

การผลิตไส้เดือนฝอยปราบแมลงศัตรูพืชด้วยอาหารเทียม

วัชร สมสุข และพิมลพร นันทะ *

บทคัดย่อ

ศึกษาการผลิตไส้เดือนฝอย *Steinernema (Neoaplectana) carpocapsae* Weiser. ด้วยอาหารเทียม เพื่อควบคุมหนอนกินไม้เปลือกไม้สกุลนางสาธ โดยทำการทดลองอาหารชนิดต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ กองกีฏและสัตววิทยา ในปี พ.ศ. 2529-2531 พบว่าอาหารสุนัขสำเร็จรูปที่มีขายในท้องตลาด ไก่สดและตับไก่ สามารถเลี้ยงไส้เดือนฝอยได้ครบวงจรชีวิต และแพร่พันธุ์ได้ดีโดยมีการแยกเชื้อแบคทีเรีย *Xenorhabdus nematophilus* ที่อาศัยอยู่ในส่วนของลำไส้ของไส้เดือนฝอย ซึ่งมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอย แล้วเติมลงในอาหารเทียม ต้นทุนการผลิตเฉลี่ยลิตรละ 4-6 บาท ที่ระดับความหนาแน่นของไส้เดือนฝอย 2×10^6 ตัว/มิลลิลิตร (2-3 บาท ต่อไส้เดือนฝอย 1 ล้านตัว)

คำหลัก : ไส้เดือนฝอย (*Steinernema (Neoaplectana) carpocapsae*), แบคทีเรีย (*Xenorhabdus nematophilus*), อาหารเทียม

Mass Production of Entomogenous Nematode *Steinernema carpocapsae* Weiser on Artificial Diet

Vacharee Somsook and Pimolporn Nanta *

Abstract

An economical mass production method rearing the entomogenous nematode *Steinernema carpocapsae* is necessary for controlling bark eating caterpillar of lasium (*Aglaia domesticum*) and lasium (*Aglaia Lookkoo*) in large scale. The three formulations tried in laboratory were dog food agar medium, homogenated whole chicken agar medium and chicken liver agar medium. Those medium producing infective juveniles yield at the average of one litre of standard solution (2,000,000 nematodes) at a cost of 5, 6 and 4 baht for dog food, whole chicken and chicken liver respectively.

Keywords : entomogenous nematode (*Steinernema carpocapsae*), bacteria (*Xenorhabdus nematophilus*), artificial diet

* กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม. 10900

* Entomology and Zoology Division, Department of Agriculture, Chatuchak, Bangkok 10900

ไส้เดือนฝอย *Steinernema (Neoplectana) carpocapsae* Weiser. เป็นไส้เดือนฝอยแมลงศัตรูพืช ทำลายแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด วัชรีและคณะ (2529) พบว่าไส้เดือนฝอยชนิดนี้ควบคุมหนอนกินไผ่ผิวเปลือกไม้ลองกอง ลางสาด ได้มากกว่า 80% และยังพบว่าสามารถเข้าทำลายแมลงศัตรูพืชได้มากกว่า 20 ชนิด จากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ (วัชรี, 2534) เช่น หนอนคืบกะหล่ำ (*Trichoplusia ni* (Hubner)) หนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* (Fabr.)) หนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua* (Hubner)) หนอนใยผัก (*Plutella xylostella* Linn.) หนอนกระทู้กัดต้น (*Agrotis ipsilon* (Hufnagel)) ตัวงวงมันเทศ (*Cylas formicarius* (Fabr.)) หนอนกอกกล้วย (*Cosmopolites sordidus* (Gern)) ตัวงมหัดผัก (*Phyllotreta sinuata* Stephem) หนอนเจาะผลชมพู (*Meridachis* sp.) หนอนกินไผ่ผิวเปลือก (*Cossus* sp.)

การเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอย เพื่อใช้ทดสอบในห้องปฏิบัติการและในภาคสนามนั้น ใช้วิธีการเลี้ยงขยายจากแมลงอาศัย โดยใช้หนอนเจาะสมอฝ้าย *Heliothis armigera* Hubner วัย 4 การจะผลิตขยายไส้เดือนฝอยให้ได้ปริมาณมาก เพื่อนำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชในพื้นที่กว้างขวาง ควรพัฒนาการผลิตขยายโดยใช้อาหารเทียม ตลอดจนศึกษาต้นทุนการผลิตก่อนขยายผลให้เกษตรกรนำไปปฏิบัติ

House *et al.* (1965) ได้รายงานการใช้ขนมปังอาหารสุนัขเลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* และ Bedding (1981) ก็ได้รายงานการผลิตขยายไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. ปริมาณมากด้วยอาหารเทียมในราคาถูก ในธรรมชาติไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* จะมีแบคทีเรีย *Xenorhabdus nematophilus* (Poinar and Thomas, 1966) ติดอยู่ที่ลำไส้ และการเจริญเติบโตจะอาศัยซึ่งกันและกัน จากรายงานดังกล่าว จึงได้ทำการศึกษาแนวทางเดียวกัน และปรับปรุงบางส่วนให้เหมาะสม พร้อมทั้งศึกษาการแยกเชื้อแบคทีเรียที่ติดอยู่ที่ลำไส้ของไส้เดือนฝอยแล้วขยายปริมาณเพื่อนำไปผสมในอาหารเทียมเลี้ยงไส้เดือนฝอย

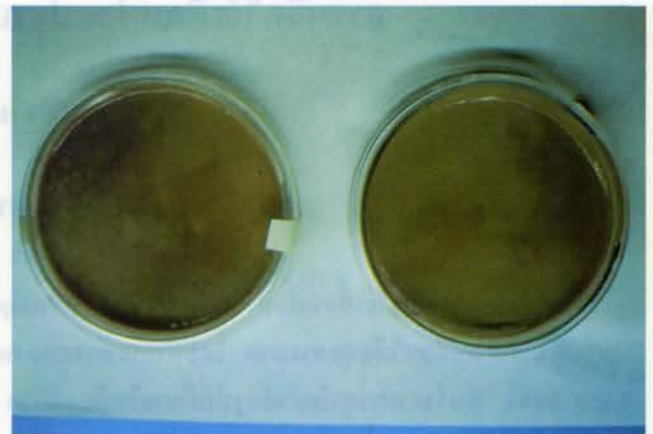


Figure 1. Rearing nematodes *S. carpocapsae* in petridishes which have been inoculated with symbiotic bacteria *Xenorhabdus nematophilus*

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองทำในห้องปฏิบัติการ กองกีฏและสัตววิทยา ทำการชั่ง ตวง วัดต่าง ๆ ที่นำมาประกอบเป็นสูตรอาหารดังนี้

สูตรที่ 1 อาหารสุนัขกระป๋องสำเร็จรูป

อาหารสุนัข 45% น้ำ 50% น้ำมันหมู 5% รูน 1%

สูตรที่ 2 ไก่สด

เนื้อไก่ + เครื่องใน 50% น้ำ 50% NaCl 0.5% รูน 1%

สูตรที่ 3 ดับไก่

ดับไก่ 70% น้ำ 20% น้ำมันหมู 10% รูน 1%

นำส่วนผสมของอาหารแต่ละสูตรผสมในเครื่องผสมอาหารให้เข้ากันแล้วเทใส่ในขวด flask ปิดจุกสำลีหุ้มด้วยกระดาษอะลูมิเนียม นำเข้าตูบหนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °ซ ความดัน 15 ปอนด์ นาน 20 นาที อาหารที่อบหนึ่งแล้วทิ้งไว้ให้เย็นที่ 50°ซ จึงเทใส่ลงในจานแก้ว (petridish) โดยวิธีการปลอดเชื้อ แล้วทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ (ดูที่วิธีการ - เตรียมเชื้อแบคทีเรีย) หยดใส่ลงบนจานอาหารเทียมที่เย็นแล้วทิ้งไว้ 1 วัน นำไส้เดือนฝอยระยะ 3

