# ปัจจัยที่มีผลต่อการมีชีวิตรอดและประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ชนิดผง

**วิไลวรรณ เวชยันต์ สาทิพย์ มาลี**
**กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

---

**รายงานความก้าวหน้า**

ทำการศึกษาผลของไคโตซาน และ กัม ตอความอยู่รอดและประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ชนิดผง พบว่า หลังการผสมสารไคโตซาน และ กัม อัตรา 0.1 และ 0.05% ในผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอยผง ภายในเวลา 1 ชั่วโมง ไคโตซาน และ กัม ไม่มีผลต่อการมีชีวิตและคุณภาพของไส้เดือนฝอย เมื่อเวลาผ่านไป 2 สัปดาห์ ไส้เดือนฝอยมีชีวิตรอดและประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงไม่เปลี่ยนแปลงเช่นกัน และที่เวลา 3 เดือน ไส้เดือนฝอยยังคงมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดในระดับสูงและยังคงมีประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงสูงเช่นเดียวกัน

---

รหัสการทดลอง 03-04-54-01-02-04-05-55

## คำนำ

ไส้เดือนฝอยที่อยู่ในสกุล *Steinernema* และ *Heterorhabditis* มีการดำรงชีวิตร่วมกับแบคทีเรียที่เป็น symbiotic bacterium โดยไส้เดือนฝอยตัวอ่อนวัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง (infective juvenile) จะมีแบคทีเรียดังกล่าวอยู่ในลำไส้ส่วนหน้า และจะปลดปล่อยในระบบเลือดของแมลงเมื่อมันสามารถไชเข้าไปอยู่ในตัวแมลง ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญทำให้แมลงตายภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง (Poinar and Thomas, 1966) ไส้เดือนฝอยทั้ง 2 สกุลนี้เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีศักยภาพสูงมีการศึกษาวิจัยและพัฒนาเป็นสารชีวินทรีย์นำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิด (Klein, 1990; Poinar, 1979) สามารถเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วยแมลงอาศัย เช่น หนอนกินรังผึ้ง (*Galleria mellonella* L.) ซึ่งเป็นหนอนที่เลี้ยงขยายเป็นปริมาณมากได้ง่าย จึงนิยมใช้เลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง (วัชรี, 2540) ไส้เดือนฝอยสามารถเลี้ยงเพิ่มปริมาณได้ในอาหารเทียมทั้งอาหารแข็ง (Bedding, 1981, 1984) และในอาหารเหลว (Friendman, 1990) การเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. ให้ได้ปริมาณมากเพื่อการนำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช จะต้องผลิตให้ได้ไส้เดือนฝอยตัวอ่อนระยะที่ 3 ที่เป็นระยะเข้าทำลายแมลง ซึ่งเป็นระยะที่สามารถปรับตัวให้อยู่รอดในสภาพที่ไม่เหมาะสมได้ เช่น สภาพที่ไม่มีอาหารหรือไม่มีแมลงอาศัย ในปัจจุบันมีการศึกษาค้นคว้าสูตรอาหารเทียม และพัฒนาวิธีการผลิตไส้เดือนฝอยให้ได้ปริมาณมากแต่ต้นทุนการผลิตต่ำ เพื่อการนำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชในพื้นที่กว้างขวางได้ทุกระดับ การเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วยอาหารเทียมระยะแรก เลี้ยงบนอาหารเทียมที่ไม่มีเชื้ออื่นเจือปนเรียกว่า axenic culture ซึ่งส่วนประกอบของอาหารที่ใช้มีราคาแพง เช่น ตับของกระต่ายที่ตั้งท้อง แต่การเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยไม่ดีนัก ต่อมามีการพัฒนาการเลี้ยงไส้เดือนฝอยบนอาหารเทียมร่วมกับแบคทีเรียร่วมอาศัยในอาหารแข็ง เรียกการเลี้ยงแบบนี้ว่า monoxenic culture (Bedding, 1981)

ในประเทศไทยโดยกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ได้ทำการทดลองนำไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* (Weiser) ไปควบคุมแมลงศัตรูพืชต่างๆ หลายชนิดได้เป็นผลสำเร็จ คือ หนอนกินใต้ผิวเปลือกลองกอง ตัวอ่อนของด้วงหมัดผักในผักกาดหัว ด้วงงวงมันเทศ หนอนกระทู้หอมในดาวเรือง นอกจากนี้ยังได้วิจัยและพัฒนาการเลี้ยงขยายปริมาณมากด้วยอาหารเทียมทั้งชนิดกึ่งแข็งกึ่งเหลว โดยปรับปรุงสูตรอาหารบางส่วนให้เหมาะสม และศึกษาวิธีการแยกเชื้อแบคทีเรียที่ติดอยู่ที่ลำไส้ของไส้เดือนฝอยและการเพิ่มปริมาณเพื่อนำไปผสมในอาหารเทียมเลี้ยงไส้เดือนฝอย ซึ่งพบว่าสูตรอาหารที่สามารถเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ได้ดีมี 3 สูตร คือสูตรที่ 1 ประกอบด้วยอาหารสุนัขกระป๋องสำเร็จรูป ผสมน้ำ น้ำมันหมู และวุ้น สูตรที่ 2 เนื้อไก่และเครื่องในไก่ น้ำ NaCl และวุ้น และสูตรที่ 3 ตับไก่ น้ำ น้ำมันหมู และวุ้น และต่อมามีการพัฒนาการเลี้ยงไส้เดือนฝอยในอาหารเหลวโดยวัชรี และสุทธิชัย (2544) เป็นผลสำเร็จและเทคโนโลยีดังกล่าวได้ถ่ายทอดสู่ภาคเอกชนผลิตเป็นการค้าแล้ว

การเก็บไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ให้มีอายุการเก็บรักษา (shelf- life) ยืนนาน โดยมีอัตราการอยู่รอดไม่ต่ำกว่า 90% และยังคงมีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงไม่เปลี่ยนแปลงนั้น ต้องเก็บในดินผงใส่ในกระบอกทึบพลาสติก ขนาด 311 ลบ.ซม. ที่อุณหภูมิ 5-7 องศาเซลเซียส มีอายุการเก็บนาน 6 เดือน แต่ถ้าเก็บที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส อายุการเก็บรักษาสั้นเพียง 1 เดือน แม้ว่าการเก็บไส้เดือนฝอยในรูปแบบผง มีข้อดี คือ การนำไปใช้ง่ายและสะดวก โดยนำไปละลาย

น้ำฉีดพ่นหรือลงในดินได้ทันที แต่วิธีการดังกล่าวเป็นวิธีการที่ไม่สะดวกในการปฏิบัติงานเพราะต้องใช้ตู้ควบคุมอุณหภูมิ เพื่อเก็บรักษาไส้เดือนฝอยระหว่างรอนำไปฉีดพ่น จึงจำเป็นต้องศึกษาวิธีการเก็บรักษาที่มีเกษตรกรสามารถปฏิบัติได้ โดยพัฒนาและปรับปรุงสูตรสำเร็จ ขนาดบรรจุและปัจจัยอื่นๆ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยในผงดิน

## วิธีดำเนินการ

**อุปกรณ์**

1. ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* วัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง
2. หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella* (L.)
3. แบคทีเรียร่วมอาศัย *Xenorhabdus nematophila*
4. อุปกรณ์เครื่องมือต่างๆ ได้แก่ ตู้อบนึ่งฆ่าเชื้อ 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

