รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

# โครงการ การพัฒนาวิธีการใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเพื่อควบคุมหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผักในแปลงผัก

โดย ดร.อธิราช หนูสีดำ และคณะ

เมษายน 2559

สัญญาเลขที่ MRG5580193

# รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

# โครงการ การพัฒนาวิธีการใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเพื่อควบคุมหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผักในแปลงผัก

## คณะผู้วิจัย

1. ดร.อธิราช หนูสีดำ ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
2. ศาสตราจารย์ ดร.อังศุมาลย์ จันทราปัตย์ ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
3. Professor Dr. Edwin E. Lewis Department of Entomology and Nematology, University of California, Davis, CA, USA.

สนับสนุนโดย
สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
และมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. และ สกอ. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

## บทคัดย่อ

การศึกษาอัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะ Infective Juvenile (IJ) จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema siamkayai* และ *Steinernema* sp. Isolate K8 ที่ผสมกับสารจับใบ APSA-80® เข้มข้น 0.2% และ 0.4% และเจล Barricade® เข้มข้น 0.25% และ 0.5% โดยฉีดพ่น 200 IJs บนใบคะน้า พบว่าหลังการฉีดพ่นที่เวลา 3 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยที่ผสมด้วย 0.25% and 0.5% Barricade® (80.2-85.0%) มีไส้เดือนฝอยที่รอดชีวิตสูงกว่าชุดการทดลองอื่นๆ (12.9-70.1%) ผลการทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงทั้ง 3 ชนิด ที่เข้าทำลายหนอนกินรังผึ้ง (*Galleria mellonella* L.) โดยใช้ไส้เดือนฝอยความเข้มข้น 100 IJs/น้ำ 50 ไมโครลิตร และผ่าซากหนอนนับจำนวนไส้เดือนฝอย พบว่า ไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.25% Barricade® ที่ช่วงเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง มีอัตราการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งสูงที่สุด คือ 40.45 IJs/หนอน และไม่แตกต่างกับสายพันธุ์ *Steinernema* sp. Isolate K8 ที่ผสมกับ Barricade® ความเข้มข้น 0.25% ที่ช่วงเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง (34.58 และ 34.90 IJs/หนอน) ประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ *S.carpocapsae* และ *Steinernema* sp. isolate K8 ที่ผสมกับ 0.25% และ 0.5% Barricade® ในการควบคุมตัวอ่อนระยะที่ 3 ของหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* F.) และหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* L.) โดยหยดไส้เดือนฝอย 100 IJs/50 ไมโครลิตร ลงบนใบคะน้าเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร ในห้องปฏิบัติการมีค่า 82.5-100% ที่ 72 หลังการทดสอบ สำหรับการทดสอบในสภาพโรงเรือนทดลอง ประสิทธิภาพการเข้าทำลายของ *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.25% และ 0.5% Barricade® ที่มีต่อหนอนวัย 3 ของหนอนกระทู้ผักและหนอนใยผักโดยการฉีดพ่นไส้เดือนฝอย 2,500 IJs/15 ml/ต้น ซึ่งหลังการทดสอบที่ 72 ชั่วโมง พบอัตราการตายของหนอนกระทู้ผัก ในชุดการทดลอง *S. carpocapsae* ผสมกับ 0.25% และ 0.5% Barricade® (66.0% และ 61.5%, ตามลำดับ) มีค่าสูงกว่า *S. carpocapsae* ที่ผสมกับน้ำอย่างเดียว (29.5%) และความเสียหายของใบในชุดทดลองดังกล่าว (11.0-11.1%) มีค่าน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญเช่นกันเมื่อเทียบกับชุดควบคุม (33.8-61.6%) นอกจากนั้นยังพบความแตกต่างในอัตราการตายของหนอนใยผัก (15.0-27.0%) และเปอร์เซ็นต์ความเสียหายบนใบพืช (7.1-11.0%) ของทั้ง 2 ชุดการทดลอง

**คำหลัก :** *Steinernema*, หนอนกระทู้ผัก, หนอนใยผัก, สารจับใบ, Barricade

---

**รหัสโครงการ :** MRG5580193

**ชื่อโครงการ :** การพัฒนาวิธีการใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเพื่อควบคุมหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผักในแปลงผัก

**ชื่อนักวิจัย :** ดร.อธิราช หนูสีดำ

ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

**อีเมล์ :** fagrarn@ku.ac.th

**ระยะเวลาโครงการ :** 2 ปี

**Abstract**

Survival rates of the infective juvenile stage (IJ) of three entomopathogenic nematodes (EPN), *Steinernema carpocapsae, Steinernema siamkayai* and *Steinernema* sp. isolate K8 (Thai isolate), plus a surfactant of 0.2% and 0.4% APSA-80™, a fire retardant gel of 0.25% and 0.5% Barricade®, and tap water were investigated by spraying the EPN suspensions (200 IJs) onto kale leaf discs. Three h after incubation, the survival rates of the EPNs plus 0.25% and 0.5% Barricade® (80.2-85.0%) were significantly higher than all other treatments (12.9-70.1%). The infectivity of three nematode strains against the last instar larva of greater wax moth (*Galleria mellonella* L.) at the rate of 100 IJs/50 microliters was tested and all cadavers were dissected to count numbers of IJs. The results indicated that *S. carpocapsae* plus 0.25% Barricade® showed the highest infectivity at 48 and 72 h after application (40.45 IJs/larvae) but was not different to *S.* isolate K8 plus 0.25% Barricade® (34.58 and 34.90 IJs/larvae). The infectivity of *S. carpocapsae* and *Steinernema* sp. isolate K8 plus 0.25% and 0.5% Barricade® against third-instar larvae of common cutworm (*Spodoptera litura* F.) and diamondback moth (*Plutella xylostella* L.), which were evaluated by spraying 100 IJs/50 μl onto a 1 cm kale leaf disc in the laboratory, were 82.5-100% 72 h after application. In greenhouse tests, the infectivity of *S. carpocapsae* plus 0.25% and 0.5% Barricade® against third-instar *S. litura* and *P. xylostella* was evaluated by spaying 2,500 IJs/15 ml/plant and assessing mortality after 72 h. The results showed that the mortality rates of *S. litura* larvae in the *S. carpocapsae* plus 0.25% or 0.5% Barricade® treatment (66.0% and 61.5%, respectively) were significantly higher than in the *S. carpocapsae* plus tap water treatment (29.5%) and also resulted in significantly less leaf damage (11.0-11.1%) compared to control treatments (33.8-61.6%). A significant difference between the mortality rates of *P. xylostella* larvae (15.0-27.0%) and the percentages of leaf damage (7.1-11.0%) were also recorded for the same two treatments.

**Keywords :** *Steinernema*, *Spodoptera litura*, *Plutella xylostella*, surfactant, Barricade

---

**Project Code :** MRG5580193

**Project Title :** An improved method for entomopathogenic nematode application to control diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) and common cutworm, *Spodoptera litura* F. (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in vegetable crops.

**Investigator :** Atirach Noosidum

Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand.

**E-mail Address :** fagrarn@ku.ac.th

**Project Period :** 2 years

**Executive Summary**

ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเป็นที่รู้จักกันมาตั้งแต่ศตวรรษที่ 17 แต่การศึกษาการใช้ไส้เดือนฝอยในงานทางด้านควบคุมแมลงเริ่มต้นเมื่อประมาณปี ค.ศ. 1930 เมื่อมีการค้นพบและสามารถเลี้ยงขยายปริมาณไส้เดือนฝอย *Steinernema glaseri* (Steiner) ที่สามารถทำลายตัวอ่อนของด้วง Japanese beetle ซึ่งเป็นศัตรูสำคัญของหญ้าในสนามกอล์ฟ รัฐนิวเจอร์ซี สหรัฐอเมริกาได้เป็นผลสำเร็จ นอกจากนี้พบว่าไส้เดือนฝอยชนิดนี้สามารถมีชีวิตคงทนในสภาพธรรมชาตินานถึง 8 เดือน ไส้เดือนฝอยจึงได้รับความสนใจและพัฒนามาจนถึงปัจจุบัน ในประเทศไทยมีการใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิด เช่น หนอนกินใต้ผิวเปลือกลองกอง หนอนกระทู้หนอนใยผัก และด้วงงวงมันเทศ เป็นต้น แต่การใช้ไส้เดือนฝอยในประเทศไทยยังไม่เป็นที่นิยมมากนัก เนื่องจากวิธีการใช้ค่อนข้างยุ่งยากและยังถูกจำกัดด้วยปัจจัยต่างๆ เช่น ชนิดของแมลงศัตรูพืช อุณหภูมิ ความชื้น แสงแดด ตลอดจนเทคนิคการฉีดพ่น ซึ่งแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด นอกจากนี้ยังพบว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงบางชนิดมีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผัก แต่ยังเป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการเท่านั้น และเมื่อนำนำไปใช้ในสภาพแปลงจริงมักจะได้ผลไม่เป็นที่น่าพอใจ เนื่องจากไส้เดือนฝอยไม่ทนต่อสภาวะค่อนข้างแห้งและแสงแดดจัด ทำให้การใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมศัตรูพืชยังคงเหมาะกับศัตรูพืชกลุ่มที่อาศัยอยู่ในดินเป็นส่วนใหญ่ เช่น ตัวอ่อนด้วง ส่วนศัตรูพืชที่อาศัยอยู่เหนือดินนั้นการใช้ไส้เดือนฝอยเพื่อควบคุมยังไม่ประสบผลสำเร็จมากนัก จากผลการศึกษาพบว่า ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในชุดควบคุมและไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ผสมกับ APSA-80® มีแนวโน้มของอัตราการรอดชีวิตค่อยๆ ลดลง จากช่วงเวลา 60-180 นาที หลังการฉีดพ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงบนใบพืช ในขณะที่เมื่อผสมไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงกับ Barricade® จะพบว่าอัตราการรอดชีวิตของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. carpocapsae* และ *S.* isolate K8 เพิ่มสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัด

เมื่อเปรียบเทียบกับทั้ง 2 ชุดการทดลองข้างต้น โดยยังคงพบไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีชีวิตมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ในทั้งสองความเข้มข้นหลังการฉีดพ่นผ่านไป 180 นาที และเมื่อคัดเลือกไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเพียง 2 ชนิด (*S. carpocapsae* และ *S.* isolate K8) ที่ผสมกับ Barricade® เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้ง พบว่า ส่วนใหญ่ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่ผสมกับ Barricade® มีจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่เข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งสูงและไม่แตกต่างกับชุดควบคุม ยกเว้น *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.25% Barricade® และจากการศึกษาพบว่า Barricade® มีความเหมาะสมที่จะนำมาประยุกต์ใช้ร่วมกับไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชที่ทำลายและอาศัยอยู่บนใบพืชต่อไป ซึ่ง Barricade® นั้นไม่มีผลกระทบต่อการเข้าทำลายหนอนกระทู้ผักและหนอนใยผักเลย แต่ในทางกลับกันยังสามารถที่จะช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนใยผักในสภาพห้องปฏิบัติการให้สูงขึ้นอีกด้วย การทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ Barricade® ในสภาพโรงเรือนที่มีต่อหนอนทั้งสองชนิด พบว่าไส้เดือนฝอยที่ผสมด้วย Barricade® สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยในการเข้าทำลายหนอนกระทู้ผักได้ แต่ยังไม่สามารถยืนยันประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนใยผักได้ เนื่องจากความชื้นของสภาพโรงเรือน อุณหภูมิ สภาพอากาศ รังสีอัลตราไวโอเลต และการระเหยแห้งโดยธรรมชาติ

# เนื้อหางานวิจัย

## วัตถุประสงค์

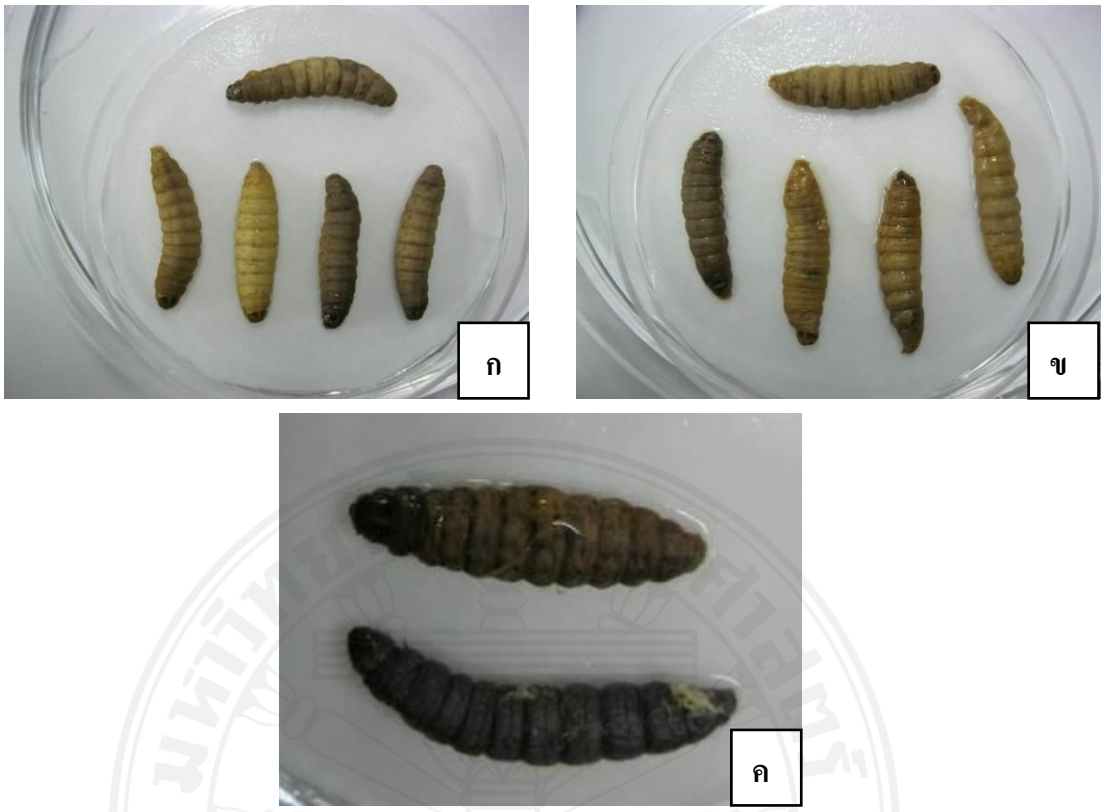
- ทดสอบความคงทนของไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ต่างๆ บนใบพืช ในห้องปฏิบัติการ
- ทดสอบความคงทนและประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ต่างๆ บนใบพืชในสภาพโรงเรือน
- พัฒนาสูตรที่เหมาะสมในการใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผัก

## อุปกรณ์และวิธีการ

### *1. การเลี้ยงและการเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง*

สายพันธุ์ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ใช้ในการทดลอง จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Steinernema sp.* Isolate K8, *Steinernema siamkayai* และ *Steinernema carpocapsae*

เพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงโดยดัดแปลงจากวิธีการของ Kaya and Stock (1977) โดยหยดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงปริมาณ 200 IJs/700 ไมโครลิตร ลงในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5 เซนติเมตร ที่มีกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 วางอยู่ที่ก้นจานเลี้ยงเชื้อ จากนั้นใส่หนอนกินรังผึ้ง (*G. mellonella*) วัยสุดท้ายที่เลี้ยงด้วยอาหารเทียมในห้องปฏิบัติการ จำนวน 5 ตัว/จาน ปิดฝาและทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิประมาณ 25±2 องศาเซลเซียส และความชื้น 75±5 %RH หนอนจะถูกไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงข้าทำลาย ภายใน 24-48 ชั่วโมง หนอนจะเปลี่ยนเป็นสีเทาลักษณะคล้ายมัมมี่ ไม่มีกลิ่นเหม็น (ภาพที่ 1) จากนั้นเปิดฝาจานเลี้ยงเชื้อออกและนำไปวางในจานเลี้ยงเชื้อใบใหม่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ที่มีน้ำหล่อไว้ 7 มิลลิลิตร เพื่อรักษาความชื้น 3 วัน (Noosidum *et al.*, 2010) ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจะออกมาจากซากแมลงและเคลื่อนที่ลงน้ำ จากนั้นเก็บไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่เคลื่อนที่ลงน้ำอายุ 2-3 วัน ไว้ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ 15±5 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป ซึ่งไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ใช้ในการทดลองจะทำการเพาะเลี้ยงใหม่ทุกๆ 2-4 สัปดาห์ (ภาพที่ 2)