(infective stage) มาล้างให้สะอาดด้วย 0.1% hyamine แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นก่อนนำไปเลี้ยงในอาหารเทียม โดยใส่ประมาณ จานละ 200 ตัว แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 27–30°C หลัง จากนั้นประมาณ 10 วัน จึงเก็บไส้เดือนฝอยที่เลี้ยงได้ในอาหาร แต่ละสูตร โดยนำฝากรอบของจานอาหารออก แล้วนำจาน อาหารวางในกล่องพลาสติก ซึ่งใส่น้ำฟอร์มาลีน 0.1% สูงระดับ ต่ำกว่าจานอาหารเลี้ยงไส้เดือนฝอยเล็กน้อย นำกระดาษกรอง ที่สะอาดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม. ตัดแบ่งครึ่งวางพาดจาน อาหารที่เลี้ยงไส้เดือนฝอยลงบนน้ำฟอร์มาลีน 0.1% ที่หล่อไว้ เพื่อเป็นทางให้ไส้เดือนฝอยระยะที่ 3 (infective stage) เคลื่อน มาอยู่ในน้ำ แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิไม่เกิน 30°C หลังจากนั้น 1–2 วัน นำมาตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์ จะพบไส้เดือนฝอย เคลื่อนมาอยู่ในน้ำฟอร์มาลีน 0.1% จึงเทใส่ลงเก็บในขวด แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 7–10 °C ซึ่งสามารถจะเก็บไว้ได้หลายเดือน จนกว่าจะนำไปใช้ทดสอบ อาหาร 1 จานสามารถเก็บไส้เดือน ฝอยได้ 4–5 ครั้งโดยเทเก็บวันเว้นวัน



Figure 2. Harvesting of nematodes. *S. carpocapsae* from petridish by trapping in plastic box with clean water. Infective stage of 3rd instar nematode will move from the media in petridish along the filter paper to the water.

วิธีการเตรียมเชื้อแบคทีเรียเพื่อช่วยการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอย

การแยกเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรีย *Xenorhabdus nematophilus* โดยนำไส้เดือนฝอยที่ออกจากแมลงอาศัย (host) ใหม่ ๆ มาล้างให้สะอาด (surface sterile) ด้วย 0.1% hyamine แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นก่อนนำมาบดด้วยแท่งแก้วจน ไส้เดือนฝอยแตก แบคทีเรียจากลำไส้จะออกมา จึงใช้เข็มเขี่ย แยกแบคทีเรียไปเลี้ยงบนอาหาร Tergital 7 agar ลักษณะ โคลนี (colony) ของ *Xenorhabdus* sp. จะเป็นโคลนี กลมมนตรงกลางสีเข้มรอบ ๆ สีน้ำเงิน ลักษณะเซลล์เป็น rod shape เมื่อได้เชื้อแบคทีเรียที่บริสุทธิ์แล้ว จึงแยกไว้บน nutrient agar และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 12°C เป็น stock เมื่อ เวลาจะใช้จึงแยกแบคทีเรียจาก stock มาใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Salts หรือ Y S broth นำไปเขี่ยที่อุณหภูมิ 25 – 30°C เป็นเวลา 1–2 วัน จึงนำไปหยดใส่ลงบนจานอาหารที่เตรียมไว้ เลี้ยงไส้เดือนฝอย

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดลองนี้ เริ่มตั้งแต่ปี พ.ศ. 2529 มีการทดสอบ เบื้องต้นใช้วัตถุติดต่าง ๆ ได้แก่ แป้งข้าวโพด แป้งข้าวสาลี ไข่ไก่และอาหารสุนัขกระป๋อง ปรากฏว่าไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตได้ดีในอาหารสุนัขกระป๋อง ซึ่งเมื่อคิดต้นทุนตกลิตรละ (2 ล้านตัว) ประมาณ 7 บาท ในปี พ.ศ. 2530 จึงได้ทดลองใช้ ไข่ไก่สดและดักไก่ที่มีขายในท้องตลาด แทนอาหารสุนัขกระป๋อง ซึ่งมีไก่เป็นส่วนประกอบ พบว่าสามารถเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอย ได้ดีเช่นกัน และในปี พ.ศ. 2531 ได้ทำการศึกษาแยกเชื้อ บริสุทธิ์ของแบคทีเรีย *Xenorhabdus nematophilus* ที่ติดอยู่ที่ ลำไส้ของไส้เดือนฝอยได้สำเร็จ และทำการขยายปริมาณแล้ว เติมนลงในสูตรอาหารสุนัขกระป๋อง ไข่ไก่สดและดักไก่ พบว่าการ เจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยดีขึ้น ต้นทุนการผลิตตกลิตรโดยที่ สูตรอาหารสุนัขกระป๋อง และไข่ไก่สด 1 จาน (petridish) สามารถผลิตไส้เดือนฝอยได้ประมาณ 50 มล. ในอัตราความ หนาแน่น 2000 ตัว/มล. ในขณะที่สูตรดักไก่ 1 จานได้ประมาณ 700 มล. ที่อัตราความหนาแน่นของไส้เดือนฝอยเท่ากัน และเมื่อ คิดต้นทุนการผลิตต่อลิตร (Table 1) จะเห็นว่าดักไก่มีต้นทุนต่ำ

Table 1. Cost of nematode production*.

