

เทคนิคการผลิตขยายไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema riobrave*
Study on Entomopathogenic Nematode, *Steinernema riobrave*

วิไลวรรณ เวชยันต์ สาทิพย์ มาลี อิศเรศ เทียนทัต
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ศึกษาการผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ทนอุณหภูมิสูง *Steinernema riobrave* ดำเนินการทดลองที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างเดือนตุลาคม 2554 ถึงเดือนกันยายน 2555 ทำการศึกษาผลของความเข้มข้นเริ่มต้น (Inoculum) ของไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ในการเลี้ยงด้วยแมลงอาศัย (หนอนกินรังผึ้ง) ต่อคุณภาพและประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย ดำเนินการทดลองด้วยวิธี Paper bioassay ใช้จานแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9.5 ซม. ภายในวางกระดาษกรอง 1 แผ่น โดยหยดไส้เดือนฝอย *S. riobrave* เริ่มต้น 3 อัตรา คือ 2,000 3,000 และ 4,000 ตัวในน้ำกลั่น 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตร พบว่า ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 2,000 – 4,000 ตัวต่อน้ำ 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตร พบหนอนกินรังผึ้งตาย 82-100 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 48 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* สามารถเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ออกลูกหลานและพัฒนาเป็นไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายแมลง (I) และเริ่มออกจากซากหนอนวันที่ 10 วัน ได้ผลผลิตไส้เดือนฝอยเฉลี่ย 210,000 – 360,000 ตัวต่อหนอน 1 ตัว การใช้ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ความเข้มข้นเริ่มต้น 4,000 ตัวในน้ำ 0.5 มิลลิลิตรต่อหนอน 10 ตัว ให้ผลผลิตไส้เดือนฝอยเฉลี่ยสูงสุด 360,000 ตัวต่อหนอนกิน 1 ตัว และไส้เดือนฝอยที่เลี้ยงได้มีคุณภาพและมีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลง ไม่ต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐาน เมื่อทดสอบตามวิธีของ Miller (1989) โดยหยดไส้เดือนฝอย 1 ตัว ต่อหนอนกินรังผึ้ง 1 ตัว ตรวจสอบผลการทดลองที่ 48 ชั่วโมง

คำหลัก : ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง, *Steinernema riobrave*, การผลิตขยาย , หนอนกินรังผึ้ง

รหัสการทดลอง 03-04-54-01-02-04-01-54

คำนำ

ไส้เดือนฝอยที่อยู่ในสกุล *Steinernema* และ *Heterorhabditis* มีการดำรงชีวิตร่วมกับแบคทีเรียที่เป็น symbiotic bacterium โดยไส้เดือนฝอยตัวอ่อนวัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง (infective juvenile) จะมีแบคทีเรียดังกล่าวอยู่ในลำไส้ส่วนหน้า และจะปลดปล่อยในระบบเลือดของแมลงเมื่อมันสามารถไขเข้าไปอยู่ในตัวแมลง ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญทำให้แมลงตายภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง (Poinar and Thomas, 1966) ไส้เดือนฝอยทั้ง 2 สกุลนี้เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีศักยภาพสูงมีการศึกษาวิจัยและพัฒนาเป็นสารชีวอินทรีย์นำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิด (Poinar, 1979) สามารถเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วยแมลงอาศัย เช่น หนอนกินรังผึ้ง (*Galleria mellonella* L.) ซึ่งเป็นหนอนที่เลี้ยงขยายเป็นปริมาณมากได้ง่าย จึงนิยมใช้เลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง (วัชร, 2540) ไส้เดือนฝอยสามารถเลี้ยงเพิ่มปริมาณได้ในอาหารเทียมทั้งอาหารแข็ง (Bedding, 1981, 1984) และในอาหารเหลว (Friendman, 1990) การเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. ให้ได้ปริมาณมากเพื่อนำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช จะต้องผลิตให้ได้ไส้เดือนฝอยตัวอ่อนระยะที่ 3 ที่เป็นระยะเข้าทำลายแมลง ซึ่งเป็นระยะที่สามารถปรับตัวให้อยู่รอดในสภาพที่ไม่เหมาะสมได้ เช่น สภาพที่ไม่มีอาหารหรือไม่มีแมลงอาศัย ในปัจจุบันมีการศึกษาค้นคว้าสูตรอาหารเทียม และพัฒนาวิธีการผลิตไส้เดือนฝอยให้ได้ปริมาณมากแต่ต้นทุนการผลิตต่ำ เพื่อนำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชในพื้นที่กว้างขวางได้ทุกระดับ การเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วยอาหารเทียมระยะแรก เลี้ยงบนอาหารเทียมที่ไม่มีเชื้ออื่นเจือปนเรียกว่า axenic culture ซึ่งส่วนประกอบของอาหารที่ใช้มีราคาแพง เช่น ดับของกระต่ายที่ตั้งท้อง แต่การเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยไม่ติดนัก ต่อมามีการพัฒนาการเลี้ยงไส้เดือนฝอยบนอาหารเทียมร่วมกับแบคทีเรียร่วมอาศัยในอาหารแข็ง เรียกการเลี้ยงแบบนี้ว่า monoxenic culture (Bedding, 1981)

ในประเทศไทยโดยกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกัญและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ได้ทำการทดลองนำไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* (Weiser) ไปควบคุมแมลงศัตรูพืชต่างๆ หลายชนิดได้เป็นผลสำเร็จ คือ หนอนกินใต้ผิวเปลือกถั่วเขียว ตัวอ่อนของด้วงหมัดผักในผักกาดหัว ด้วงวงมันเทศ หนอนกระทู้หอมในดาวเรือง นอกจากนี้ยังได้วิจัยและพัฒนาการเลี้ยงขยายปริมาณมากด้วยอาหารเทียมทั้งชนิดกึ่งแข็งกึ่งเหลว โดยปรับปรุงสูตรอาหารบางส่วนให้เหมาะสม และศึกษาวิธีการแยกเชื้อแบคทีเรียที่ติดอยู่ที่ลำไส้ของไส้เดือนฝอยและการเพิ่มปริมาณเพื่อนำไปผสมในอาหารเทียมเลี้ยงไส้เดือนฝอย ซึ่งพบว่าสูตรอาหารที่สามารถเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ได้ดีมี 3 สูตร คือสูตรที่ 1 ประกอบด้วยอาหารสุนัขกระป๋องสำเร็จรูป ผสมน้ำ น้ำมันหมู และขี้ มูล สูตรที่ 2 เนื้อไก่และเครื่องในไก่ น้ำ NaCl และขี้ มูล และสูตรที่ 3 ตับไก่ น้ำ น้ำมันหมู และขี้ มูล (วัชร และ พิมลพร, 2535) และต่อมามีการพัฒนาการเลี้ยงไส้เดือนฝอยในอาหารเหลวโดยวัชร และสุทธิชัย (2544) เป็นผลสำเร็จและเทคโนโลยีดังกล่าวได้ถ่ายทอดสู่ภาคเอกชนผลิตเป็นการค้าแล้ว