**วิธีการ**

**1. การเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae***

โดยการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ร่วมกับแบคทีเรียร่วมอาศัย ในอาหารสูตร TSB3 (วัชรี และสุทธิชัย, 2544) ที่บรรจุในขวดรูปชมพู่ วางบนเครื่องเขย่า ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน จึงทำการเก็บไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายแมลง โดยการล้างตกตะกอน เทเก็บไส้เดือนฝอยใส่ในฟองน้ำสังเคราะห์ในถุงพลาสติก เก็บไว้ในตู้เย็น เพื่อนำไปเตรียมสูตรสำเร็จต่อไป

**2. การเตรียมผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ชนิดผง**

นำสารแขวนลอยของไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* วัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง จำนวน 50 ล้านตัว ผสมกับดินสูตรของวัชรี และสุทธิชัย (2544) ผสมให้เข้ากัน นำส่วนผสมที่ได้ใส่ลงในถุงพลาสติกเก็บในตู้เย็น เพื่อนำใช้ในขั้นตอนต่อไป

**3. ทดสอบผลของสารเสริมประสิทธิภาพต่อการมีชีวิตรอดและประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ชนิดผง**

นำสารเสริม 2 ชนิด ได้แก่ ไคโตซาน และ กัม ในอัตราชนิดละ 0.05 และ 0.1% มาผสมกับไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* จากข้อ 2 จำนวน 100 กรัม ผสมให้เข้ากันดีด้วยเครื่องผสม ก่อนนำส่วนผสมที่ได้ใส่ลงในกระป๋องพลาสติกขนาด 300 ลูกบาศก์เซนติเมตร (ทำสูตรละ 3 ซ้ำ) ทำตรวจการมีชีวิตรอดของไส้เดือนฝอย ทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงและทดสอบคุณภาพของไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ทุก 0, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนไส้เดือนฝอยที่รอดชีวิต
- จำนวนหนอนตายที่เวลา 48 ชั่วโมง เมื่อทดสอบคุณภาพของไส้เดือนฝอยตามวิธีมาตรฐานของ Miller (1989)

- จำนวนหนอนตายที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยโดยวิธี Soil bioassay ตามวิธีการของ Glazer *et al*. (2000)

**เวลาและสถานที่**

**เวลา** : เดือนตุลาคม 2554 – เดือนกันยายน 2556

**สถานที่** : ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

หลังการผสมสารไคโตซาน และ กัม อัตรา 0.1 และ 0.05% ในผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอยผง พบว่า ภายในเวลา 1 ชั่วโมง ไคโตซาน และ กัม ไม่มีผลต่อการมีชีวิตของไส้เดือนฝอย และเมื่อนำไส้เดือนฝอยนี้ไปทดสอบคุณภาพตามวิธีมาตรฐานของ Miller (1989) โดยนำสารแขวนลอยของไส้เดือนฝอย 1 ตัว หยดลงบนกระดาษกรองในถาดหลุม ขนาด 24 หลุมต่อถาด ก่อนใส่หนอนกินรังผึ้ง 1 ตัว ไส้เดือนฝอยนี้ยังคงมีคุณภาพสามารถเข้าทำลายแมลงได้ไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเวลาผ่านไป 2 สัปดาห์ ไส้เดือนฝอยมีชีวิตรอดและประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงไม่เปลี่ยนแปลงเช่นกัน และที่เวลา 3 เดือน ไส้เดือนฝอยมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดในระดับสูง และยังคงมีประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลง

## เอกสารอ้างอิง


วัชรี สมสุข. 2544. ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง, หน้า 209-244. ใน การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีเพื่อการเกษตรยั่งยืน. เอกสารวิชาการ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

วัชรี สมสุข และสุทธิชัย สมสุข. 2544. รายงานผลงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ เรื่องผลงานวิจัยโครงการวิจัยและพัฒนาการผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในระดับการค้าจัดพิมพ์โดย กรมวิชาการเกษตร สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ 172 หน้า.

Bedding, R.A. 1981. Low cost In Vitro mass production of Neoaplectana 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.)

Poiner, 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 (Neoaplectana sp.,Steinernematidae). J. Parasitol. 56:385-390.