



การพัฒนาสูตรและประสิทธิภาพของเจลแอลจินตบรจุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง,
Steinernema siamkayai EPNKU70 ที่มีต่อหนอนกระทู้ผัก, *Spodoptera litura*
Fabricius และหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* Hübner

Formulation and efficacy of alginate gel containing *Steinernema siamkayai*
EPNKU70 against the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* Fabricius and the
beet armyworm, *Spodoptera exigua* Hübner

ฉัตรเฉลิม อาซาล¹, ประกาย ราชณวงษ์¹, อภิชาติ วิทย์ตะ^{2,3}, ภาณุรักษ์ ประทับทอง^{1,4},
ขวัญฤดี คะชานันท์¹, รัตนาวดี อ่อนวงษ์⁵ และ อธิราช หนูลีดำ^{1*}

Chatchaloem Arkhan¹, Prakai Rajchanuwong¹, Apichat Vitta^{2,3},
Phanuruk Pratubkong^{1,4}, Kwanrudee Kachanan¹, Rattanawadee Onwong⁵ and
Atirach Noosidum^{1*}

¹ ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

¹ Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok, 10900

² ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก 65000

² Department of Microbiology and Parasitology, Faculty of Medical Science, Naresuan University, Phitsanulok, 650002

³ สถานีวิจัยเพื่อความเป็นเลิศทางวิชาการด้านความหลากหลายทางชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก 65000

³ Center of Excellence for Biodiversity, Faculty of Science, Naresuan University, Phitsanulok, 65000

⁴ สำนักงานเกษตรจังหวัดสุราษฎร์ธานี สุราษฎร์ธานี 84000

⁴ Surat Thani Provincial Agricultural Extension Office, Suratthani 84000

⁵ ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ (ไร่สุวรรณ) คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ นครราชสีมา 30320

⁵ National Corn and Sorghum Research Center, Kasetsart University, Nakhon Ratchasima 30320

บทคัดย่อ: หนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) และหนอนกระทู้หอม (*S. exigua*) เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจที่สามารถทำลายพืชหลากหลายชนิด การใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเป็นอีกทางเลือกที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงทั้ง 2 ชนิด การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเจลแอลจินตบรจุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema siamkayai* EPNKU70 สำหรับใช้ควบคุมหนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอม การประเมินสูตรผสมต่างๆ ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมแอลจินตและแคลเซียมคลอไรด์ระหว่าง 0.5–2% ในการสร้างโครงสร้างเจลทรงกลม พบว่าสูตรผสมที่มีโซเดียมแอลจินตและแคลเซียมคลอไรด์ในช่วงความเข้มข้น 1.0–2.0% สามารถสร้างเจลทรงกลมได้ เจลแอลจินตที่มีอัตราส่วนโซเดียมแอลจินตต่อแคลเซียมคลอไรด์ที่ 1.0:1.0% แสดงให้เห็นถึงความคงอยู่ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในระดับสูง (93.23±2.80%) และอัตราการรอดชีวิต (93.06±2.31%) หลังจากผ่านไปเจ็ดวัน เจลแอลจินตที่บรรจุ *S. siamkayai* EPNKU70 และเสริมด้วยน้ำตาลเป็นสารดึงดูดทำให้หนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอมวัย 3 ตายเท่ากับ 88.33±9.83 และ 81.66±14.72% ภายใน 72 ชั่วโมง ตามลำดับ ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าเจลแอลจินตที่มี *S. siamkayai* EPNKU70 เป็นทางเลือกที่มีประสิทธิภาพสำหรับการควบคุมตัวอ่อนของหนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอม

คำสำคัญ: การควบคุมโดยชีววิธี; การใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง; ฝัเสื้อหนอนกระทู้; โซเดียมแอลจินต; ระยะเข้าทำลาย

* Corresponding author: fagrarn@ku.ac.th

Received: date; February 25, 2025 Revised: date; July 14, 2025

Accepted: date; July 18, 2025 Published: date; December 18, 2025

ABSTRACT: The tobacco cutworm (*Spodoptera litura*) and beet armyworm (*S. exigua*) are economically significant insect pests affecting various crops. Applying entomopathogenic nematodes (EPNs) is an effective biological control method against these pests. This study aims to develop an alginate gel formulation containing *Steinernema siamkayai* EPNKU70 for controlling *S. litura* and *S. exigua* larvae. Various formulations with different concentrations (0.5–2%) of sodium alginate and calcium chloride were evaluated for their ability to form spherical gel structures. Among these, formulations with 1.0–2.0% sodium alginate and calcium chloride successfully produced a spherical shape. An alginate gel formulated with a 1.0:1.0% ratio of sodium alginate to calcium chloride demonstrated high nematode persistence ($93.23 \pm 2.80\%$) and survival ($93.06 \pm 2.31\%$) after seven days. The alginate gel containing *S. siamkayai* EPNKU70 and supplemented with sugar as an attractant induced mortality in third-instar *S. litura* and *S. exigua* larvae at 88.33 ± 9.83 and $81.66 \pm 14.72\%$, respectively, within 72 hours. These findings suggest that the alginate gel formulation of *S. siamkayai* EPNKU70 could serve as an effective alternative for managing *S. litura* and *S. exigua* larvae.

Keywords: biological control; nematode application; noctuid moth; sodium alginate; infective juvenile

บทนำ

ปัจจุบันปัญหาจากแมลงศัตรูพืชมีแนวโน้มสูงขึ้นตามการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่าง ๆ บนโลก ส่งผลให้ระหว่างการผลิตพืช การสูญเสียผลผลิตทางการเกษตรเป็นอย่างมาก (Deutsch et al., 2018) ซึ่งกลุ่มแมลงที่มักสร้างความเสียหายกับพืชผลทางการเกษตรอย่างต่อเนื่องคือกลุ่มผีเสื้อหนอนกระทู้ในสกุล *Spodoptera* โดยเฉพาะหนอนกระทู้ผัก (tobacco cutworm; *Spodoptera litura* Fabricius) และหนอนกระทู้หอม (beet armyworm; *S. exigua* Hübner) ที่จัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจเนื่องจากทำลายพืชหลากหลายชนิด เช่น ผักตระกูลกะหล่ำ หอม พริก องุ่น แดงโม และเมล่อน (Burana et al., 2022) แมลงทั้ง 2 ชนิดสามารถพบได้ตลอดทั้งปีและพบได้ทั่วประเทศไทย โดยมักจะมีผลกระทบในช่วงฤดูฝนที่มีอากาศร้อนชื้น การควบคุมกำจัดแมลงศัตรูพืชกลุ่มนี้ในประเทศไทยนิยมใช้สารเคมีกำจัดแมลงเมื่อมีการระบาด เนื่องจากสามารถกำจัดได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ (Saleem et al., 2016; Ruttanaphan et al., 2018) แต่จากการวิจัยในปัจจุบันพบว่าหนอนกระทู้เหล่านี้มีการสร้างความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงหลายกลุ่ม เช่น ไซเพอร์เมทริน คลอแรนทรานิลิโพรล ไซแอนทรานิลิโพรล และไพริดาเลีย (Ruttanaphan et al., 2018; Zhang et al., 2022)

การใช้สารเคมีกำจัดแมลงหลากหลายชนิดและบ่อยครั้งอาจส่งผลเสียหลายประการ เช่น การพัฒนาความต้านทานต่อสารเคมีของแมลง การเพิ่มจำนวนขึ้นของแมลงที่มีความต้านทานสารเคมี ผลกระทบที่เป็นอันตรายต่อคน สัตว์และสิ่งมีชีวิตอื่น มลพิษทางสิ่งแวดล้อม และค่าใช้จ่ายในการจัดการแมลงศัตรูพืชที่สูงขึ้น (Abdullah et al., 2000) เนื่องจากความกังวลเรื่องผลกระทบจากการใช้สารเคมีทางการเกษตรที่อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของเกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม (Sharma and Singhvi, 2017) การหาหนทางใหม่ในการควบคุมกำจัดแมลงที่สามารถลดการใช้สารเคมี เช่น การใช้ตัวห้ำ ตัวเบียน และเชื้อจุลินทรีย์ จึงเป็นอีกทางเลือกที่ได้รับความนิยมในปัจจุบัน เพราะสามารถควบคุมประชากรของแมลงศัตรูพืชไม่ให้เกิดการระบาด โดยไม่ก่อให้เกิดความต้านทานในแมลงและมีความปลอดภัยสูงต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม (Lacey et al., 2001) ปัจจุบัน จุลินทรีย์หลายชนิดมีความสำคัญในการใช้ควบคุมหนอนกระทู้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น เชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา เชื้อไวรัสเอ็นพีวี และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง (Kumari and Singh, 2009; Han et al., 2014; Revathi et al., 2014; Burana et al., 2022)

ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง (entomopathogenic nematodes หรือ EPNs) เป็นหนึ่งในจุลินทรีย์ก่อโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืชที่อยู่อาศัยใกล้พื้นดินหลากหลายชนิด เช่น หนอนผีเสื้อ ตัวง แผลงวัน แมลงกระซอน และปลวก เป็นต้น (Arthurs et al., 2004) ซึ่งสามารถนำมาใช้ควบคุมระยะตัวอ่อนของผีเสื้อศัตรูพืชทั้งสองชนิดข้างต้นได้เป็นอย่างดี (Burana et al., 2022) ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในสกุล *Steinernema* และ *Heterorhabditis* ถูกพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์กำจัดแมลงมาเป็นระยะเวลานานเนื่องจากไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงมีความเฉพาะเจาะจงและมีประสิทธิภาพสูงในการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืช อีกทั้งไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ และสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น (Lacey and Georgis, 2012) ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในสกุล *Steinernema* จะทำงานร่วมกับแบคทีเรียร่วมอาศัย (symbiotic bacteria) ในสกุล *Xenorhabdus* ทำให้แมลงอาศัยตายจากการติดเชื้อในระบบเลือดภายใน 24-48 ชั่วโมง

(Ciche and Ensign, 2003) ซึ่งไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในระยะเข้าทำลาย (ระยะ infective juveniles หรือ ระยะ IJ) สามารถอยู่รอดภายนอกร่างกายแมลงอาศัยและมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อม

ในช่วง 3 ทศวรรษที่ผ่านมา ประเทศไทยได้ค้นพบไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเฉพาะถิ่นจำนวนมาก ซึ่งหลายไอโซเลทมีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืช (Ardpairin et al., 2020; Wattanachaiyingcharoen et al., 2021; Noosidum et al., 2024) โดยเฉพาะไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. siamkayai* Stock, Somsook and Reid ที่มีรายงานการค้นพบจำนวนไอโซเลทสูงกว่าชนิดอื่นเพราะเป็นชนิดที่มีการกระจายตัวในประเทศไทยในหลายพื้นที่และมีรายงานในประเทศไทยเป็นครั้งแรก (Stock et al., 1998) ซึ่งจัดได้ว่าเป็นชนิดที่เหมาะสมต่อการนำมาพัฒนาและใช้งานในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย อย่างไรก็ตาม การพัฒนาชีวภัณฑ์ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. siamkayai* ยังมีข้อจำกัดเรื่องการเก็บรักษาและวิธีการใช้งานที่เหมาะสมที่จะส่งผลต่อการรอดชีวิตและประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืช ซึ่งปัจจัยความชื้นและอุณหภูมิในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาหรือการใช้งานมีความสำคัญต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเป็นอย่างมาก (Rumbos and Athanassiou, 2017)

ที่ผ่านมาการพัฒนาผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในประเทศไทยมีการใช้งานหลายรูปแบบ ตั้งแต่การส่งเสริมให้มีการผลิตและใช้สารแขวนลอยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่เก็บรักษาในน้ำฉีดพ่นลงในดินทันที ซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงและง่ายต่อการใช้งาน แต่มีข้อจำกัดในอายุการเก็บรักษาที่สั้นและปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อโรคอื่น (ศุภชาติ, 2562) จึงมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ในรูปแบบไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในผงดินละลายน้ำในภาชนะแบบปิดโดยกรมวิชาการเกษตร และรูปแบบไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในโพลิเมอร์เจลอุ้มน้ำ ที่เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสภาพที่เหมาะสมต่อการรอดชีวิตของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและทำให้มีอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้น ทั้งนี้การประยุกต์ใช้โพลิเมอร์เจล เช่น เจลแอลจินเตสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงภายใต้ความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมได้ โดยเจลแอลจินเตจะช่วยป้องกันไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจากปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพที่ส่งผลต่ออายุการเก็บรักษาและประสิทธิภาพได้ (Vemmer and Patel, 2013) ช่วยยืดอายุการเก็บรักษา อีกทั้งสะดวกต่อการขนส่งและใช้งาน ซึ่งเป็นทางเลือกในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในปัจจุบัน การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาสูตรเจลแอลจินเตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. siamkayai* EPNKU70 ที่สามารถใช้กำจัดหนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอมได้

วิธีการศึกษา

การเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง

ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. siamkayai* EPNKU70 แยกได้จากดินตัวอย่างบริเวณน้ำตกเกริงกระเวีย อุทยานแห่งชาติเขาสก อำเภอประจักษ์ศิลปาคม จังหวัดสุรินทร์ (GPS coordinate: N14°58'51.4", E98°37'58.9") และเก็บรักษาที่ห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (Noosidum et al., 2024) มีการเพิ่มปริมาณโดยใช้หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella* L. ภายในห้องปฏิบัติการ ตามวิธีการของ Kaya and Stock (1997) เริ่มจากนำกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 จำนวน 2 แผ่น วางบนฝาของจานเพาะเชื้อพลาสติก (Petri dish) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5 เซนติเมตร หยดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. siamkayai* EPNKU70 ระยะ IJ จำนวน 400 IJs ในน้ำ 700 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรอง ใส่หนอนกินรังผึ้งวัยสุดท้ายจำนวน 5 ตัว พันปิดด้วยพาราฟิล์ม วางจานเพาะเชื้อลงในกล่องพลาสติกขนาด 20x40x20 เซนติเมตร ปิดด้วยเทปขาวและเก็บในที่มืด อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $75 \pm 5\%$ เมื่อหนอนกินรังผึ้งตายจากการติดเชื้อไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง สังเกตจากซากหนอนกินรังผึ้งมีการเปลี่ยนเป็นสีดำ ไม่มีลักษณะเน่า นำซากหนอนกินรังผึ้งข้างต้นมาผ่านกระบวนการ White trap (White, 1927) โดยวางซากหนอนกินรังผึ้งลงในจานเพาะเชื้อพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5 เซนติเมตร ที่บรรจุกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 จำนวน 1 แผ่น หยดน้ำกลั่น 300 ไมโครลิตร และนำจานที่มีซากหนอนวางลงในจานเพาะเชื้อพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ที่มีน้ำกลั่นบรรจุอยู่ 8 มิลลิเมตร หลังจากนั้น 6-7 วัน ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะ IJ รุ่นใหม่จะออกมาจากซากหนอนกินรังผึ้งและเคลื่อนที่ลงในน้ำที่จานเพาะเชื้อพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร เมื่อครบระยะเวลา 3 วัน ใช้ไมโครปิเปต (micropipette) ดูดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะ IJ ล้างด้วยสารละลายฟอร์มาดีไฮด์ 0.1% จำนวน

3 ครั้ง เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อโรคอื่น ก่อนเก็บลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Corning® ขนาด 225 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปเก็บรักษาที่ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 15 ± 2 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ทดลองในขั้นตอนต่อไป

การขึ้นรูปเจลแอลจีเนต

ศึกษาการปรุงของเจลแอลจีเนต (alginate gel) โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Kaya and Nelsen (1985) และ Kim et al. (2021) ด้วยการจับคู่สารละลาย 2 ชนิด ดังนี้

เตรียมสารละลายที่ 1 คือ สารละลายโซเดียมแอลจีเนต (sodium alginate solution) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ประกอบด้วย กลีเซอรอล (glycerol) 18 มิลลิลิตร โพแทสเซียมซอร์เบต (potassium Sorbate) 0.5 กรัม ฟอรัมาดิไฮด์ (formaldehyde) 0.1875 มิลลิลิตร และโซเดียมแอลจีเนต (sodium alginate) ปริมาณ 0.5, 1, 1.5 และ 2 กรัม (สำหรับเตรียมสารละลายโซเดียมแอลจีเนตที่มีความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5 และ 2% ตามลำดับ) และเติมน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากัน

