วิจัยและพัฒนาการผลิตขยายไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช

Research and Development on *Steinernema glaseri* Production for Control Insect Pests

สาทิพย์ มาลี วิไลวรรณ เวชยันต์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาปริมาณ inoculum ไส้เดือนฝอยที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยหนอนกินรังผึ้ง โดยใช้ปริมาณ inoculum ไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* 3,000 2,000 1,000 200 100 และ 10 ตัว/น้ำ 0.4 มล.ตัว ในสภาพอุณหภูมิห้อง พบว่าการใช้ปริมาณ inoculum ไส้เดือนฝอย 2,000 ตัวต่อหนอน 10 ตัว จะได้ปริมาณไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ระยะเข้าทำลายแมลงมากที่สุด

การเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ด้วยอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว สามารถเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ให้ได้ปริมาณมากได้โดย ใช้สูตรอาหารอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลวที่ประกอบด้วยอาหารสุนัข น้ำมันหมู หนอนกินรังผึ้ง และน้ำใส่ไส้เดือนฝอย IJ จำนวน 5000 ตัว/flask เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 วัน

คำนำ

“การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี” เป็นทางเลือกที่สำคัญในการจัดการศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน (IPM) ซึ่งมีองค์ประกอบของเทคโนโลยีหลายประการ หลักการสำคัญประกอบด้วยการอนุรักษ์ชีวินทรีย์ (Bio-agents) ได้แก่ ตัวห้ำ ตัวเบียน จุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ไว้ให้มากที่สุดเพื่อรักษาสมดุลในธรรมชาติ นอกจากนั้นยังสามารถทำได้โดยวิธีการนำชีวินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เหล่านี้เพาะเลี้ยงและผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก และนำไปใช้ควบคุมศัตรูพืชโดยตรง หรือใช้ร่วมกันกับสารเคมีที่เหมาะสม จะสามารถควบคุมศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืน หากมีการจัดการที่ดีและถูกต้อง ชีวินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เหล่านี้นับเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติ การวิจัยและพัฒนาเพื่อใช้ประโยชน์จากชีวินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในเวลาที่เหมาะสมจะสามารถเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร ไม่มีพิษตกค้างในผลผลิต และไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

รหัสการทดลอง 03-04-54-01-02-04-03-54

หากบรรลุตามเป้าหมายที่วางไว้จะสามารถนำมาใช้ทดแทนการใช้สารเคมีที่ต้องนำเข้ามาจากต่างประเทศ รวมทั้งเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับทรัพยากรธรรมชาติด้วย

การผลิตขยายและการนำชีวินทรีย์ชนิดต่าง ๆ มาใช้ประโยชน์เป็นงานวิจัยและพัฒนาที่ต้องอาศัยข้อมูลพื้นฐานที่ได้จากการศึกษาชีวินทรีย์ทั้งที่มีอยู่ในประเทศ หรือชนิดใหม่ๆ ที่นำเข้าจากต่างประเทศ ต้องวิจัยพัฒนาขบวนการที่เหมาะสมในการผลิตและการนำไปใช้ประโยชน์ในสภาพไร่ หากพบว่ามีศักยภาพที่สามารถนำมาผลิตขยายให้ได้ปริมาณมาก มีรูปแบบการผลิตที่เป็นระบบที่สามารถผลิตได้อย่างต่อเนื่อง จะต้องมีการศึกษาประสิทธิภาพ อัตราการใช้ เวลาที่เหมาะสม ตลอดจนมีบรรจุภัณฑ์ที่สามารถรักษาคุณภาพชีวินทรีย์ที่ผลิตได้ และนำไปใช้ได้สะดวก และ เป็นงานวิจัยที่ต้องเร่งวิจัยอย่างครบวงจร เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ชีวินทรีย์ที่ดี มีคุณภาพ สามารถนำไปใช้ควบคุมศัตรูพืชได้ดี