	In vitro production		
	Dog food baht/litre	Whole chicken baht/litre	Chicken liver baht/litre
2×10^6 nema/litre	5	6	4
Labour	3.05	3.06	2.18
Material	1.91	2.6	1.35
Total	4.9	5.6	3.5

* The cost of equipment, electricity and water were not included.

ที่สุด คือ เกลี้ยลิตรละ 4 บาท รองลงไปเป็นอาหารสุนัขลิตรละ 5 บาท ไก่สดลิตรละ 6 บาท ทั้งนี้ยังไม่ได้คิดค่าน้ำ ไฟ และเครื่องมือ ครุภัณฑ์ต่าง ๆ จะเห็นว่าการผลิตโดยใช้อาหารเทียมจะสามารถลดต้นทุนลงได้มากเมื่อเปรียบเทียบกับ การขยายพันธุ์ในแมลงอาศัย (*Heliothis armigera*) ซึ่งตกราคาลิตรละ 18 บาท (วัชรและคณะ, 2529) และเมื่อเทียบกับรายงานของ Poinar (1979) ที่กล่าวถึงวิธีการเลี้ยงไส้เดือนฝอยด้วยอาหารสุนัขในจานแก้ว ตกราคา 25 บาท/ไส้เดือนฝอย 1 ล้านตัว จะเห็นว่าสามารถทำได้ในราคาต้นทุนที่ถูกกว่า แต่เมื่อดูจากรายงานของ Bedding (1981) วิธีการเลี้ยงไส้เดือนฝอยโดยใช้ไคหมูและไขวัว ผสมลงในเศษฟองน้ำใส่ในขวด flask เลี้ยงไส้เดือนฝอย ราคาต้นทุนเฉลี่ย 0.5 บาท/ไส้เดือนฝอย 1 ล้านตัว ซึ่งราคาต้นทุนถูกลงมาก ฉะนั้นวิธีการเลี้ยงไส้เดือนฝอยแบบวิธีการของ Bedding จึงเป็นสิ่งที่น่าจะได้ศึกษาทดลองต่อไป

สรุปผลการทดลอง

การใช้สูตรตับไก่ ซึ่งประกอบด้วย ตับไก่ 70% น้ำ 20% น้ำมันหมู 10% และวัน 1% เป็นอาหารเทียมเลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ได้ดีและราคาต้นทุนต่อลิตร ถูกที่สุด คือ 2 บาท/ไส้เดือนฝอย 1 ล้านตัว แต่ต้องมีการเติมเชื้อแบคทีเรีย *X. nematophilus* ที่บริสุทธิ์ เพื่อช่วยในการเจริญเติบโต

เอกสารอ้างอิง

- วัชร สมสุข อัจฉรา ดันติโชค และอุทัย เกตุนุก. 2529. ไส้เดือนฝอยควบคุมหนอนกินไผ่ตัวเปลือกไม้สกุลกลางสาต, น. 720-738. ใน เอกสารประกอบการประชุมวิชาการครั้งที่ 5 กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.
- วัชร สมสุข. 2534. ไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช, น. 182-197. ใน เอกสารวิชาการการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี.
- Bedding, R.A. 1981. Low cost in vitro mass production of *Neoaplectana* and *Heterorhabditis* species (Nematode) for field control of insect pests. *Nematologica* 27 : 109-114.
- House, H.L., H.E. Wetch and T.R. Cleugh. 1965. Food medium of prepared dog biscuit for the mass production of nematode DD-136 (Nematode = Steinernematidae) Nature, London.
- Poinar, G.O. Jr. and G.M. Thomas. 1966. Significance of *Achromobacter nematophilus* Poinar and Thomas (Achromobacteraceae : Eubacteriales) in the development of the nematode, DD - 136 (*Neoaplectana* sp. Steinernematode) *Parasitology* 56 : 385-390.
- Poinar, G.O. Jr. 1979. *Nematodes for Biological Control of Insects*. CRC Press Boca Raton, Florida.