เตรียมสารละลายที่ 2 คือ สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (calcium chloride solution) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ประกอบด้วย กลีเซอรอล 18 มิลลิลิตร โพแทสเซียมซอร์เบต 0.5 กรัม ฟอรัมาดิไฮด์ 0.1875 มิลลิลิตร และ แคลเซียมคลอไรด์ ปริมาณ 0.5, 1, 1.5, 2 กรัม (สำหรับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5 และ 2% ตามลำดับ) และเติมน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร

จากนั้น หยดสารละลายโซเดียมแอลจีเนตแต่ละความเข้มข้นด้วยหลอดหยด (40 ไมโครลิตร/หยด) ลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์แต่ละความเข้มข้น โดยใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 100 มิลลิลิตร ต่อการขึ้นรูปเจลแอลจีเนต 100 หยด รอให้เจลแอลจีเนตขึ้นรูป 20-30 นาที แล้วกรองแยกเจลแอลจีเนตที่ได้ด้วยตะแกรงร่อน (sieve) เบอร์ 10 ออกจากสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ล้างด้วยน้ำกลั่น 10 วินาที ก่อนนำเจลแอลจีเนตใส่ในงานเพาะเชื้อพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร พันด้วยพาราฟิล์ม เก็บในที่มืด อุณหภูมิ 16 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $75 \pm 5\%$ หลังจากนั้น 12 ชั่วโมง สุ่มเจลแอลจีเนตจำนวน 15 เม็ด ถ่ายรูปและวัดขนาดรูปทรงของเม็ดเจลที่เกิดขึ้น ภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอด้วยโปรแกรม HAYEAR โดยใช้กล้อง FHD Digital Eyepiece รุ่น HY-500M (Shenzhen Hayear electronics Co. LTD, China) และทำซ้ำ 2 ครั้ง (2 รอบของการผลิตเจลแอลจีเนต) ในทุกความเข้มข้นของสารละลายแอลจีเนตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

การประเมินการคงอยู่และการรอดชีวิตของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในเจลแอลจีเนต

ศึกษาการคงอยู่ในเม็ดเจลและการรอดชีวิตของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. siamkayai* EPNKU70 ระยะ IJ ในเจลแอลจีเนตที่ผลิตด้วยสารละลายโซเดียมแอลจีเนต 0.5, 1 และ 1.5% และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 0.5 และ 1% ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยผสมไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. siamkayai* EPNKU70 กับสารละลายโซเดียมแอลจีเนตแต่ละความเข้มข้น ปรับความเข้มข้นของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ 25000 IJs/มิลลิลิตร (1000 IJs/เม็ดเจล) หยดสารละลายโซเดียมแอลจีเนตแต่ละความเข้มข้นด้วยหลอดหยด (40 มิลลิลิตร/หยด) ลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์แต่ละความเข้มข้น โดยใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 100 มิลลิลิตร ต่อเจลแอลจีเนต 100 หยด รอให้เจลแอลจีเนตขึ้นรูป 20-30 นาที แล้วกรองแยกเจลแอลจีเนตที่ได้ด้วยตะแกรงร่อนเบอร์ 10 ออกจากสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ล้างด้วยน้ำกลั่น 10 วินาที ก่อนนำเจลแอลจีเนตใส่ในงานเพาะเชื้อพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร พันด้วยพาราฟิล์ม เก็บในที่มืด อุณหภูมิ 16 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $75 \pm 5\%$ หลังจากนั้น 12 ชั่วโมง แยกเม็ดเจลใส่ใน 24 well-plate หลุมละ 1 เม็ด เป็นจำนวน 10 หลุม เติมน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร ในแต่ละหลุม ปิดฝาแล้วเก็บในที่มืด อุณหภูมิ 16 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $75 \pm 5\%$ ในแต่ละความเข้มข้นสารละลายโซเดียมแอลจีเนตกับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ทำซ้ำเป็นจำนวน 2 ครั้ง หลังจากผ่านไป 1 สัปดาห์ ดูดน้ำในแต่ละหลุมของ 24 well-plate ออกมานับจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่อยู่นอกเม็ดเจล และละลายเจลแอลจีเนตในแต่ละหลุมด้วยการเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2% ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงทั้งหมดที่ละลายได้จากเจลแอลจีเนต เพื่อคำนวณการคงอยู่และการรอดชีวิตของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในเจลแอลจีเนต โดยมีชุดควบคุมที่เก็บรักษาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 16 ± 2 องศาเซลเซียส เพื่อเปรียบเทียบการรอดชีวิตของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง

การทดสอบประสิทธิภาพของเจลแอลกอฮอล์ใส่เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีต่อหนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอม

ขึ้นรูปเจลแอลกอฮอล์ใส่เดือนฝอยศัตรูแมลงโดยดัดแปลงจากสูตรของ (NanGong et al., 2021) ด้วยการเตรียมสารละลายโซเดียมแอลกอฮอล์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ประกอบด้วย กลีเซอรอล 18 มิลลิลิตร โพแทสเซียมซอร์เบต 0.5 กรัม พอร์มาดีไฮต์ 0.1875 มิลลิลิตร กลูโคส 9 กรัม ฟรักโทส 2 กรัม ซูโครส 2 กรัม และโซเดียมแอลกอฮอล์ 1 กรัม และเติมน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร จากนั้นเตรียมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 1% และขึ้นรูปเจลแอลกอฮอล์ตามวิธีการทดลองก่อนหน้า ปรับความเข้มข้นของใส่เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. siamkayai* EPNKU70 ที่ 25000 IJs/มิลลิลิตร (1000 IJs/เม็ดเจล) และชุดควบคุมเตรียมเจลแอลกอฮอล์ที่ไม่ใส่ใส่เดือนฝอยศัตรูแมลงด้วยวิธีเดียวกัน

ทดสอบประสิทธิภาพของเจลแอลกอฮอล์ใส่เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีต่อหนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอมวัยที่ 3 โดยหนอนทั้งสองชนิดและอาหารเทียมได้รับความอนุเคราะห์จากโรงงานต้นแบบผลิตไวรัสเอ็นพีวีเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) และอดอาหาร 6 ชั่วโมง ก่อนการทดลอง เตรียมชุดทดสอบด้วย 24 well-plate ที่บรรจุกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 จำนวน 2 แผ่น/หลุม โดยมี 4 วิธีการดังนี้

1. หยดน้ำกลั่น 50 ไมโครลิตร/หลุม จากนั้นใส่อาหารเทียมขนาด 0.5x0.5x0.5 เซนติเมตร ตั้งแต่เริ่มทดลอง (ชุดควบคุม หนอนทดสอบ)
2. หยดสารแขวนลอยใส่เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. siamkayai* EPNKU70 จำนวน 1000 IJs ในน้ำ 50 ไมโครลิตร/หลุม จากนั้นใส่อาหารเทียมขนาด 0.5x0.5x0.5 เซนติเมตร ตั้งแต่เริ่มทดลอง (ชุดควบคุม ใส่เดือนฝอยศัตรูแมลง)
3. หยดน้ำกลั่น 50 ไมโครลิตร/หลุม ใส่เจลแอลกอฮอล์เปล่าที่ไม่มีใส่เดือนฝอยศัตรูแมลง จำนวน 1 เม็ด เมื่อหนอนกินเจลแอลกอฮอล์หมดให้ใส่อาหารเทียมขนาด 0.5x0.5x0.5 เซนติเมตร
4. หยดน้ำกลั่น 50 ไมโครลิตร/หลุม ใส่เจลแอลกอฮอล์ที่มีใส่เดือนฝอยศัตรูแมลง 1000 IJs/เม็ดเจล จำนวน 1 เม็ด เมื่อหนอนกินเจลแอลกอฮอล์หมดให้ใส่อาหารเทียมขนาด 0.5x0.5x0.5 เซนติเมตร

จากนั้นใส่หนอนกระทู้ผัก จำนวน 1 ตัว/หลุม จำนวน 30 หลุม และทำซ้ำ 2 ครั้ง (2 รอบของการผลิตใส่เดือนฝอยศัตรูแมลงและแมลงศัตรูพืช) และทำการทดลองเช่นเดียวกันในหนอนกระทู้หอม บันทึกผลการกินเจลแอลกอฮอล์และการตายของหนอนทั้งสองชนิดทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ทุกการทดลองวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) การคำนวณการคงอยู่ของใส่เดือนฝอยศัตรูแมลงในเจลแอลกอฮอล์ การรอดชีวิตของใส่เดือนฝอยศัตรูแมลง และการตายของหนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอมด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-Way ANOVA) ด้วยวิธี Tukey's range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมการคำนวณทางสถิติ IBM SPSS Statistics Version 25