จากรายงานการค้นพบไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ซึ่งพบในเขตภูมิอากาศกึ่งแลบร้อนที่มีลรัฐเท็กซัส (Cabanillas, 1994) ซึ่งภายในลำไส้ของไส้เดือนฝอย *S. riobrave* มี *Xenorhabdus cabanillasii* เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัย (Poinar and Thomas, 1965) โดยไส้เดือนฝอยทำหน้าที่เป็นพาหะนำแบคทีเรียเข้าสู่ภายในลำตัวแมลงทางช่องเปิดต่างๆ เช่น ปาก ทวาร ช่องรูหายใจ จากนั้นจะไชผ่านเข้าไปสู่ช่องว่างของลำตัว (haemocoel) และจะปล่อยแบคทีเรียออกมาสู่ช่องว่างภายในลำตัวแมลง แบคทีเรียจะมีการแบ่งเซลล์และเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็วและทำให้แมลงตายภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง เพราะเลือดเป็นพิษ (septicemia) ในขณะเดียวกันแบคทีเรียก็จะสร้างสารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยต่อไปจนอาหารภายในตัวแมลงหมด ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* มีความสามารถในการทนอุณหภูมิสูงได้ถึง 35 °ซ จากผลการทดลองเบื้องต้น พบว่าไส้เดือนฝอย *S. riobrave* มีประสิทธิภาพสามารถเข้าทำลายแมลงที่อุณหภูมิ 35 °ซ ได้ ในขณะที่ *S. carpocapsae* ไม่สามารถเข้าทำลายแมลงที่อุณหภูมิดังกล่าว และพบว่า *S. riobrave* สามารถเลี้ยงขยายปริมาณในอาหารเทียมสูตรอาหารสุนัขผสมฟองน้ำได้ แต่ผลผลิตไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายแมลง J ซึ่งเป็นเป้าหมายหลักของการเลี้ยงไส้เดือนฝอยด้วยอาหารเทียมยังไม่คงที่ จากข้อมูลดังกล่าวจึงควรพัฒนาวิธีการเลี้ยงและศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ซึ่งทนอุณหภูมิสูง การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นเริ่มต้น (Inoculums) ของไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ต่อคุณภาพและประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย ศึกษาผลของความเข้มข้นเริ่มต้น (Inoculums) ของไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ที่เลี้ยงด้วยแมลงอาศัย ต่อคุณภาพและประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยที่เลี้ยงด้วยแมลงอาศัย เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาการผลิตขยายในอนาคตต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ไส้เดือนฝอย *Steinernema riobrave* วัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง
2. หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella* (L.)
3. แบคทีเรียร่วมอาศัย *Xenorhabdus cabanillasii*
4. อุปกรณ์เครื่องมือต่างๆ ได้แก่ ตู้บ่มไข่เชื้อ ตู้ปลอดเชื้อ เครื่องเขย่า กล้องจุลทรรศน์
5. เครื่องแก้วต่างๆ ได้แก่ flask, beaker, cylinder, petri dish และ test tube
6. อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ Ys broth, Yeast extract, และ Tryptic soy broth
7. สารเคมีต่างๆ ได้แก่ alcohol, formalin, hyamine
8. วัสดุและอุปกรณ์อื่นๆ ได้แก่ สำลี กระดาษอลูมิเนียม ปากคีบ ถาดนับไส้เดือนฝอย ผ้ากรองขนาด 48 ไมครอน เข็มเขี่ย จุกสำลี จุกยาง petridish

วิธีการ

ศึกษาผลของความเข้มข้นเริ่มต้น (Inoculums) ของไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ที่ใช้เลี้ยงด้วยแมลงอาศัยต่อคุณภาพและประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย โดยมีการวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 10 ซ้ำ มี 6 กรรมวิธี ดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 ไส้เดือนฝอยเข้มข้น 2,000 ตัว/น้ำ 0.4 มิลลิลิตร
- กรรมวิธีที่ 2 ไส้เดือนฝอยเข้มข้น 2,000 ตัว/น้ำ 0.5 มิลลิลิตร
- กรรมวิธีที่ 3 ไส้เดือนฝอยเข้มข้น 3,000 ตัว/น้ำ 0.4 มิลลิลิตร
- กรรมวิธีที่ 4 ไส้เดือนฝอยเข้มข้น 3,000 ตัว/น้ำ 0.5 มิลลิลิตร
- กรรมวิธีที่ 5 ไส้เดือนฝอยเข้มข้น 4,000 ตัว/น้ำ 0.4 มิลลิลิตร
- กรรมวิธีที่ 6 ไส้เดือนฝอยเข้มข้น 4,000 ตัว/น้ำ 0.5 มิลลิลิตร

วิธีปฏิบัติการทดลอง

เตรียมไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ให้มีความหนาแน่นตามกรรมวิธี แล้วหยดไส้เดือนฝอยลงบนกระดาษกรองในงานทดลองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9.5 ซม. ภายในวงกระดาษกรอง 1 แผ่น ใส่หนอนกินรังผึ้ง *G. mellonella* จำนวน 10 ตัว/งานทดลอง ทำกรรมวิธีละ 10 ซ้ำ (งาน) จากนั้นนำงานทดลองเก็บที่อุณหภูมิ 25 °ซ. หลังการทดลองนาน 48 ชั่วโมงนำซากหนอนที่ตายในแต่ละกรรมวิธีมาล้างด้วยน้ำกลั่น ก่อนนำมาวางเรียงบนผ้าขาวบางที่ปูอยู่บนงานแก้วที่คว่ำอยู่ในกล่องพลาสติก ภายในหลอดด้วยน้ำกลั่นให้ระดับน้ำสูงประมาณ 3/4 ของความสูงของงานแก้ว เพื่อล่อไส้เดือนฝอย (Trap) หลังจากนั้นประมาณ 10 วัน เทเก็บน้ำที่มีไส้เดือนฝอยทุกวัน นำมาล้างด้วยน้ำกลั่นและนับจำนวนไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ในแต่ละกรรมวิธี ก่อนเทเก็บไส้เดือนฝอยในชั้นฟองน้ำสังเคราะห์ในถุงพลาสติกที่อุณหภูมิ 15 °ซ. นาน 2 สัปดาห์ จึงนำไส้เดือนฝอยมาทดสอบคุณภาพของไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้ตามวิธีการของ Miller (1989) โดยใช้ไส้เดือนฝอย 1 ตัว/หนอนกินรังผึ้ง 1 ตัว แต่ละกรรมวิธีทำ 3 ซ้ำ (ภาค) ๆ ละ 24 ตัว ตรวจนับและบันทึกจำนวนหนอนตายภายในเวลา 48 ชั่วโมง