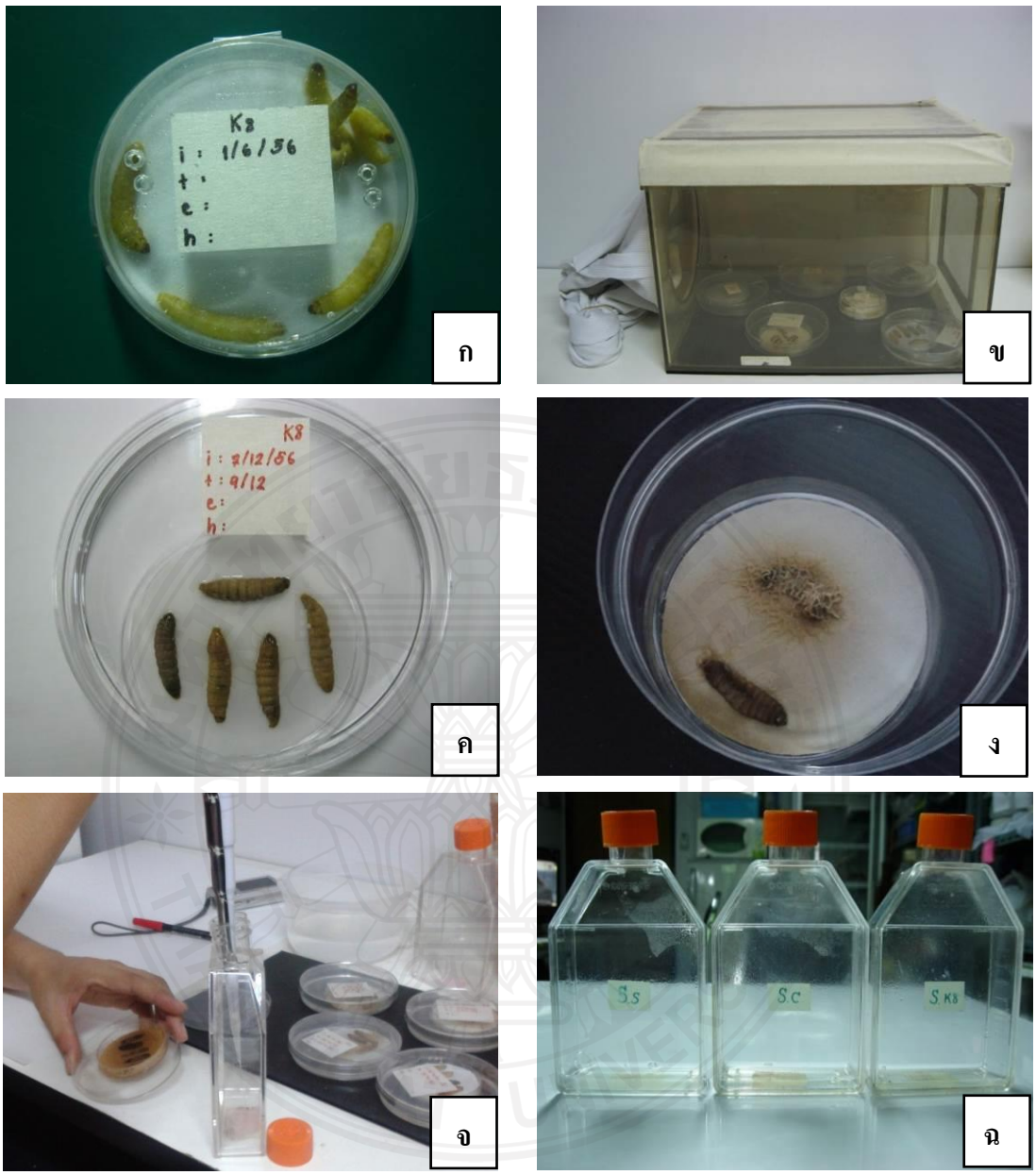



**ภาพที่ 1** ลักษณะการตายของหนอนกินรังผึ้งที่ถูกไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ต่างๆ เข้าทำลาย

ก) ซากหนอนที่ถูกไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernama carpocapsae* เข้าทำลาย

ข) ซากหนอนที่ถูกไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernama* sp. Isolate K8 เข้าทำลาย

ค) ซากหนอนที่ถูกไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernama siamkayai* เข้าทำลาย




**ภาพที่ 2** ขั้นตอนการเลี้ยงและการเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง

ก) จานเลี้ยงเชื้อที่หยดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง และใส่หนอนกินรังผึ้งวัยสุดท้าย

ข) จานเลี้ยงเชื้อไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่เก็บในที่มืดและมิดชิด เพื่อป้องกันแมลงหวี่

ค) ซากหนอนที่ตายด้วยไส้เดือนฝอยและนำมาวางใน Modified white trap

ง) ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะ IJ ที่กำลังเคลื่อนที่ออกจากซากแมลงอาศัย

จ) เก็บไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่เคลื่อนที่ลงน้ำไว้ในขวดเลี้ยงเชื้อ

ฉ) ขวดเลี้ยงเชื้อที่บรรจุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะเข้าทำลาย (IJ)

## *2. การเลี้ยงและการเพิ่มปริมาณแมลงศัตรูพืช*

2.1 การเลี้ยงและการเพิ่มปริมาณหนอนกินรังผึ้ง (*G. mellonella*)

จับผีเสื้อหนอนกินรังผึ้งเพศผู้และเพศเมียใส่ในกล่องพลาสติกขนาด 13x17.5x7 เซนติเมตร ที่มีกระดาษวางไว้ที่ก้นกล่อง นำสำลีชุบน้ำหวาน 10 เปอร์เซ็นต์ วางลงในกล่องพลาสติกจากนั้นปิดฝากล่องให้สนิท โดยฝาปิดจะเจาะเป็นช่องและบุด้วยตะแกรงเพื่อระบายอากาศ ในห้องที่มีอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส และความชื้น 75±5 %RH สอดกระดาษขนาด 15 เซนติเมตร ไว้ใต้ฝากล่องทั้ง 4 ด้าน เพื่อให้ผีเสื้อเพศเมียวางไข่ หลังจากนั้น 3-4 วัน ผีเสื้อจะวางไข่เป็นกลุ่มไข่สีขาวบนกระดาษ ตัดกระดาษที่มีกลุ่มไข่ใส่ไว้ในกล่องเลี้ยงแมลงใบใหม่ขนาด 14x21x7.5 เซนติเมตร ที่มีอาหารเทียมบดละเอียด 300 กรัม จากนั้น 6-7 วัน ไข่จะฟักเป็นตัวอ่อน ประมาณ 20-25 วัน หนอนจะเจริญเติบโตเป็นหนอนวัยสุดท้าย ซึ่งหนอนวัยสุดท้ายจะถูกนำมาเป็นพ่อแม่พันธุ์ และใช้ในการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง โดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15±3 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่เกิน 14 วัน เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงต่อไป (Noosidum *et al*., 2010) (ภาพที่ 3 และ 4)

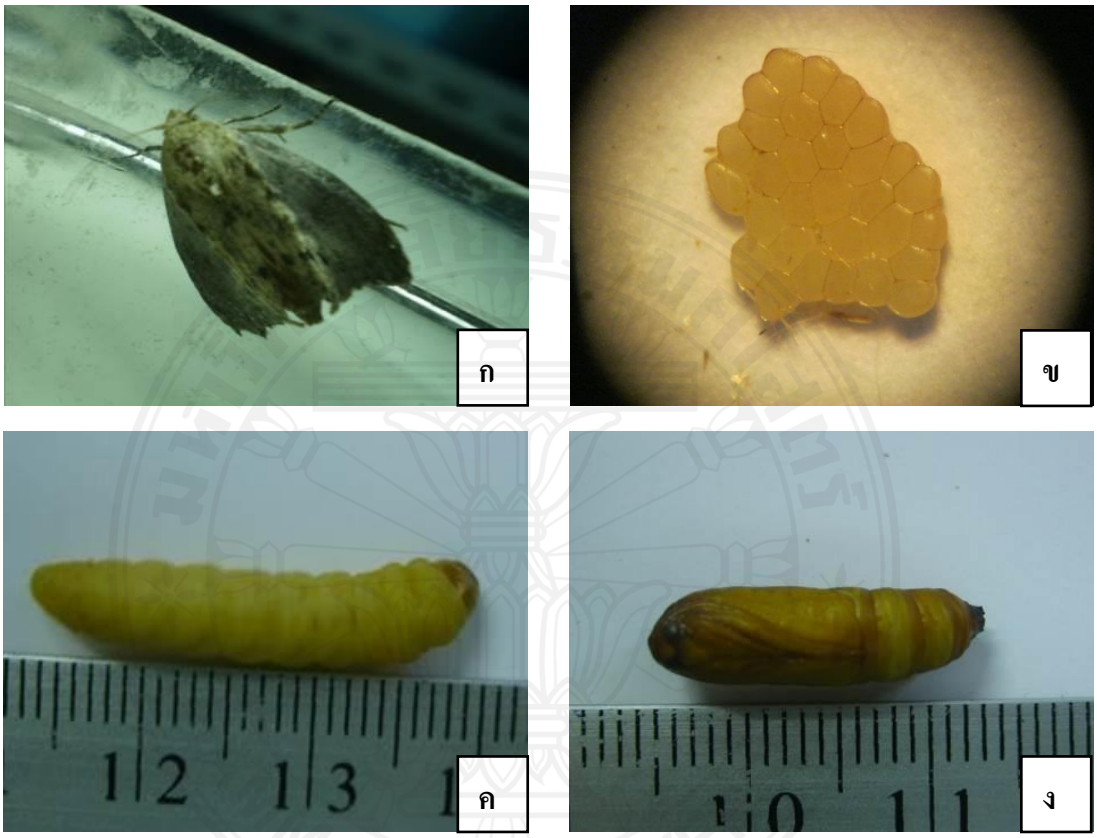
2.2 การเลี้ยงและเพิ่มปริมาณหนอนใยผัก (*P. xylostella*)

เก็บรวบรวมหนอนใยผักจากแปลงเกษตรกร อำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี นำมาเลี้ยงขยายพันธุ์ด้วยใบคะน้า ในห้องเลี้ยงแมลงที่อุณหภูมิประมาณ 25±2 องศาเซลเซียส และความชื้น 75±5 %RH เลี้ยงระยะตัวอ่อนจนกลายเป็นดักแด้ เก็บรวบรวมดักแด้ไว้ในถ้วยเลี้ยงแมลงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร จากนั้นจึงย้ายไว้ในกรงพลาสติกทรงสี่เหลี่ยมขนาด 30x30x30 เซนติเมตร ด้านข้างบุด้วยตาข่ายลวดเพื่อระบายอากาศ เมื่อดักแด้ฟักเป็นตัวเต็มวัยแล้วใช้สำลีชุบน้ำหวาน 10 เปอร์เซ็นต์ ใส่ในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5 เซนติเมตร วางลงในกรงเลี้ยงแมลงเพื่อเป็นอาหารสำหรับตัวเต็มวัย และวางต้นคะน้าอายุ 30 วัน ลงในกรงเลี้ยงเพื่อให้ผีเสื้อหนอนใยผักเพศเมียวางไข่ สังเกตจนกระทั่งหนอนเริ่มฟักออกมาจากไข่ จึงนำต้นคะน้าออกมาใส่ในกล่องพลาสติกขนาด 15x21x4 เซนติเมตร ฝากล่องบุด้วยตาข่ายลวด นำใบคะน้ามาวางทับลงไปบนต้นคะน้า จากนั้นหนอนจะค่อยๆ ไต่ขึ้นไปสู่ใบคะน้าใบใหม่ เปลี่ยนอาหารทุก 1-2 วัน โดยแบ่งหนอนระยะที่ 3 มาทำการทดสอบ และเลี้ยงตัวอ่อนที่เหลือจนกลายเป็นตัวเต็มวัยต่อไป (Noosidum, 2011) (ภาพที่ 5 และ 6)

2.3 การเลี้ยงและเพิ่มปริมาณหนอนกระทู้ผัก (*S. litura*)

เก็บรวบรวมไข่และหนอนกระทู้ผักจากแปลงเกษตรกร มาเลี้ยงไว้ด้วยอาหารเทียม ในห้องเลี้ยงแมลงที่อุณหภูมิประมาณ 25±2 องศาเซลเซียส และความชื้น 75±5 %RH เก็บรวบรวมดักแด้ไว้ในถ้วยแก้วเพื่อรอให้เปลี่ยนสีจากน้ำตาลเป็นน้ำตาลดำ จึงย้ายมาไว้บนขันใส่น้ำซึ่งคลุมด้วยผ้าขาวบางเพื่อให้ความชื้นกับดักแด้ โดยมีโหลแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง

10 เซนติเมตรครอบ ทางด้านบนมีกระดาษทิชชูสีขาวห้อยลงมาจากปากโหลเพื่อเป็นที่วางไข่ เมื่อดักแด้ฟักเป็นตัวเต็มวัยแล้วใช้สำลีชุบน้ำเชื่อมเจือจางวางในถ้วยพลาสติกเล็ก หมั่นตรวจดูไข่ผีเสื้อซึ่งจะวางบนกระดาษทิชชูทุกวัน นำกระดาษส่วนที่มีกลุ่มไข่ติดอยู่มาเก็บไว้รอจนไข่เริ่มฟัก จึงนำหนอนไปเลี้ยงในอาหารเทียมต่อไป (Noosidum, 2011) (ภาพที่ 7 และ 8)




**ภาพที่ 3** ลักษณะรูปร่างของหนอนกินรังผึ้ง

ก) ตัวเต็มวัย

ข) ไข่

ค) ตัวอ่อนระยะสุดท้าย

ง) ดักแด้

**ภาพที่ 4** ขั้นตอนการเลี้ยงและการเพิ่มปริมาณหนอนกินรังผึ้ง

ก) กล่องเลี้ยงแมลงเพื่อให้ผีเสื้อผสมพันธุ์และวางไข่

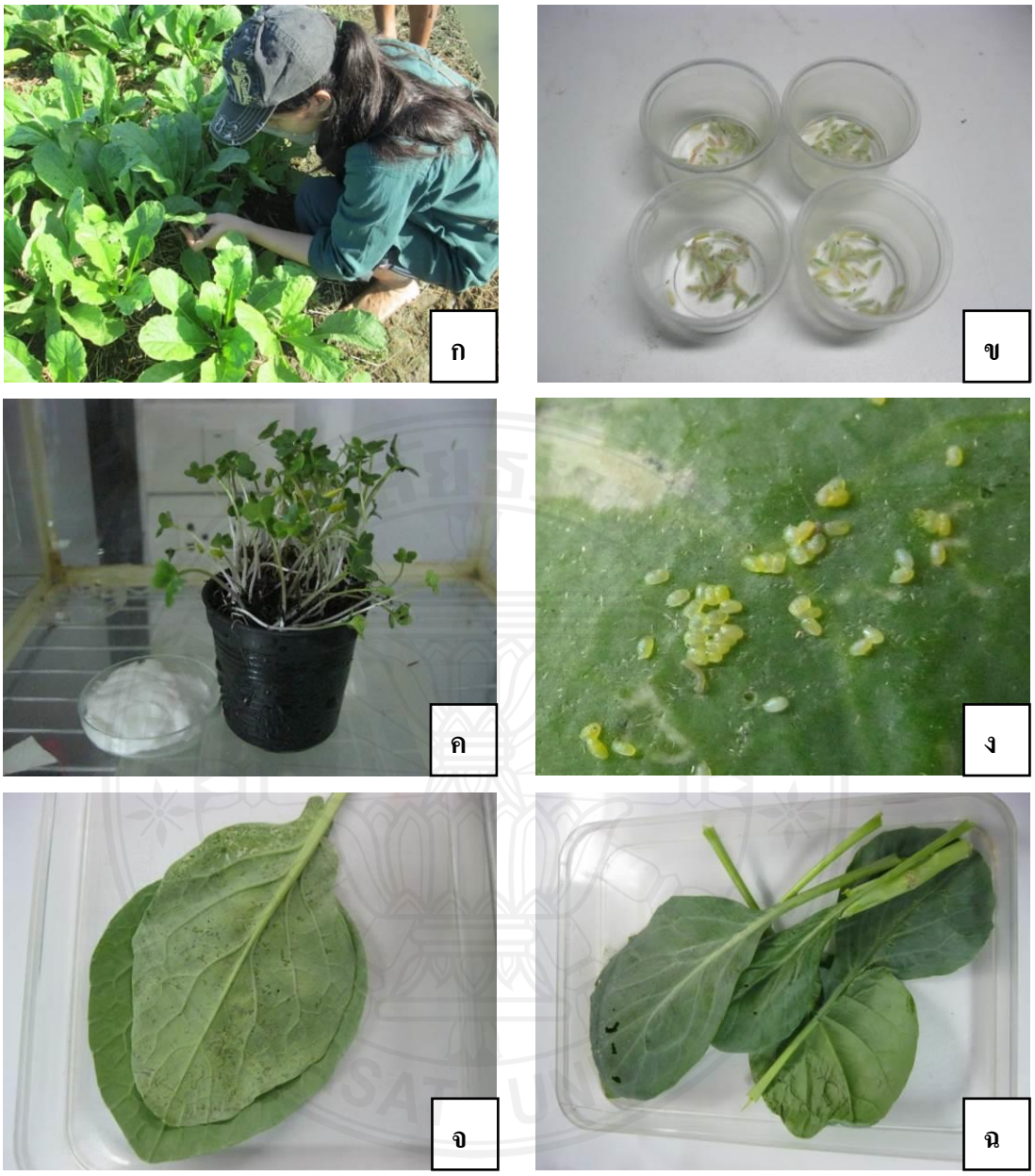
ข) กระดาษที่มีกลุ่มไข่ ตัดให้มีขนาดเล็กและวางบนอาหารเทียม

