวันที่ 1 เซลล์แขวนลอยที่ความเข้มข้น 1×10^8 และ 1×10^{10} เซลล์ต่อมิลลิลิตร ให้ผลดีที่สุดแต่ไม่มีความแตกต่างกัน (45.83 และ 47.50 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งที่ความเข้มข้นสองระดับนี้ทำให้ไรตายสูงกว่าที่ความเข้มข้น $0, 1 \times 10^2$ และ 1×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งฆ่าไรได้น้อยมาก (0-24.17 เปอร์เซ็นต์) แต่เมื่อเทียบความเข้มข้นทั้งสองระดับนี้กับสารเคมีควบคุมไร (propargite) พบว่าสามารถฆ่าไรได้ต่ำกว่าสารเคมีควบคุมไร ซึ่งสามารถฆ่าไรได้สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์

ในวันที่ 2 ของการทดลองพบว่าความเข้มข้นที่ระดับ 1×10^8 และ 1×10^{10} เซลล์ต่อมิลลิลิตร ทำให้ไรตายเพิ่มขึ้นเป็น 60 และ 67.50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งทำให้ไรตายสูงกว่าที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ แต่เมื่อเทียบกับสารเคมีฆ่าไรแล้วพบว่าสามารถฆ่าไรได้ต่ำกว่าสารเคมีควบคุมไร (propargite) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ 0.05 ซึ่งฆ่าไรได้ สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อครบ 3-5 วันพบว่าความเข้มข้นที่ระดับ 1×10^8 และ 1×10^{10} เซลล์ต่อมิลลิลิตร ยังคงทำให้ไรตายสูงสุด (85.83 และ 86.67 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) และทำให้ไรตายสูงกว่าที่ความเข้มข้น 1×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งฆ่าไรได้เพียง 0-62.5 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเทียบความเข้มข้นทั้งสองระดับนี้กับสารเคมีควบคุมไร (propargite) พบว่าฆ่าไรได้ไม่แตกต่างกัน ซึ่งฆ่าไรได้ 100 เปอร์เซ็นต์ หลังจากวันที่ 3 ไม่พบไรตายเพิ่มขึ้นและผลจากการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของแบคทีเรียทำให้ทราบค่า LC_{50} เท่ากับ 6.7×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 3) ดังนั้นจึงคัดเลือกความเข้มข้นของแบคทีเรียที่ระดับ 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ไปหาอายุที่เหมาะสมต่อการทำลายไรโซปลาต่อไป

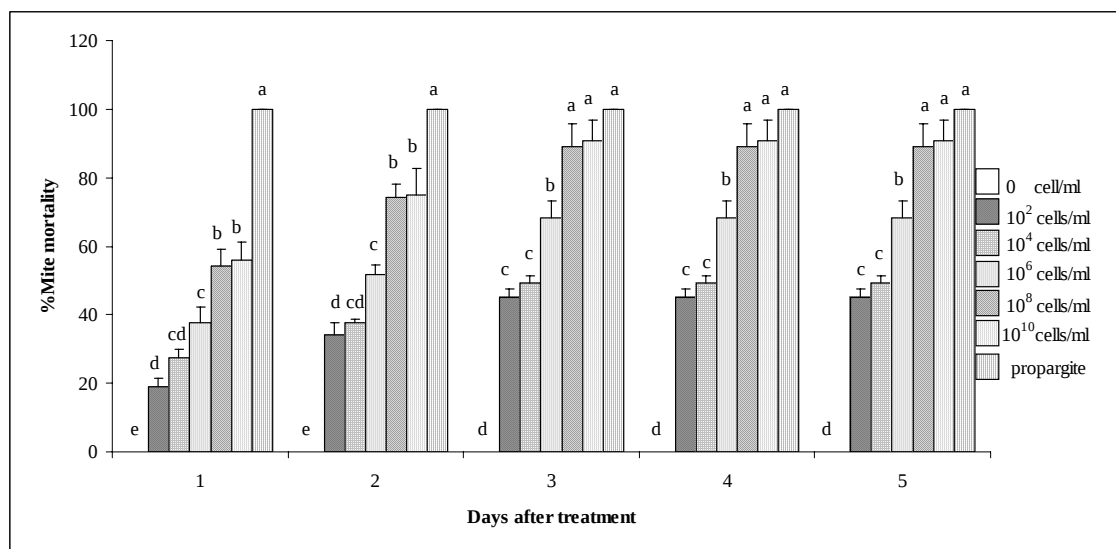


ภาพที่ 3 เปอร์เซ็นต์การตายของไรโซปลาเพศเมียหลังจากได้รับเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และปมที่อุณหภูมิต่ำ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

2.2 การทดสอบความสามารถของส่วนไส้ที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในการทำลายไรโซปลา

จากการนำส่วนไส้ที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) มาศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่จะทำให้มีประสิทธิภาพในการทำลายไรโซปลา โดยเลี้ยงแบคทีเรีย

ในอาหารเหลวเป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนำมาปรับระดับความเข้มข้นให้เป็น $0, 1 \times 10^2, 1 \times 10^4, 1 \times 10^6, 1 \times 10^8$ และ 1×10^{10} เซลล์ต่อมิลลิลิตรแล้วปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและกรองเอาเฉพาะส่วนใส จากนั้นนำมาทดสอบกับไรโซปลา โดยฉีดพ่นส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ด้วย foggy ปริมาตร 500 ไมโครลิตรลงบนเส้นใยเห็ดก่อนปล่อยไรโซปลาเพศเมียระยะก่อนท้อง และตรวจสอบการตายของไรโซปลาในแต่ละวันเป็นเวลา 5 วัน พบว่าแบคทีเรียที่ความเข้มข้นทุกระดับทำให้ไรโซปลาตายต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ 0.05 โดยในวันที่ 1 ที่ระดับ 1×10^{10} เซลล์ต่อมิลลิลิตรฆ่าไรโซได้ดีที่สุด (55.83 เปอร์เซ็นต์) แต่ไม่แตกต่างจากที่ระดับความเข้มข้น 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งเปอร์เซ็นต์การตายของไรโซปลาที่ความเข้มข้นสองระดับนี้สูงกว่าที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ แต่เปอร์เซ็นต์การตายของไรโซที่ความเข้มข้นสองระดับนี้ต่ำกว่าสารเคมีควบคุมไร (propargite) ซึ่งฆ่าไรโซได้สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 2 วัน พบว่าที่ความเข้มข้นทุกระดับทำให้ไรตายเพิ่มขึ้น 1.2-1.4 เท่า โดยที่ระดับ 1×10^8 และ 1×10^{10} เซลล์ต่อมิลลิลิตรฆ่าไรโซได้ไม่ต่างกัน ซึ่งสามารถฆ่าไรโซได้เท่ากับ 74.17 และ 75 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และที่ความเข้มข้นสองระดับนี้สามารถฆ่าไรโซได้สูงกว่าที่ความเข้มข้นระดับอื่นๆ แต่เมื่อเทียบความเข้มข้นที่สองระดับนี้กับสารเคมีควบคุมไร (propargite) พบว่าสามารถฆ่าไรโซได้น้อยกว่าสารเคมีควบคุมไร ซึ่งฆ่าไรโซได้สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นอัตราการตายของไรโซปลาจะคงที่หลังวันที่ 3-5 ซึ่งที่ระดับ 1×10^{10} เซลล์ต่อมิลลิลิตร ทำให้ไรตายสูงสุด (90.83 เปอร์เซ็นต์) และไม่แตกต่างกับที่ระดับ 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตรและ propargite ซึ่งฆ่าไรโซได้เท่ากับ 89.17 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ระดับ $0 - 1 \times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ทำให้ไรโซปลาตายน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และจากการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียทำให้ทราบค่า LC_{50} เท่ากับ 5.28×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 4) ดังนั้นจึงคัดเลือกส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียที่ระดับ 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ไปศึกษาหาอายุที่เหมาะสมต่อการทำลายไรโซปลาต่อไป