การบันทึกผล

- บันทึกจำนวนหนอนกินรังผึ้งที่ตายในแต่ละกรรมวิธี ที่เวลา 48 ชั่วโมง
- จำนวนไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายแมลง ในแต่ละกรรมวิธี

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2554 – เดือนกันยายน 2555

สถานที่ : ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของความเข้มข้นเริ่มต้น (Inoculums) ของไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ที่เหมาะสมในการเลี้ยงด้วยแมลงอาศัย (หนอนกินรังผึ้ง) ต่อคุณภาพและประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย ดำเนินการทดลองด้วยวิธี Paper bioassay ใช้จานแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9.5 ซม. ภายในวางกระดาษกรอง 1 แผ่น โดยหยดไส้เดือนฝอยวัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง (Js) เข้มข้น 3 อัตรา คือ 2,000 3,000 และ 4,000 ตัวในน้ำกลั่น 0.4 มิลลิลิตร และที่อัตราความเข้มข้นของไส้เดือนฝอย 2,000 3,000 และ 4,000 ตัวในน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร หลังการทดลอง 48 ชั่วโมง พบว่าไส้เดือนฝอย *S. riobrave* เข้าทำลายและทำให้หนอนกินรังผึ้งตาย เท่ากับ 82-100 เปอร์เซ็นต์ โดยพบหนอนกินรังผึ้งตายสูงสุดเมื่อใช้ไส้เดือนฝอยเข้มข้นเริ่มต้น 4,000 ตัวในน้ำ 0.4 มิลลิลิตร และ 0.5 มิลลิลิตร เท่ากับ 97 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือไส้เดือนฝอยเข้มข้นเริ่มต้น 3,000 ตัวในน้ำ 0.5 มิลลิลิตร และ 0.4 มิลลิลิตร เท่ากับ 89 และ 93 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และที่อัตราความเข้มข้นเริ่มต้นของไส้เดือนฝอย 2000 ตัวในน้ำ 0.5 มิลลิลิตร และ 0.4 มิลลิลิตร พบหนอนกินรังผึ้งตาย เท่ากับ 88 และ 82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ปริมาณน้ำที่ใช้ในทุกความเข้มข้นมีผลในการทำให้หนอนกินรังผึ้งตายแตกต่างกัน เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไส้เดือนฝอยเริ่มต้น แต่ลดปริมาณน้ำลง พบหนอนกินรังผึ้งตายลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องจากปริมาณน้ำที่ลดลงหมายถึงความชื้นต่อหน่วยพื้นที่ทดลองลดลง ส่งผลให้การเคลื่อนที่ค้นหาแมลงและเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอย *S. riobrave* เป็นไปได้ไม่ง่ายและล่าช้าลง ทั้งนี้การทำให้แมลงตายของไส้เดือนฝอยจะเกิดขึ้นภายหลังจากไส้เดือนฝอยค้นหาแมลงพบและเจาะผ่านเข้าสู่ตัวแมลงโดยผ่านทางช่องเปิดธรรมชาติ เช่น ช่องว่างระหว่างข้อปล้องของหนอน ปาก เป็นต้น ภายหลังจากไส้เดือนฝอยผ่านเข้าสู่ตัวแมลงสำเร็จแล้ว ไส้เดือนฝอยวัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลงจะพัฒนาเป็นไส้เดือนฝอยระยะต่างๆ จนเป็นตัวเต็มวัยขยายพันธุ์ อยู่ในในซากของแมลงโดยอาศัยของเหลวในตัวแมลงเป็นอาหาร ในการทดลองครั้งนี้ พบว่า ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ที่เข้าสู่ตัวหนอนกินรังผึ้ง เจริญเติบโตอยู่ในซากหนอนกินรังผึ้งวัย 5 นั้น ใช้เวลาประมาณ 10-12 วัน ภายหลังจากหล่อให้ไส้เดือนฝอยที่พัฒนาอยู่ในซากแมลงจนเป็นไส้เดือนฝอยวัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลงออกจากซากแมลงเคลื่อนที่ลงสู่ที่หล่อไว้ในกล่องขึ้น โดยพบการเคลื่อนย้ายของไส้เดือนฝอยออกจากซากแมลงลงสู่ที่หล่อไว้ในวันที่ 10 หลังหนอนตาย ซึ่งได้ทำการเทเก็บไส้เดือนฝอยที่อยู่ในน้ำสะอาดที่หล่อไว้ทุกวัน นำน้ำไส้เดือนฝอยมาล้างด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง เพื่อกำจัดเศษซากหนอนที่อาจปนเปื้อนมา จากนั้นนำสารแขวนลอยที่มีไส้เดือนฝอยที่สะอาดอยู่มานับจำนวนไส้เดือนฝอยที่ผลิตขยายในแต่ละกรรมวิธี พบว่าจำนวนไส้เดือนฝอยวัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลงที่เลี้ยงขยายด้วยหนอนกินรังผึ้ง เมื่อใช้ไส้เดือนฝอยเริ่มต้นแตกต่างกัน ได้ผลผลิตเฉลี่ยต่อหนอนหนอนกินรังผึ้งหนึ่งตัว เท่ากับ 2.10×10^5 - 3.60×10^5 ตัว เมื่อใช้ไส้เดือนฝอยเริ่มต้น 4,000 ตัวในน้ำ 0.5 มิลลิลิตรต่อหนอนกินรังผึ้ง 10 ตัว ได้ผลผลิตไส้เดือนฝอยวัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง สูงสุด 3.60×10^5 ตัว รองลงมาคือ ไส้เดือนฝอยเริ่มต้น 3,000 ตัวในน้ำ 0.5 มิลลิลิตรต่อหนอนกินรังผึ้ง 10 ตัว ได้ผลผลิตไส้เดือนฝอยวัย 3 ระยะเข้าทำลาย

