การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไวรัส NPV เพื่อควบคุมหนอนกระทู้ผัก

Development of *Spodoptera litura* Nuclear Polyhedrosis Virus Fomulation for Controlling Common Cutworm Larvae.

อัจฉรา ตันติโชดก อิศเรส เทียนทัด สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ทำการทดลองหาอัตราการผสมของสารช่วยในการแขวนลอย(emulsifier) สารช่วยเปียกใบ (wetter/spreader) และสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวเพิ่มปริมาณผลิตภัณฑ์(filler) โดยเลือกใช้สาร Gum xanthan เป็นตัวช่วยให้แขวนลอย ใช้สาร emulsogen เป็นตัวช่วยในการเปียกใบ และใช้สาร glycerine เป็นตัวเพิ่มปริมาณผลิตภัณฑ์ โดยทำการทดลองผสมสาร Gum xanthan ที่อัตรา 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 กรัม/สารแขวนลอย SlNPV 1 ลิตร ทดลองใช้สาร emulsogen อัตรา 10, 20, 30, 40 และ 50 มล./ สารแขวนลอย SeNPV 1 ลิตร ทดลองใช้ glycerine ที่อัตรา 100, 150, 200 มล./สารแขวนลอย SlNPV 1 ลิตร จากการทดลองพบว่าสาร Gum xanthan จะช่วยให้สารแขวนลอย SlNPV คงตัวอยู่ได้ดีที่ความเข้มข้น 2.0-2.5 กรัม/ลิตร โดยที่อัตรา 3.0 กรัม ทำให้สารแขวนลอยเข้มข้นเกินไปทำให้การรวมตัวกับสารอื่นๆไม่ดี การใช้สารช่วยเปียกใบ emulsogen ทุกอัตราที่ 10, 20, 30, 40 และ 50 มล./ลิตร ไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อนำมาผสมกับสารแขวนลอยไวรัส การใช้ glycerine เป็นสารช่วยเพิ่มปริมาณผลิตภัณฑ์ พบว่าทุกอัตราที่ 100,150 และ 200 มล./ลิตร สามารถรวมตัวได้ดีกับสารแขวนลอย SlNPV

การทดลองทำสูตรสำเร็จ สูตรแขวนลอยเข้มข้น (Flowable liquid) ของไวรัส *Spodoptera litura* NPV จากผลการทดลองใช้ Gum xanthan ที่อัตรา 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3 กรัม/ไวรัส SlNPV 1 ลิตร ใช้สารช่วยแขวนลอย emulsogen ที่อัตรา 10, 20, 30, 40 และ 50 มล/ไวรัส SlNPV 1 ลิตร และ glycerine อัตรา 100, 150 และ 200 มล/SlNPV 1 ลิตร เมื่อนำมาเข้าเครื่องผสมเป็นเนื้อเดียวกัน (homogenizer) ที่ 2,000 รอบ/นาที พบว่าการใช้ Gum xanthan ที่อัตรา 2 กรัม จะให้ผลการแขวนลอยเป็นเนื้อเดียวกันดีที่สุด แต่ที่อัตรา 2.5 และ 3.0 กรัม จะทำให้สารแขวนลอยข้นเกินไป การใช้ emulsogen ช่วยแขวนลอย ที่อัตรา 10, 20 และ 30 มล/SlNPV 1

รหัสการทดลอง 07-01-49-06-04-02-01-51

ลิตร ให้ผลการแยกชั้นได้ไม่ต่างกัน ที่อัตรา 40 และ 50 มล. จะแยกชั้นเมื่อเวลาอย่างรวดเร็วที่ 3 วัน การใช้ glycerine ที่อัตรา 100, 150 และ 200 มล/SlNPV 1 ลิตร ไม่เห็นความแตกต่างของแต่ละอัตราต่อการรวมตัวและแขวนลอยในระยะเวลา 1-3 วัน