ค) การเปลี่ยนอาหารหนอน

ง) หนอนวัยระยะสุดท้ายที่เตรียมเป็นพ่อแม่พันธุ์

จ) หนอนกินรังผึ้งวัยสุดท้ายที่เลี้ยงในแผ่นผึ้ง เพื่อเตรียมเป็นพ่อแม่พันธุ์

ฉ) หนอนกินรังผึ้งวัยสุดท้ายที่เตรียมไว้เพื่อทดลอง




**ภาพที่ 5** การเลี้ยงและเพิ่มปริมาณหนอนใยผัก

ก) เก็บหนอนใยผักจากแปลงเกษตรกร

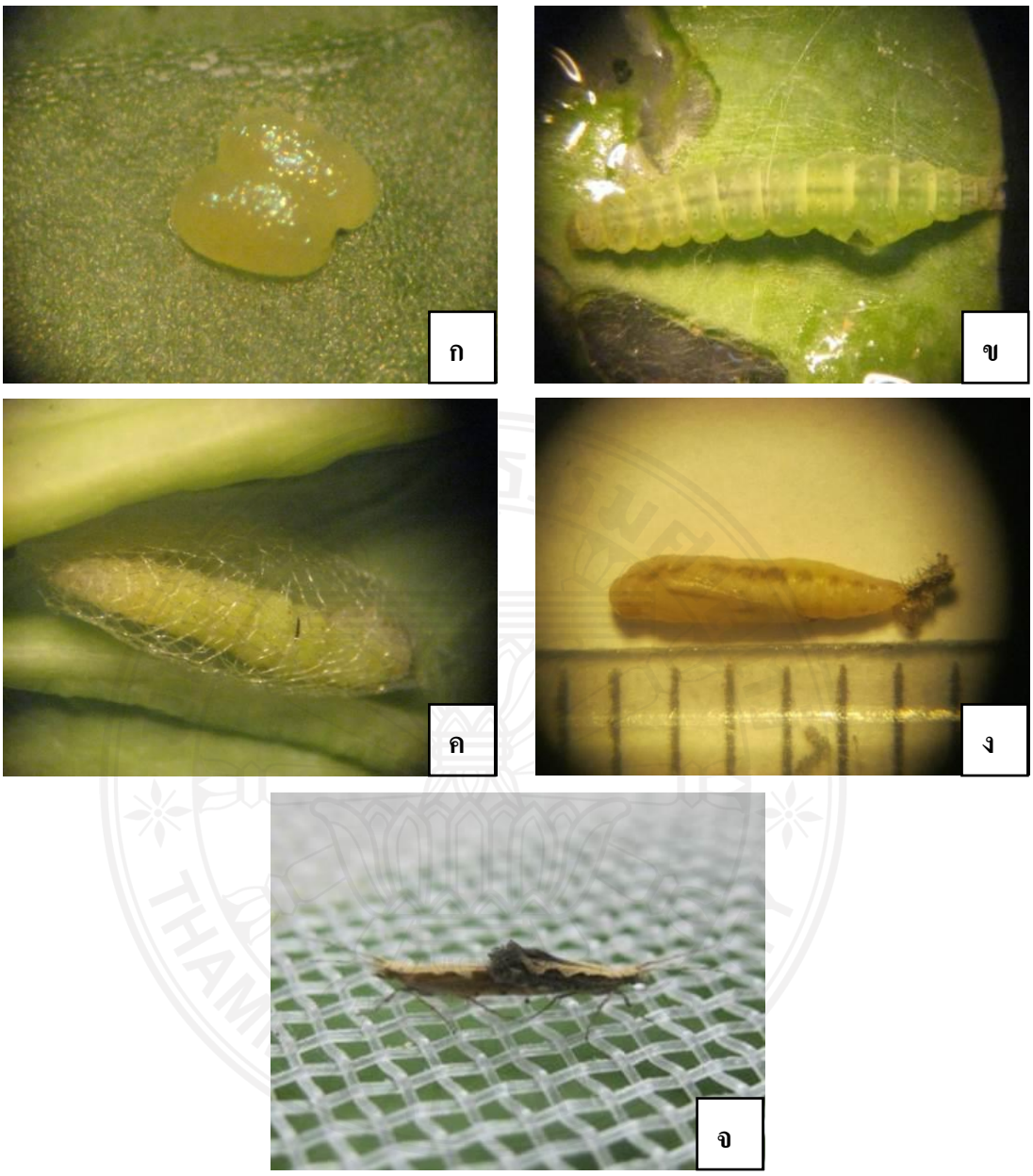
ข) เก็บรวมรวมดักแด้หนอนใยผัก

ค) ต้นคะน้าที่เตรียมไว้ให้หนอนใยผักวางไข่

ง) กลุ่มไข่หนอนใยผักที่วางบนใบพืช

จ) ลักษณะการทำลายของตัวอ่อนหนอนใยผัก

ฉ) กล่องเลี้ยงตัวอ่อนหนอนใยผัก




**ภาพที่ 6** ลักษณะรูปร่างของหนอนใยผัก

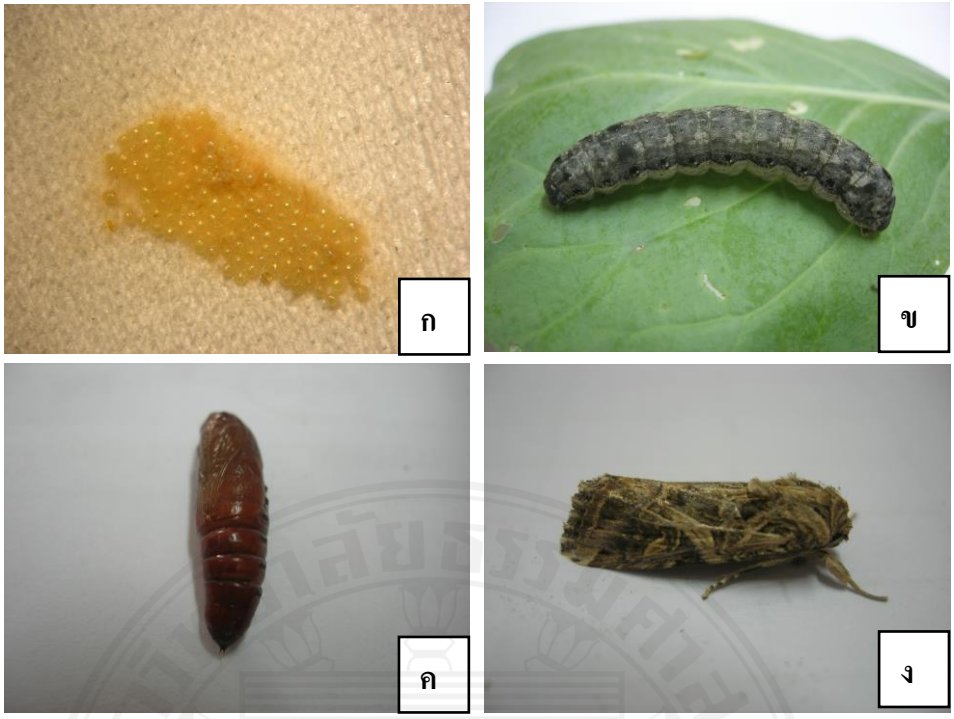
ก) ไข่

ข) ตัวอ่อน

ค) ตัวอ่อนกำลังสร้างใยเพื่อเข้าดักแด้

ง) ดักแด้

จ) ตัวเต็มวัย



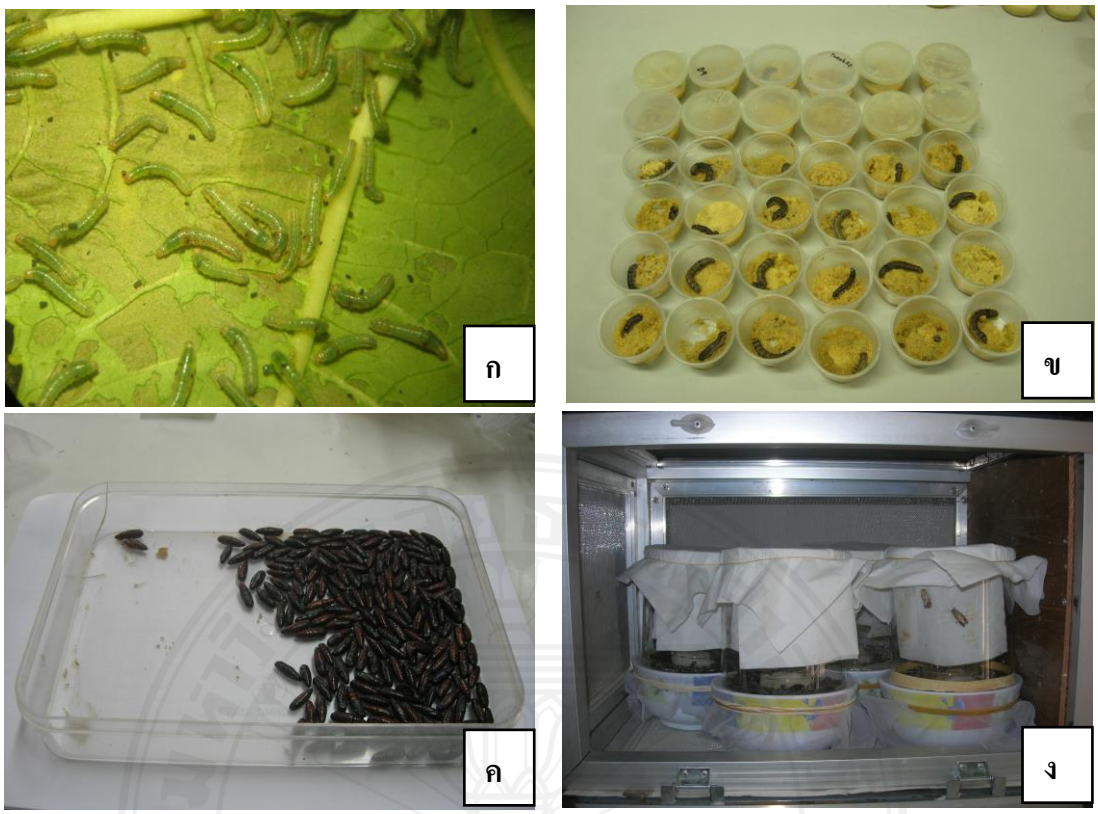

**ภาพที่ 7** ผีเสื้อหนอนกระทู้ผักระยะต่างๆ

ก) ไข่

ข) หนอนวัย 5

ค) ดักแด้

ง) ตัวเต็มวัย




**ภาพที่ 8** วิธีการเลี้ยงหนอนกระทู้ผักเพื่อใช้ทดสอบ

ก) หนอนกระทู้ผักจากธรรมชาติ

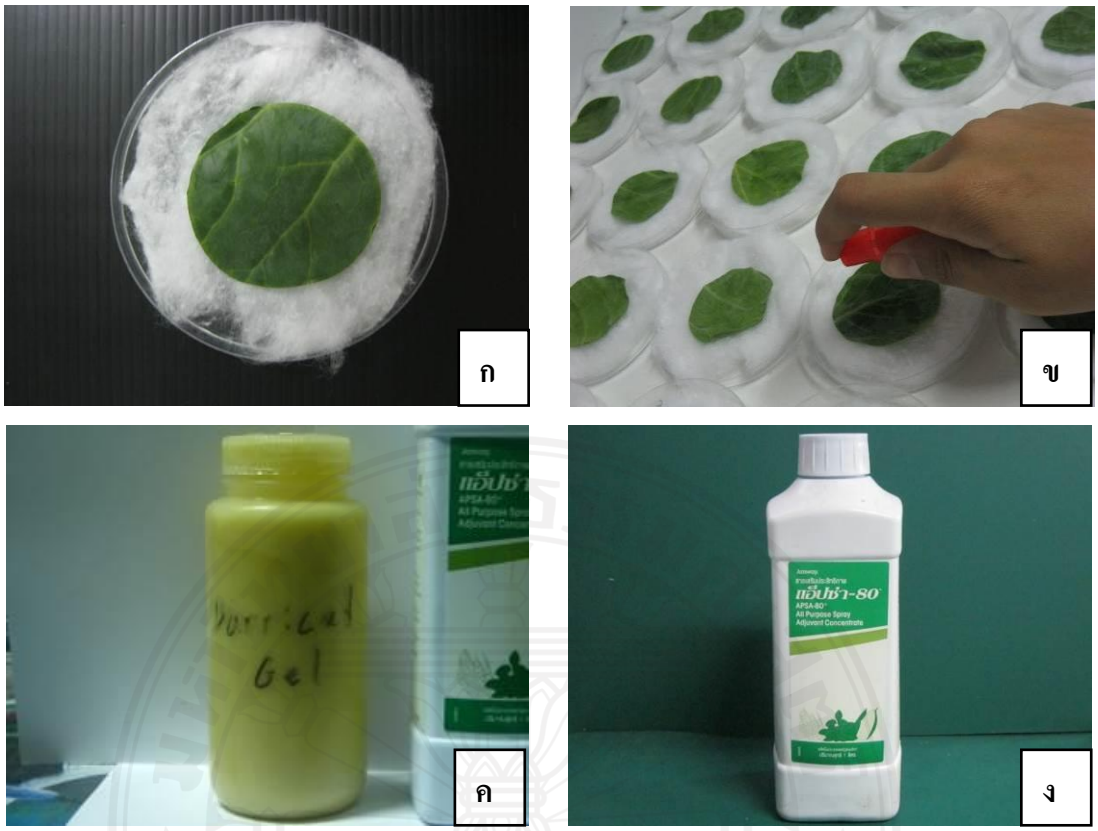
ข) การเลี้ยงหนอนด้วยอาหารเทียม

ค) ดักแด้

ง) กรงผีเสื้อหนอนกระทู้ผัก

### *3. การยืดอายุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ฉีดพ่นบนใบพืช*

ฉีดพ่นสารแขวนลอยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะเข้าทำลายแมลง (Infective juvenile = IJ) จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ *S.* isolate K8*, S. siamkayai* และ *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.2% APSA-80®, 0.4% APSA-80®, 0.25% Barricade® และ 0.5% Barricade® โดยมีน้ำเป็นชุดควบคุม ฉีดพ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจำนวน 200 IJs/250 ไมโครลิตร ลงบนใบคะน้าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5 เซนติเมตร ที่วางบนสำลีชุ่มน้ำที่บรรจุในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร (กรรมวิธีละ 20 ซ้ำ) ทดสอบที่อุณหภูมิประมาณ 25±2 องศาเซลเซียส และความชื้น 75±5 %RH จดบันทึกจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงทั้งหมด และจำนวนที่รอดชีวิตที่เวลา 60, 120 และ 180 นาที หลังการฉีดพ่น จากนั้นล้างไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ติดอยู่บนใบคะน้าในจานเลี้ยงเชื้อด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง และนับจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงภายใต้กล้อง stereomicroscope นำผลการทดลองมาวิเคราะห์อัตราการรอดชีวิต ด้วยโปรแกรม SPSS® version 15.0 for Windows (ภาพที่ 9 และ 10)



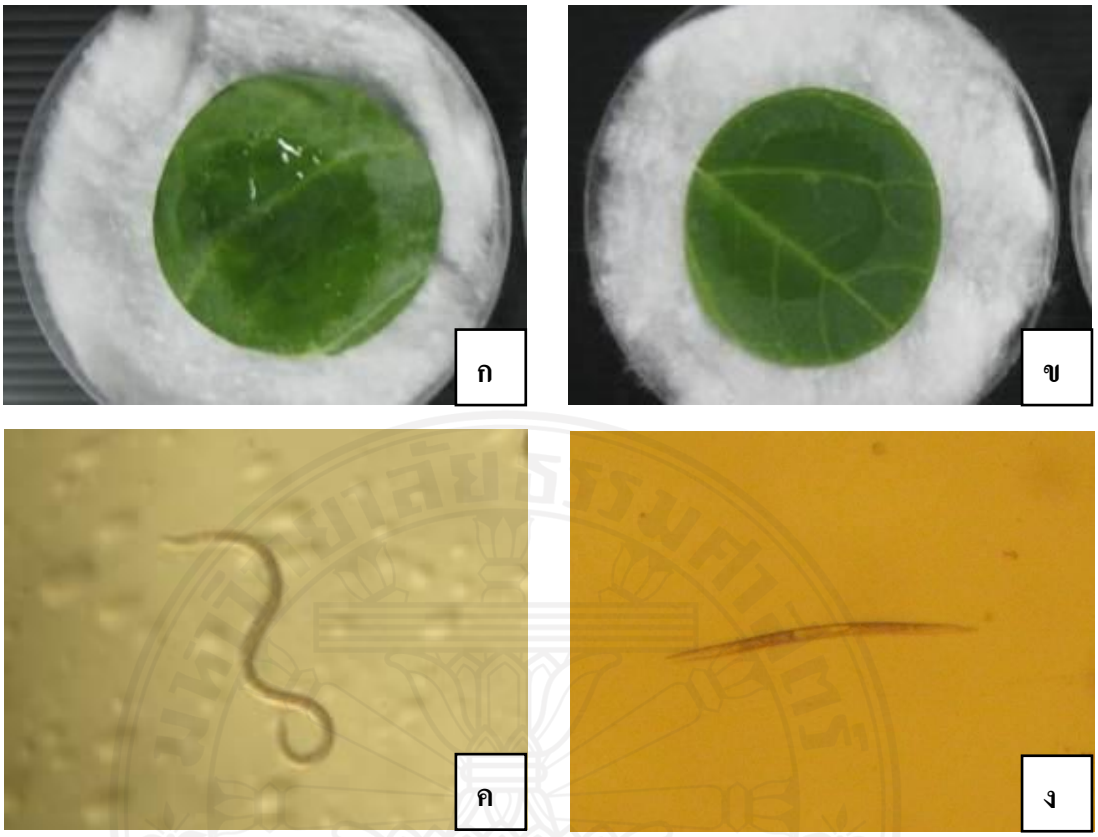

**ภาพที่ 9** ขั้นตอนการทดสอบการยืดอายุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ฉีดพ่นบนใบพืช

ก) ใบคะน้าเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5 เซนติเมตร ที่วางอยู่บนสำลีเปียก เพื่อใช้ทดสอบ

จ) ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ถูกฉีดพ่นลงบนใบคะน้า

ค) สารเสริมประสิทธิภาพ APSA-80®

ง) เจล Barricade®




**ภาพที่ 10** ผลการทดสอบการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง

ก) น้ำที่ตกค้างบนใบหลังจากฉีดพ่น Barricade® ที่ 60 นาที

ข) น้ำที่ตกค้างบนใบหลังจากฉีดพ่น APSA-80® ที่ 60 นาที

ค) ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีชีวิตรอด

ง) ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ไม่มีชีวิต

***4. การทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ผสมกับ Barricade®***

คัดเลือกสารเสริมประสิทธิภาพที่ได้ผลดีจากการทดลองการยืดอายุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง บนใบพืชมาทำการทดสอบประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้ง ด้วยวิธี filter paper bioassay โดยใช้ 24 well-plates ซึ่งรองก้นหลุมด้วยกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 จำนวน 2 แผ่น ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร หยดสารแขวนลอยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S.* isolate K8 และสายพันธุ์ *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.25% หรือ 0.5% Barricade® โดยใช้น้ำเป็นชุดควบคุม หยดอัตราสารแขวนลอยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 100 IJs/50 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรอง จากนั้นใส่หนอนกินรังผึ้งจำนวน 1 ตัว/หลุม (กรรมวิธีละ 20 ซ้ำๆ) และเก็บที่อุณหภูมิประมาณ 25±2 องศาเซลเซียส และความชื้น 75±5 %RH บันทึกอัตราการตายของหนอนกินรังผึ้งและตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงภายในซากหนอนหลังการทดลอง 24, 48 และ 72 ชั่วโมง โดยนำหนอนมาล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง ก่อนนำไปผ่าและตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในซากหนอนกินรังผึ้ง ภายใต้กล้อง stereomicroscope นำผลการทดลองมาวิเคราะห์อัตราการรอดชีวิต ด้วยโปรแกรม SPSS® version 15.0 for Windows (ภาพที่ 11 และ 12)

**ภาพที่ 11** การทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงด้วยวิธี filter paper bioassay

ก) หยดไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงใน 24 well-plates ที่มีกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1