แมลง 2.80×10^5 ตัว และไส้เดือนฝอยเริ่มต้น 2,000 ตัวในน้ำ 0.5 มิลลิลิตรต่อหนอนกินรังผึ้ง 10 ตัว ได้ผลผลิตไส้เดือนฝอยวัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง 2.40×10^5 ตัว เมื่อลดปริมาณน้ำที่ใช้ลงพบว่า การใช้ไส้เดือนฝอยเริ่มต้น 4,000 ตัวในน้ำ 0.4 มิลลิลิตรต่อหนอนกินรังผึ้ง 10 ตัว ได้ผลผลิตไส้เดือนฝอยวัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง สูงกว่ารองลงมาคือ ใช้ไส้เดือนฝอยเริ่มต้น 3,000 และ 2,000 ตัวในน้ำ 0.4 มิลลิลิตรต่อหนอนกินรังผึ้ง 10 ตัว ได้ผลผลิตไส้เดือนฝอยวัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง เท่ากับ 3.40×10^5 , 2.60×10^5 และ 2.10×10^5 ตัว ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

เมื่อนำไส้เดือนฝอยที่เลี้ยงขยายได้จากทุกกรรมวิธี นำมาทดสอบคุณภาพของไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้ตามวิธีการของ Miller (1989) โดยใช้ไส้เดือนฝอย 1 ตัว/หนอนกินรังผึ้ง 1 ตัว แต่ละกรรมวิธี ทำ 3 ซ้ำ (ภาค) ๆ ละ 24 ตัว ตรวจสอบและบันทึกจำนวนหนอนตายภายในเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าไส้เดือนฝอยเลี้ยงขยายได้จากทุกกรรมวิธี มีคุณภาพโดยทำให้แมลงตายไม่ต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐาน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การเลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ซึ่งทนอุณหภูมิสูง ด้วยแมลงอาศัยหนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella* โดยวิธี paper bioassay โดยใช้ไส้เดือนฝอยเริ่มต้นตั้งแต่ 2,000 – 4,000 ตัวต่อน้ำ 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตร ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* เจริญเติบโตและขยายพันธุ์ออกลูกหลานและพัฒนาเป็นไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายแมลง (IJ) และเริ่มออกจากซากหนอนวันที่ 10 วัน ได้ผลผลิตไส้เดือนฝอยเฉลี่ย 210,000 – 360,000 ตัวต่อหนอน 1 ตัว ไส้เดือนฝอยที่เลี้ยงได้ในทุกกรรมวิธี มีคุณภาพและมีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงไม่ต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐาน เมื่อทดสอบตามวิธีการของ Miller (1989) โดยหยดไส้เดือนฝอย 1 ตัว ต่อหนอนกินรังผึ้ง 1 ตัว ตรวจสอบผลการทดลองที่ 48 ชั่วโมง แม้ว่าการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ด้วยหนอนกินรังผึ้ง *G. mellonella* จะให้ผลผลิตไส้เดือนฝอยสูงถึง 360,000 ตัวต่อหนอนกินรังผึ้ง 1 ตัว ดังนั้นจำเป็นต้องมีการพัฒนารูปแบบและวิธีการผลิตอื่นที่เหมาะสมทั้งนี้เพื่อให้ได้ผลผลิตปริมาณมากเพียงพอสำหรับความต้องการของเกษตรกรในการนำไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ซึ่งทนอุณหภูมิสูง ไปใช้ควบคุมแมลงในสภาพไร่