ไส้เดือนฝอยในวงศ์ Steinernematidae และ Heterorhabditidae เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ที่มีศักยภาพสูงในการควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด โดยเฉพาะแมลงที่อาศัยในดินหรือที่ที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะสม (Poinar, 1979; Kaya, 1995; Klein, 1990) ในประเทศไทย วัชรี (2544)ได้รายงานความก้าวหน้าการวิจัยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง โดยนำไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ไปทดสอบควบคุมหนอนกินใต้ผิวเปลือกลองกอง ลางสาด ตัวอ่อนหนอนด้วงหมัดผักในผักกาดหัว ด้วงงวงมันเทศ และหนอนกระทู้หอมในดาวเรือง (2534ก,2534ข, 2537,2539) รวมทั้งได้พัฒนานาเทคโนโลยีการผลิตไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ด้วยอาหารเหลวในระดับการค้า จนสามารถถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ภาคเอกชนเพื่อผลิตเป็นการค้าไปแล้ว นอกจาก ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* แล้ว ยังมีไส้เดือนฝอยอีกหลายชนิด เช่น *S. glaseri* *S. riobrave* และ *S. siamkayai* ที่มีศักยภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืช แต่ขาดข้อมูลพื้นฐานทางชีววิทยา นิเวศวิทยา และปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงชนิดนั้นๆ เพื่อนำไปสู่การผลิตขยายให้มีปริมาณมาก รวมทั้งเทคนิคการใช้ไส้เดือนฝอยจนสามารถพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์ทดแทนหรือลดลงการใช้สารเคมีทางการเกษตรต่อไป

ไส้เดือนฝอย *S. glaseri* เป็นไส้เดือนฝอยอีกชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยเฉพาะแมลงศัตรูพืชในอันดับ coleoptera ในประเทศไทยในปัจจุบันยังไม่ได้มีการศึกษาอย่างจริงจัง โดยเฉพาะการผลิตขยายยังดำเนินการได้ไม่เต็มที่ เนื่องจากยังขาดข้อมูลสนับสนุบในหลายๆ ด้าน ดังนั้นจึงต้องศึกษาข้อมูลพื้นฐานต่างๆของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* เพื่อนำไปการผลิตขยายให้มีปริมาณมากและพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์ทดแทนหรือลดลงการใช้สารเคมีทางการเกษตรต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1.ไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri*

2.หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella* วัย 5-6

3.กระดาษกรอง

4.จานพลาสติกขนาด 9 เซ็นติเมตร

5.ผ้ากรอง

วิธีการ

การทดลองย่อยที่ 1 ศึกษาการผลิตขยายไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยแมลงอาศัย(2554)

1 ศึกษาปริมาณ inoculum ไส้เดือนฝอยที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ด้วยแมลงอาศัย

นำไส้เดือนฝอย *S. glaseri* 3 ระยะเข้าทำลายแมลง มาเจือจางในน้ำกลั่นอบนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ให้ได้อัตราความหนาแน่นประมาณ 3000 2000 1000 200 100 และ 10 ตัว/น้ำ 0.4 มล. หยดลงบนกระดาษกรองในจานพลาสติก-จากนั้นนำหนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella* (วัย 5 - 6) ที่เลี้ยงด้วยอาหารเทียม ในห้องปฏิบัติการ จำนวน 10 ตัว ปล่อยลงไปในจานพลาสติกที่หยดไส้เดือนฝอยแล้ว ปิดฝานำเก็บที่อุณหภูมิ 25°ซ หลังจากนั้น 24-48 ชั่วโมง หนอนจะตาย จึงเก็บหนอนมาล้างด้วยน้ำสะอาดนำซากหนอนเหล่านั้น มาวางบนจานแก้วปูด้วยผ้ากรอง นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 °ซ ทิ้งไว้ประมาณ 7-10 วัน ไส้เดือนฝอยจะเจริญเติบโต อยู่ภายในตัวหนอนจนกระทั่งพัฒนาเป็นไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายแมลง (IJ) จึงออกจากซากหนอนลงสู่น้ำที่หล่อไว้-ทำการเก็บไส้เดือนฝอยที่ได้จากน้ำที่หล่อไว้นั้น โดยเทเก็บวันเว้นวันใส่ในภาชนะ และเติมน้ำสะอาดหล่อไว้ใหม่จนซากหนอนแห้ง ประมาณ 4-5 ครั้ง

- **การบันทึกข้อมูล**
- ปริมาณหนอนที่ตายในแต่ละอัตราความหนาแน่น
- ปริมาณไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้จากหนอน1 ตัว
- คุณภาพของไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้ในแต่ละความหนาแน่น

การทดลองย่อยที่ 2 ศึกษาการผลิตขยายไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว(2555-2556)

2.1 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ด้วยอาหารอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว

เลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ด้วยอาหารอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว โดยใช้สูตรอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลวที่ใช้เลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ซึ่งประกอบด้วย อาหารสุนัข น้ำมันหมู หนอนกินรังผึ้ง ฟองน้ำสังเคราะห์และน้ำ โดยใช้วิธีการเลี้ยงของวัชรี (2544) ดังนี้

1.นำส่วนผสมทั้งหมดผสมให้เข้ากัน บรรจุใน flask จำนวน 45 กรัม ปิดจุกสำลี นำเข้าอบนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที

2.เมื่ออาหารเย็นลง เติมแบคทีเรียร่วมอาศัยที่เลี้ยงขยายใน Ys broth เขย่าที่ 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ลงในอาหารเทียมเลี้ยงไส้เดือนฝอยจำนวน 3 มล. นำเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.เติม ไส้เดือนฝอย *S. glaseri* วัย 3 ระยะ IJ ลงเลี้ยงในอัตรา 5000 ตัวต่อ flask เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน เมื่อไส้เดือนฝอยพัฒนาเป็นวัย 3 ระยะ IJ จึงทำการเก็บผลผลิต

บันทึกผล

- ปริมาณไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้

2.2 ศึกษาปริมาณ inoculum ของไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ในการเลี้ยงด้วยอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว

เลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ด้วยอาหารอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว โดยใช้สูตรอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลวที่ใช้เลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ซึ่งประกอบด้วย อาหารสุนัข น้ำมันหมู หนอนกินรังผึ้ง ฟองน้ำสังเคราะห์และน้ำ โดยใช้วิธีการเลี้ยงของวัชรี (2544) ดังนี้

1.นำส่วนผสมทั้งหมดผสมให้เข้ากัน บรรจุใน flask จำนวน 45 กรัม ปิดจุกสำลี นำเข้าอบนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที

2.เมื่ออาหารเย็นลง เติมแบคทีเรียร่วมอาศัยที่เลี้ยงขยายใน Ys broth เขย่าที่ 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ลงในอาหารเทียมเลี้ยงไส้เดือนฝอยจำนวน 3 มล. นำเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.เติม ไส้เดือนฝอย *S. glaseri* วัย 3 ระยะ IJ ลงเลี้ยงในอัตรา 4,000 5,000 และ 6,000 ตัวต่อ flask เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน เมื่อไส้เดือนฝอยพัฒนาเป็นวัย 3 ระยะ IJ จึงทำการเก็บผลผลิต

บันทึกผล

- ปริมาณไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้

2.3 ศึกษาผลของแบคทีเรียร่วมอาศัยต่อการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ด้วยอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว

เลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ด้วยอาหารอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว โดยใช้สูตรอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว ซึ่งประกอบด้วย อาหารสุนัข น้ำมันหมู หนอนกินรังผึ้ง ฟองน้ำสังเคราะห์และน้ำ โดยใช้วิธีการเลี้ยงดังนี้

1.นำส่วนผสมทั้งหมดผสมให้เข้ากัน บรรจุใน flask จำนวน 45 กรัม ปิดจุกสำลี นำเข้าอบนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที จำนวน 60 flask

2.เมื่ออาหารเย็นลง เติมแบคทีเรียร่วมอาศัยที่เลี้ยงขยายใน Ys broth เขย่าที่ 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ลงในอาหารเทียมเลี้ยงไส้เดือนฝอยจำนวน 3 มล.ต่อ flask จำนวน 30 flask นำเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.เติม ไส้เดือนฝอย *S. glaseri* วัย 3 ระยะ IJ ลงเลี้ยงในอัตรา 5,000 ตัวต่อ flask เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน เมื่อไส้เดือนฝอยพัฒนาเป็นวัย 3 ระยะ IJ จึงทำการเก็บผลผลิต

บันทึกผล

- ปริมาณไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้
- คุณภาพของไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้ในแต่รอบการผลิต
- ข้อมูลต้นทุนการผลิต

การทดลองย่อยที่ 3 ศึกษาการผลิตขยายไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยอาหารเหลวในระดับขวดเขย่า(2556-2558)

3.1 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ด้วยอาหารเหลวในระดับขวดเขย่า

1.เลี้ยงไส้เดือยฝอย *S. glaseri* ด้วยอาหารอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว โดยใช้สูตรอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ประกอบด้วยโปรตีน และคาร์โบไฮเดรต0.75%วิตามินและเกลือแร่0.50% ไขมัน0.20% Emulsifier6.67% และน้ำสะอาด100 %