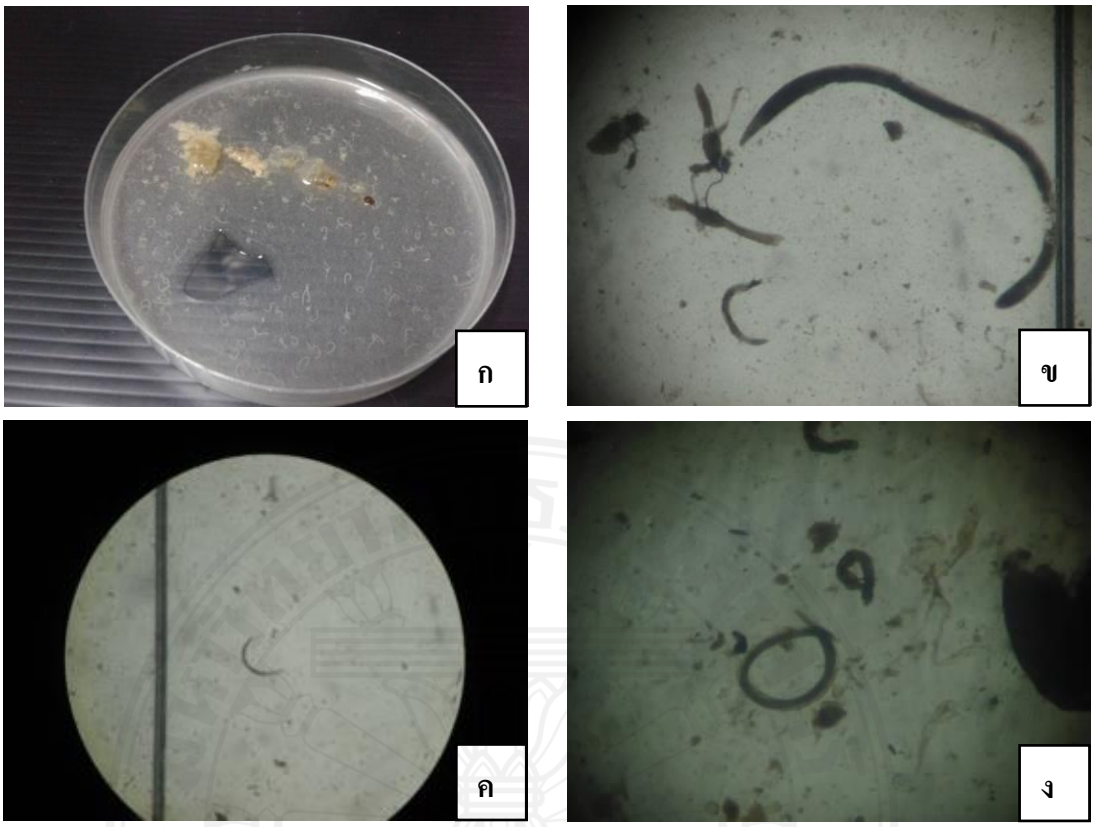
ข) ใส่หนอนกินรังผึ้งลงใน 24 well-plates

ค) หนอนกินรังผึ้งที่ถูกทดสอบใน 24 well-plates

ง) หนอนกินรังผึ้งที่ยังมีชีวิตอยู่

จ) หนอนกินรังผึ้งที่ถูกไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเข้าทำลาย

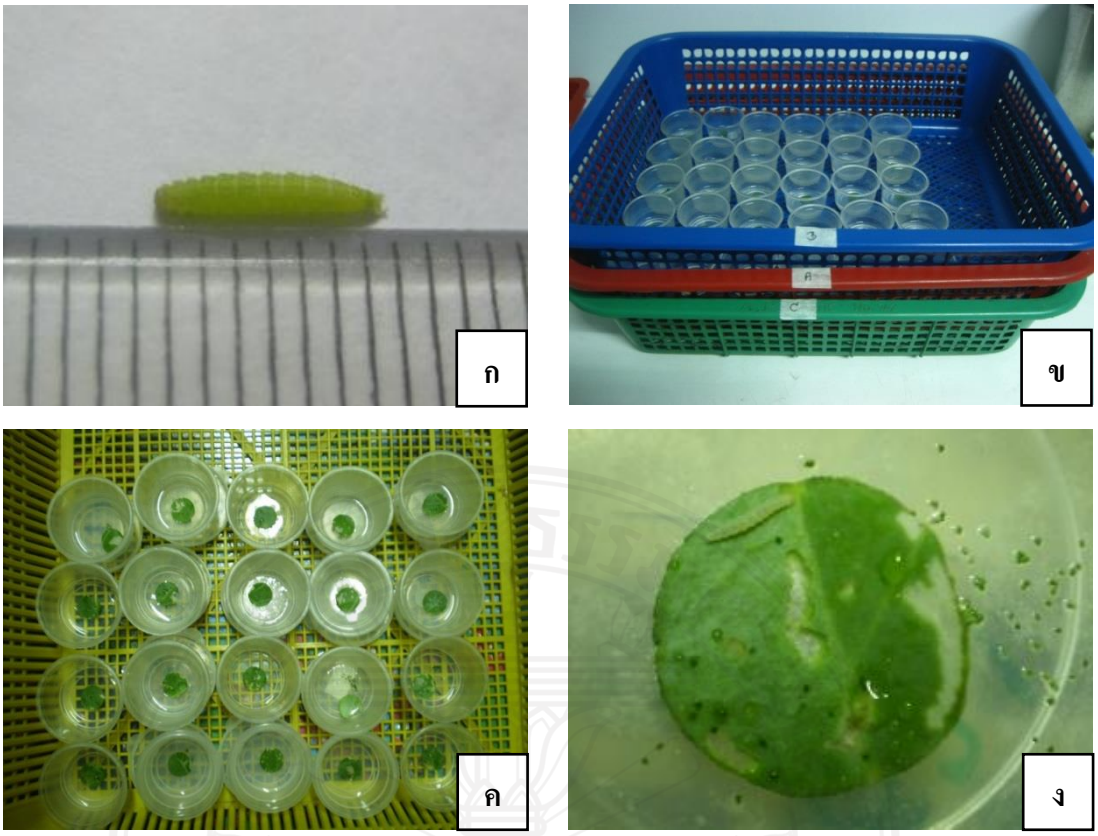
ฉ) ฉีกซากหนอนเพื่อนับจำนวนตัวไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง




**ภาพที่ 12** ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่อยู่ภายในซากหนอนกินรังผึ้ง
ก) ซากศพหนอนกินรังผึ้ง และไส้เดือนฝอยที่อยู่ภายในซากหนอน
ข), ค) และ ง) ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง

### *5. ประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการเข้าทำลายหนอนกระทู้ผักและหนอนใยผักในห้องปฏิบัติการ*

ตัดใบคะน้าที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร วางบนวุ้นความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ความสูงของวุ้น 5 มิลลิลิตร เพื่อรักษาความชื้นที่บรรจุในถ้วยเลี้ยงแมลงเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร หยดสารแขวนลอยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. carpocapsae* และสายพันธุ์ *S.* isolate K8 ที่ผสมกับ 0.25% หรือ 0.5% Barricade® โดยใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 100 IJs/50 ไมโครลิตร หยดลงบนใบคะน้า จากนั้นใส่หนอนจำนวน 1 ตัว/ถ้วย โดยใช้น้ำเป็นชุดควบคุม (กรรมวิธีละ 40 ซ้ำ) และนำไปเก็บที่อุณหภูมิประมาณ 25±2 องศาเซลเซียส และความชื้น 75±5 %RH บันทึกอัตราการตายของหนอนใยผักหลังการทดลองที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง โดยนำหนอนมาล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง ก่อนนำไปผ่าและตรวจดูไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงภายในซากของหนอนใยผัก ภายใต้กล้อง stereomicroscope นำผลการทดลองมาวิเคราะห์อัตราการตาย ด้วยโปรแกรม SPSS® version 15.0 for Windows (ภาพที่ 13)




**ภาพที่ 13** การทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเพื่อควบคุมหนอนกระทู้ผักและหนอนใยผักในระดับห้องปฏิบัติการ

ก) ลักษณะหนอนใยผักวัย 3

ข) เตรียมถ้วยเลี้ยงแมลงเพื่อใช้ในการทดสอบ

ค) ใบที่ถูกหนอนเข้าทำลาย ที่ 24 ชั่วโมง หลังการทดลอง

ง) หนอนที่มีชีวิตรอด

### *6. ทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการเข้าทำลายหนอนกระทู้ผักและหนอนใยผักในสภาพโรงเรือน*

คัดเลือกความเข้มข้นของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ ที่ดีที่สุดจำนวน 2 ความเข้มข้น คือ ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.25% หรือ 0.5% Barricade® โดยทำการทดสอบทั้งหมด 5 กรรมวิธี ดังต่อไปนี้

กรรมวิธีที่ 1 ฉีดพ่นน้ำกรองเพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม)

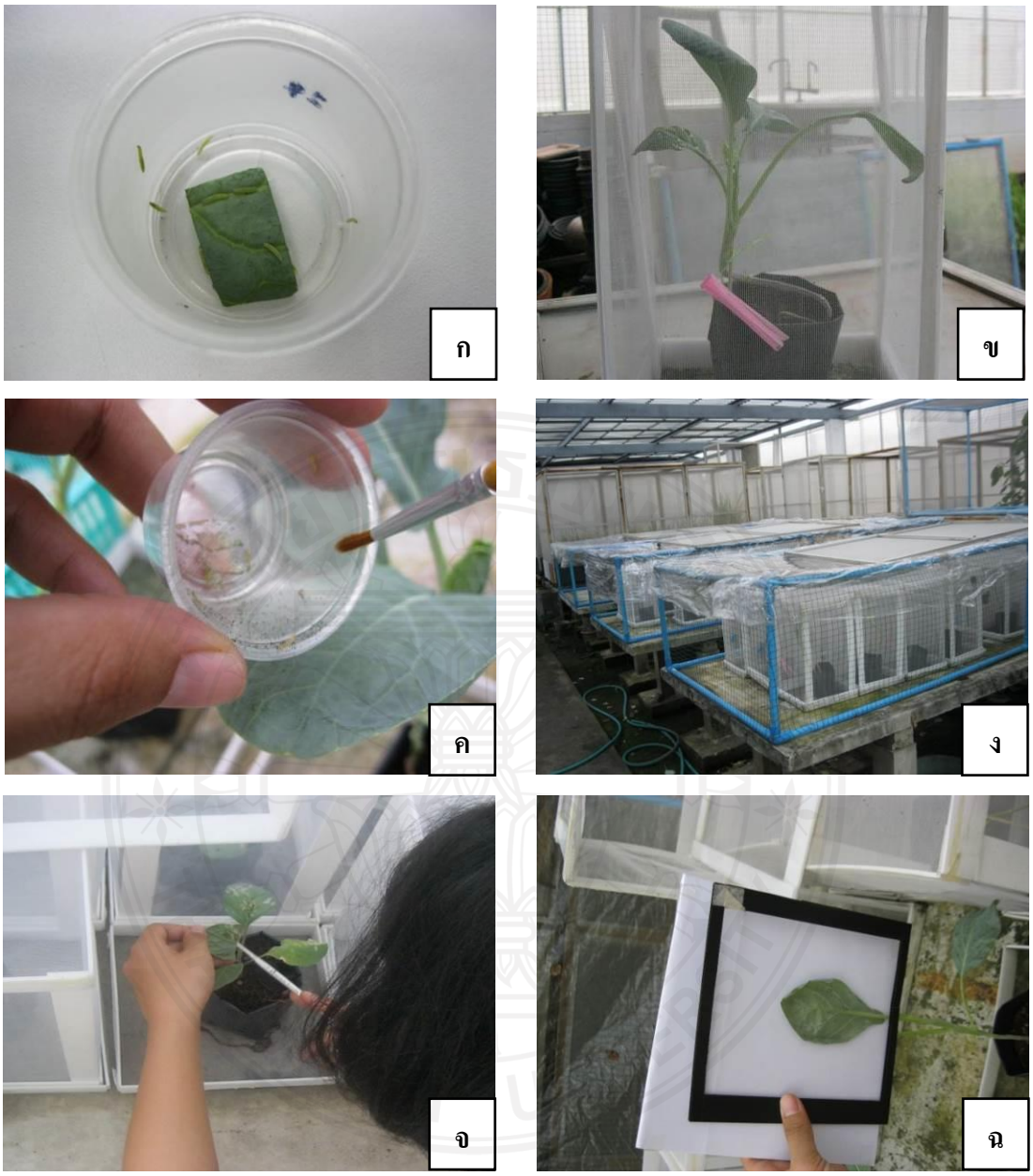
กรรมวิธีที่ 2 ฉีดพ่นน้ำกรองที่ผสมกับ 0.5% Barricade® (Barricade 0.5%)

กรรมวิธีที่ 3 ฉีดพ่นสารแขวนลอยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. carpocapsae* (การค้า) (*S. carpocapsae*)

กรรมวิธีที่ 4 ฉีดพ่นสารแขวนลอยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.25% Barricade® (SC+Barricade 0.25%)

กรรมวิธีที่ 5 ฉีดพ่นสารแขวนลอยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.5% Barricade® (SC+Barricade 0.5%)

ทดสอบกับต้นคะน้าอายุ 6-7 สัปดาห์ ในสภาพโรงเรือน โดยปล่อยหนอนระยะที่ 3 บนต้นพืช 10 ตัว/ต้น (กรรมวิธีละ 20 ซ้ำ) โดยปล่อยหนอนในช่วงเวลา 16.00 น. จากนั้นฉีดพ่นกรรมวิธีต่างๆ จำนวน 15 มิลลิลิตร/ต้น (2,500 IJ/มิลลิลิตร จากอัตราแนะนำ 50 ล้านตัว/น้ำ 20 ลิตร) ในช่วงเวลา 17.30-18.30 น. อุณหภูมิประมาณ 25±5 องศาเซลเซียส และความชื้น 75±10% RH จดบันทึกและตรวจนับอัตราการตาย อัตราการรอดชีวิตของหนอน และตรวจดูไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงภายในซากของหนอน ภายใต้กล้อง stereomicroscope และถ่ายรูปใบคะน้าที่ถูกหนอนเข้าทำลาย เพื่อทำการวัดพื้นที่การเข้าทำลายของหนอน โดยใช้โปรแกรม Image J 1.48 บันทึกผลการทดลองที่ช่วงเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังการทดลอง นำผลการทดลองมาวิเคราะห์อัตราการตาย และพื้นที่การเข้าทำลายใบด้วยโปรแกรม SPSS® version 15.0 for Windows (ภาพที่ 14 และ 15)




**ภาพที่ 14** ทดสอบไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเพื่อควบคุมหนอนกระทู้ผักและหนอนใยผักในสภาพโรงเรือนทดลอง

ก) เตรียมหนอน 10 ตัว/ถ้วย ก่อนทดสอบ

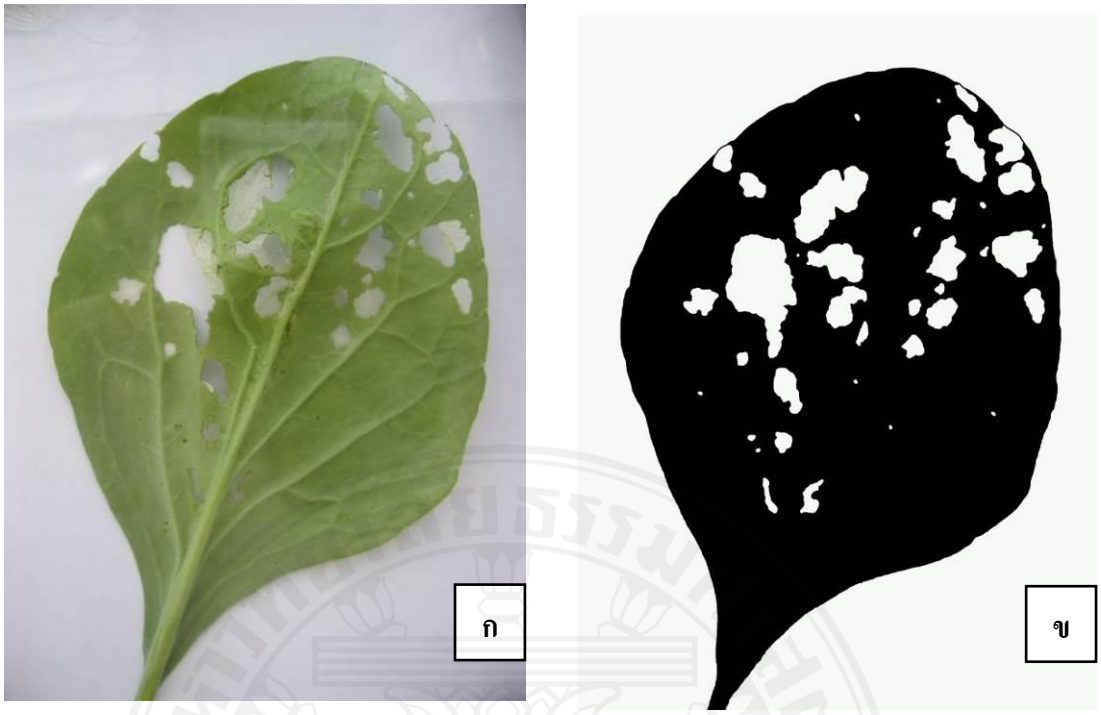
ข) คะน้าอายุ 45 วัน

ค) การปล่อยหนอนลงบนต้นคะน้า

ง) กรงทดสอบย่อยที่เก็บไว้ในโรงเรือนทดลอง

จ) ตรวจนับหนอนที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต

ฉ) ถ่ายรูปใบเพื่อนำมาวิเคราะห์การเข้าทำลาย




**ภาพที่ 15** ใบคะน้าที่ถูกหนอนเข้าทำลาย

ก) ใบคะน้าที่ถูกหนอนเข้าทำลาย ที่ 48 ชั่วโมง หลังการทดลอง

ข) ใบพืชที่ถูกปรับสีให้เป็นขาวดำโดยใช้โปรแกรม Adobe Photoshop CS6 ก่อนนำไปวิเคราะห์อัตราการเข้าทำลายใบ