ผลการศึกษา

การขึ้นรูปเจลแอลกอฮอล์

การขึ้นรูปทรงกลมของเจลแอลกอฮอล์จากสารละลายโซเดียมแอลกอฮอล์และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่าการใช้สารละลายโซเดียมแอลกอฮอล์ 0.5% หยดในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5 และ 2% ไม่สามารถขึ้นรูปให้เกิดเจลทรงกลมได้ โดยจะเกิดเป็นรูปหยดน้ำและมีรูปทรงที่บิดเบี้ยว ในขณะที่ การใช้สารละลายโซเดียมแอลกอฮอล์ 1% ขึ้นไป (1, 1.5 และ 2%) หยดในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5 และ 2% จะเกิดเจลแอลกอฮอล์ทรงกลมและทรงหยดน้ำ (Figure 1) ซึ่งเจลแอลกอฮอล์จะมีโอกาสขึ้นรูปเป็นทรงกลมที่ความเข้มข้นของโซเดียมแอลกอฮอล์ 1, 1.5 และ 2% และมีโอกาสขึ้นรูปเป็นทรงกลมมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโซเดียมแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น โดยโอกาสเกิดรูป ทรงไม่กลม:ทรงกลม เป็น 50:65, 25:105, 2:118 ตามลำดับ การทดลองขั้นต่อไปจึงเลือกใช้สารละลายโซเดียมแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้น 0.5–1.5% เนื่องจากเป็นระดับความเข้มข้นที่เริ่มการขึ้นรูปเป็นทรงกลม เพื่อศึกษาการคงอยู่และการรอดชีวิตของใส่เดือนฝอยศัตรูแมลงในเจลแอลกอฮอล์

ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ Kim et al. (2021) ที่รายงานว่า เจลแอลจินेटที่ขึ้นรูปจากสารละลายโซเดียมแอลจินेटที่ความเข้มข้น 0.5% จะไม่สามารถขึ้นรูปเป็นเม็ดเจลทรงกลมได้ แม้ว่าจะหยดในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0.3–2.0% ก็ตาม โดยการขึ้นรูปของเจลแอลจินेटเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างโซเดียมแอลจินेटกับไอออนคลอไรด์ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เป็นการขึ้นรูปแบบทางตรง (direct gelation) โดยการหยดสารละลายโซเดียมแอลจินेटลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ทำให้เกิดการขึ้นรูปของเจลแอลจินेटในทันที ซึ่งจะเกิดเป็นเม็ดเจลที่มีเนื้อเจลที่บวมทั้งเม็ดเจล นอกจากนี้วิธีนี้เจลแอลจินेटยังสามารถขึ้นรูปแบบทางตรงกันข้าม (inverse gelation) โดยหยดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ลงในสารละลายโซเดียมแอลจินेट ทำให้เกิดเจลแอลจินेटที่มีแกนกลางกลวงเป็นสารละลายชนิดปกคลุมด้วยชั้นเปลือกที่เป็นเจลโดยรอบ (Paul et al., 2023) นอกจากนี้วิธีการข้างต้นที่ทำให้เกิดลักษณะที่แตกต่างกันแล้ว ยังมีปัจจัยต่าง ๆ ที่ส่งผลถึงขนาดและรูปร่างของเจลแอลจินेट เช่น เส้นผ่านศูนย์กลางของอุปกรณ์ที่ใช้หยด ระดับความสูงของการหยด และความหนืดของสารละลาย (Colin et al., 2024) ตัวอย่างเช่น การทดลองของ Hiltbold et al. (2012) มีการขึ้นรูปเจลแอลจินेटแบบทางตรงกันข้ามโดยหยดสารละลายแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต (calcium gluconolactate) ลงในสารละลายโซเดียมแอลจินेट แต่ในการขึ้นรูปจำเป็นต้องมีการเติมสารแซนแทนกัม (xanthan gum) เพื่อเพิ่มความหนืดของสารละลาย ซึ่งช่วยในการสร้างเจลแอลจินेटที่ขนาดใหญ่ขึ้นและมีรูปทรงกลมแทนที่จะเป็นรูปหยดน้ำ นอกจากนี้อุณหภูมียังส่งผลต่อการขึ้นรูปเจล โดยการขึ้นรูปเจลในอุณหภูมิต่ำ จะทำให้เกิดเจลที่มีขนาดที่ใหญ่ขึ้น กลมขึ้น และมีความแข็งแรง ซึ่งเกิดก่อกาวที่ช้าลงจากอุณหภูมิที่ต่ำลงของเนื้อเจลทำให้เจลมีความสม่ำเสมอ และมีความแข็งแรงมากขึ้นกว่าเจลที่ขึ้นรูปในอุณหภูมิที่สูงกว่า (Jeong et al., 2020)

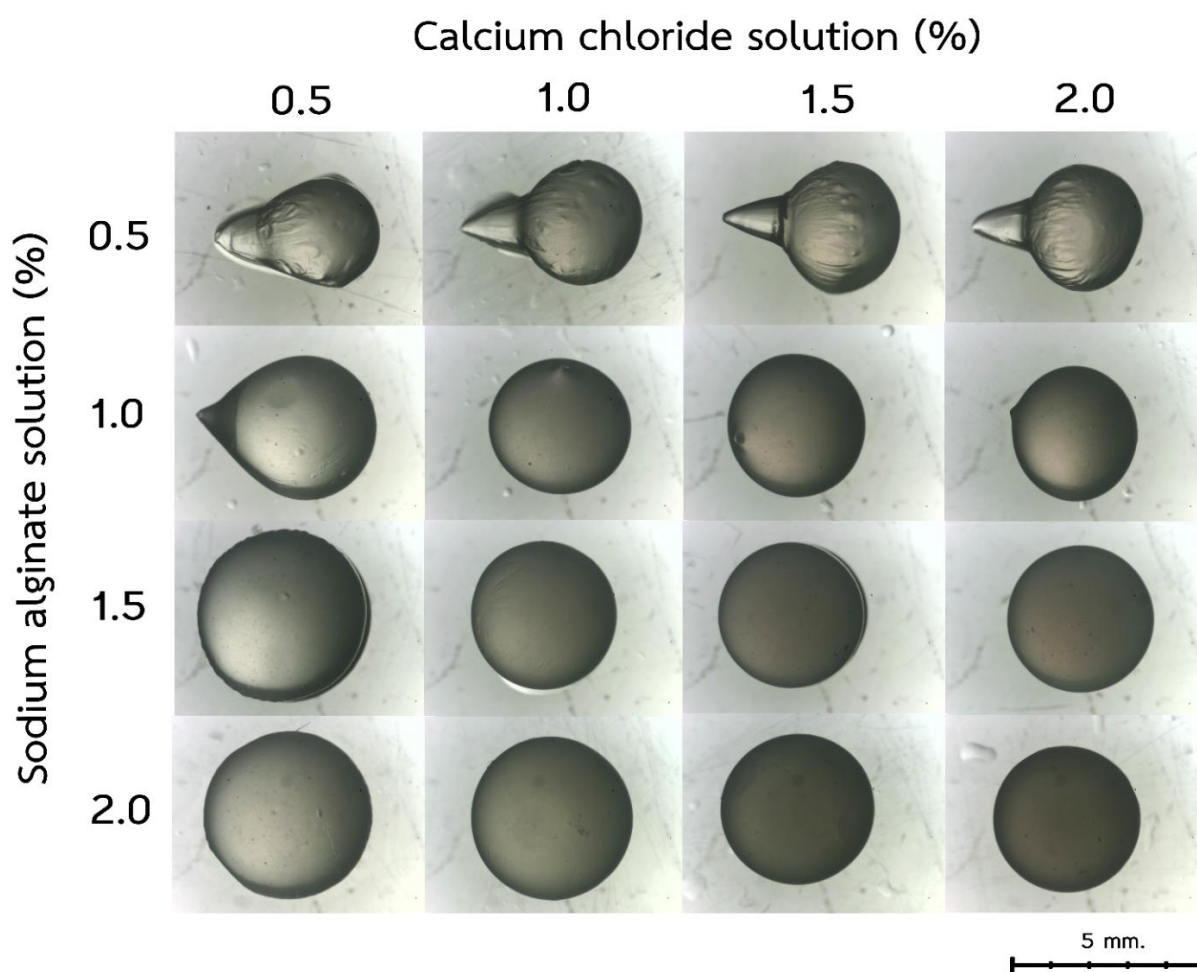


Figure 1 Alginate gels were formed from sodium alginate solutions and calcium chloride solutions at different concentrations (0.5–2.0%).