เตรียมส่วนผสมอาหารดังกล่าวให้เข้ากัน แล้วบรรจุลงในขวดแก้วขนาด 500 มล. ขวดละ 40 มล. ปิดจุกสำลี และนำเข้าอบนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°ซ ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำอาหารออกจากตู้อบ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เพื่อนำไปใช้ในกระบวนการเลี้ยงไส้เดือนฝอยต่อไป

2.เมื่ออาหารเย็นลง เติมแบคทีเรียร่วมอาศัยที่เลี้ยงขยายใน Ys broth เขย่าที่ 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ลงในอาหารเทียมเลี้ยงไส้เดือนฝอยจำนวน 3 มล.ต่อ flask จำนวน 30 flask นำเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.หลังจากเลี้ยงขยายปริมาณแบคทีเรียในอาหารเหลวแล้วเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงนำไส้เดือนฝอยลงเลี้ยง โดยนำต้นเชื้อไส้เดือนฝอยที่ผ่านการล้างทำความสะอาดแล้ว อัตรา 1,000 ตัว/อาหาร 1 มล. แล้วใส่ลงในขวดอาหารเหลวด้วยวิธีปลอดเชื้อนำไปเลี้ยงต่อโดยเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25°ซ เป็นเวลา 12 วัน

4.ทำการตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยวัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง ซึ่งจะหยุดกินอาหาร ปากจะปิด และส่วนหางจะยาวแหลม โดยเมื่อพบเป็นจำนวนมากกว่า 95% จึงทำการเก็บผลผลิต

3.2 ศึกษาผลของปริมาณ inoculum ไส้เดือนฝอยต่อการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ด้วยอาหารเหลวในระดับขวดเขย่า

เลี้ยงไส้เดือยฝอย *S. glaseri* ด้วยอาหารเหลว โดยใช้สูตรอาหารเหลวที่เหมาะสม โดยใช้ปริมาณ inoculum ไส้เดือนฝอย *S. glaseri* วัย 3 ระยะ IJ ลงเลี้ยงในอัตรา 4,000 5,000 และ 6,000 ตัวต่อ flask เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12-15 วัน เมื่อไส้เดือนฝอยพัฒนาเป็นวัย 3 ระยะ IJ จึงทำการเก็บผลผลิต

3.3 ศึกษาผลของแบคทีเรียร่วมอาศัยต่อการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ด้วยอาหารเหลวในระดับขวดเขย่า

เลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ด้วยอาหารอาหารเทียมเหลว โดยใช้วิธีการเลี้ยงดังนี้

- 1.เตรียมอาหารเทียม บรรจุใน flask จำนวน 45 กรัม ปิดจุกสำลี นำเข้าอบนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที จำนวน 60 flask
- 2.เมื่ออาหารเย็นลง เติมแบคทีเรียร่วมอาศัยที่เลี้ยงขยายใน Ys broth เขย่าที่ 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ลงในอาหารเทียมเลี้ยงไส้เดือนฝอยจำนวน 3 มล.ต่อ flask จำนวน 30 flask นำเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
- 3.เติม ไส้เดือนฝอย *S. glaseri* วัย 3 ระยะ IJ ลงเลี้ยงในอัตรา 5,000 ตัวต่อ flask เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน เมื่อไส้เดือนฝอยพัฒนาเป็นวัย 3 ระยะ IJ จึงทำการเก็บผลผลิต
- **การบันทึกข้อมูล**
  - ปริมาณไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้
  - คุณภาพของไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้ในแต่รอบการผลิต
  - ข้อมูลต้นทุนการผลิต

การทดลองย่อยที่ 4 ทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* ควบคุมแมลงศัตรูพืช(2558)

ทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ในการควบคุมหนอนกระทู้ผักในดาวเรือง

- วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี
- กรรมวิธีที่ 1 พ่นไส้เดือนฝอย *S. glaseri* อัตรา 20 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร
- กรรมวิธีที่ 2 พ่นไส้เดือนฝอย *S. glaseri* อัตรา 30 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร
- กรรมวิธีที่ 3 พ่นไส้เดือนฝอย *S. glaseri* อัตรา 40 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร
- กรรมวิธีที่ 4 พ่นไส้เดือนฝอย *S. glaseri* อัตรา 50 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร
- กรรมวิธีที่ 5 พ่น BT อัตรา 80 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร
- กรรมวิธีที่ 5 ไม่ควบคุมศัตรูพืช(control)