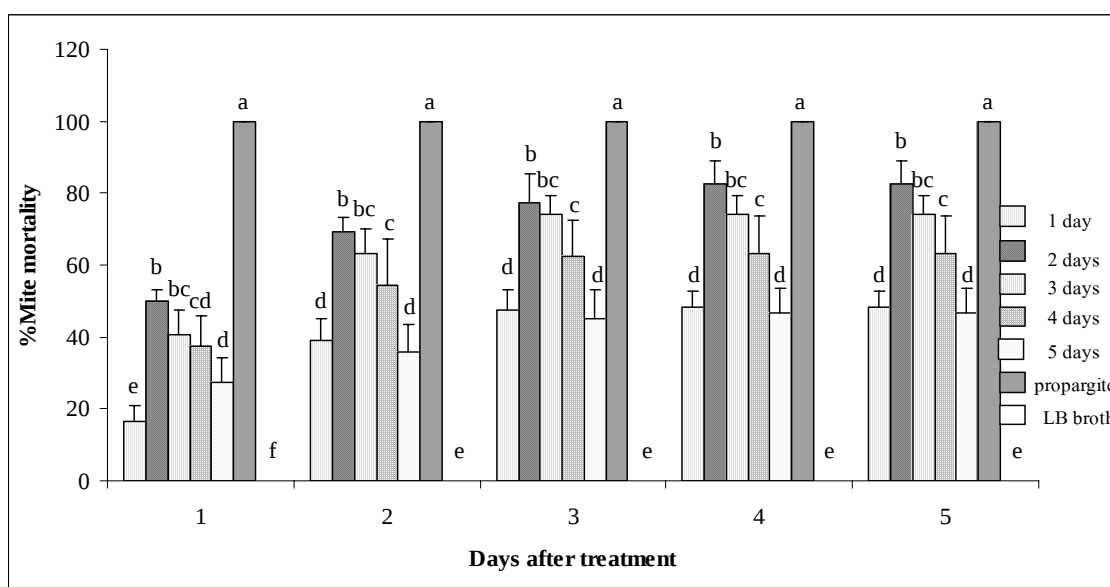


ภาพที่ 4 เปอร์เซ็นต์การตายของไรโซปลาเพศเมียหลังจากได้รับส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

3. การทดสอบความสามารถของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ที่อายุต่างกันในการทำลายไรโซปลา

3.1 การทดสอบความสามารถของเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ที่อายุต่างกันในการทำลายไรโซปลา

จากการศึกษาเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) เพื่อหาอายุที่เหมาะสมในการทำลายไรโซปลาได้สูงสุด โดยใช้เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียอายุ 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน มาปรับระดับความเข้มข้นเท่ากับ 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาทดสอบกับไรโซปลา โดยฉีดพ่นเซลล์แขวนลอยด้วย foggy ปริมาตร 500 ไมโครลิตรลงบนเส้นใยเห็ดก่อนปล่อยไรโซปลาเพศเมียระยะก่อนท้อง และตรวจสอบการตายของไรโซปลาในแต่ละวันเป็นเวลา 5 วัน พบว่าแบคทีเรียที่มีอายุต่างกันทำให้ไรโซปลาตายต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ 0.05 โดยในวันแรกของการทดลองแบคทีเรียอายุ 2 วันทำให้ไรโซปลาตายสูงที่สุดคือ 50 เปอร์เซ็นต์แต่ก็ไม่ต่างกับแบคทีเรียที่มีอายุ 3-4 วัน (37.5-40.83 เปอร์เซ็นต์) และเมื่อเทียบกับสารเคมีควบคุมไร (propargite) พบว่าทำให้ไรตายต่ำกว่าสารเคมีควบคุมไร ซึ่งทำให้ไรตายสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 2 ทุกอายุของแบคทีเรียทำให้ไรตายเพิ่มขึ้น และแบคทีเรียอายุ 2 วันทำให้ไรโซปลาตายสูงที่สุดคือ 69.17 เปอร์เซ็นต์แต่ก็ไม่ต่างกับแบคทีเรียที่มีอายุ 3-4 วัน (54.17-61.67 เปอร์เซ็นต์) และเมื่อเทียบกับสารเคมีควบคุมไร (propargite) พบว่าแบคทีเรียอายุ 2 วัน ทำให้ไรตายต่ำกว่าสารเคมีควบคุมไร ซึ่งฆ่าไรตายได้สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในวันที่ 3-5 แบคทีเรียทุกอายุยังคงทำให้ไรตายเพิ่ม โดยแบคทีเรียอายุ 2 วัน ทำให้ไรตายเท่ากับ 82.5 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าแบคทีเรียอายุ 2 วัน ทำให้ไรตายสูงกว่าแบคทีเรียอายุ 1 และ 5 วัน แต่แบคทีเรียอายุ 2 วัน ทำให้ไรตายไม่ต่างกับ propargite ซึ่งทำให้ไรตายสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ หลังจากทดลอง 3 วันพบว่าอัตราการตายของไรไม่เปลี่ยนแปลงจึงเลือกใช้แบคทีเรียที่มีอายุ 2 วัน (ภาพที่ 5)