# ผลการทดลอง

## *1. การยืดอายุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงบนใบพืช*

การทดลองการยืดอายุของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S.* isolate K8, *S. siamkayai* และ *S. carpocapsae* โดยฉีดพ่นลงบนใบคะน้า และวิเคราะห์ผลการทดลองที่เวลา 60, 120 และ 180 นาที หลังการฉีดพ่น พบว่า การเพิ่มสารเสริมประสิทธิภาพ APSA-80® หรือ Barricade® นั้น ส่งผลต่ออัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงบนใบพืชแตกต่างกัน โดยรวมพบว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงทั้ง 3 สายพันธุ์ เมื่อผสมกับสาร Barricade® แล้ว ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงมีอัตราการอยู่รอดที่สูง และแตกต่างจากชุดควบคุม สำหรับสารจับใบ APSA-80® เมื่อผสมสารแขวนลอยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงพบว่าอัตราการอยู่รอดไม่แตกต่างกับชุดควบคุม และมีแนวโน้มที่ลดลง ซึ่งจะเห็นได้ว่าสารแขวนลอยของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ผสมกับ Barricade® พบอัตราการอยู่รอดที่สูงกว่า APSA-80® โดยทั่วไปอัตราการอยู่รอดของไส้เดือนศัตรูแมลงไม่มีความแตกต่างกันระหว่างความเข้มข้นของทั้ง 2 ความเข้มข้น ของ Barricade® และ APSA-80®

อัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S.* isolate K8 พบว่า ทุกช่วงเวลาหลังการทดลอง ตั้งแต่ช่วงเวลา 60 ถึง 180 นาที หลังการทดลอง *S.* isolate K8 ที่ผสมกับ 0.25% และ 0.5% Barricade® มีอัตราการอยู่รอดมีค่ามากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ (80.20-85.03 เปอร์เซ็นต์) ไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ 60 และ 120 นาที (83.20-90.20 เปอร์เซ็นต์) และแตกต่างทางสถิติกับ APSA-80® ทั้ง 2 ความเข้มข้น (ตารางที่ 1)

ที่เวลา 60 นาที หลังการทดลอง พบว่า *S. siamkayai* ที่ผสมกับ 0.5% Barricade® มีอัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอย (91.56 เปอร์เซ็นต์) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดการทดลองอื่นๆ *S. siamkayai* ในชุดควบคุม, 0.4% APSA-80® และ 0.25% Barricade® มีอัตราการอยู่รอดไม่แตกต่างกันทางสถิติ (77.26-80.15 เปอร์เซ็นต์) ที่เวลา 120 นาที หลังการทดลอง ไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ *S. siamkayai* ที่ผสมกับ 0.25% และ 0.5% Barricade® มีอัตราการอยู่รอด (75.38-85.69 เปอร์เซ็นต์) แตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม (65.71 เปอร์เซ็นต์) และ APSA-80® (50.75-65.71 เปอร์เซ็นต์) และที่เวลา 180 นาที หลังการทดลอง ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. siamkayai* ที่ผสมกับ Barricade® ทั้ง 2 ความเข้มข้น มีอัตราการอยู่รอด (54.27-65.91 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (59.63 เปอร์เซ็นต์)

ทุกช่วงเวลาหลังการทดลอง *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.25% และ 0.5% Barricade® มีอัตราการอยู่รอด (84.38-92.90 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (51.40-55.10 เปอร์เซ็นต์) และแตกต่างทางสถิติกับ APSA-80® ทั้ง 2 ความเข้มข้น (32.70-62.90 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 1)

**ตารางที่ 1** อัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *Steinernema* sp. isolate K8, *Steinernema siamkayai* และ *Steinernema carpocapsae* ที่ผสมกับ APSA-80® หรือ Barricade® ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 60, 120 และ 180 นาที หลังการทดลอง

| สายพันธุ์ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง | เวลา (นาที) | อัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง±SE | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ชุดควบคุม | 0.2% APSA-80® | 0.4% APSA-80® | 0.25% Barricade® | 0.5% Barricade® |
| ***S.* isolate K8** | **60** | 90.20±0.80 c* | 84.40.±3.50 bc | 54.30±3.30 a | 82.02±2.20 b | 84.90±1.80 bc |
| | **120** | 83.20±1.20 b | 63.60±5.60 a | 57.60±5.20 a | 83.47±1.70 b | 80.50±1.10 b |
| | **180** | 64.60±1.90 b | 12.90±5.50 a | 70.07±7.26 b | 85.03±1.50 c | 80.20±0.90 c |
| ***S. siamkayai*** | **60** | 80.15±4.94 b | 61.44±4.07 a | 80.13±2.92 b | 77.26±3.57 b | 91.56±3.57 c |
| | **120** | 65.71±5.41 ab | 54.20±7.55 a | 50.73±6.67 a | 75.38±4.12 bc | 85.69±2.88 c |
| | **180** | 59.63±4.52 b | 34.19±5.80 b | 30.68±5.10 a | 54.27±3.77 bc | 65.91±4.53 b |
| ***S. carpocapsae*** | **60** | 55.10±1.00 b | 49.30±1.80 b | 36.60±1.70 a | 87.16±0.70 c | 92.90±0.50 d |
| | **120** | 53.30±2.70 a | 48.30±2.40 a | 43.70±2.10 a | 87.79±1.30 b | 92.70±1.10 b |
| | **180** | 51.40±1.10 b | 62.90±5.90 c | 32.70±3.30 a | 84.38±0.90 d | 85.00±1.70 d |

ปรับค่าข้อมูลโดยใช้ Arcsine สูตร SQRT(X/100)

*ตัวอักษรเดียวกันในแนวนอนแสดงความไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้วิธี Tukey's test

## *2. การทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง*

การนำสารเสริมประสิทธิภาพที่สามารถยืดอายุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงบนใบพืชได้ดีคือ Barricade® มาทดสอบประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้ง ด้วยวิธี filter paper bioassay ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่า อัตราการตายของหนอนกินรังผึ้งในการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ *S.* isolate K8, *S. siamkayai* และ *S. carpocapsae* มีอัตราการตายส่วนใหญ่ของหนอนกินรังผึ้งไม่แตกต่างกับชุดควบคุม

ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S.* isolate K8 ที่ผสมกับ Barricade® ทั้งสองความเข้มข้น มีอัตราการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งไม่แตกต่างกัน และไม่ต่างกันกับชุดควบคุมในทุกชุดการทดลอง และที่เวลา 72 ชั่วโมงทำให้หนอนกินรังผึ้งตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. siamkayai* หลังการทดลองที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. siamkayai* ที่ผสมกับ Barricade® ทั้งสองความเข้มข้นทำให้หนอนกินรังผึ้งตายไม่แตกต่างกับชุดควบคุม ซึ่งอยู่ระหว่าง 77.50-82.50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

สำหรับไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.25% และ 0.5% Barricade® มีอัตราการตายของหนอนกินรังผึ้งถึง 90.00-100.00 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 24 ชั่วโมง ในขณะที่ชุดควบคุมมีอัตราการตาย 85.00 เปอร์เซ็นต์ และไม่แตกต่างทางสถิติกับ 0.5% Barricade® ที่พบอัตราการตาย 90.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมง หลังการทดลอง พบว่า *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.25% Barricade® ของทั้งสองช่วงเวลาพบอัตราการตายของหนอนกินรังผึ้งไม่แตกต่างกันและไม่ต่างกับชุดควบคุม ซึ่งสามารถควบคุมได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงผสม 0.5% Barricade® สามารถควบคุมได้ 95 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

การทดลองนี้เป็นการทดสอบความสามารถของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ผสมกับ Barricade® เพื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งผลการทดลองพบว่า Barricade® ไม่มีผลกระทบหรือยับยั้งการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง แต่ในทางกลับกันยังพบแนวโน้มว่า Barricade® สามารถช่วยเพิ่มอัตราการตายหนอนกินรังผึ้งได้ดีอีกด้วย

**ตารางที่ 2** อัตราการตายของหนอนกินรังผึ้งจากการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *Steinernema* sp. isolate K8, *Steinernema siamkayai* และ *Steinernema carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.25% และ 0.5% Barricade® ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังการทดลอง

| **สายพันธุ์ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง** | **เวลา (ชั่วโมง)** | **อัตราการตายของหนอนกินรังผึ้ง±SE** | | |
|---|---|---|---|---|
| | | **ชุดควบคุม** | **0.25% Barricade®** | **0.5% Barricade®** |
| ***S.* isolate K8** | **24** | 27.50±12.50 a* | 25.00±0.00 a | 22.50±17.5 a |
| | **48** | 92.50±7.50 a | 72.50±2.50 a | 70.00±10.00 a |
| | **72** | 92.50±7.50 a | 100.00±0.00 a | 100.00±0.00 a |
| ***S. siamkayai*** | **24** | 40.00±0.00 b | 25.00±0.00 a | 40.00±0.00 b |
| | **48** | 82.50±2.50 a | 77.50±2.50 a | 82.50±2.50 a |
| | **72** | 82.50±2.50 a | 77.50±2.50 a | 82.50±2.50 a |
| ***S. carpocapsae*** | **24** | 85.00±5.00 a | 100.00±0.00 b | 90.00±5.00 ab |
| | **48** | 100.00±0.00 b | 100.00±0.00 b | 95.00±0.00 a |
| | **72** | 100.00±0.00 b | 100.00±0.00 b | 95.00±0.00 a |

ปรับค่าข้อมูลโดยใช้ Arcsine สูตร SQRT(X/100)

*ตัวอักษรเดียวกันในแนวนอนแสดงความไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้วิธี Tukey's test

ประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่ผสมด้วย Barricade® ส่วนใหญ่ให้ผลไม่แตกต่างกันกับชุดควบคุม ยกเว้นไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.25% Barricade® ที่ช่วงเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมงหลังการทดลอง มีประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งสูงที่สุด คือ 40.45 IJs/หนอน ซึ่งแตกต่างกับชุดควบคุม ในทุกช่วงเวลาหลังการทดลอง ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S.* isolate K8 ที่ผสมกับ 0.25% Barricade® ที่ช่วงเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้ง เท่ากับ 34.58 และ 34.90 IJs/หนอน ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกับชุดควบคุม (23.10 IJs/หนอน) สำหรับไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. siamkayai* ในทุกชุดการทดลอง และทุกช่วงเวลาหลังการทดลอง ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงมีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งไม่แตกต่างกับชุดควบคุม ซึ่งมีประสิทธิภาพเพียง 1.28-9.43 IJs/หนอน เท่านั้น และมีประสิทธิภาพต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์อื่นๆ (ตารางที่ 3)

เมื่อพิจารณาโดยรวมพบว่าเมื่อเวลาผ่านไปยาวนานขึ้นถึง 72 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ผสมกับ 0.25% Barricade® มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งซึ่งมีแนวโน้มที่สูงกว่าชุดควบคุม และ 0.5% Barricade® ในทุกชุดการทดลอง ซึ่ง 0.5% Barricade® ประสิทธิภาพในการเข้าทำลายมีแนวโน้มที่ต่ำกว่าชุดควบคุม ซึ่งสายพันธุ์ *S. carpocapsae* ที่ผสมด้วย 0.25% Barricade® มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งได้ดีและสูงที่สุดถึง 40 IJs/หนอน (ตารางที่ 3)

นอกจากนี้ยังพบว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S.* isolate K8 และ *S. carpocapsae* มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งได้ดีในช่วงเวลา 48-72 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองอื่นๆ ดังนั้นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S.* isolate K8 และ *S. carpocapsae* จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปทดลองกับแมลงศัตรูพืชต่อไป

**ตารางที่ 3** จำนวนไส้เดือนฝอยในซากแมลงอาศัยของไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ *Steinernema* sp. isolate K8, *Steinernema siamkayai* และ *Steinernema carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.25% และ 0.5% Barricade® ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังการทดลอง

| สายพันธุ์ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง | เวลา (ชั่วโมง) | จำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่เข้าทำลายหนอนกินรังผึ้ง (IJs/หนอน) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | ชุดควบคุม | 0.25% Barricade® | 0.5% Barricade® |
| ***S.* isolate K8** | **24** | 3.78±1.16 a* | 8.88±2.81 a | 6.95±3.36 a |
| | **48** | 23.10±2.98 b | 34.58±4.92 b | 16.68±3.84 a |
| | **72** | 23.10±2.98 b | 34.90±4.87 b | 20.10±3.67 a |
| ***S. siamkayai*** | **24** | 1.70±0.46 b | 1.28±0.40 a | 3.23±0.76 b |
| | **48** | 6.68±1.07 a | 6.80±0.96 a | 9.43±1.14 a |
| | **72** | 6.68±1.07 a | 6.80±0.96 a | 9.43±1.14 a |
| ***S. carpocapsae*** | **24** | 23.15±4.59 a | 40.45±5.01 b | 16.50±2.20 a |
| | **48** | 26.55±4.21 a | 40.45±5.01 b | 18.40±2.26 a |
| | **72** | 26.55±4.21 a | 40.45±5.01 b | 18.40±2.26 a |

ปรับค่าข้อมูลโดยใช้ Logarithm สูตร LOG(X+1)

*ตัวอักษรเดียวกันในแนวนอนแสดงความไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้วิธี Tukey's test

### *3. ประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการเข้าทำลายหนอนกระทู้ผักและหนอนใยผักในห้องปฏิบัติการ*

การทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S.* isolate K8 และ *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.25% และ 0.5% Barricade® ในการเข้าทำลายหนอนกระทู้ผัก โดยมีน้ำเป็นชุดควบคุม ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังการทดลอง พบว่า ส่วนใหญ่ชุดการทดลองไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ผสมกับ Barricade® มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ผักไม่แตกต่างกับชุดควบคุมในทุกๆ ช่วงเวลาหลังการทดลอง ซึ่งไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. carpocapsae* มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผักได้สูงถึง 95.20-100.00 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่เวลา 24 ชั่วโมง หลังการทดลอง ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงกว่า ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S.* isolate K8 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ผักที่เวลา 72 ชั่วโมง เท่ากับ 82.50-92.50 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ Barricade® ทั้ง 2 ความเข้มข้นไม่มีผลให้หนอนกระทู้ผักตาย (ตารางที่ 4)

การทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงทั้ง 2 สายพันธุ์ที่ผสมกับ 0.25% และ 0.5% Barricade® ในการเข้าทำลายหนอนใยผัก พบว่า ทุกชุดการทดลองไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงมีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผักไม่แตกต่างกับชุดควบคุมในทุกๆ ช่วงเวลาหลังการทดลอง ซึ่งไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. carpocapsae* มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผักได้สูงถึง 90.00-100.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ช่วงเวลา 24-72 ชั่วโมง หลังการทดลอง ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงกว่า ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S.* isolate K8 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผัก เท่ากับ 60.00-87.50 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 72 ชั่วโมง ในขณะที่ Barricade® ทั้ง 2 ความเข้มข้นไม่มีผลให้หนอนใยผักตายเช่นกัน (ตารางที่ 4)

**ตารางที่ 4** ประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *Steinernema* sp. isolate K8 และ *Steinernema carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.25% และ 0.5% Barricade® ในการเข้าทำลายหนอนกระทู้ผักและหนอนใยผักที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังการทดลอง

| ชุดการทดลอง | อัตราการตายเฉลี่ยของหนอน (ตัว±SE) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | เวลาหลังการฉีดพ่น (ชั่วโมง) | | | | | |
| | 24 | | 48 | | 72 | |
| **หนอนกระทู้ผัก** | | | | | | |
| น้ำเปล่า | 0.00±0.00 | a* | 0.00±0.00 | a | 0.00±0.00 | a |
| 0.25% Barricade® | 0.00±0.00 | a | 0.00±0.00 | a | 0.00±0.00 | a |
| 0.5% Barricade® | 0.00±0.00 | a | 0.00±0.00 | a | 0.00±0.00 | a |
| *S.* isolate K8 | 5.00±2.89 | b | 70.00±15.81 | b | 92.50±4.79 | b |
| *S.* isolate K8 + 0.25% Barricade® | 7.50±4.79 | b | 72.50±7.50 | b | 87.50±6.29 | b |
| *S.* isolate K8 + 0.5% Barricade® | 7.50±4.79 | b | 77.50±10.31 | b | 82.50±10.3 | b |
| *S. carpocapsae* | 57.50±7.50 | c | 100.00±0.00 | c | 100.00±0.00 | b |
| *S. carpocapsae* + 0.25% Barricade® | 82.50±8.54 | d | 100.00±0.00 | c | 100.00±0.00 | b |
| *S. carpocapsae* + 0.5% Barricade® | 37.50±2.50 | c | 92.50±2.50 | bc | 97.50±2.50 | b |
| **หนอนใยผัก** | | | | | | |
| น้ำเปล่า | 0.00±0.00 | a* | 0.00±0.00 | a | 0.00±0.00 | a |
| 0.25% Barricade® | 0.00±0.00 | a | 0.00±0.00 | a | 0.00±0.00 | a |
| 0.5% Barricade® | 0.00±0.00 | a | 0.00±0.00 | a | 0.00±0.00 | a |
| *S.* isolate K8 | 5.00±2.89 | b | 15.00±9.13 | b | 60.00±14.72 | b |
| *S.* isolate K8 + 0.25% Barricade® | 15.00±5.00 | bc | 45.00±11.90 | b | 82.50±8.54 | bc |
| *S.* isolate K8 + 0.5% Barricade® | 15.00±6.45 | bc | 50.00±10.80 | b | 87.50±2.50 | bc |
| *S. carpocapsae* | 35.00±6.45 | c | 90.00±2.50 | c | 97.50±2.50 | c |
| *S. carpocapsae* + 0.25% Barricade® | 35.00±13.23 | c | 92.50±4.79 | c | 100.00±0.00 | c |
| *S. carpocapsae* + 0.5% Barricade® | 25.00±6.45 | bc | 95.00±2.89 | c | 100.00±0.00 | c |

ปรับค่าข้อมูลโดยใช้ Arcsine สูตร SQRT(X/100)

*ตัวอักษรเดียวกันในแนวตั้งแสดงความไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้วิธี Tukey's test

### *4. ทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการเข้าทำลายหนอนกระทู้ผักและหนอนใยผักในสภาพโรงเรือน*

การทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.25% และ 0.5% Barricade® ในการเข้าทำลายหนอนกระทู้ผัก ในสภาพโรงเรือนทดลอง พบว่า ไส้เดือนฝอยที่ผสมกับ 0.25% และ 0.5% Barricade® มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ผักมากกว่าการฉีดพ่นด้วยไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียวในทั้ง 3 ช่วงเวลาหลังการทดลอง โดยแสดงประสิทธิภาพสูงกว่าถึง 2 เท่า และเมื่อเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง พบว่าไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ที่ไม่ผสม Barricade® มีประสิทธิภาพในการทำลายหนอนกระทู้ผักเท่ากับ 29.50 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ชุดการทดลอง *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.25% และ 0.5% Barricade® มีประสิทธิภาพในการทำลายหนอนกระทู้ผักเท่ากับ 61.50-66.00 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5)