พ่นไส้เดือนฝอย ในแปลงปลูกดาวเรืองขนาดแปลงย่อย 15 ตารางเมตร อัตราความเข้มข้นต่างๆ ตามกรรมวิธีที่กำหนด โดยใช้เครื่องพ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูง โดยพ่นในระยะที่ดาวเรืองติดดอก และพบหนอนเฉลี่ย 1 ตัวต่อดอก จำนวน 5 ครั้ง โดยตรวจนับปริมาณหนอนที่พบ

ทั้งก่อนและหลังพ่นไส้เดือนฝอยจำนวน 20 ดอกต่อแปลงย่อย ในแต่กรรมวิธีเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ

- การบันทึกผลการทดลอง
- บันทึกจำนวนแมลงที่พบทั้งก่อนและหลังพ่นไส้เดือนฝอย

การทดลองย่อยที่ 5 ศึกษาวิธีการเก็บรักษาไส้ดือนฝอย *Steinernema glaseri* (2556-2558)

เก็บรักษาไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ที่ผลิตได้ในชิ้นฟองน้ำ โดยบรรจุไส้เดือนฝอยในอัตรา $4x10^6$ ตัว $2x10^6$ ตัว $1x10^6$ ตัว และ $5x10^5$ ตัว เก็บที่อุณหภูมิ 6 และ 15 องศาเซลเซียส ตรวจนับอัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยและประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงทุกเดือน

การบันทึกข้อมูล

-อัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอย *S. glaseri*

-ประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลง

เวลาและสถานที่

-เริ่มต้น ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2558

-ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1.ศึกษาปริมาณ inoculum ไส้เดือนฝอยที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ด้วยแมลงอาศัย

นำไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* ระยะเข้าทำลายแมลง มาเจือจางในน้ำกลั่นอบนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ให้ได้อัตราความหนาแน่นประมาณ 3,000 2,000 1,000 200 100 และ 10 ตัว/น้ำ 0.4 มล. หยดลงบนกระดาษกรองในจานพลาสติกจากนั้นนำหนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella* (วัย 5 - 6) ที่เลี้ยงด้วยอาหารเทียม ในห้องปฏิบัติการ จำนวน 10 ตัว ปล่อยลงไปในจานพลาสติกที่หยดไส้เดือนฝอยแล้ว ปิดฝานำเก็บที่อุณหภูมิ 25°ซ นาน 48 ชั่วโมง หนอนจะตาย ลักษณะการตายของหนอนกินรังผึ้งด้วย ไส้เดือยฝอย *S.glaseri* นั้น ลำตัวจะเป็นสีดำ นิ่ม ไม่เละ จากการตรวจนับการตายของหนอนกินรังผึ้งในแต่ละความเข้มข้น พบว่าที่อัตราความหนาแน่นของไส้เดือนฝอย *S.glaseri* 2,000 ตัว มีเปอร์เซ็นต์หนอนกินรังผึ้งตายสูงที่สุด 84.20 % รองลงมาได้แก่ อัตราความหนาแน่น 3,000 1,000 200 100 ตัว มีเปอร์เซ็นต์หนอนกินรังผึ้งตาย 70.40 51.25 16.31 และ 11.17 % ตามลำดับ ส่วนการใช้ไส้เดือนฝอย *S.glaseri* 10 ตัว ไม่พบการตายของกินรังผึ้งแต่อย่างใด ปริมาณไส้เดือนฝอยที่ได้จากหนอนกินรังผึ้งที่ตายในแต่ละอัตราความหนาแน่นนั้นอยู่ระหว่าง 5,250-6,500 ตัวต่อหนอนกินรังผึ้ง 1 ตัว (ตารางที่ 1)

2.ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ด้วยอาหารอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว

เลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ด้วยอาหารอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว โดยใช้สูตรอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลวที่ใช้เลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ซึ่งประกอบด้วย

อาหารสุนัข 99 กรัม น้ำมันหมู 22 กรัม หนอนกินรังผึ้ง 11 กรัม น้ำ 331 มิลลิลิตร คลุกเคล้ากับฟองน้ำสังเคราะห์ 36 กรัม

1.นำส่วนผสมทั้งหมด บรรจุใน flask จำนวน 33 กรัม ปิดจุกสำลี นำเข้าอบนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที