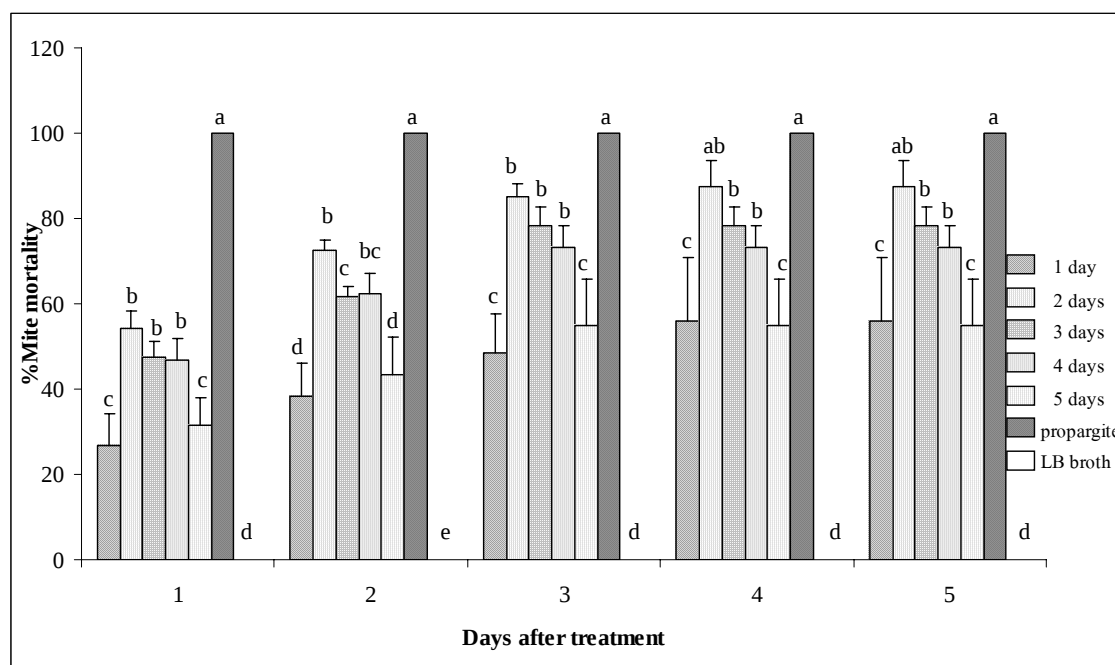


ภาพที่ 5 เปอร์เซ็นต์การตายของไรโซปลาเพศเมียหลังจากได้รับเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย

Xenorhabdus sp. (X1) ที่มีอายุต่างกัน ที่ความเข้มข้น 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

3.2 ผลการทดสอบความสามารถของส่วนไส้ที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ที่มีอายุแตกต่างกันในการทำลายไรโซปลา

จากการศึกษาส่วนไส้ที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) เพื่อหาอายุที่เหมาะสมในการทำลายไรโซปลาได้สูงสุด โดยใช้ส่วนไส้ที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียอายุ 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน ซึ่งเตรียมจากเซลล์แขวนลอย จากนั้นนำมาทดสอบกับไรโซปลา โดยฉีดพ่นเซลล์แขวนลอยด้วย foggy ปริมาตร 500 ไมโครลิตรลงบนเส้นใยเห็ดก่อนปล่อยไรโซปลาเพศเมียระยะก่อนท้อง และตรวจสอบการตายของไรโซปลาในแต่ละวันเป็นเวลา 5 วัน พบว่าแบคทีเรียที่มีอายุต่างกันทำให้ไรโซปลาตายต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ 0.05 โดยวันแรกแบคทีเรียอายุ 2-4 วัน ให้ผลการทำลายไรโซปลาไม่ต่างกัน ซึ่งแบคทีเรียอายุ 2 วัน สามารถทำลายไรโซปลาได้เท่ากับ 54.17 เปอร์เซ็นต์และสามารถทำลายไรโซปลาได้สูงกว่าแบคทีเรียอายุ 1, 5 วัน และ ชุดควบคุม LB แต่เมื่อเทียบกับสารเคมีควบคุมไร (propargite) พบว่าสามารถทำให้ไรตายต่ำกว่าสารเคมีควบคุมไร ซึ่งฆ่าไรได้สูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 2 พบว่าอัตราการตายของไรโซปลาล้ำกับในวันแรกแต่การตายของไรเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งแบคทีเรียอายุ 2 วัน สามารถทำลายไรโซปลาได้เท่ากับ 72.5 เปอร์เซ็นต์และสามารถทำลายไรโซปลาได้สูงกว่าแบคทีเรียอายุ 1, 5 วัน และชุดควบคุม LB (0-43.33 เปอร์เซ็นต์) แต่เมื่อเทียบกับสารเคมีควบคุมไร (propargite) พบว่าสามารถทำให้ไรตายต่ำกว่าสารเคมีควบคุมไร ซึ่งทำให้ไรสูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในวันที่ 3-5 อัตราการตายของไรโซปลาจะสูงกว่าวันที่ 1 และ 2 หลังจากนั้นจะคงที่ภายใน 3 วันของการทดลอง โดยแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ที่มีอายุ 2 วันทำให้ไรตาย 87.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างกับแบคทีเรียอายุ 3-4 วัน ที่ทำให้ไรตายเท่ากับ 73.33-78.33 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 6) และแบคทีเรียอายุ 2 วันสามารถฆ่าไรได้ไม่แตกต่างจากสารฆ่าไร propargite ที่ทำให้ไรตาย 100 ดังนั้นจึงเลือกใช้แบคทีเรียอายุ 2 วันเพื่อศึกษาต่อไป

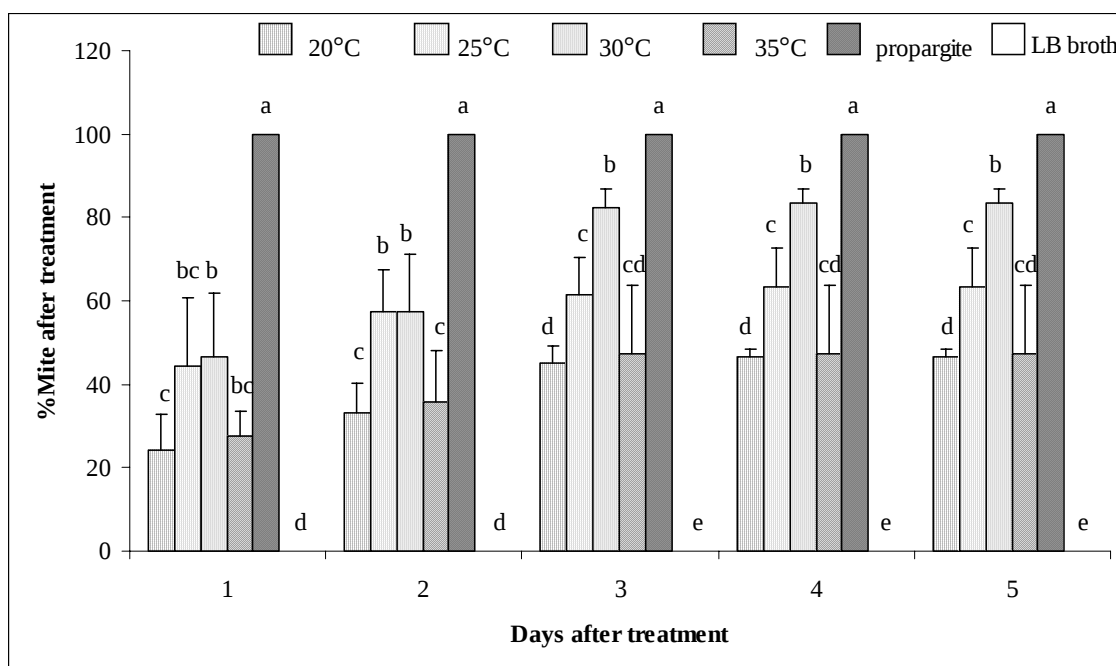


ภาพที่ 6 เปอร์เซ็นต์การตายของไรโซปลาเพศเมียหลังจากได้รับส่วนไส้ที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) อายุต่างกันและบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

4. การทดสอบความสามารถของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ในการทำลายไรโซปลา

4.1 การทดสอบความสามารถของเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ในการทำลายไรโซปลา

การศึกษาเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) เพื่อหาอุณหภูมิในการบ่มที่เหมาะสมในการทำลายไรโซปลาได้ดีที่สุด โดยใช้เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียอายุ 2 วัน มาปรับระดับความเข้มข้นให้เป็น 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาทดสอบกับไรโซปลา โดยฉีดพ่นเซลล์แขวนลอยด้วย foggy ปริมาตร 500 ไมโครลิตรลงบนเส้นใยเห็ดก่อนปล่อยไรโซปลาเพศเมียระยะก่อนท้อง และตรวจสอบการตายของไรโซปลาในแต่ละวันเป็นเวลา 5 วัน พบว่าหลังจากได้รับแบคทีเรียแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิต่างกันทำให้ไรโซปลาตายต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ 0.05 โดยอุณหภูมิในการบ่มเส้นใยที่เพิ่มขึ้นหลังได้รับเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียในวันที่ 1 ไม่มีผลต่ออัตราการตายของไรโซปลาเนื่องจากอัตราการตายจากการบ่มเส้นใยที่อุณหภูมิต่าง ๆ ทำให้ไรโซปลาไม่ต่างกัน (24.17-46.67 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส พบว่าทำให้ไรโซปลาตายสูงกว่าชุดควบคุม LB แต่เมื่อเทียบกับสารเคมีควบคุมไร (propargite) พบว่าสามารถทำให้ไรโซปลาตายต่ำกว่าสารเคมีควบคุมไร ซึ่งทำให้ไรโซปลาตายสูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 2 อัตราการตายของไรโซปลาที่ทุกอุณหภูมิต่างก็เพิ่มขึ้นแต่ยังคงไม่มีความต่างกัน โดยชุดควบคุม LB ส่งผลต่อการตายของไรต่ำสุด แต่เมื่อเทียบผลการตายของไรหลังจากบ่มที่ทุกอุณหภูมิกับสารเคมีควบคุมไร (propargite) พบว่าสามารถฆ่าไรได้ต่ำกว่าทุกอุณหภูมิบ่ม ซึ่งสามารถฆ่าไรได้สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ และในวันที่ 3-5 จะเห็นได้ว่าการบ่มเส้นใยอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีผลให้ไรตายสูงสุด 83.33 เปอร์เซ็นต์และไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มไรเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งทำให้ไรตาย 60 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่อุณหภูมิ 20 และ 35 องศาเซลเซียส ทำให้ไรตายเพียง 46.67 และ 47.5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่เมื่อเทียบอัตราการตายของไรเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส กับสารเคมีควบคุมไร propargite พบว่าสามารถฆ่าไรได้ไม่แตกต่างจากสารเคมีควบคุมไร ซึ่งทำให้ไรตายสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้จะพบว่าหลังจากวันที่ 3 ผลการตายของไรจะคงที่ (ภาพที่ 7) ดังนั้นจึงเลือกใช้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในการบ่มเส้นใย

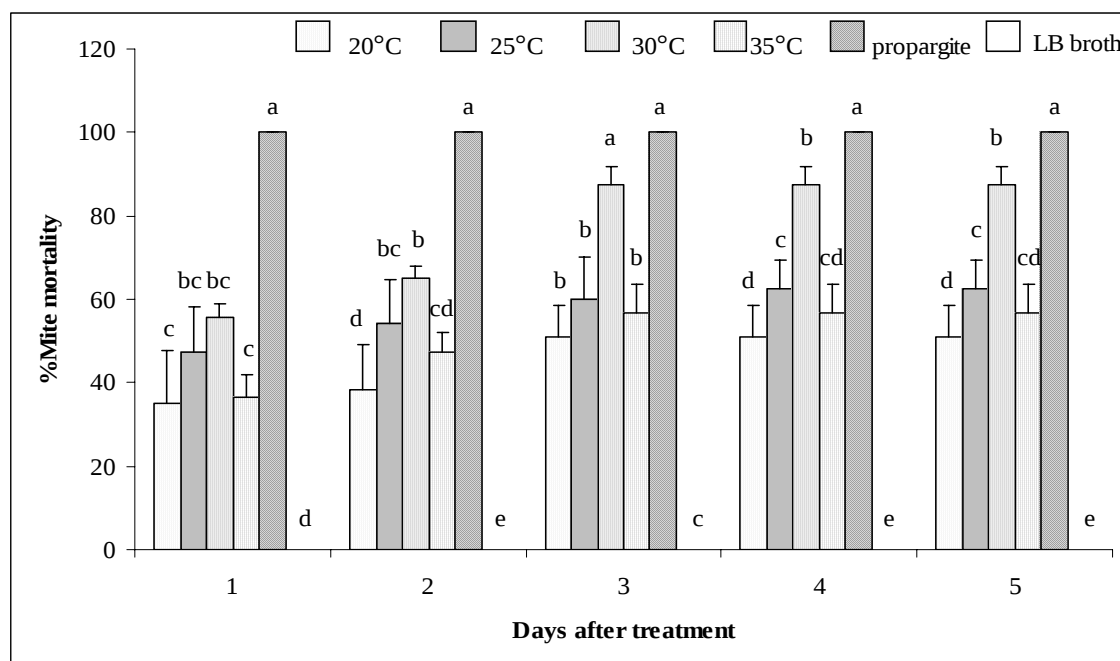


ภาพที่ 7 เปอร์เซนต์การตายของไรไข่ปลาเพศเมียหลังจากได้รับเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) บ่มที่อุณหภูมิต่างๆ เมื่อเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย อายุ 2 วันและที่ระดับความเข้มข้น 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็น 5 วัน

4.2 การทดสอบความสามารถของส่วนไส้ที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ที่อุณหภูมิต่างๆ ในการทำลายไรไข่ปลา