เมื่อพิจารณาผลการเข้าทำลายใบพืชของหนอนกระทู้ผัก พบว่ามีผลที่สอดคล้องกับอัตราการตายของหนอนกระทู้ผัก โดยที่เวลา 72 ชั่วโมงหลังการทดลองจะพบความเสียหายบนใบพืชในชุดการทดลองควบคุมมีค่าอยู่ระหว่าง 56.06-61.58 เปอร์เซ็นต์ และชุดการทดลองที่ฉีดพ่นด้วย *S. carpocapsae* เพียงอย่างเดียว 33.76 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การทดลอง *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.25% และ 0.5% Barricade® มีความเสียหายของใบพืชเท่ากับ 11 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6)

สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยในชุดการทดลองข้างต้นในการเข้าทำลายหนอนใยผัก พบว่าในทุกกรรมวิธีมีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนใยผักไม่แตกต่างกัน โดยที่เวลา 72 ชั่วโมง หลังการทดลอง ไส้เดือนศัตรูแมลงทั้ง 3 ชุดการทดลองมีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนใยผักน้อยกว่า 27 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5)

เมื่อพิจารณาผลการทดลองจากการเข้าทำลายใบของหนอนใยผัก พบว่า ในทุกกรรมวิธีหนอนใยผักมีอัตราการเข้าทำลายหรือกินใบที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติและมีความสามารถในการเข้าทำลายใบ 5-10 เปอร์เซ็นต์ หลังการทดลองที่ 72 ชั่วโมง (ตารางที่ 6)

**ตารางที่ 5** ประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *Steinernema carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.25% และ 0.5% Barricade® ในการเข้าทำลายหนอนกระทู้ผักและหนอนใยผักที่ช่วงเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังการทดลอง ในสภาพโรงเรือนทดลอง

| ชุดการทดลอง | อัตราการตายเฉลี่ยของหนอน (ตัว±SE) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | เวลาหลังการฉีดพ่น (ชั่วโมง) | | | | | |
| | 24 | | 48 | | 72 | |
| **หนอนกระทู้ผัก** | | | | | | |
| น้ำเปล่า | 0.00±0.00 | a* | 0.00±0.00 | a | 0.00±0.00 | a |
| 0.5% Barricade® | 0.00±0.00 | a | 0.00±0.00 | a | 0.00±0.00 | a |
| *S. carpocapsae* | 16.00±3.56 | b | 16.00±3.56 | b | 29.50±6.29 | b |
| *S. carpocapsae* + 0.25% Barricade® | 39.50±3.10 | c | 39.50±3.10 | c | 66.00±2.83 | c |
| *S. carpocapsae* + 0.5% Barricade® | 33.00±1.04 | c | 33.00±1.04 | c | 61.50±2.99 | c |
| **หนอนใยผัก** | | | | | | |
| น้ำเปล่า | 4.00±1.69 | a* | 4.00±1.69 | a | 4.00±1.69 | a |
| 0.5% Barricade® | 4.00±1.34 | a | 4.00±1.34 | a | 4.00±1.34 | a |
| *S. carpocapsae* | 7.00±1.28 | a | 12.00±2.36 | a | 15.00±3.47 | b |
| *S. carpocapsae* + 0.25% Barricade® | 10.00±1.97 | a | 20.00±3.36 | b | 24.50±4.20 | b |
| *S. carpocapsae* + 0.5% Barricade® | 12.00±1.86 | a | 23.00±3.24 | b | 27.00±3.00 | b |

ปรับค่าข้อมูลโดยใช้ Arcsine สูตร SQRT(X/100)

*ตัวอักษรเดียวกันในแนวนอนแสดงความไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้วิธี Tukey's test

**ตารางที่ 6** ความเสียหายของใบพืชที่เกิดจากการเข้าทำลายของหนอนกระทู้ผักและหนอนใยผัก ที่ช่วงเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังการฉีดพ่น *Steinernema carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.25% และ 0.5% Barricade® ในสภาพโรงเรือนทดลอง

| ชุดการทดลอง | ความเสียหายของใบพืช (เปอร์เซ็นต์ ±SE) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | เวลาหลังการฉีดพ่น (ชั่วโมง) | | | | | |
| | 24 | | 48 | | 72 | |
| **หนอนกระทู้ผัก** | | | | | | |
| น้ำเปล่า | 5.95±0.73 | b* | 23.31±2.47 | c | 61.58±5.86 | c |
| 0.5% Barricade® | 4.80±0.77 | b | 21.98±2.44 | c | 56.06±5.50 | c |
| *S. carpocapsae* | 4.56±0.59 | b | 14.93±0.92 | b | 33.76±1.44 | b |
| *S. carpocapsae* + 0.25% Barricade® | 2.02±0.07 | a | 5.57±0.40 | a | 11.04±0.96 | a |
| *S. carpocapsae* + 0.5% Barricade® | 2.44±0.24 | a | 6.26±0.32 | a | 11.29±0.87 | a |
| **หนอนใยผัก** | | | | | | |
| น้ำเปล่า | 1.46±0.21 | a* | 3.42±0.58 | a | 10.95±6.08 | a |
| 0.5% Barricade® | 1.76±0.35 | a | 3.91±0.79 | ab | 5.64±0.82 | a |
| *S. carpocapsae* | 2.48±0.47 | a | 6.81±1.07 | ab | 8.06±0.99 | a |
| *S. carpocapsae* + 0.25% Barricade® | 2.53±0.57 | a | 6.89±0.83 | b | 7.10±1.29 | a |
| *S. carpocapsae* + 0.5% Barricade® | 2.33±0.55 | a | 7.54±1.09 | b | 8.02±1.06 | a |

ปรับค่าข้อมูลโดยใช้ Arcsine สูตร SQRT(X/100)

*ตัวอักษรเดียวกันในแนวนอนแสดงความไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้วิธี Tukey's test

# วิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองการยืดอายุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงบนใบพืชแสดงให้เห็นว่า เมื่อเวลาผ่านไปยาวนานขึ้นอัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ผสมด้วยสารจับใบ APSA-80® มีอัตราการอยู่รอดลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม อาจเนื่องมาจากคุณสมบัติของสารจับใบที่ช่วยกระจายสารให้ทั่วบริเวณพื้นผิวได้ดีแต่มีความหนืด (viscosity) ที่ต่ำ ซึ่งความหนืดนั้นมีคุณสมบัติที่ช่วยต้านทานการไหลของของเหลว ถ้าของเหลวนั้นมีความหนืดต่ำ ก็จะทำให้เปลี่ยนแปลงรูปร่างได้ง่าย หรือมีรูปร่างที่บางลง ทำให้เกิดการระเหยได้ง่าย (Somvanshi *et al.*, 2006; Mukherjee *et al.*, 2009) ในขณะที่ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงมีอัตราการอยู่รอดที่สูงขึ้นหลังจากผสมด้วย Barricade® เมื่อเวลาผ่านไป โดยของเหลวบางอย่างที่มีความหนืดสูง ก็จะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างได้ยาก หรือต้องใช้เวลานานในการทำให้บางลง ซึ่งสารจับใบต่างกับสารเสริมประสิทธิภาพ Barricade® และกลีเซอรีนที่มีความหนืดอยู่ระหว่าง 1,400-50,000 mPa-s (Millipascal-seconds) (Barricade International, 2013) นอกจากนั้น Barricade® ยังมี sodium polyacrylate (โซเดียม โพลีอะครีเลท) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่ใช้ในการดูดซับความชื้น เมื่อหยดน้ำลงบนพอลิเมอร์ พอลิเมอร์จะซับน้ำได้ถึง 100 เท่า โดยจะพองตัวขึ้นเป็นเม็ดสีขาวคล้ายกับเกล็ดหิมะ (Sodium-polyacrylate, 2014) ผสมอยู่ซึ่งเป็นส่วนประกอบในการผลิตผ้าอ้อม เจลชนิดนี้ยังเปรียบเสมือนกำแพงกั้นระหว่างไฟและสิ่งต่างๆ ที่ป้องกันอยู่ นอกจากนี้ยังทำหน้าที่ให้ความชื้นคล้ายกับผ้าเปียก ซึ่งเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และสลายตัวได้เองตามธรรมชาติ (Barricade International, 2013) ด้วยเหตุผลที่ Barricade® สามารถตรึงความชื้นไว้ได้จะทำให้ไส้เดือนฝอยที่ต้องการความชื้นในการดำรงชีวิตจะสามารถอยู่รอดบนใบพืชได้นานขึ้นด้วย (Lacey *et al.*, 2010; Shapiro-Ilan *et al.*, 2006, 2010) การทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองอื่นๆ ที่มีรายงานว่า สารในรูปแบบเจลช่วยยืดอายุของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ฉีดพ่นบนใบพืชและไม่มีพิษกับไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง (Lacey *et al.*, 2010; Sasnarukkit, 2003; Schroer and Ehlers, 2005; Shapiro-Ilan *et al.*, 2006, 2010) และผลการทดลองยังสอดคล้องกับบัญชา และคณะ (2542) ที่พบว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* มีอัตราการอยู่รอดได้ดีในช่วงที่มีอุณหภูมิต่ำและปานกลาง ในขณะที่อุณหภูมิสูง 35 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิเฉลี่ยในประเทศไทย ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. carpocapsae* มีระยะเวลาในการอยู่รอดได้สั้นลง อย่างไรก็ตามจากการทดลองพบว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. siamkayai* นั้น มีอัตราการอยู่รอดที่ต่ำกว่าชนิดอื่นๆ ซึ่งตรงข้ามกับกับการรายงานของ วัชรี (2544) ซึ่งได้สำรวจพบไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงชนิดใหม่ คือ *S. siamkayai* ที่เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงชนิดใหม่ของประเทศไทย และมีความสามารถทนต่ออุณหภูมิได้สูงกว่า 35 องศาเซลเซียส

ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.25% และ 0.5% Barricade® โดยมีน้ำเป็นชุดควบคุม พบอัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงหลังการ

ทดลองที่ 180 นาทีเท่ากับ 84, 85 และ 51 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Jin *et al*. (2004) กล่าวว่ากลีเซอรีนสามารถยืดอายุของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงได้ โดยพบว่าไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ที่ผสมกับกลีเซอรีน 0, 0.2, 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ไส้เดือนฝอยมีอัตราการอยู่รอด 0.3, 4.5, 11.0 และ 18.5 เปอร์เซ็นต์ หลังการฉีดพ่นด้วยเครื่องพ่นสารเคมี 24 ชั่วโมง และพบจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงบนใบพืช 0.03, 0.30, 0.90 และ 1.60 IJs/ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ ทั้งนี้อัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจะมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นของกลีเซอรีน นอกจากนี้การทดลองนี้ยังสอดคล้องกับการทดลองของ Sasnarukkit (2003) ที่รายงานว่า รังสีอัลตราไวโอเลตช่วงความยาวคลื่นปานกลาง (302 nm) และแสงแดดในสภาพธรรมชาตินั้นเป็นเวลา 15 นาที มีผลต่อประสิทธิภาพการก่อให้เกิดโรคของ *S. siamkayai* และ *S. carpocapsae* และพบว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. siamkayai* ที่ผสมกับกลีเซอรีนเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถอยู่บนใบในสภาพธรรมชาติได้มากกว่า 12 ชั่วโมง

จากการทดลองประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งแสดงให้เห็นว่า ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.25% และ 0.5% Barricade® มีน้ำเป็นชุดควบคุม พบอัตราการตายของหนอนกินรังผึ้งที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังการทดลอง เท่ากับ 100, 90 และ 85 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสารเสริมประสิทธิภาพ Barricade® ทั้ง 2 ความเข้มข้น ไม่ส่งผลกระทบต่ออัตราการตายของหนอนกินรังผึ้ง แต่ยังช่วยส่งเสริมให้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงมีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งเพิ่มสูงขึ้นอีกด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Schroer and Ehlers (2005) ที่รายงานว่าเมื่อผสมไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. carpocapsae* ร่วมกับสารจับใบและสารเหนียว (0.3 เปอร์เซ็นต์ Rimulgan® + 0.3 เปอร์เซ็นต์ polymer-xanthan; SPF) โดยมีน้ำเป็นชุดควบคุม ในอัตรา 75 IJs/ตารางเซนติเมตร พบว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ผสมกับ SPF ทำให้หนอนมีอัตราการตายสูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ และที่ความชื้น 60 เปอร์เซ็นต์ ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงอยู่รอดได้มากกว่า 20 ชั่วโมง และเมื่อความชื้นเพิ่มเป็น 80 เปอร์เซ็นต์ จะส่งผลให้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงอยู่รอดได้สูงขึ้นถึง 58 ชั่วโมง และยังสอดคล้องกับการทดลองของ Somvanshi *et al*. (2006) พบว่า สารเสริมประสิทธิภาพนั้นไม่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *H. indica* และ *Steinernema thermophilum* ซึ่งไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงทั้ง 2 ชนิด สามารถควบคุมหนอนกินรังผึ้งได้สูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 48 ชั่วโมง หลังการทดลอง โดยผสมกับสารเสริมประสิทธิภาพ APSA-80® ที่ความเข้มข้น 0.033, 0.3, 1 หรือ 2 เปอร์เซ็นต์ โดยมีน้ำเพียงอย่างเดียวเป็นชุดควบคุม และเปรียบเทียบกับการใช้น้ำผสมกับไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง พบอัตราการตายของหนอนกินรังผึ้งจากการเข้าทำลายของ *H. indica* เท่ากับ 100, 100, 25, 25, 0 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และจากการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. thermophilum* เท่ากับ 100, 100, 100, 100, 0 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การทดลองของ Shapiro-Ilan (2010) ได้รายงายว่า การผสมไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. carpocapsae* เพื่อควบคุม *Synanthedon pictipes* (Grote & Robinson) พบว่าการใช้ไส้เดือนฝอยผสมกับน้ำเพียงอย่างเดียวไม่สามารถทำให้ปริมาณของ *S. pictipes* ลดลงได้ และได้มีการนำ Barricade® มาผสมด้วยจึงพบว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสามารอยู่รอดได้ 30 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และ 11 องศาเซลเซียส ในปี ค.ศ. 2008 และ 34 องศาเซลเซียส และ 19 องศาเซลเซียส ในปี ค.ศ. 2009 และปริมาณความชื้นที่ 60 เปอร์เซ็นต์ ในปี ค.ศ. 2008 และ 53 เปอร์เซ็นต์ ในปี ค.ศ. 2009 และสอดคล้องกับการทดลองของ Hussein *et al*. (2012) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. feltiae* ที่ผสมกับ agar gel เพื่อควบคุมตัวอ่อนของด้วง Colarado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) พบว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ผสมกับ agar gel มีอัตราการตายลดลง 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่อยู่ในน้ำเพียงอย่างเดียว โดยส่วนใหญ่แล้วไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจะสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ในที่ที่มีความชื้นสูง (30 เปอร์เซ็นต์) และในกรณีที่อยู่บนผิวใบจะมีอัตราการอยู่รอดต่ำ เพราะพืชที่ปลูกส่วนมากจะอยู่ในสภาพพื้นที่โล่งแจ้ง ซึ่งมีอุณหภูมิของแสงแดดที่สูง อย่างไรก็ตามก็มีไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในวงศ์ Steinernematidae ไม่กี่สายพันธุ์ที่สามารถปรับตัวให้อยู่รอดได้ในสภาพที่ไม่มีน้ำหรือบนใบพืชได้ดี เช่น *S. carpocapsae* สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่มีแสงแดดจัดได้ดีกว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงชนิดอื่นๆ (Kung *et al*., 1991)

การทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการเข้าทำลายหนอนกระทู้ผักและหนอนใยผักนั้น ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. carpocapsae* สามารถควบคุมหนอนใยผักได้สูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ หลังการทดลองที่ 72 ชั่วโมง ซึ่งการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลอง Ganguly and Gavas (2004) ทดสอบโดยใช้ *S. thermophilum* ในการควบคุมหนอนใยผัก และสามารถควบคุมหนอนได้สูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์เช่นกัน ในขณะที่ Sasnarukkit (2003) พบว่าการใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในอัตรา $10x10^4$ ตัว/มิลลิลิตร ผสมกับกลีเซอรีน 2 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้อัตราการอยู่รอดของหนอนใยผักลดลง 67.65 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 96 ชั่วโมง และการทดลองของ และจากการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงบางชนิดสามารถควบคุมหนอนใยผักในระดับห้องปฏิบัติการได้ดี

จากการทดสอบในสภาพโรงเรือน พบว่าเดือนฝอยที่ผสมกับ 0.25% และ 0.5% Barricade® มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ผักได้เป็นอย่างดี แต่ประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผักยังไม่ชัดเจน ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากเหตุผลหลายประการ เช่น ความชื้นโดยรอบของสภาพโรงเรือน ปริมาณรังสีอัลตราไวโอเลต การระเหยแห้งโดยธรรมชาติ และลักษณะของใบพืช ซึ่งวิธีการประยุกต์ใช้ที่ดีควรฉีดพ่นในช่วงเวลา 17.00-18.00 น. ช่วงเวลาดังกล่าวนี้จะสามารถช่วยลดรังสีอัลตราไวโอเลต และการระเหยแห้งได้ ด้วยเหตุผลดังกล่าวนี้อาจจะทำให้หนอนใยผักมีอัตราการตายที่สูงขึ้น และไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงมีอัตรา

การอยู่รอดได้นานขึ้นเช่นกัน (Somvanshi *et al*., 2006) อย่างไรก็ตามผลการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Navon et al. (2002) ที่พบว่าไส้เดือนฝอยจะเข้าทำลายแมลงศัตรูพืชที่มีขนาดเล็กเช่น หนอนใยผัก ได้น้อยกว่าชนิดที่มีขนาดตัวใหญ่กว่า เช่นหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera littoralis* (Boisduval) หรือหนอนเจาะสมอฝ้าย *Helicoverpa armigera* (Hübner)