คำนำ

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไวรัส NPV ทั้งสูตรสารแขวนลอยในน้ำและสูตรผงละลายน้ำ เป็นปัจจัยหลักในการพัฒนาคุณภาพเชื้อไวรัสเพื่อการนำไปใช้ ไวรัส NPV ผลิตจากตัวหนอนซึ่งเป็นแมลงอาศัยโดยตรง ประสิทธิภาพของ Bt หรือ NPV จะคงที่อยู่ได้นานเพียงใดอยู่ที่การทำสูตรสำเร็จ (formulation) ซึ่งในหลักการผลิตจุลินทรีย์นั้น จุลินทรีย์ที่ผลิตได้ควรเก็บไว้ได้นานเกินกว่า 18 เดือน ดังนั้นการวิจัยเพื่อการทำสูตรสำเร็จเพื่อให้เก็บรักษาผลิตพันธุ์ไวรัส NPV ในสภาพอากาศร้อนในประเทศไทยจึงมีความสำคัญมากกว่าประเทศที่มีอากาศเย็น เช่น ในยุโรปและอเมริกา รูปแบบการทำสูตรสำเร็จที่เหมาะสมของแต่ละชนิดจุลินทรีย์และสภาพแวดล้อมมีส่วนสำคัญต่อการเก็บรักษาและต่อประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ชนิดนั้นๆ ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์ ที่พัฒนาสูตรสำเร็จสามารถนำไปใช้ได้จริงในแปลงเกษตรกรโดยประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืชไม่ลดลง ซึ่งการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ในสภาพไร่จริง เพื่อเป็นข้อมูลชี้ให้เห็นว่า การพัฒนาสูตรสำเร็จไวรัส NPV สามารถเพิ่มศักยภาพในการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืช เมื่อเทียบกับสูตรดั่งเดิมที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน

วิธีดำเนินการ

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> การผลิตขยายเชื้อไวรัส เอ็น พี วีหนอนกระทู้ผัก ทำการทดลองโดยใช้ ไวรัสเอ็น พี วี ของหนอนกระทู้ผัก ที่แยกเชื้อบริสุทธิ์ด้วยเครื่อง Ultracentrifuge โดยวิธี Sucrose Gradient Centrifugation นำมาปลูกเชื้อบนอาหารเทียม (Surfaced layer) ที่ความเข้มข้น $1x10^7$ ผลึกต่อมิลลิลิตร เคลือบผิวหน้าอาหารเทียมถาดละ 3 มิลลิลิตรกดช่องเลี้ยงลงบนถาดใช้หนอนกระทู้ผักวัยที่ 3 ช่องละ 1 ตัวปิดฝาถาด เลี้ยงหนอนไว้ 7 วัน จากนั้นเก็บหนอนตายใส่ flask เก็บในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ –20 ^{o}C รอการทำสูตรสำเร็จต่อไป

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> ทดสอบอัตราส่วนของสารเคมีและไวรัส ที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพการเกิดโรคของหนอนกระทู้ผัก โดยแบ่ง SlNPV, Glycerene, Kaolin, Silica, Kelzan, Emulsogen และน้ำ ออกเป็น 7 วิธีการตามอัตราส่วนและชนิดของสารเคมีที่แตกต่างกัน นำมาทดสอบกับหนอนกระทู้ผัก ซึ่งได้จากการเก็บมาจากแปลงเกษตรกร และเลี้ยงด้วยอาหารเทียมในห้องปฏิบัติการจนถึงรุ่นที่สอง วัยที่ 3 และ 4 ในแต่ละวัยทดสอบกับสารแขวนลอยไวรัส 6 วิธีการและ 1 วิธีการเปรียบเทียบ ที่ความเข้มข้น $2x10^7$ผลึกต่อมิลลิลิตร โดยในแต่ละวัยใช้หนอนกระทู้ผัก 700 ตัว (20

larvae/replication, 5 replication/treatment) หาวิธีการที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพการเกิดโรคของไวรัส NPV หนอนกระทู้ผัก