การประเมินการคงอยู่และการรอดชีวิตของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในเจลแอลจิเนต

เมื่อนำเจลแอลจิเนตที่ผลิตด้วยสารละลายโซเดียมแอลจิเนต 0.5-1.5% และบรรจุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. siamkayai* EPNKU70 จำนวน 1000 IJs/เม็ดเจล ไปเก็บรักษาเป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่า การรอดชีวิตของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในเจลแอลจิเนตแต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($F_{6, 133} = 128.05, p < 0.01$) อย่างไรก็ตาม เจลแอลจิเนตที่ขึ้นรูปด้วยสารละลายโซเดียมแอลจิเนต 1.5% มีการรอดชีวิตไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (น้ำเปล่า) (Figure 2a) ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่อยู่ภายในเจลแอลจิเนตสามารถเคลื่อนที่ออกจากเจลแอลจิเนตไปยังน้ำกลั่นที่หล่ออยู่ภายนอกเม็ดเจลได้ ซึ่งการคงอยู่ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในเจลแอลจิเนตแต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($F_{5, 114} = 748.29, p < 0.01$) (Figure 2b)

เจลแอลจิเนตที่ใช้สารละลายโซเดียมแอลจิเนต 0.5% ร่วมกับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 0.5 และ 1% ไม่สามารถเก็บไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. siamkayai* EPNKU70 ไว้ภายในเม็ดเจลได้ ซึ่งมีไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงคงเหลืออยู่ภายในเม็ดเจลด้อยกว่า $5.47 \pm 5.92\%$ และมีไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงรอดชีวิตน้อยกว่า $44.21 \pm 4.41\%$ ในขณะที่เจลแอลจิเนตที่ใช้สารละลายโซเดียมแอลจิเนต 1% ร่วมกับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 0.5 และ 1% มีไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในเม็ดเจลเท่ากับ 73.56 ± 11.81 และ $93.23 \pm 2.80\%$ ตามลำดับ และมีไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงรอดชีวิตเท่ากับ 93.60 ± 2.19 และ $93.06 \pm 2.31\%$ ตามลำดับ เมื่อเพิ่มสารละลายโซเดียมแอลจิเนตเป็น 1.5% ร่วมกับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 0.5 และ 1% จะทำให้การคงอยู่ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเพิ่มมากขึ้นเท่ากับ 95.62 ± 3.68 และ $99.37 \pm 0.74\%$ ตามลำดับ ซึ่งการใช้สารละลายโซเดียมแอลจิเนต 1.5% ร่วมกับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 0.5 และ 1% มีไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงรอดชีวิตไม่แตกต่างกับชุดควบคุม โดยมีค่าการรอดชีวิตเท่ากับ 96.42 ± 3.77 , 96.88 ± 3.18 และ $98.25 \pm 1.21\%$ ตามลำดับ

ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า การคงอยู่ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. siamkayai* EPNKU70 ในเจลแอลจิเนตมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมแอลจิเนต ซึ่งการคงอยู่ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเพิ่มมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมแอลจิเนตและสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เพิ่มมากขึ้น สอดคล้องกับ Kim et al. (2021) ที่รายงานว่า ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar จะเคลื่อนที่ออกจากเจลแอลจิเนตที่ผลิตจากสารละลายโซเดียมแอลจิเนต 1.5% เพียงเล็กน้อยเท่านั้น และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจะเคลื่อนที่ออกจากเจลแอลจิเนตจำนวนมากเมื่อผลิตเจลแอลจิเนตจากสารละลายโซเดียมแอลจิเนต 0.5% โดยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่บรรจุอยู่ภายในเจลสามารถเคลื่อนที่ออกจากเม็ดเจลได้ เนื่องจากผิวของเม็ดเจลแอลจิเนตมีความบางกว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมแอลจิเนตที่น้อยกว่า ในทางตรงกันข้ามความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมแอลจิเนตที่ 2% จะทำให้เจลแอลจิเนตที่ได้มีความแข็งแรงและขัดขวางการเคลื่อนที่ออกมาของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง (Darsouei et al., 2025) ซึ่งยากต่อการนำไปใช้งาน ความหนาของเปลือกเจลแอลจิเนตที่เหมาะสมนั้นจะช่วยป้องกันไม่ให้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเคลื่อนที่ออกจากเจลแอลจิเนต (Vemmer and Patel, 2013) นอกจากนี้ การเคลื่อนที่ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงออกจากเจลแอลจิเนตยังขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาเจลแอลจิเนต โดยอุณหภูมิที่ต่ำกว่าจะช่วยลดการเคลื่อนที่ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจะเคลื่อนที่ออกมาจากเจลแอลจิเนตได้ง่ายเมื่อเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิห้อง (Hiltbold et al., 2012) สอดคล้องกับ Kagimu and Malan (2019) ที่รายงานว่า การเก็บรักษาเจลแอลจิเนตบรรจุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจะเคลื่อนที่ออกจากเม็ดเจลมากกว่าการเก็บรักษาในที่อุณหภูมิต่ำ (6 และ 14 องศาเซลเซียส)

การนำไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงภายในเจลแอลจิเนตออกมาใช้งานนั้นสามารถทำได้โดยการละลายโครงสร้างของเจลแอลจิเนตเพื่อให้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงทั้งหมดออกมาในรูปแบบสารแขวนลอยสำหรับใช้ฉีดพ่น โดยโครงสร้างของเจลแอลจิเนตที่เกิดขึ้นจากโซเดียมแอลจิเนตและแคลเซียมคลอไรด์คือแคลเซียมแอลจิเนต ซึ่งมีคุณสมบัติที่ไม่ละลายน้ำ แต่สามารถละลายได้ด้วยสารคีเลต (chelating agents) เช่น กรดเอทิลีนไดเอมีนเตตระแอสติก (EDTA) หรือสารประกอบซิเตรต ซึ่งจะจับกับไอออนแคลเซียมและทำลายโครงสร้างของแคลเซียมแอลจิเนต (Hefft and Adeutnji, 2024) แต่การละลายเจลแอลจิเนตด้วยสารละลายโซเดียมซิเตรตมีโอกาที่จะก่อให้เกิดการอุดตันของเจลแอลจิเนตกับหัวฉีดพ่นเนื่องจากการละลายไม่หมดของเจลแอลจิเนต (NanGong et al., 2021) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องพัฒนาสูตรเจลแอลจิเนตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่สามารถละลายในน้ำหรือปล่อยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงออกมาได้ทันทีเมื่อต้องการใช้งาน เช่น การผสมพอลิเมอร์ดูดซึมน้ำ (water-absorbent compounds) ในการขึ้นรูปเจลแอลจิเนต ทำให้เมื่อนำเจลแอลจิ

เนตมาแซในน้ำ เจลจะมีการดูดซับน้ำ มีความนุ่มขึ้น พองตัวและแตกออก ช่วยให้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงภายในเจลสามารถเคลื่อนที่ออกมาได้ง่ายขึ้น (Darsouei et al., 2025)

การรอดชีวิตของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. siamkayai* EPNKU70 หลังจากเก็บรักษาในเจลแอลจินต์มีความสอดคล้องกับอัตราการคงอยู่ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในเม็ดเจล ซึ่งการใช้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมแอลจินต์ที่แตกต่างกันจะส่งผลให้เจลแอลจินต์มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการรอดชีวิตของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่อาศัยอยู่ในเม็ดเจลแตกต่างกัน (Kim et al., 2021) โดยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. siamkayai* EPNKU70 ที่อยู่ในเจลแอลจินต์ที่ผลิตด้วยสารละลายโซเดียมแอลจินต์ 1.5% มีอัตราการคงอยู่ในเม็ดเจลและอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าความเข้มข้นอื่น ๆ ซึ่งไม่แตกต่างกับการเก็บรักษาในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 16 องศาเซลเซียส และสามารถเก็บรักษาได้นานถึง 7 วัน ซึ่งการประยุกต์ใช้เจลแอลจินต์กับไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและสนับสนุนการใช้งานในสภาพแปลง การเก็บรักษาเจลแอลจินต์ที่บรรจุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจำเป็นที่จะได้รับความชื้นที่เหมาะสม เช่น เก็บเจลแอลจินต์ภายในน้ำ ภาชนะปิดที่มีความชื้นสูงหรือห่อหุ้มเจลแอลจินต์ด้วยชั้นไขมัน เพื่อป้องกันเจลแอลจินต์สูญเสียน้ำ เนื่องจากเม็ดเจลแห้งได้ง่ายและอาจส่งผลให้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงตายภายใน 2 วัน เมื่อเก็บไว้ที่ความชื้นต่ำกว่า 72% แม้ว่าจะเก็บในภาชนะปิด (Kaya and Nelsen, 1985)