การศึกษาส่วนไส้ที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) เพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำลายไรไข่ปลาได้สูงสุด โดยใช้เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียอายุ 2 วัน มาปรับระดับความเข้มข้นให้เป็น 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาทดสอบกับไรไข่ปลา โดยฉีดพ่นเซลล์แขวนลอยด้วย foggy ปริมาตร 500 ไมโครลิตรลงบนเส้นใยเห็ดก่อนปล่อยไรไข่ปลาเพศเมียระยะก่อนท้อง และตรวจสอบการตายของไรไข่ปลาในแต่ละวันเป็นเวลา 5 วัน พบว่าหลังจากได้รับแบคทีเรียแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิต่างกัน ทำให้ไรไข่ปลาตายต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ 0.05 ซึ่งผลการทดลองให้ผลที่สอดคล้องกับเซลล์แขวนลอย โดยอุณหภูมิในการบ่มเพิ่มขึ้นหลังได้รับเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียในวันที่ 1 ไม่ทำให้อัตราการตายของไรแตกต่างกัน (35-55.83 เปอร์เซนต์) และทุกอุณหภูมิบ่มทำให้ไรตายสูงกว่าชุดควบคุม LB ซึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำให้ไรตายสูงสุด (55.83 เปอร์เซนต์) แต่เมื่อเทียบกับสารเคมีควบคุมไรพบว่าทำให้ไรตายต่ำกว่าสารเคมีควบคุมไรที่ทำให้ไรตายสูงสุด 100 เปอร์เซนต์ ส่วนในวันที่ 2 อัตราการตายของไรที่อุณหภูมิต่างๆ เพิ่มขึ้นแต่ยังคงไม่มีความแตกต่างกันยกเว้นที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำให้ไรตายสูงกว่าที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ซึ่งผลการทำลายไรเท่ากับ 65 เปอร์เซนต์ และทุกอุณหภูมิบ่มทำให้ไรตายสูงกว่าชุดควบคุม LB แต่น้อยกว่าสารเคมีควบคุมไรที่ทำให้ไรตายสูงสุด 100 เปอร์เซนต์ และในวันที่ 3-5 เห็นได้ชัดว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำให้ไรตายสูงสุด 87.5 เปอร์เซนต์รองลงมาคือ 25 องศาเซลเซียส ที่ทำให้ไรตาย 63.33 เปอร์เซนต์ ส่วนที่อุณหภูมิ 20 และ 35 องศาเซลเซียส ทำให้ไรตาย 50.83 และ 56.67 เปอร์เซนต์ตามลำดับ และเมื่อเทียบผลการตายของไรหลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศา

เซลเซียส กับ Propargite พบว่าทำให้ไรตายต่ำกว่า propargite ที่ทำให้ไรตายสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามจะพบว่าเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นไม่ทำให้ไรตายเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 8) ดังนั้นจึงเลือกใช้อุณหภูมิหลังการบ่มเมื่อได้รับส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียที่ 30 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 8 เปอร์เซ็นต์การตายของไรไข่ปลาเพศเมียหลังจากได้รับส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) บ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ เมื่อส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียอายุ 2 วัน และบ่มเป็นเวลา 5 วัน (เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยภายในกลุ่ม)

5. ผลของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ต่อจำนวนลูกของไรไข่ปลา

5.1 ผลของเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ต่อจำนวนลูกของไรไข่ปลา

การศึกษาเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ต่อจำนวนลูกของไรไข่ปลา โดยนำแบคทีเรียที่มีอายุ 2 วัน ที่ความเข้มข้น 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร มาทดสอบกับไรไข่ปลาเพศเมีย ระยะก่อนท้อง โดยฉีดพ่นด้วย foggy ปริมาตร 500 ไมโครลิตรและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 20, 25, 30 และ 35 องศาเซลเซียส พบว่าอุณหภูมิบ่มต่างกันส่งผลให้จำนวนลูกของไรไข่ปลาต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดยหลังจากได้รับเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียแล้วบ่มที่อุณหภูมิสูงขึ้นจำนวนลูกของไรไข่ปลาลดลง ซึ่งหลังจากทดสอบด้วยชุดควบคุม LB แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสไรไข่ปลาให้ลูกสูงสุด 192.88 ตัวต่อตัวแม่หนึ่งตัว และจำนวนลูกต่อตัวแม่หนึ่งตัวที่ได้จะสูงกว่าที่ได้รับแบคทีเรียแล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 และ 35 องศาเซลเซียส รวมทั้งที่ได้รับสารเคมีควบคุมไรแล้วบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ ด้วย แต่เมื่อนำจำนวนลูกทั้งหมดต่อตัวแม่หนึ่งตัวของไรไข่ปลา มาแยกเพศพบว่าหลังจากได้รับชุดควบคุม LB แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ให้จำนวนลูกเพศผู้สูงสุด 4.88 ตัวต่อตัวแม่หนึ่งตัว ซึ่งจำนวนลูกเพศผู้ที่สูงกว่าได้รับ

แบคทีเรียแล้วบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และที่ได้รับสารเคมีควบคุมไรแล้วบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ ส่วนจำนวนลูกเพศเมียที่พบว่าเมื่อได้รับชุดควบคุม LB แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ให้ลูกเพศเมียจำนวนสูงสุด 190.63 ตัวต่อตัวแม่หนึ่งตัว ซึ่งจำนวนลูกเพศเมียที่ได้สูงกว่าที่ได้รับแบคทีเรียแล้วบ่มที่อุณหภูมิ 25, 30 และ 35 องศาเซลเซียส รวมทั้งที่ได้รับสารเคมีควบคุมไรแล้วบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ ด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียส่งผลให้จำนวนลูกมีแนวโน้มว่าจะเป็นเพศเมีย ซึ่งจะเห็นได้จากที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เมื่อเทียบกับการทดลองชุดควบคุมพบว่ามีเพศเมียเพิ่มขึ้นถึง 43 เท่า เพิ่มขึ้นจาก 34 เป็น 77 ตัว (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลของเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ต่อจำนวนลูกของไรไข่ปลา บ่มที่อุณหภูมิต่างกันและที่ระดับความเข้มข้น 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		จำนวนลูก/แม่ (ตัว)	การฟักไข่		อัตราส่วน (เพศผู้:เพศเมีย)
			เพศผู้ (ตัว)	เพศเมีย (ตัว)	
20	X1	96.88±48.27	4.62±2.93	92.25±47.30	1:20
	propargite	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0:0
	LB broth	192.88±58.65	2.50±1.96	190.38±57.46	1:76
25	X1	61.38±39.59	2.00±0.38	59.38±39.59	1:31
	propargite	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0:0
	LB broth	175.50±72.76	3.88±1.75	171.62±71.49	1:44
30	X1	38.50±50.65	0.50±1.00	38.00±49.93	1:77
	propargite	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0:0
	LB broth	161.38±52.45	4.62±1.25	156.75±52.02	1:34
35	X1	0.00 ±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0:0
	propargite	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0:0
	LB broth	129.75±48.63	4.88±2.25	124.88±47.81	1:26

5.2 ผลของส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ต่อจำนวนลูกของไรไข่ปลา