การบันทึกข้อมูล

บันทึกผลการทดสอบอัตราส่วนของสารเคมีและไวรัส ที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพการเกิดโรคของหนอนกระทู้ผัก ทำการบันทึกผลการตายของหนอนในแต่ละวัยที่วิธีการต่างๆ ตลอดถึงการคำนวณค่าเปอร์เซ็นการตายที่แท้จริง เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเพื่อหาวิธีการที่มีประสิทธิภาพการเกิดโรคดีที่สุด

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการทดลองหาอัตราการผสมของสารช่วยในการแขวนลอย(emulsifier) สารช่วยเปียกใบ(wetter/spreader) และสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวเพิ่มปริมาณผลิตภัณฑ์(filler) โดยเลือกใช้สาร Gum xanthan เป็นตัวช่วยให้แขวนลอย ใช้สาร emulsogen เป็นตัวช่วยในการเปียกใบ และใช้สาร glycerine เป็นตัวเพิ่มปริมาณผลิตภัณฑ์ โดยทำการทดลองผสมสาร Gum xanthan ที่อัตรา 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 กรัม/สารแขวนลอย SlNPV 1 ลิตร ทดลองใช้สาร emulsogen อัตรา 10, 20, 30, 40 และ 50 มล./ สารแขวนลอย SeNPV 1 ลิตร ทดลองใช้ glycerine ที่อัตรา 100, 150, 200 มล./สารแขวนลอย SlNPV 1 ลิตร จากการทดลองพบว่าสาร Gum xanthan จะช่วยให้สารแขวนลอย SlNPV คงตัวอยู่ได้ดีที่ความเข้มข้น 2.0-2.5 กรัม/ลิตร โดยที่อัตรา 3.0 กรัม ทำให้สารแขวนลอยเข้มข้นเกินไปทำให้การรวมตัวกับสารอื่นๆไม่ดี การใช้สารช่วยเปียกใบ emulsogen ทุกอัตราที่ 10, 20, 30, 40 และ 50 มล./ลิตร ไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อนำมาผสมกับสารแขวนลอยไวรัส การใช้ glycerine เป็นสารช่วยเพิ่มปริมาณผลิตภัณฑ์ พบว่าทุกอัตราที่ 100,150 และ 200 มล./ลิตร สามารถรวมตัวได้ดีกับสารแขวนลอย SlNPV

การทดลองทำสูตรสำเร็จ สูตรแขวนลอยเข้มข้น (Flowable liquid) ของไวรัส *Spodoptera litura* NPV จากผลการทดลองใช้ Gum xanthan ที่อัตรา 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3 กรัม/ไวรัส SlNPV 1 ลิตร ใช้สารช่วยแขวนลอย emulsogen ที่อัตรา 10, 20, 30, 40 และ 50 มล/ไวรัส SlNPV 1 ลิตร และ glycerine อัตรา 100, 150 และ 200 มล/SlNPV 1 ลิตร เมื่อนำมาเข้าเครื่องผสมเป็นเนื้อเดียวกัน (homogenizer) ที่ 2,000 รอบ/นาที พบว่าการใช้ Gum xanthan ที่อัตรา 2 กรัม จะให้ผลการแขวนลอยเป็นเนื้อเดียวกันดีที่สุด แต่ที่อัตรา 2.5 และ 3.0 กรัม จะทำให้สารแขวนลอยข้นเกินไป การใช้ emulsogen ช่วยแขวนลอย ที่อัตรา 10, 20 และ 30 มล/SlNPV 1 ลิตร ให้ผลการแยกชั้นได้ไม่ต่างกัน ที่อัตรา 40 และ 50 มล. จะแยกชั้นเมื่อเวลาอย่างรวดเร็วที่ 3 วัน การใช้ glycerine ที่อัตรา 100, 150 และ 200 มล/SlNPV 1 ลิตร ไม่เห็นความแตกต่างของแต่ละอัตราต่อการรวมตัวและแขวนลอยในระยะเวลา 1-3 วัน