อย่างไรก็ตาม การรอดชีวิตของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่เก็บรักษาในเม็ดเจลแอลจินต์นั้นยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ ได้แก่ ชนิดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง สูตรเจลแอลจินต์ และสภาพในการเก็บรักษาที่แตกต่างกันอีกด้วย โดย Ruiz-Vega et al. (2018) รายงานว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. glaseri* Steiner ที่บรรจุในเจลแอลจินต์ 0.5% มีชีวิตรอดเพียง 15% เท่านั้นในเวลา 7 วัน หลังจากการขึ้นรูปเจล ที่อุณหภูมิ 23±3 องศาเซลเซียส ในขณะที่ *S. carpocapsae* Weiser มีการรอดชีวิต 79% ที่เวลา 7 วัน และรอดชีวิตมากกว่า 59% ที่เวลา 28 วันหลังจากการขึ้นรูปเจล ในขณะที่ Chen and Glazer (2005) รายงานว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. feltiae* Filipjev ที่ขึ้นรูปด้วยโซเดียมแอลจินต์ 2% ร่วมกับแคลเซียมคาร์บอเนต 0.5% สามารถเก็บรักษาได้มากกว่า 6 เดือน และยังคงรอดชีวิตมากกว่า 96% เมื่อเก็บรักษาภายในกล่องพลาสติกที่มีการรักษาความชื้นด้วยฟองน้ำชุบน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส ซึ่งมีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าการเก็บรักษาในน้ำเปล่าในสภาพเดียวกัน

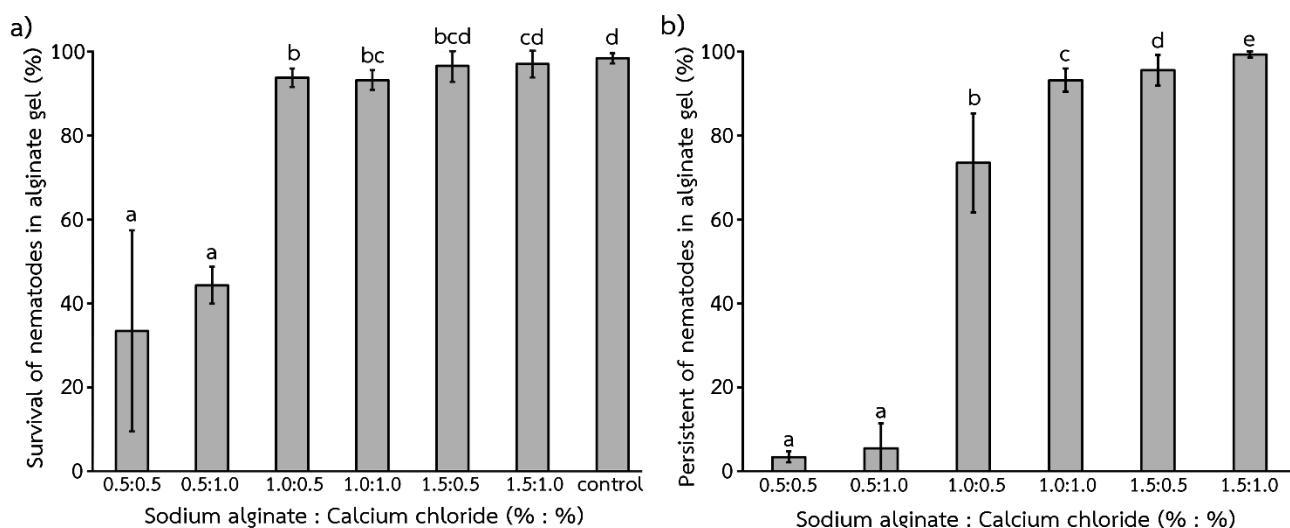


Figure 2 (a) Survival rate (mean $\pm$ SE) and (b) persistence rate (mean $\pm$ SE) of the infective juvenile of *Steinernema siamkayai* EPNKU70 in various formulations of alginate gel after 7 days of storage. Bars with the same letter do not differ significantly at $P = 0.05$.

การทดสอบประสิทธิภาพของเจลแอลจินेटไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีต่อหนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอม

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของเจลแอลจินेटที่บรรจุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. siamkayai* EPNKU70 พบว่า หนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอมสามารถกินเจลแอลจินेटที่มีการผสมน้ำตาลเพื่อดึงดูดให้หนอนเข้ามากินเจลแอลจินेटได้ โดยเจลแอลจินेटที่ไม่บรรจุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงไม่พบการตายของหนอนทั้ง 2 ชนิด สำหรับหนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอมที่กินเจลแอลจินेटที่บรรจุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงแสดงการตายภายในเวลา 72 ชั่วโมง เท่ากับ 81.66 ± 14.72 และ $88.33 \pm 9.83\%$ ตามลำดับ แต่ผลการตายยังมีค่าน้อยกว่าการใช้สารแขวนลอยไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* EPNKU70 โดยตรง ที่ทำให้หนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอมตายทั้งหมด $100.00 \pm 0.00\%$ ($F_{2,15} = 107.37$, $p < 0.01$; $F_{2,15} = 119.99$, $p < 0.01$, ตามลำดับ) (Figure 3)

ผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่าเจลแอลจินेटที่บรรจุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. siamkayai* EPNKU70 มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอม สอดคล้องกับ Kaya and Nelsen (1985) ที่รายงานว่าหนอนกระทู้หอมที่กินเจลแอลจินेटบรรจุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. feltiae* จำนวน 300 IJs มีการตาย 100% ภายใน 72 ชั่วโมง นอกจากนั้น เจลแอลจินेटที่บรรจุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *H. bacteriophora* สามารถใช้ควบคุมแมลงในกลุ่มอื่นได้ เช่น ตัวอ่อนด้วง *Diabrotica balteata* LeConte ที่เข้าทำลายรากข้าวโพดได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Jaffuel et al., 2020) เจลแอลจินेटยังสามารถใช้บรรจุแบคทีเรียร่วมอาศัยของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Photorhabdus luminescens* Thomas and Poinar เพื่อใช้ควบคุมหนอนกระทู้ผักภายในดินปลอดเชื้อ พบว่าหนอนกัดกินเจลแอลจินेटและตายจากการติดเชื้อ 100% ภายใน 48 ชั่วโมง ซึ่งมีการตายเร็วกว่าเจลแอลจินेटที่บรรจุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *H. indica* ที่พบการตายของหนอนเมื่อเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง (Rajagopal et al., 2006)

อย่างไรก็ตาม การตายของแมลงขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ ชนิด จำนวน และความแข็งแรงของทั้งแมลงและไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่บรรจุภายในเจล รวมไปถึงปัจจัยด้านคุณลักษณะและคุณภาพของเจลที่ใช้บรรจุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงด้วย ซึ่งในการทดลองนี้พบว่าหนอนที่ไม่กินเจลแอลจินेटที่บรรจุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจะไม่แสดงการติดเชื้อและไม่ตาย แม้จะผ่านเวลาทดลองมาแล้ว 72 ชั่วโมง เพราะหนอนทดสอบจะไม่ได้ถูกเข้าทำลายด้วยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเนื่องจากไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงอาศัยอยู่ในเม็ดเจลเท่านั้น สอดคล้องกับ NanGong et al. (2021) ที่รายงานว่า พฤติกรรมการเลือกกินเจลแอลจินेटของหนอนเกิดขึ้นได้ระหว่างการทดสอบ โดยหนอนกระทู้ดำ *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) เลือกกินเจลแอลจินेटที่มีการผสมน้ำตาลมากกว่าการเลือกกินใบข้าวโพด และเจลแอลจินेटที่ไม่มีการผสมน้ำตาล ในขณะที่ Kaya and Nelsen (1985) พบว่า หนอนกระทู้หอมสามารถกินเจลแอลจินेटที่ไม่ได้มีการเติมสารที่เป็นน้ำตาล และทำให้หนอนทดลองตายทั้งหมดได้ ดังนั้น การพัฒนาเจลแอลจินेटที่มีการเพิ่มสารดึงดูดการกินของกลุ่มหนอนกระทู้ในรูปแบบต่าง ๆ เช่น การใช้สารกระตุ้นการกิน (phagostimulant) ที่ประกอบด้วย รำข้าวสาลี + น้ำตาลโตนด + แป้ง + น้ำมันมะพร้าว (Shahanaz et al., 2019) การใช้กลุ่มสารอินทรีย์ระเหยง่ายจากพืช (plant volatile organic compounds = plant VOCs) เช่น 1-hexanol, hexanal, cis-jasmone, benzaldehyde, indole, (3E)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene (DMNT) (De Fouchier et al., 2018) และการใช้ฟีโรโมนเพศ (sex pheromone) เช่น Z9,E11-14:OAc (Poivet et al., 2012) เป็นส่วนผสมในการผลิตเจลแอลจินेटจะเป็นการเพิ่มโอกาสดึงดูดหนอนกระทู้ให้มากินเหยื่อได้มากขึ้น

การพัฒนาเจลสำหรับบรรจุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงได้มีการเสนอวัสดุทางเลือกนอกเหนือจากการใช้แคลเซียมคลอไรด์ เช่น วัสดุดูดซับน้ำสังเคราะห์ (hydrogel) ซึ่งมีข้อดีด้านต้นทุนต่ำ ผลิตได้ง่ายในปริมาณมาก และส่งเสริมการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงได้ดี อย่างไรก็ตาม วัสดุดังกล่าวมีข้อจำกัดด้านความทนทานต่อรังสีอัลตราไวโอเลตและการสูญเสียน้ำ รวมถึงยังขาดข้อมูลที่ชัดเจนเกี่ยวกับอายุการเก็บรักษาในระยะยาว ส่วนเจลวุ้น (agar gel) แม้สามารถหาได้ง่ายและรองรับการมีชีวิตของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงได้ดี แต่โครงสร้างเปราะบาง ไม่ทนต่อสภาพแวดล้อม และเก็บรักษาได้ไม่เกิน 6 สัปดาห์ (Nxitywa and Malan, 2023) ขณะที่พอลิเอคริเลตหรือพอลิเมอร์ (polyacrylate/polymers) บางชนิดสามารถขึ้นพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ได้ง่ายและมีศักยภาพในการยืดอายุการเก็บรักษา แต่ยังมีขาดข้อมูลการพัฒนาในเชิงพาณิชย์ (Shapiro-Ilan et al., 2025; Zulu et al., 2025) ในทางกลับกัน การใช้แคลเซียมแอลจินेटเจล (Calcium-alginate gel/beads) ยังคงเป็นแนวทางที่ได้รับความนิยม เนื่องจากสามารถรูปได้ดี ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเลตและการระเหยของน้ำ ช่วยรักษาสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง และยืดอายุการเก็บรักษาได้หลาย

เดือนโดยไม่ลดประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงเป้าหมาย (Kim et al., 2015; Ruiz-Vega et al., 2018; Nxitywa and Malan, 2019) อย่างไรก็ตาม วิธีนี้มีข้อจำกัดที่สำคัญ ได้แก่ ความซับซ้อนของกระบวนการผลิต และความแข็งของเม็ดเจลที่อาจเป็นอุปสรรคต่อการละลายและการนำไปใช้งานในภาคสนาม ดังนั้น แม้จะมีวัสดุทดแทนที่มีศักยภาพในด้านความสะดวกและต้นทุนต่ำ แต่เจลแคลเซียมแอลจินเตยังคงเป็นทางเลือกที่มีความเหมาะสมในเชิงคุณภาพสำหรับการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในระยะยาว ทั้งนี้ควรมีการวิจัยเพิ่มเติมเพื่อปรับปรุงกระบวนการผลิตให้เหมาะสมกับการประยุกต์ใช้ในระดับฟาร์ม และพัฒนาเทคโนโลยีการขึ้นรูปเม็ดเจลที่สามารถใช้งานได้อย่างมีประสิทธิภาพในสภาพแวดล้อมจริง

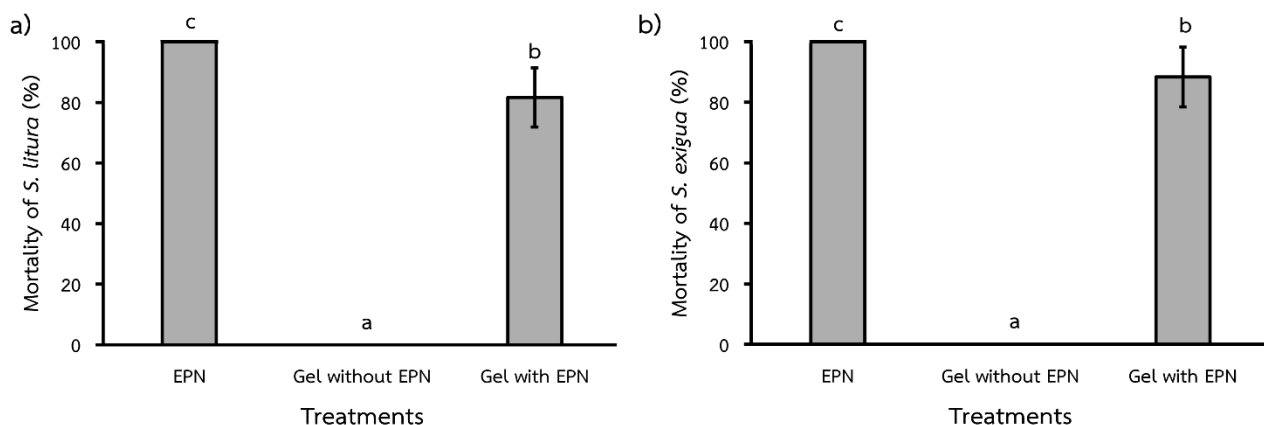


Figure 3 Mortality (mean $\pm$ SE) of third-instar *Spodoptera* larvae after 72 hours of exposure to infective juveniles of *Steinernema siamkayai* EPNKU70 under different application methods: (a) *S. litura* and (b) *S. exigua* [EPN = *S. siamkayai* EPNKU70 without alginate gel, Gel without EPN = alginate gel without EPN, and Gel with EPN = alginate gel containing *S. siamkayai* EPNKU70]. Bars with the same letter do not differ significantly at $P = 0.05$.

สรุป

สูตรเจลแอลจินเตที่เหมาะสมสำหรับใช้บรรจุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. siamkayai* EPNKU70 คือเจลแอลจินเตที่มีอัตราส่วนโซเดียมแอลจินเตต่อแคลเซียมคลอไรด์ที่ 1.0:1.0% ซึ่งเจลแอลจินเตที่มีรูปร่างกลม ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ผ่านการเก็บรักษาภายในเจลแอลจินเตยังคงมีการคงอยู่ การรอดชีวิต และมีประสิทธิภาพสูงในการเข้าทำลายหนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอมในระดับห้องปฏิบัติการ แต่ยังคงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในการปรับปรุงสูตรที่คุ้มทุนและเหมาะสมกับแมลงแต่ละชนิดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้งานต่อไป

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) รหัสโครงการ PRP6705030130 และสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ รหัสโครงการ FF-KU 51.68 ผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างแมลงในทดสอบ