ผลการทดลองนี้ให้ผลตรงข้ามกับการทดลองของ Schroer *et al*. (2005) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. carpocapsae* เพื่อใช้ในการควบคุมหนอนใยผัก โดยผสมสารแขวนลอยไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงกับสาร SPF ทดลองในสภาพโรงเรือน พบว่าไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงมีความสามรถในการควบคุมหนอนใยผักได้เป็นผลสำเร็จ ซึ่งสามารถควบคุมได้ มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ หลังการทดลองที่ 7 วัน และ 45 เปอร์เซ็นต์ หลังการทดลองที่ 14 วัน และยังแตกต่างกับการทดลองของ Somvanshi *et al*. (2006) โดยใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. thermophilum* จำนวน 3 ความเข้มข้น คือ 1,000, 2,000 หรือ 3,000 IJs ผสมกับสารเสริมประสิทธิภาพ APSA-80® เข้มข้น 0.33 เปอร์เซ็นต์ โดยมีน้ำเป็นชุดควบคุม และเปรียบเทียบการทดลองกับการใช้สารเคมี Lambda Cyahalothrin ความเข้มข้น 0.0025 เปอร์เซ็นต์ เพื่อควบคุมหนอนใยผัก ในสภาพธรรมชาติ พบว่า ในปี 2002-2003 หนอนใยผักมีอัตราการอยู่รอดที่ 34.5, 38.8, 45.9 และ 33.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 7.5-22.3 องศาเซลเซียส และในปี 2003-2004 พบอัตราการอยู่รอดที่ 35.7, 42.1, 46.1 และ 46.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 4.0-12.8 องศาเซลเซียส

# สรุป

ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในชุดควบคุมและไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ผสมกับ APSA-80® มีแนวโน้มของอัตราการรอดชีวิตค่อยๆ ลดลง จากช่วงเวลา 60-180 นาที หลังการฉีดพ่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงบนใบพืช ในขณะที่เมื่อผสมไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงกับ Barricade® จะพบว่าอัตราการรอดชีวิตของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *S. carpocapsae* และ *S.* isolate K8 เพิ่มสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ไส้เดือนฝอย 2 ชนิดยังคงพบไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีชีวิตมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ในทั้งสองความเข้มข้นหลังการฉีดพ่นผ่านไป 180 นาที และเมื่อคัดเลือกไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเพียง 2 ชนิด (*S. carpocapsae* และ *S.* isolate K8) ที่ผสมกับ Barricade® เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้ง พบว่า ส่วนใหญ่ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่ผสมกับ Barricade® มีจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่เข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งสูงและไม่แตกต่างกับชุดควบคุม ยกเว้น *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ 0.25% Barricade® และจากการศึกษาพบว่า Barricade® มีความเหมาะสมที่จะนำมาประยุกต์ใช้ร่วมกับไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชที่ทำลายและอาศัยอยู่บนใบพืชต่อไป ซึ่ง Barricade® นั้นไม่มีผลกระทบต่อการเข้าทำลายหนอนกระทู้ผักและหนอนใยผัก แต่ในทางกลับกันยังสามารถที่จะช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนทั้ง 2 ชนิดในสภาพห้องปฏิบัติการให้สูงขึ้นอีกด้วย ไส้เดือนฝอยที่ผสมกับ Barricade® ช่วยส่งเสริมให้ประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนกระทู้ผักในสภาพโรงเรือนเพิ่มสูงขึ้น แต่สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่จะควบคุมหนอนใยผักยังไม่สามารถยืนยันประสิทธิภาพได้ อาจเนื่องจากความชื้นของสภาพโรงเรือน อุณหภูมิ สภาพอากาศ รังสีอัลตราไวโอเลต และระเหยแห้งโดยธรรมชาติ

# เอกสารและสิ่งอ้างอิง


บัญชา ชินศรี, นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด, วัชรี สมสุข และพิมลพร นันทะ. 2542. อิทธิพลของอุณหภูมิต่อการอยู่รอดและการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* (All strain), น. 333-337. *ใน* การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 37. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วัชรี สมสุข. 2544. ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเพื่อการป้องกันกำจัดศัตรูพืช, น. 185-199. *ใน* สุวัฒน์ รวยอารีย์, บรรณาธิการ. เทคโนโลยีทางเลือกสำหรับไอพีเอ็ม, รายงานผลการดำเนินงานการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน ครั้งที่ 4. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

Barricade International. 2013. Barricade fire blocking gel “Save Your World”. Available source: firegel.com, March 06, 2014.

Ganguly S. and R. Gavas. 2004. Host range of entomopathogenic nematode, *Steinernema thermophilum* (Steinernematidae: Rhabditida). Int. J. Nematol. 14: 21-228.

Hussein, H.M., M.M. Adel and I. Gelbic. 2012. Effectiveness of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* in agar gel formulations against larvae of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say.) (Coleoptera: Chrysomelidae). Cent. Eur. J. Biol. 7(1): 77-82.

Jin, Y., R. Han and B. Cong. 2004. Effects of application parameters and adjuvants on the foliar survival and persistence of entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* all strain on cabbages. Insect Science 11: 99-112.

Kaya, H.K. and S.P. Stock. 1997. Techniques in insect nematology, pp. 281-324. In: Lacey, L.A. (Ed.), Manual of Techniques in Insect Pathology. Academic Press, San Diego, CA,

Kung, S.P., R. Gaugler and H.K. Kaya. 1991. Effects of soil temperature, moisture and relative humidity on entomopathogenic nematode persistence. J. Invertebr. Pathol. 57: 242-249.

Lacey, L.A., D.I. Shapiro-Ilan and G.M. Glenn. 2010. Post-application of anti-desiccant

agents improves efficacy of entomopathogenic nematodes in formulation host cadavers or aqueous suspension against diapausing codling moth larvae moth (Lepidoptera: Tortricidae). Biocontrol Sci. Technol. 20(9): 909-921.

Mukherjee, I., D. Haldar, S. Ghosh, and S.P. Moulik. 2009. Physicochemical studies on an all-purpose pesticide spray adjuvant-(APSA-80™). J. Dispersion Sci. Technol. 30: 1430-1441.

Navon, A., V.K. Nagalakshmi, L. Shlomit, L. Salame and I. Glazer. 2002. Effectiveness of entomopathogenic nematodes in an alginate gel formulation against lepidopterous pests, Biocontrol Sci. Technol. 12: 737-746.

Noosidum, A., A.K. Hodson, E.E. Lewis and A. Chandrapatya. 2010. Characterization of new entomopathogenic nematodes from Thailand: foraging behavior and virulence to the Greater wax moth, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). J. Nematol. 42(4): 281-291.

Noosidum, A. 2011. Characterization of New Entomopathogenic Nematodes from Thailand: Foraging Behaviors and Their Virulence to Selected Agricultural Pests. Ph.D. Thesis, Kasetsart University.

Sasnarukkit, A. 2003. Efficacy of an Entomopathogenic Nematode, *Steinernema siamkayai* Stock, Somsook and Reid on Controlling Diamondbak Moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus). Ph.D. Thesis, Kasetsart University.

Schroer, S. and R.U. Ehlers. 2005. Foliar application of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* for biological control of diamondback moth larvae (*Plutella xylostella*). Biological Control 33: 81-86.

Shapiro-Ilan, D.I., D.H. Gouge, S.J. Piggott and J.P. Fife. 2006. Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. Biol. Control 38: 124-133.

Shapiro-Ilan, D.I., T.E. Cottrell, R.F. Mizell, D.L. Horton, R.W. Behle and C.A. Dunlap. 2010. Efficacy of *Steinernema carpocapsae* for control of the lesser peachtree borer, *Synanthedon pictipes*: Improved aboveground suppression with a novel gel application. Biological Control 54: 23-28.

Somvanshi, V.S., S. Ganguly and A.V.N. Paul. 2006. Field efficacy of the

entomopathogenic nematode *Steinernema thermophilum* Ganguly and Singh (Rhabditida: Steinernematidae) against diamondback moth (*Plutella xylostella* L.) infesting cabbage. Biol. Control 37: 9-15.

**Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.**

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ

**Noosidum,** A., P. Satwong, A. Chandrapatya and E.E. Lewis. 2016. Efficacy of *Steinernema* spp. plus anti-desiccants to control two serious foliage pests of vegetable crops, *Spodoptera litura* F. and *Plutella xylostella* L. Biol. Control 97: 48-56.

2. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

- เชิงสาธารณะ

บรรยายในหัวข้อ การเพาะเลี้ยงและการใช้จุลินทรีย์ป้องกันกำจัดแมลง ให้กับเกษตรกรและบุคคลทั่วไป ในงานเกษตรแฟร์แห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน ประจำปี 2556 ณ อาคารวชิรานุสรณ์ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บรรยายในหัวข้อแมลงศัตรูพืชผักอินทรีย์ และการป้องกันกำจัดโดยใช้จุลินทรีย์ให้กับเกษตรกรสมาชิกกลุ่มผู้ปลูกผักอินทรีย์บ้านแสนรักษ์ ในเขตพื้นที่อำเภอสามพราน และอำเภอสามควายเผือก จังหวัดนครปฐม ในช่วงปี พ.ศ. 2558-2559

- เชิงวิชาการ

พัฒนาการเรียนการสอนในหน่วยงานต้อนสังกัด ในรายวิชาต่อไปนี้ วิชาโรควิทยาของแมลง วิชาการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน วิชาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเพื่อการเกษตร วิชาจุลินทรีย์ก่อโรคและผลิตภัณฑ์ วิชาโรควิทยาของแมลง เป็นต้น

สร้างนักวิจัยรุ่นใหม่ในระดับปริญญาโท 1 คน โดยศึกษาวิจัยในหัวข้อที่เกี่ยวข้องและมีผลงานวิจัยคือ ประสิทธิภาพของเจลชนิดใหม่และสารจับใบต่ออัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในระดับห้องปฏิบัติการ

3. อื่นๆ (เช่น ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการในประเทศ การเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการ หนังสือ การจดสิทธิบัตร)

ภัททิรา ศาตร์วงษ์, อธิราช หนูสีดำ และอังศุมาลย์ จันทราปัตย์. 2556. ประสิทธิภาพของเจลชนิดใหม่และสารจับใบต่ออัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในระดับห้องปฏิบัติการ, หน้า 65-74. ใน: เรื่องเต็มการประชุมอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 11 “อารักขาพืชไทย ก้าวไกลในประชาคมอาเซียน”, 26-28 พฤศจิกายน 2556, ขอนแก่น, ราชอาณาจักรไทย.

# ภาคผนวก

Biological Control 97 (2016) 48–56

Contents lists available at ScienceDirect

Biological Control

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ybcon

# Efficacy of *Steinernema* spp. plus anti-desiccants to control two serious foliage pests of vegetable crops, *Spodoptera litura* F. and *Plutella xylostella* L.

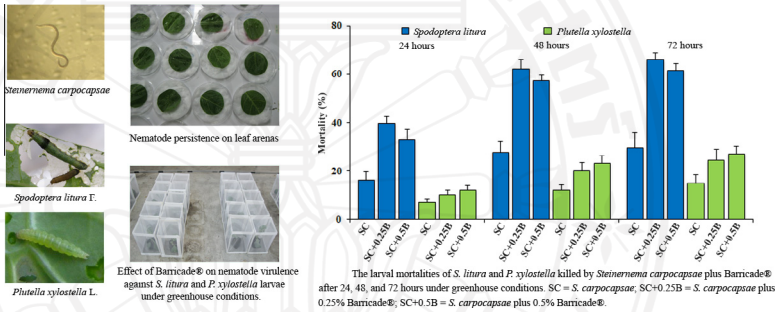
Atirach Noosidum [a,*], Pattira Satwong [a], Angsumarn Chandrapatya [a], Edwin E. Lewis [b]

[a] Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand
[b] Department of Entomology and Nematology, University of California, Davis, CA 95616, USA

## HIGHLIGHTS

- Persistence of EPNs plus anti-desiccants applied to kale leaf discs was determined.
- Virulence of EPNs plus Barricade® against two insect larvae was evaluated.
- Survival rate of EPNs was enhanced when they were applied with Barricade®.
- *S. carpocapsae* significantly increased infection to *S. litura* larvae by Barricade®.
- Barricade® protected EPNs from rapid desiccation after application on plant leaves.

## GRAPHICAL ABSTRACT




## ARTICLE INFO

*Article history:*
Received 7 April 2015
Revised 2 March 2016
Accepted 7 March 2016
Available online 7 March 2016

*Keywords:*
*Steinernema*
*Spodoptera litura*
*Plutella xylostella*
Surfactant
Fire retardant gel

## ABSTRACT

Survival rates of the infective juvenile stage (IJ) of two entomopathogenic nematodes (EPN), *Steinernema carpocapsae* and *Steinernema* sp. isolate K8 (Thai isolate), plus a surfactant of 0.2% and 0.4% APSA-80™, a fire retardant gel of 0.25% and 0.5% Barricade®, and tap water were investigated by spraying the EPN suspensions (200 IJs) onto kale leaf discs. Three hours after incubation, the survival rates of the EPNs plus 0.25% and 0.5% Barricade® (80.2–85.0%) were significantly higher than all other treatments (12.9–70.1%). The infectivity of the two EPNs plus 0.25% and 0.5% Barricade® against third-instar *Spodoptera litura* F. and *Plutella xylostella* L., which were evaluated by spraying 100 IJs/50 µl onto a 1 cm kale leaf disc in the laboratory, were 82.5–100% 72 h after application. In greenhouse tests, the infectivity of *S. carpocapsae* plus 0.25% and 0.5% Barricade® against third-instar *S. litura* and *P. xylostella* was evaluated by spaying 2500 IJs/15 ml/plant and assessing mortality after 72 h. The results showed that the mortality rates of *S. litura* larvae in the *S. carpocapsae* plus 0.25% or 0.5% Barricade® treatment (66.0% and 61.5%, respectively) were significantly higher than in the *S. carpocapsae* plus tap water treatment (29.5%) and also resulted in significantly less leaf damage (11.0–11.1%) compared to control treatments (33.8–61.6%). A significant difference between the mortality rates of *P. xylostella* larvae (15.0–27.0%) and the percentages of leaf damage (7.1–11.0%) were also recorded for the same two treatments. Overall results were similar to previous studies which showed that fire retardant gel (Barricade®) can improve EPN virulence when they are applied to control these two insect pests. Barricade® could protect EPNs from rapid desiccation for at least 3 h following application.

© 2016 Elsevier Inc. All rights reserved.

* Corresponding author at: Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, 50 Ngam Wong Wan Rd., Latyao, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand.
*E-mail address:* fagrarn@ku.ac.th (A. Noosidum).

http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.03.004
1049-9644/© 2016 Elsevier Inc. All rights reserved.

## 1. Introduction

The common cutworm or tobacco cutworm, *Spodoptera litura* F. (Lepidoptera: Noctuidae) and the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) are two economically important insect pests worldwide, especially in the tropics, temperate zones, and other warm environments (Ahmad et al., 2007; Choudhary et al., 2014). These pests are specialists on vegetables in the family Brassicaceae such as cabbage, broccoli, cauliflower, collards, kale, and radish, as they are adapted to overcome the mustard oil and glycosides produced by these plants (Ahmad et al., 2007). Controlling these insect pests currently depends mainly on chemical insecticides. However, outbreaks of both pests and field control failures have been documented frequently in Asia, mainly due to insecticide resistance (Kranthi et al., 2002; Satpathy et al., 2005; Ahmad et al., 2007). The larval stage of *Plutella xylostella* was the first insect pest to develop resistance to *Bacillus thuringiensis*-based products (Kirsch and Schmutterer, 1988).

Biological control methods to reduce reliance on chemical insecticide applications are continuing to be developed (Shapiro-Ilan et al., 2010, 2015; Choudhary et al., 2014). Entomopathogenic nematodes (EPN) (Heterorhabditidae and Steinernematidae) have been commonly used as biological control agents (Grewal et al., 2005; Shapiro-Ilan et al., 2010, 2015), and they are commercially available (Grewal et al., 2005). Entomopathogenic nematodes in the genera *Steinernema* and *Heterorhabditis*, and their symbiotic bacteria (*Xenorhabdus* spp. and *Photorhabdus* spp., respectively) are lethal endoparasites of soil-borne insects. They are found in soils as non-feeding infective juveniles (IJ) (Poinar, 1990; Lewis and Clarke, 2012). These IJs enter the insect host through natural body openings or through the host cuticle, then penetrate into the host hemocoel, and release their associated bacteria that kill the host within 24–48 h of infection (Poinar, 1990; Lewis and Clarke, 2012). Several species of EPNs have been used commercially for biological control of insect pests and they are harmless to vertebrates and plants (Grewal et al., 2005).

In most cases, EPNs are formulated in various commercial products and applied mixed with water, and sometimes combined with other biological control agents or insecticides, to protect several crops (Grewal, 2002). However, EPN applications to foliage have several limitations that have limited their efficacy. Inconsistent results may be attributed to inappropriate handling of these living organisms, but they are also sensitive to diverse abiotic and biotic factors that affect their infectivity and persistence, including UV-light exposure and desiccation (Georgis and Gaugler, 1991; Kaya and Koppenhöfer, 1996; Shapiro-Ilan et al., 2006; Hussein et al., 2012; Lewis et al., 2015).

Applications of EPNs to foliage would greatly expand their use, and work on specialized formulations and application methodologies may increase their efficacy against foliar-feeding pests. In Thailand, vegetable production relies on chemical pesticide applications, which have resulted in insecticide resistance, environmental damage and hazards to natural enemies and other non-target organisms, including humans. Currently, approximately six imported EPN species, (*Steinernema carpocapsae* (Weiser) is the most common) and few endemic strains of Thai EPNs are being used in Thailand to control insect pests in organic farming (Noosidum et al., 2010). Although numerous species of insect larvae are susceptible to EPN infection, the larvae of *S. litura* and *P. xylostella* have not been targeted for EPN application because they are foliar feeders and EPN application against foliar pests has been largely unsuccessful in field trials (Grewal and Georgis, 1999; Shapiro-Ilan et al., 2006).

Protective formulations and anti-desiccants have been proposed to increase EPN survival on foliage. For example, EPNs applied together with an array of adjuvants (MacVean et al., 1982; Glazer et al., 1992; Baur et al., 1997; Schroer and Ehlers, 2005; Beck et al., 2013), including the surfactant Rimulgan and 0.3% polymer xanthan, the surfactant–polymer formulation (SPF) (Schroer and Ehlers, 2005), an alginate gel (Navon et al., 2002) and a fire retardant gel (Shapiro-Ilan et al., 2006, 2010, 2015) have been proposed to enhance EPN efficacy in foliar applications. Our objective was to compare EPN persistence and effectiveness when combined with various concentrations of two anti-desiccants (APSA-80™ and Barricade®).