2.เมื่ออาหารเย็นลง เติมแบคทีเรียร่วมอาศัยที่เลี้ยงขยายใน Ys broth เขย่าที่ 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ลงในอาหารเทียมเลี้ยงไส้เดือนฝอยจำนวน 3 มล. นำเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.เติม ไส้เดือนฝอย *S. glaseri* วัย 3 ระยะ IJ ลงเลี้ยงในอัตรา 4,000 5,000 และ 6,000 ตัวต่อ flask เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน เมื่อไส้เดือนฝอยพัฒนาเป็นวัย 3 ระยะ IJ จึงทำการเก็บผลผลิต

ผลการทดลองพบว่าการเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ด้วยอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว สามารถเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ให้ได้ปริมาณมากได้โดย ใช้สูตรอาหารอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลวที่ประกอบด้วยอาหารสุนัข น้ำมันหมู หนอนกินรังผึ้ง และน้ำใส่ไส้เดือนฝอย IJ จำนวน 5000 ตัว/flask เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 วัน สามารถผลิตขยายไส้เดือนฝอย*S. glaseri* ได้ปริมาณมากที่สุดเฉลี่ย 1.3 ล้านตัวต่อ flask

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* ด้วยหนอนกินรังผึ้ง โดยใช้ปริมาณ inoculum ไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* 2,000 ตัว/น้ำ 0.4 มล.ตัว ตัวต่อหนอน 10 ตัว ในสภาพอุณหภูมิห้อง จะได้ปริมาณไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ระยะเข้าทำลายแมลง(IJ) มากที่สุด

การเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ด้วยอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลว สามารถเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ให้ได้ปริมาณมากได้โดย ใช้สูตรอาหารอาหารเทียมแข็งกึ่งเหลวที่ประกอบด้วยอาหารสุนัข น้ำมันหมู หนอนกินรังผึ้ง และน้ำใส่ไส้เดือนฝอย IJ จำนวน 5000 ตัว/flask เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 วัน จะได้ปริมาณไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ระยะเข้าทำลายแมลง(IJ) มากที่สุด

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูผักไม้ดอกและไม้ประดับ. 2542. แมลงศัตรูผัก. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 97 หน้า.

วัชรี สมสุข พิมลพร นันทะ และเอนก บุตรรักษ์. 2537. การควบคุมหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* ในดาวเรืองด้วยไส้เดือนฝอย ผลงานแผ่นภาพ ในการประชุมสัมมนาทางวิชาการ แมลงและสัตว์ศัตรูพืช ครั้งที่ 9 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 55-62.

วัชรี สมสุข และ วิไลวรรณ เวชยันต์. 2547. ประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนผีเสื้อของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง. ใน การประชุมวิชาการประจำปี 2547 ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ. 22-25 มิถุนายน 2547 ณ โรงแรมโนโวเทล โคลาเรีย ริมเพ อ.แกลง จ.ระยอง.

วัชรี สมสุข วินัย รัชตปกรณ์ชัย และพิมลพร นันทะ. 2534ก. การใช้ไส้เดือนฝอย *Steinnernema carpocapsae* (Weiser) ควบคุมด้วงหมัดผักในผักกาดหัว. วารสารกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาเกษตร. 13 : 183 – 188.

วัชรี สมสุข สุธน สุวรรณบุตร และพิมลพร นันทะ. 2534ข. ศึกษาการใช้ไส้เดือนฝอย *Steinnernema carpocapsae* (Weiser) ในการควบคุมด้วงงวงมันเทศในสภาพธรรมชาติ. รายงานผลวิจัยประจำปี 2534 กองกีฏและสัตววิทยา.10 หน้า.

วัชรี สมสุข, อัจฉรา ตันติโชดก และอุทัย เกตุนุติ. 2529. ไส้เดือนฝอยควบคุมหนอนกินใต้ผิวเปลือกไม้สกุลลางสาด. *ว. กีฏ. สัตว์.* 8(3): 115-119.

Cabanillas, H.E., Poinar, G.O., Raulason, J.R. 1994. *Steinernema riobravis* n. sp. (Rhabditida : Steinernematidae) from Texas. Fundam. Appl. Nematol; 17 (2), 123-131.

Dutky, S.R., J.V. Thomson and G.W. Cantwell. 1964. Technique for the propagation of the DD-136 nematode. Journal of Insect Pathology 6 ; 417-422.