การศึกษาส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ต่อจำนวนลูกของไรไข่ปลา โดยนำส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียอายุ 2 วัน ที่ความเข้มข้น 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาทดสอบกับไรไข่ปลาเพศเมียระยะก่อนท้อง โดยฉีดพ่นด้วย foggy ปริมาตร 500 ไมโครลิตรและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 20, 25, 30 และ 35 องศาเซลเซียส พบว่าอุณหภูมิบ่มต่างกันส่งผลให้จำนวนลูกของไรไข่ปลาต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ 0.05 โดยหลังจากได้รับแบคทีเรียแล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และที่ได้รับสารเคมีควบคุมไรแล้วบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ ไรไข่ปลาไม่ให้อูก แต่หลังจากได้รับชุดควบคุม LB แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ไรไข่ปลาให้อูกจำนวนสูงสุด (192.88 ตัวต่อตัวแม่หนึ่งตัว) ซึ่งจำนวนลูกที่ให้สูงกว่าที่ได้รับแบคทีเรียแล้วบ่มที่อุณหภูมิ 25, 30 และ 35 องศา

เซลเซียส รวมถึงที่ได้รับสารเคมีควบคุมไรแล้วบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ ด้วย เมื่อนำจำนวนลูกทั้งหมดต่อตัวแม่หนึ่งตัวมาแยกเพศพบว่าหลังจากได้รับชุดควบคุม LB แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ไรไข่ปลาให้ลูกเพศผู้จำนวนสูงสุด (4.88 ตัวต่อตัวแม่หนึ่งตัว) ซึ่งจำนวนลูกเพศผู้ที่ได้สูงกว่าที่ได้รับแบคทีเรียแล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 และ 35 องศาเซลเซียส รวมถึงที่ได้รับสารเคมีควบคุมไรแล้วบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ ด้วย ส่วนจำนวนลูกเพศเมียที่ได้พบว่าหลังจากได้รับชุดควบคุม LB แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส มีจำนวนสูงสุด (190.62 ตัวต่อตัวแม่หนึ่งตัว) ซึ่งจำนวนที่ได้สูงกว่าที่ได้รับแบคทีเรียแล้วบ่มที่อุณหภูมิ 35 และ 30 องศาเซลเซียส รวมถึงที่ได้รับสารเคมีควบคุมไรแล้วบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ ด้วย

นอกจากนี้เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นส่วนที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียส่งผลให้จำนวนลูกมีแนวโน้มว่าจะเป็นเพศเมีย ซึ่งจะเห็นได้จากที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เมื่อเทียบกับการทดลองชุดควบคุมมีเพศเมียเพิ่มขึ้น 2.2 เท่า เพิ่มขึ้นจาก 26 เป็น 57 ตัว (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลของส่วนที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ต่อจำนวนลูกของไรไข่ปลา บ่มที่อุณหภูมิต่างกัน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		จำนวนลูก/แม่ (ตัว)	การฟักไข่		อัตราส่วน (เพศผู้:เพศเมีย)
			เพศผู้ (ตัว)	เพศเมีย (ตัว)	
20	X1	173.00±80.01	4.00±2.0	169.00±79.16	1:42
	propargite	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0:0
	LB broth	192.88±58.65	2.50±1.96	190.62±57.46	1:76
25	X1	36.50±12.66	2.38±1.00	34.12±11.98	1:14
	propargite	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0:0
	LB broth	175.50±72.76	3.88±1.75	171.62±71.49	1:44
30	X1	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0:0
	propargite	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0:0
	LB broth	161.38±52.45	4.62±1.25	156.75±52.02	1:34
35	X1	43.50 ±21.46	0.75±0.82	42.75±21.15	1:57
	propargite	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0:0
	LB broth	129.75±48.63	4.88±2.25	124.88±47.80	1:26

สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

จากการทดลองพบว่าเซลล์แขวนลอยและส่วนไส้ที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียทั้ง 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Xenorhabdus* sp. (X1), *X. nematophila* (X2), *X. poinarii* (X4), *Xenorhabdus* sp. (X5), *P. luminescens* (P1) และ *P. luminescens akhurstii* (P2) ที่เลี้ยงในอาหารเหลว (LB broth) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตรสามารถทำลายไรโซปลาได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bussaman และคณะ(2006) สำหรับผลของประสิทธิภาพของสายพันธุ์ของแบคทีเรียต่อไรโซปลาตัวเต็มวัยระยะก่อนท้องพบว่าเซลล์แขวนลอยและส่วนไส้ที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) สามารถทำลายไรโซปลาได้ดีที่สุด โดยการทำลายไรโซปลาได้ 82.5 และ 83.33 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยแบคทีเรียสามารถฆ่าไรโซได้สูงสุดในวันที่ 3 หลังจากนั้นไรโซจะท้องและไม่กินอาหาร จึงสรุปได้ว่าแบคทีเรียที่อาศัยร่วมกับไส้เดือนฝอยก่อโรคในแมลงจัดเป็นแบคทีเรียประเภทกินแล้วตาย (Gerritsen และคณะ, 2005) นอกจากนี้ Mahar และคณะ (2005) ศึกษาพบว่าแบคทีเรีย *X. nematophila* สามารถทำลายหนอนผีเสื้อกินไขฝิ่ง *G. mellonella* ได้ โดยสารพิษของแบคทีเรียสามารถทำลายหนอนผีเสื้อกินไขฝิ่งได้ 95 เปอร์เซ็นต์ภายใน 4 วัน และเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียสามารถทำลายหนอนผีเสื้อกินไขฝิ่งได้ 93 เปอร์เซ็นต์ภายใน 6 วัน ส่วน Mahar และคณะ (2004) ได้ศึกษาพบว่าแบคทีเรีย *X. nematophila* สามารถทำลายหนอนใยผัก *P. xylostella* ได้ โดยเซลล์แขวนลอยและส่วนไส้ที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียสามารถทำลายหนอนใยผักได้ 90-100 เปอร์เซ็นต์ภายใน 48 ชั่วโมง นอกจากนี้ Mahar และคณะ(2004) พบว่าแบคทีเรีย *X. nematophila* และ *P. luminescens* สามารถทำลายตัวอ่อนตักแตน *S. gregarta* ได้ โดยเซลล์แขวนลอยและส่วนไส้ที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย *X. nematophila* สามารถทำลายตัวอ่อนตักแตนได้ 72 และ 78 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ หลังจากทดสอบ 10 วัน ส่วนเซลล์แขวนลอยและส่วนไส้ที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย *P. luminescens* สามารถทำลายตัวอ่อนตักแตนได้ 78 และ 82 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับหลังจากทดสอบ 10 วัน สำหรับรายงานวิจัย Abdel-Razek (2003) พบว่าแบคทีเรีย *X. nematophila* และ *P. luminescens* สามารถทำลายหนอนใยผัก *P. xylostella* ได้ โดยเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *P. luminescens* ที่ความเข้มข้น 4×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร สามารถทำลายหนอนใยผักได้ 60 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *X. nematophila* ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 5.5×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร สามารถทำลายหนอนใยผักได้ 40 เปอร์เซ็นต์ การที่แมลงศัตรูพืชเหลือรอดหลังจากได้รับแบคทีเรีย เนื่องจากแมลงศัตรูพืชจะผลิตสาร eicosanoid ขึ้นมาซึ่งจะส่งผลให้แบคทีเรียที่ผ่านเข้าสู่ระบบเลือดของแมลงเกาะกันแน่น ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถเพิ่มจำนวนตัวเองได้ (Park และ Kim, 2000)

การศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการทำลายไรโซปลาของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) พบว่าแบคทีเรียอายุ 2 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตรและบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสสามารถทำลายไรโซปลาได้ดีที่สุด โดยเซลล์แขวนลอยและส่วนไส้ที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียสามารถทำลายไรโซปลาได้เท่ากับ 83.33 และ 87.5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งเป็นทิศทางเดียวกับ Bussaman และคณะ(2006) ที่ศึกษาความสามารถของแบคทีเรีย *P. luminescens* subsp. *laumondii* GPS12 และ *P. luminescens* spp. *laumondii* GPS11 ต่อการทำลายไรโซปลา *Luciaphorus* sp. พบว่าส่วนไส้ที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย *P. luminescens* subsp. *laumondii* GPS11 ที่มีอายุ 2 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^8 และ 1×10^{10} เซลล์ต่อมิลลิลิตร สามารถทำลายไรโซปลาได้ 90 และ 92 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนแบคทีเรีย *P. luminescens* subsp. *laumondii* GPS12 ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^8 และ 1×10^{10} เซลล์ต่อ

มิลลิเมตร สามารถทำลายไรโซปลาได้ 94 และ 96 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ใกล้เคียงกับรายงานของ Mahar และคณะ (2005) ศึกษาพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 4×10^6 และ 4×10^7 เซลล์ต่อมิลลิเมตร แบคทีเรีย *X. nematophila* สามารถทำลายหนอนฝัสน้ำ G. mellonella ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Mahar และคณะ (2004) ศึกษาพบว่าแบคทีเรีย *P. putida* ที่ระดับความเข้มข้น 4×10^7 เซลล์ต่อมิลลิเมตรและบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เซลล์แขวนลอยและส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียสามารถทำลายหนอนฝักได้ 98 และ 100 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และต่อมาในปี 2005 Mahar และคณะ ศึกษาพบว่าเซลล์แขวนลอยและส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย *P. putida* เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สามารถทำลายหนอนฝัสน้ำ G. mellonella ได้ 85-100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เซลล์แขวนลอยและส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียสามารถทำลายหนอนฝัสน้ำ G. mellonella ได้ต่ำสุด 52.5-75 เปอร์เซ็นต์ ส่วน Dongjin และคณะ (2004) ศึกษาพบว่าแบคทีเรีย *X. nematophila* อายุ 48 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคพืช *A. vitis* ได้ดีที่สุด

การศึกษาผลของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ที่มีอายุ 2 วัน ที่ความเข้มข้น 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิเมตร และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 20, 25, 30 และ 35 องศาเซลเซียสต่อจำนวนลูกของไรโซปลา พบว่าเซลล์แขวนลอยและส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) ส่งผลให้จำนวนลูกของไรโซปลาในรุ่นต่อมาลดลง โดยเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียที่อุณหภูมิ 20, 25, 30 และ 35 องศาเซลเซียส ทำให้จำนวนลูกของไรโซปลาต่อตัวแม่หนึ่งตัวลดลงตามลำดับ เนื่องจากเซลล์ของแบคทีเรียเมื่อผ่านเข้าสู่ภายในลำตัวของเหี้ยแล้วจะเพิ่มจำนวนตัวเองได้ (Forst และคณะ, 1997) ดังนั้นหลังจากแบคทีเรียเพิ่มจำนวนตัวเองแล้วก็จะสามารถขับสารพิษออกมาทำลายไรโซปลาได้เพิ่มขึ้น ในขณะที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียจึงทำให้แบคทีเรียแทนที่จะเพิ่มจำนวนตัวเองอย่างเดียวกลับต้องขับสารพิษออกมาด้วยเพื่อป้องกันตัวเองให้เหลือรอดและที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียจึงทำให้แบคทีเรียเพิ่มจำนวนตัวเองมากขึ้น ดังนั้นที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสจึงส่งผลให้จำนวนลูกของไรโซปลาลดลงเหลือน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์ของแบคทีเรียที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส กลับส่งผลให้จำนวนลูกของไรโซปลาเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากที่อุณหภูมิสูงกว่า 30 องศาเซลเซียสประสิทธิภาพของสารพิษที่แบคทีเรียผลิตขึ้นจะลดลง (Webster และคณะ, 2001) นอกจากนี้ผลการการศึกษาพบว่าสอดคล้องกับงานวิจัยของ Abdel-Razek (2003) ที่ศึกษาผลของแบคทีเรีย *X. nematophila* และ *P. luminescens* ต่อจำนวนลูกของหนอนฝัก พบว่าแบคทีเรีย *X. nematophila* ส่งผลให้จำนวนลูกของหนอนฝักต่อตัวแม่หนึ่งตัวลดลงเท่ากับ 105.2, 94.4, 84.6, 81.2, 66 และ 57.5 ตัว เมื่อคิดเปอร์เซ็นต์การฟักตัวได้เท่ากับ 100, 92, 89, 85, 80 และ 73 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนแบคทีเรีย *P. luminescens* ส่งผลให้จำนวนลูกของหนอนฝักต่อตัวแม่หนึ่งตัวลดลงเท่ากับ 105.2, 83.9, 75.9, 65.2, 51.6 และ 45 ตัว และคิดเปอร์เซ็นต์การฟักตัวได้เท่ากับ 100, 86, 81, 76, 70 และ 65 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาการใช้แบคทีเรียที่อาศัยร่วมกับไส้เดือนฝอยภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาความสามารถในการทำลายไรโซปลาศัตรูเห็ดขออนขาวในครั้งนี้ทำให้ทราบว่าแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. (X1) มีประสิทธิภาพในการฆ่าไรโซ จึงควรนำมาศึกษารายละเอียดด้านอื่นๆ เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาการใช้แบคทีเรียชนิดนี้ในการทดสอบในระดับโรงเพาะเห็ด เพื่อเป็นทางเลือกให้กับเกษตรกรในการทำจัดไรโซปลาโดยชีววิธี