เอกสารอ้างอิง

- วัชรีย์ สมสุข. 2540. หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella* (L.). วารสารกีฏและสัตววิทยา ปีที่ 19 (2):107-109
- วัชรีย์ สมสุข. 2544. ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง, หน้า 209-244. ใน การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีเพื่อการเกษตรยั่งยืน. เอกสารวิชาการ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.
- วัชรีย์ สมสุข และสุทธิชัย สมสุข. 2544. รายงานผลงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ เรื่องผลงานวิจัยโครงการวิจัยและพัฒนาการผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในระดับการค้าจัดพิมพ์โดย กรม

วิชาการเกษตร สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ 172
หน้า.

- Bedding, R.A. 1981. Low cost In Vitro mass production of *Neoplectana* and *Heterorhabditis* species (Nematoda) for field control of insect pests. *Nematologica* 27 : 109-114.
- Cabanillas, H.E., G.O. Jr. Poinar and J.R. Raulston. 1994. *Steinernema riobravis* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae) from Texas. *Fundam. Appl. Nematol.* 17:123-131
- Friedman, M.J. 1990. Commercial production and development. pp. 153-172 In R. Gaugler and H.K. Kaya, eds.. *Entomopathogenic nematodes in biological control*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Miller, R. W. 1989. Novel pathogenicity assessment technique for *Steinernema* and *Heterorhabditis* Entomopathogenic nematodes. *J. Nematol.* 21:574.(abstr.)
- Poinar, G.O. and G.M. Thomas 1965. A new bacterium, *Achromobacter nematophilus* sp. NOV (Achromobacteriaceae : Eubacteriales) associated with a nematode. *International bulletin of bacteriological nomenclature and taxonomy* Vol. 15: 4, 249-252.
- Poinar, G. O. and G. M. Thomas. 1966. Significance of *Achromobacter nematophilus* Poinar and Thomas (Achromobacteriaceae: Eubacteriales) in the development of the nematode, DD-136 (*Neoplectana* sp., Steinernematidae). *J. Parasitol.* 56:385-390.

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกินรังผึ้งด้วยไส้เดือนฝอย *Steinernema riobrave* ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างๆ ภายในเวลา 48 ชั่วโมง

ปริมาณน้ำ (มล.)	ความเข้มข้นเริ่มต้น (inoculums) ของไส้เดือนฝอย <i>S. riobrave</i> (ตัว/มล)		
	2,000	3,000	4,000
0.4	82	89	97
0.5	88	93	100

ตารางที่ 2 จำนวนผลผลิตไส้เดือนฝอย *Steinernema riobrave* วัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลงที่เลี้ยงด้วยหนอนกินรังผึ้ง

ความเข้มข้นเริ่มต้นของไส้เดือนฝอย (ตัว/มล)	จำนวนไส้เดือนฝอย <i>S. riobrave</i> วัย 3 ระยะ II (ตัว/หนอน)
2,000/น้ำ 0.4 มิลลิลิตร	2.10×10^5
2,000/น้ำ 0.5 มิลลิลิตร	2.40×10^5
3,000/น้ำ 0.4 มิลลิลิตร	2.60×10^5
3,000/น้ำ 0.5 มิลลิลิตร	2.80×10^5
4,000/น้ำ 0.4 มิลลิลิตร	3.40×10^5
4,000/น้ำ 0.5 มิลลิลิตร	3.60×10^5