Friendman, M.J. 1990. Commercial production and development, pp. 153-173. *In*: Gaugler, R.A., and Kaya, H.K. (eds.) Entomopathogenic Nematodes in Biological control. Boca Raton, Florida CRC Press

Goodey, J.B. 1963. Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes. Tech. Bull. No. 2. Her Majesty^s Stationary Office, London. 72 p.

Grewal. P.S. and P.N. Richardson. 1993. Effect of application rate of *Steinernema feltiae* (Nematoda : Steinernematidae) on control of the mushroom sciarid fly *Lycoriella auripila.* Biocontrol Science and Technology 3:29-40

Grewal. P.S. and P.N. Richardson. 1993. Effect of application rate of *Steinernema feltiae* (Nematoda : Steinernematidae) on control of the mushroom sciarid fly *Lycoriella auripila.* Biocontrol Science and Technology 3:29-40.

Grewal. P.S. and Smith C. 1995. Insect-Parasitic Nematodes for Mushroom Pest Control. Mushroom News : April : 15-25.

Grewal. P.S., P.M. Tomalak., C.B.O. Keil and Gaugler. 1993. Evaluation of generally selected strain of *Steinernema feltiae* against the mushroom *Lycoriella auripila.* sciarid. Ann. appl. Biol. 123:695-702

Hatsukade, M. 1994. Control of turf grass insect pests with entomopathogenic nematodes in Japan. In Food&Fertilizer Technology Center. Technical bulletin 139:15-21

Hazir S., S.P. Stock, H. K. Kaya, A.M. Koppenhofer, and N. Keshin. 2001. Developmental temperature effects on five geographic isolates of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). Journal of Invertebrate Pathology 77 : 243-250.

Kaya, H.K. 1990. Soil ecology, pp. 93-111 *In*: Gaugler, R.A., and Kaya, H.K. (eds.) Entomopathogenic Nematodes in Biological control. Boca Raton, Florida CRC Press.

Kerry, B.R. 1987. Biological Control. pp. 233-263. *In* R.H. Brown and B.R. Kerry. (eds.). Principle and Practice of Nematode Control in Crop. Academic Press, Sydney.

Klein, Michael. G., 1990. Efficacy against soil-inhabiting insect pest. , pp. 195-210. *In*: Gaugler, R.A., and Kaya, H.K. (eds.) Entomopathogenic Nematodes in Biological control. Boca Raton, Florida CRC Press

Kung, S.P., R. Gaugler, and H.K. Kaya. 1991. Effect of soil tempeature,moisture and rerative humidity on entomopathogenic nematode persistance. Journal of Invertebrate Pathology 57: 242-249.

Molyneux, A.S. 1985. Survival of infective juveniles of *Heterorhabditis* spp. and *Steinernema* spp. at various temperature and their subsequent infectivity for insect. Rev. Nematol. 8 : 165 – 170.

Richardson. P.N. and P.S. Grewal. 1991. Comparative assessment of biological (Nematoda: *Steinernema feltiae*) and chemical methods of control for the mushroom fly *Lycoriella auripila* (Diptera: Sciaridae). Biocontrol Science and Technology. 1:217-228.

Sasnarukkit, A., R. Gaugler and S. Sontirat. 2002. Effects of the entomopathogenic nematode,*Steinernema siamkayai* and its bacterial symbiont's metabolites on root knot nematode, *Meloidogyne incognita.* The First International Conference on Tropical and SubtropicalPlant Diseases, November 5-8, 2002. The Imperial Mae Ping Hotel, Chiang Mai, Thailand.

Stock, S.P., V. Somsook and A.P. Reed. 1998. *Steinernema siamkayai* n. sp. Rhabditida : Steinernematidae), an entomopathogenic nematode from Thailand. Systematic Parasitology 91 : 105-113.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกินรังผึ้งและปริมาณไส้เดือนฝอย *steinernema glaseri* ระยะเข้าทำลายแมลงที่ได้จากการใช้อัตรา innoculum ต่างกัน

ปริมาณ innoculum ไส้เดือนฝอย *S.glaseri*	เปอร์เซ็นต์หนอนตายด้วยไส้เดือนฝอย *S.glaseri* (%)	ปริมาณไส้เดือนฝอย *S. glaseri* ระยะ IJ ที่ได้จากหนอน 1 ตัว(ตัว)
3000 ตัว	70.40a	6,125
2000 ตัว	84.20a	6,500
1000 ตัว	51.25b	6,000
200 ตัว	16.31c	5,750
100 ตัว	11.17c	5,250
10 ตัว	0c	0