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์, อัญชลี เชียงกุล และวัฒนา จารณศรี. “ไรไข่ปลา,” ใน รายงานผลการค้นคว้าและการวิจัยประจำปี 2543. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. หน้า 23-40. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2543.
- ชาญยุทธ์ ภาณุทัต และนงนุช แดงทรัพย์. “เห็ดขอนขาวที่จังหวัดกาฬสินธุ์,” ใน รายงานผลการสัมมนาเห็ดแห่งชาติ ระหว่างวันที่ 6-9 มีนาคม 2540. กองส่งเสริมพืชสวน, กรมส่งเสริมการเกษตร. หน้า 114-121. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2540.
- เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์. “แมลงและศัตรูเห็ด,” ใน กลุ่มงานวิจัยไรและแมลงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, สำนักวิจัย พัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. หน้า 132-133. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2546.
- Abdel-Razek, A.S. “Pathogenic Effects of *Xenorhabdus nematophilus* and *Photorhabdus luminescens* (Enterobacteriaceae) Against Pupae of the Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (L.),” Journal of Pest Science. 76 : 108-111 ; August, 2003.
- Bussaman, P., R.W. Sermswan and P.S. Grewel. “Toxicity of the Entomopathogenic Bacteria *Photorhabdus* and *Xenorhabdus* to the mushroom mite (*Luciaphorus* sp ; Acari : *Pygmephoridae*),” Biocontrol Science and Technology. 16(3) : 245-256 ; July, 2006.
- Bussaman, P., Sobanboa, S., Grewal, P.S. and A. Chandrapatya. “Pathogenicity of Additional Strains of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus* (Enterobacteriaceae) to the Mushroom Mite *Luciaphorus perniciosus* (Acari : *Pygmephoridae*),” Applied Entomology and Zoology. 44(2) : 293-299 ; December, 2009.
- Dongjin, J., Y. Yi, G.H. Kang, Y.H. Choi, P. Kim and N.I. Baek, “Identification of an Antibacterial Compound, Benzylideneacetone, from *Xenorhabdus nematophila* Against Major Plant-Pathogenic Bacteria,” FEMS Microbiology Letters. 239 : 241-248 ; 2004.
- Forst, S., B. Dowds, N. Boemare and E. Stackebrandt “*Xenorhabdus* and *Photorhabdus* spp. Bugthat Kill Bugs,” Annual Review of Microbiology. 51 : 47-72 ; October, 1997.
- Gerritsen Lonne, J.M., G. Jana and L.W. Gerrie. “Oral Toxicity of *Photorhabdus* Toxins Against Thrips Species,” Journal of Invertebrate Pathology. 88 : 207-211 ; March, 2005.

- Kaya, H.K and S.P. Stock. Manual of Techniques in Insect Pathology. San Diego, CA : Academic Press, 1997.
- Mahar, A.N., M. Munir and A.Q. Mahar. “Studies of Different Application Methods of *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* Cells and Their Toxin in Broth Solution to Control Locust (*Schistocerca gregarta*),” Asian Journal of Plant Science. 3(6) : 690-695 ; 2004.
- Mahar, A.N., M. Munir, S. Elawad, S.R. Gowen and N.G.M. Hague. “Microbial Control of Diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera : *Yponomeutidae*) Using Bacteria (*Xenorhabdus nematophila*) and Its Metabolites from the Entomopathogenic Nematode *Steinernema carpocapsae*,” Journal of Zhejiang University Science. 5(10) : 1183-1190 ; August, 2004.
- Mahar, N.A., D.A. Darban, S.R. Gowen, N.G.W. Hague, N.D. Jan, M. Munir and A.G. Mahar “Use of Entomopathogenic Bacterium *Pseudomonas putida* (Enterobacteriaceae) and Its Secretion Against Greater Wax Moth, *Galleria mellonella* Pupae,” Journal of Entomology. 2(1) : 77-85 ; 2005.
- Mahar, A.N., M. Munir, S. Elawad, S.R. Gowen and N.G.M. Hague. “Pathogenicity of Bacterium, *Xenorhabdus nematophila* Isolated from Entomopathogenic Nematode (*Steinernema carpocapsae*) and Its Secretion Against *Galleria mellonella* larvae,” Journal of Zhejiang University Science. 6B(6) : 457-463 ; December, 2005.
- Park, Y. and Y. Kim. “Eicosanoids rescue *Spodoptera exigua* infected with *Xenorhabdus nematophilus*, the symbiotic bacteria to the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae*,” Journal of Insect Physiology. 46 : 1469-1476 ; July, 2000.
- Wester, J.M., J. Li and G. Chen. “Heterocyclic Compounds with Antibacterial and Antimycotic Properties,” United States Patent. 8 : 1-8 ; November, 2001.

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ

Bussaman, P., Sobanboa, S., Grewal, P.S. and A. Chandrapatya. 2009. Pathogenicity of additional strains of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus* (Enterobacteriaceae) to the mushroom mite *Luciaphorus perniciosus* (Acari: Pygmephoridae) Appl. Ent. Zoology. Vol. 44(2): 293-299. **Impact factor 2008 = 0.699**

2. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

- เชิงสาธารณะ ได้พัฒนาและผลิตแบคทีเรียผงแห้งป้องกันและกำจัดไรศัตรูพืช เพื่อใช้เป็นผลิตภัณฑ์ทดลอง ให้แก่เครือข่ายกลุ่มเพาะเห็ดบ้านหัน จ. มหาสารคามความ และ กำลังขยายไปยังจังหวัดใกล้เคียง

3. การเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการ

การประชุมวิชาการระดับชาติ

- **Bussaman, P. and A. Chandrapatya.** 2007. The Efficacy of the Entomopathogenic Bacteria *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* for Controlling Mushroom Mite (*Luciaphorus* sp.): A Novel Approach. In “**Thailand research fund** (October 11-13, 2007). Ambassador City Jomtien. Chonburi. Thailand.

- **Bussaman, P. and A. Chandrapatya.** 2008. Evaluation of Different Formulations of the *Xenorhabdus nematophila* Against Mushroom Mite (*Luciaphorus* sp.) In “**Thailand research fund** (October 16-18 2008)”. Holiday Inn Regent Beach, Cha-Am, Phetchaburi.. Thailand.

- **Prapassorn Bussaman, Siriphan Sobanbou and Angsumarn Chandrapatya.** 2550. Pathogenic effects of the entomopathogenic bacteria *Photorhabdus* and *Xenorhabdus* against mushroom mite” (Poster Presentation) มหาสารคามวิจัย ครั้งที่ 3 วันที่ 6-7 กันยายน 2550 ณ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม.

การประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

- **P. Bussaman, S. Sobanbou and A. Chandrapatya** 2008. Evaluation of the *Xenorhabdus nematophila* as biocontrol agent for controlling mushroom mite (*Luciaphorus* sp.). 20th Annual Meeting and International Conference of the Thai Society for

Biotechnology “TSB 2008: Biotechnology for Global Care” October 14th - 17th 2008 in Taksila Hotel, Mahasarakham. Thailand.

- Piyarat Namsena, **Prapassorn Bussaman** and **Angsumarn Chandrapatya**

2009. Efficacy of *Xenorhabdus* sp. (X1) mutant on mushroom mite

(*Luciaphorus* sp.) International Conference on Go...Organic 2009. Aug 19-21 2009.

Pullman Bangkok King Power Hotel, Bangkok, Thailand.

-Siriphan Sobanbou, **Prapassorn Bussaman** and **Angsumarn Chandrapatya**

2009. Efficacy of *Xenorhabdus* sp. (X1) as biocontrol against for controlling

mushroom mites (*Luciaphorus* sp.) International Conference on Go...Organic 2009.

Aug 19-21 2009. Pullman Bangkok King Power Hotel, Bangkok, Thailand.