เอกสารอ้างอิง

- ศุภชาติ ธรรมนิติเวทย์. 2562. เทคโนโลยีการผลิตและการใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสำหรับควบคุมแมลงศัตรูผัก. วารสารเกษตรนเรศวร. 16: 65-72.
- Abdullah, M., O. Samthoy, S. Tantakom, S. Isichaikul, and S. Chaeychomsri. 2000. Monitoring insecticide resistance development in beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner)(Lepidoptera: Noctuidae). Agriculture and Natural Resources. 34: 450-457.
- Ardpairin, J., P. Muangpat, S. Sonpom, A. Dumidae, C. Subkrasae, S. Tandhavanant, A. Thanwisai, and A. Vitta. 2020. A survey of entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria in agricultural areas of northern Thailand. Journal of Helminthology. 94: e192.
- Arthurs, S., K. Heinz, and J. Prasifka. 2004. An analysis of using entomopathogenic nematodes against above-ground pests. Bulletin of Entomological Research. 94: 297-306.
- Burana, K., R. U. Ehlers, and P. Nimkingrat. 2022. Entomopathogenic nematodes for control of the cotton cutworm *Spodoptera litura* in marigolds. Journal of Applied Entomology. 146: 415-423.
- Chen, S., and I. Glazer. 2005. A novel method for long-term storage of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* at room temperature. Biological Control. 32: 104-110.
- Ciche, T. A., and J. C. Ensign. 2003. For the insect pathogen *Photorhabdus luminescens*, which end of a nematode is out? Applied and Environmental Microbiology. 69: 1890-1897.
- Colin, C., E. Akpo, A. Perrin, D. Cornu, and J. Cambedouzou. 2024. Encapsulation in alginates hydrogels and controlled release: An overview. Molecules. 29: 2515.
- Darsouei, R., J. Karimi, and L. L. Stelinski. 2025. Properties of enhanced calcium-alginate beads as a formulation for disseminating the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora*, *Steinernema carpocapse*, and *Steinernema feltiae*. Journal of Nematology. 57: 20250020.
- De Fouchier, A., X. Sun, G. Caballero-Vidal, S. Travailard, E. Jacquin-Joly, and N. Montagné. 2018. Behavioral effect of plant volatiles binding to *Spodoptera littoralis* larval odorant receptors. Frontiers in Behavioral Neuroscience. 12: 264.
- Deutsch, C. A., J. J. Tewksbury, M. Tigchelaar, D. S. Battisti, S. C. Merrill, R. B. Huey, and R. L. Naylor. 2018. Increase in crop losses to insect pests in a warming climate. Science. 361: 916-919.
- Han, J. H., B. R. Jin, J. J. Kim, and S. Y. Lee. 2014. Virulence of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces fumosoroseus* for the microbial control of *Spodoptera exigua*. Mycobiology. 42: 385-390.
- Hefft, D. I., and C. O. Adeunji. 2024. Alginate in food and beverage formulations. P. 115-128. In: D. I. Hefft and C. O. Adeunji. Applications of Seaweeds in Food and Nutrition. Elsevier, Oxford, UK.
- Hiltpold, I., B. E. Hibbard, B. W. French, and T. C. J. Turlings. 2012. Capsules containing entomopathogenic nematodes as a Trojan horse approach to control the western corn rootworm. Plant and Soil. 358: 11-25.
- Jaffuel, G., I. Sbaiti, and T. C. J. Turlings. 2020. Encapsulated entomopathogenic nematodes can protect maize plants from *Diabrotica balteata* larvae. Insects. 11: 27.
- Jeong, C., S. Kim, C. Lee, S. Cho, and S.-B. Kim. 2020. Changes in the physical properties of calcium alginate gel beads under a wide range of gelation temperature conditions. Foods. 9: 180.

- Kagimu, N., and A. P. Malan. 2019. Formulation of South African entomopathogenic nematodes using alginate beads and diatomaceous earth. *BioControl*. 64: 413-422.
- Kaya, H. K., and C. Nelsen. 1985. Encapsulation of steinernematid and heterorhabditid nematodes with calcium alginate: a new approach for insect control and other applications. *Environmental Entomology*. 14: 572-574.
- Kim, J., I. Hiltbold, G. Jaffuel, I. Sbaiti, B. E. Hibbard, and T. C. J. Turlings. 2021. Calcium-alginate beads as a formulation for the application of entomopathogenic nematodes to control rootworms. *Journal of Pest Science*. 94: 1197-1208.
- Kumari, V., and N. Singh. 2009. *Spodoptera litura* nuclear polyhedrosis virus (NPV-S) as a component in integrated pest management (IPM) of *Spodoptera litura* (Fab.) on cabbage. *Journal of Biopesticides*. 2: 84-86.
- Lacey, L. A., R. Frutos, H. Kaya, and P. Vail. 2001. Insect pathogens as biological control agents: do they have a future? *Biological Control*. 21: 230-248.
- Lacey, L. A., and R. Georgis. 2012. Entomopathogenic nematodes for control of insect pests above and below ground with comments on commercial production. *Journal of Nematology*. 44: 218.
- NanGong, Z., T. Li, W. Zhang, P. Song, and Q. Wang. 2021. Capsule-C: an improved *Steinernema carpocapsae* capsule formulation for controlling *Agrotis ipsilon* Hufnagel (Lepidoptera: Noctuidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. 31: 1-10.
- Noosidum, A., R. Onwong, N. H. Sumaya, N. Khwanket, and C. Arkhan. 2024. Identification and biocontrol potential of entomopathogenic nematodes, *Steinernema siamkayai* occurring in western Thailand against the common cutworm, *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory and screenhouse conditions. *Journal of Applied Entomology*. 148: 667-680.
- Nxitywa, A., and A. P. Malan. 2023. Formulation of *Steinernema yirgalemense* in gel for long-term storage at room temperature. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 130: 809-816.
- Paul, A. A., M. Victor, K. Kathelina, and S. M. Robert. 2023. Alginate-Based Applications in Biotechnology with a Special Mention to Biosensors. IntechOpen, London, UK.
- Poivet, E., K. Rharrabe, C. Monsempes, N. Glaser, D. Rochat, M. Renou, F. Marion-Poll, and E. Jacquin-Joly. 2012. The use of the sex pheromone as an evolutionary solution to food source selection in caterpillars. *Nature Communications*. 3: 1047.
- Rajagopal, R., S. Mohan, and R. K. Bhatnagar. 2006. Direct infection of *Spodoptera litura* by *Photorhabdus luminescens* encapsulated in alginate beads. *Journal of Invertebrate Pathology*. 93: 50-53.
- Revathi, K., R. Chandrasekaran, A. Thanigaivel, S. Arunachalam Kirubakaran, and S. Senthil-Nathan. 2014. Biocontrol efficacy of protoplast fusants between *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus subtilis* against *Spodoptera litura* Fabr. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 47: 1365-1375.
- Ruiz-Vega, J., C. I. Cortés-Martínez, and C. García-Gutiérrez. 2018. Survival and infectivity of entomopathogenic nematodes formulated in sodium alginate beads. *Journal of Nematology*. 50: 273-280.
- Rumbos, C. I., and C. G. Athanassiou. 2017. The use of entomopathogenic nematodes in the control of stored-product insects. *Journal of Pest Science*. 90: 39-49.

- Ruttanaphan, T., W. Pluempanupat, and V. Bullangpoti. 2018. Cypermethrin resistance in *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) from three locations in Thailand and detoxification enzyme activities. *Agriculture and Natural Resources*. 52: 484-488.
- Saleem, M., D. Hussain, G. Ghouse, M. Abbas, and S. W. Fisher. 2016. Monitoring of insecticide resistance in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) from four districts of Punjab, Pakistan to conventional and new chemistry insecticides. *Crop Protection*. 79: 177-184.
- Shahanaz, M. R., B. Pathrose, and M. Chellappan. 2019. A phagostimulant based bait composition for tobacco caterpillar *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Tropical Agriculture*. 57: 54-58.
- Sharma, N., and R. Singhvi. 2017. Effects of chemical fertilizers and pesticides on human health and environment: a review. *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology*. 10: 675-680.
- Shapiro-Ilan, D. I., D. Ment, J. Ramakrishnan, M. G. Rodríguez Hernández, and L. W. Duncan. 2025. A century of advancement in entomopathogenic nematode formulation and application technology. *Journal of Invertebrate Pathology*. 212: 108389.
- Vemmer, M., and A. V. Patel. 2013. Review of encapsulation methods suitable for microbial biological control agents. *Biological Control*. 67: 380-389.
- Wattanachaiyingcharoen, W., O. Lepcha, A. Vitta, and D. Wattanachaiyingcharoen. 2021. Efficacy of Thai indigenous entomopathogenic nematodes for controlling fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) (JE Smith) (Lepidoptera; Noctuidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. 31: 1-7.
- Zhang, Z., B. Gao, C. Qu, J. Gong, W. Li, C. Luo, and R. Wang. 2022. Resistance monitoring for six insecticides in vegetable field-collected populations of *Spodoptera litura* from China. *Horticulturae*. 8: 255.
- Zulu, S., T. Ramakuwela, H. Baimey, M. Laing, D. Shapiro-Ilan, and N. Cochrane. 2025. Storage capacity of entomopathogenic nematodes in Barricade® gel and potassium polyacrylate hydrogel. *Journal of Nematology*. 57: 20250014.