## 2. Materials and methods

### 2.1. Nematode preparation

Two EPN strains were used in this study: a commercial strain of *S. carpocapsae* (Nema-DOA, DOA, Thailand) received from the Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Thailand, and a new Thai strain (*Steinernema* sp. isolate K8) (Noosidum et al., 2010) maintained at the Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Thailand.

*Steinernema* sp. isolate K8 was maintained in the laboratory by cycling through *Galleria mellonella* L. larvae every 4 weeks (Kaya and Stock, 1997). Approximately 500 IJs were applied to a 4.5 cm diam Petri dish lined with filter paper containing five last-instar *G. mellonella*. The Petri dishes were incubated for 3 days at 25 ± 2 °C; 75 ± 5 %RH. The infected larvae were then transferred onto a modified white trap (White, 1927). The IJs emerging from the insect cadavers were collected in distilled water and stored in tissue culture flasks between 15 and 20 °C. The IJs were used for subsequent studies within 2–4 weeks of emerging from their host.

### 2.2. Persistence of S. carpocapsae and Steinernema sp. on leaf discs

One kale leaf disc (4.5 cm diam) was placed into a 9 cm diam Petri dish lined with moist cotton. Nematode suspensions were prepared by mixing with tap water or a surfactant (0.2% or 0.4% APSA-80™, 80% Nonionic Surfactant, Amway (Thailand) Co., Ltd.) or a fire retardant gel (0.25% or 0.5% Barricade®, Barricade International, Inc. Hobe Sound FL) to prevent desiccation. Each EPN suspension contained 200 IJs/250 μl, and was applied to a kale leaf disc with a manual plastic sprayer and held at 25 ± 2 °C; 75 ± 5 % RH. Ten replicates were set up for each treatment and this experiment was conducted twice. The numbers of living EPNs in all treatments were recorded after 60, 120, and 180 min.

### 2.3. Effect of a fire retardant gel on the infectivity of S. carpocapsae and Steinernema sp. IJs on S. litura and P. xylostella larvae under laboratory conditions

#### 2.3.1. Insect cultures

S. litura and *P. xylostella* larvae were originally collected from a cabbage field in the Nonthaburi province, Thailand. The resulting colony of *S. litura* was maintained on an artificial diet and the colony of *P. xylostella* was maintained on clean cabbage leaves (renewed daily) under laboratory conditions at 25 ± 2 °C; 75 ± 5 % RH with a photoperiod of 12:12 (L:D). The adults were fed 20% glucose solution through a cotton wick and eggs laid by the adults were transferred to separate rearing containers. Third-instar larvae of the insects were used for these studies.

*2.3.2. Test procedure*

Both concentrations of the fire retardant gel were selected to study further since the two concentrations of Barricade® were more effective than APSA-80™ in the prior test. The effects of the selected anti-desiccants (0.25% and 0.5% Barricade®) on the infectivity of *S. carpocapsae* and *Steinernema* sp. isolate K8 against third-instar *S. litura* and *P. xylostella* were assessed using a leaf disc bioassay. An EPN suspension containing 100 IJs/50 µl was sprayed into an insect rearing cup (3.5 cm diam) containing a thin layer of 2% agar and lined with a 3.5 cm diam kale leaf disc. One third-instar *S. litura* or *P. xylostella* larva was placed into each cup, after which the dish was covered and held at 25 ± 2 °C; 75 ± 5 %RH. Ten replicates were conducted for each treatment and this experiment was conducted four times. Mortality rates of insect larvae were recorded after 24, 48, and 72 h.

*2.4. Effect of a fire retardant gel on virulence of S. carpocapsae against S. litura and P. xylostella larvae under greenhouse conditions*

Individual 6 week-old kale plants were held in nylon cages (15 × 15 × 30 cm), and 10 third-instar *S. litura* or *P. xylostella* larvae were placed on each plant. Approximately one hour after the larvae were released, the selected EPN suspension was applied to the foliage with a manual plastic sprayer after sunset at 25 ± 5 °C; 70 ± 10 %RH. Ten replicates were conducted for each treatment and this experiment was conducted twice. Mortality rates of *S. litura* or *P. xylostella* larvae were recorded at 24, 48 and 72 h after application and a photograph of each damaged leaf was taken every 24 h using the ImageJ program version 1.48 to record the amount of damage.

*2.5. Statistical analyses*

The numbers of IJs from the persistence experiment (Section 2.2) were analyzed by two-way ANOVA (SPSS® version 15.0 for Windows); the main effects were nematode species and anti-desiccant treatment. Insect mortalities and the amount of leaf area damage (Sections 2.3 and 2.4) were subjected to one-way ANOVA, after which Tukey's multiple range tests was employed to compare the treatment means when significant differences were reported overall. Arcsine transformation was used on all proportional data before statistical analyses.

## 3. Results

*3.1. Persistence of S. carpocapsae and Steinernema sp. on leaf discs*

Sixty minutes after spraying, IJ persistence was significantly influenced both by the EPN species ($F = 58.6$; df = 1, 160; $P < 0.001$) and the anti-desiccants ($F = 366.8$; df = 3, 160; $P < 0.001$), with a significant interaction between the two factors ($F = 111.5$; df = 3, 160; $P < 0.001$). Significant differences in EPN survival rates were detected among the EPNs plus surfactant, fire retardant gel, and tap water treatments ($F = 242.0$; df = 9, 190; $P < 0.001$) (Fig. 1A). The survival rates of *S. carpocapsae* plus 0.25% and 0.5% Barricade® (87.2% and 92.9%, respectively) were significantly higher than EPNs plus tap water alone, 0.2% and 0.4% APSA-80™ (36.6–55.1%, respectively). All survival rates of *Steinernema* sp. isolate K8 exceeded 82.0%, except when mixed with 0.4% APSA-80™ (54.3%).

After 120 min, IJ persistence was significantly influenced by the anti-desiccants ($F = 215.8$; df = 3, 160; $P < 0.001$) whereas both EPN species responded in the same way ($F = 0.3$; df = 1, 160; $P = 0.612$). There was also a significant interaction between the two factors ($F = 34.2$; df = 3, 160; $P < 0.001$). Differences in nematode survival rates among treatment combinations were also observed ($F = 110.9$; df = 9, 190; $P < 0.001$) (Fig. 1B). Treatments of EPNs plus 0.25% and 0.5% Barricade® had significantly higher survival rates (80.5–92.7%, respectively) than other treatments which, ranged from 43.7 to 63.6%, except *Steinernema* sp. isolate K8 plus tap water (83.2%).

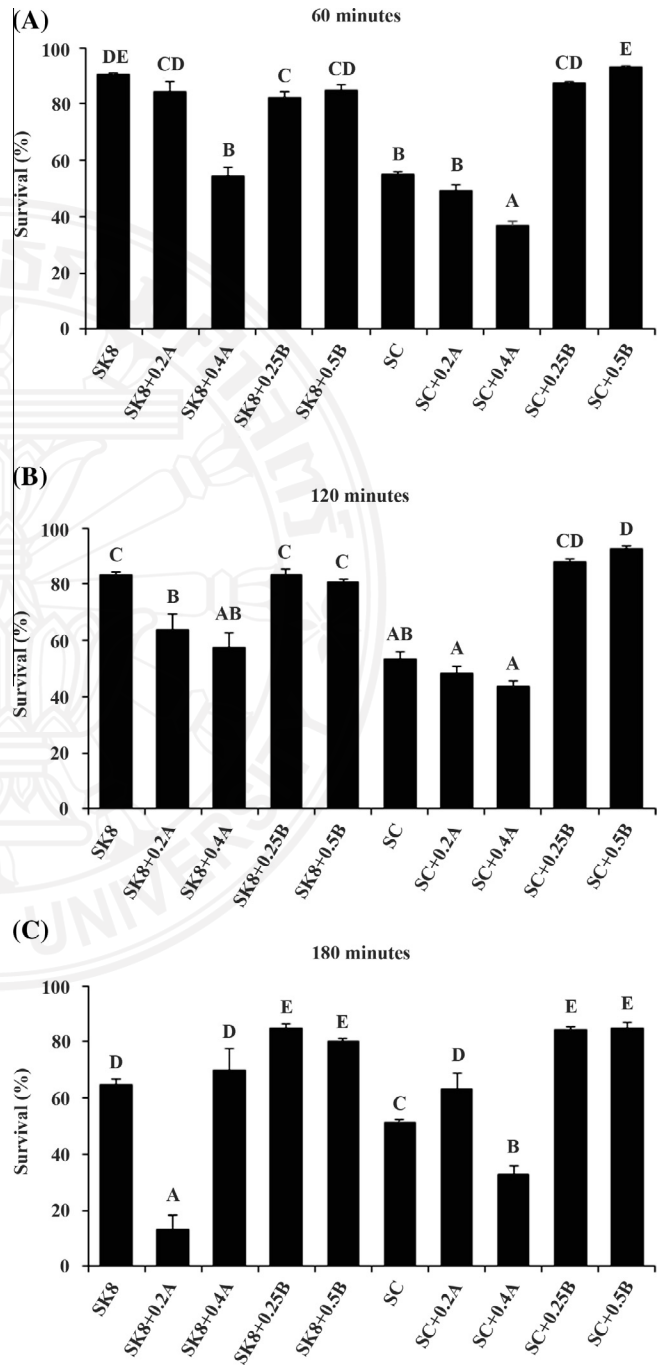



**Fig. 1.** Survival rates of *Steinernema carpocapsae* and *Steinernema* sp. isolate K8 plus APSA-80™ and Barricade® sprayed onto kale leaf discs (A) 60 min, (B) 120 min, and (C) 180 min after application. The same letters above the bars indicate no significant difference among means at $P = 0.05$. Bars show standard error of the mean. SK8 = *Steinernema* sp. isolate K8; SK8 + 0.2A = *Steinernema* sp. isolate K8 plus 0.2% APSA-80™; SK8 + 0.4A = *Steinernema* sp. isolate K8 plus 0.4% APSA-80™; SK8 + 0.25B = *Steinernema* sp. isolate K8 plus 0.25% Barricade®; SK8 + 0.5B = *Steinernema* sp. isolate K8 plus 0.5% Barricade®; SC = *S. carpocapsae*; SC + 0.2A = *S. carpocapsae* plus 0.2% APSA-80™; SC + 0.4A = *S. carpocapsae* plus 0.4% APSA-80™; SC + 0.25B = *S. carpocapsae* plus 0.25% Barricade®; SC + 0.5B = *S. carpocapsae* plus 0.5% Barricade®.

At 180 min after incubation, IJ survival was significantly influenced by the anti-desiccants ($F = 155.9$; df = 3, 160; $P < 0.001$) while EPN species responded in the same way ($F = 2.7$; df = 1, 160; $P = 0.101$). There was also a significant interaction between the two factors ($F = 83.1$; df = 3, 160; $P < 0.001$). The survival rates of EPNs plus 0.25% and 0.5% Barricade® were significantly higher than all other treatments ($F = 100.9$; df = 9, 190; $P < 0.001$) with 80.2–85.0% while survival rates in the other treatments were <70.1% (Fig. 1C).

### 3.2. Effect of a fire retardant gel on infectivity of S. carpocapsae and Steinernema sp. IJs against S. litura and P. xylostella larvae under laboratory conditions

No larval mortality of *S. litura* and *P. xylostella* was observed in control treatments sprayed only with tap water, 0.25% Barricade® or 0.5% Barricade®. Twenty-four hours after spraying, mortality rates of *S. litura* larvae differed significantly among treatments ($F = 23.7$; df = 8, 27; $P < 0.001$) (Fig. 2A). The mortality rates of *S. litura* larvae treated with *S. carpocapsae* plus 0.25% Barricade® (82.5%) were significantly higher than all other treatments (5.0–57.5%). After 48 h, only *S. carpocapsae* plus 0.25% Barricade® (100%) and *S. carpocapsae* plus tap water (100%) induced significantly higher mortality rates in *S. litura* larvae than *Steinernema* sp. isolate K8 treatments (70.0–77.5%) ($F = 36.9$; df = 8, 27; $P < 0.001$) (Fig. 2B). After 72 h, no differences in mortality rates were observed among EPN treatments but EPN treatments all caused significantly more mortality than the controls ($F = 34.3$; df = 8, 27; $P < 0.001$) (Fig. 2C). Mortality rates of *S. litura* larvae infected by *Steinernema* sp. isolate K8 plus Barricade® increased from 70.0% earlier at 48 h to 82.5–87.5% at 72 h after application, while the mortality rates of *S. litura* larvae infected by *S. carpocapsae* plus Barricade® increased from 92.5 to 100% at 48 h to 97.5–100% at 72 h after application.

Twenty-four hours after application, significant differences in mortality rates of *P. xylostella* larvae were detected among treatments ($F = 5.2$; df = 8, 27; $P < 0.001$) (Fig. 3A). Mortality of *P. xylostella* larvae induced by *S. carpocapsae* and *S. carpocapsae* plus 0.25% Barricade® (35.0%) were significantly higher than mortality induced by *Steinernema* sp. isolate K8 plus tap water (5.0%), whereas the mortality rates in other treatments were 15–25%. After 48 h, the mortality rates of *P. xylostella* larvae in all three *S. carpocapsae* treatments (90.0–95.0%) were significantly higher ($F = 25.8$; df = 8, 27; $P < 0.001$) than all three *Steinernema* sp. isolate K8 treatments (40.0–50.0%) (Fig. 3B). Similar results were observed at 72 h after treatment, where significant differences in mortality rates were detected ($F = 45.2$; df = 8, 27; $P < 0.001$). The mortality rates of *P. xylostella* larvae in all three *S. carpocapsae* treatments (97.5–100%) were significantly higher than *Steinernema* sp. isolate K8 plus tap water treatment (60.0%) (Fig. 3C).

### 3.3. Effect of fire retardant gel on virulence of S. carpocapsae against S. litura and P. xylostella larvae under greenhouse conditions

Differences in mortality rates of *S. litura* larvae 24 h after application were detected among *S. carpocapsae* plus Barricade® and *S. carpocapsae* plus tap water treatments ($F = 33.1$; df = 4, 95; $P < 0.001$). The mortality rates of *S. litura* larvae in *S. carpocapsae* plus 0.25% and 0.5% Barricade® treatments (39.5% and 33.0%, respectively) were significantly higher than *S. carpocapsae* plus tap water (16.0%) (Fig. 4). The percentages of leaf damage caused by *S. litura* after they were sprayed with *S. carpocapsae* plus 0.25% and 0.5% Barricade® treatments (2.02% and 2.4%, respectively) were significantly lower ($F = 9.9$; df = 4, 95; $P < 0.001$) when compared with control treatments (4.6–6.0%) (Fig. 5). Forty-eight hours after application, the mortality rates of *S. litura* larvae treated with *S. carpocapsae* plus 0.25% and 0.5% Barricade® treatments (62.0% and 57.5%) were significantly higher ($F = 50.9$; df = 4, 95; $P < 0.001$) than *S. carpocapsae* plus tap water (27.5%) (Fig. 4). In addition, treatment with *S. carpocapsae* plus 0.25% and 0.5% Barricade® treatment resulted in significantly less leaf damage caused by *S. litura* larvae (5.6% and 6.3%) than when compared with control treatments (14.9–23.3%) ($F = 18.8$; df = 4, 95; $P < 0.001$) (Fig. 5). The same result was observed 72 h after treatment ($F = 55.9$; df = 4, 95; $P < 0.001$); mortality rates of *S. litura* larvae induced by *S. carpocapsae* plus 0.25% and 0.5% Barricade® were 66.0% and 61.5%, respectively, which were significantly higher than *S. carpocapsae* plus tap water (29.5%) (Fig. 4). Moreover, *S. carpocapsae* plus 0.25% and 0.5% Barricade® resulted in significantly less ($F = 21.15$; df = 4, 95; $P < 0.001$) percentage of leaf damage (11.0% and 11.1%) when compared with control treatments (33.8–61.6%) (Fig. 5).

The mortality rates of *P. xylostella* larvae in greenhouse tests 24 h after application showed no treatment effects ($F = 1.5$; df = 4, 95; $P = 0.218$). Forty-eight hours after application, there were treatment effects: EPN treatments caused significantly higher mortality rates of *P. xylostella* larvae than control treatments ($F = 7.5$; df = 4, 95; $P = 0.001$) (Fig. 6). The percentages of leaf damage after treatment with *S. carpocapsae* plus 0.25% and 0.5% Barricade® (3.9–7.5%) were significantly less than water treatments ($F = 4.4$; df = 4, 95; $P < 0.001$) (Fig. 7). The same result was observed 72 h after treatment, where the differences in mortality rate ($F = 9.3$; df = 4, 95; $P < 0.001$) of *P. xylostella* larvae using *S. carpocapsae* plus 0.5% Barricade® (15.0–27.0%) were greater than both control treatments (Fig. 6), but leaf damage did not differ significantly among treatments ($F = 0.9$; df = 4, 95; $P = 0.4$) (Fig. 7).

## 4. Discussion

Nematode survival and pathogenicity depend upon various factors including temperature, moisture content, relative humidity, nematode foraging strategies, insect species, host location, soil conditions, climate (Glazer and Lewis, 2000) and application methods (Shapiro-Ilan et al., 2006). Thus, ecological studies to describe the potential attributes and liabilities of EPN application methods before field trials can increase the odds of successful pest management (Shapiro-Ilan et al., 2006). For example, warm temperatures can reduce EPN survival due to an increased rate of desiccation and inhibited EPN development. This, in turn, can affect negatively EPN success controlling foliage-feeding insects in the field where temperatures often exceed 30 °C (Shapiro-Ilan et al., 2006, 2010; Hussein et al., 2012). Relative humidity also affects nematode survival; *Steinernema glaseri* and *S. carpocapsae* IJs survived for 32 days at 100% RH whereas at 25% relative humidity their survival rates decreased to 4 h and 2 days, respectively (Kung et al., 1991). Efficacy of EPNs in foliage applications can be limited due to harmful effects of UV radiation and desiccation (Shapiro-Ilan et al., 2006; Hussein et al., 2012), but anti-desiccants and some adjuvants have been reported to decrease UV damage and desiccation (Hollingsworth, 2005; Somvanshi et al., 2006; Mukherjee et al., 2009; Hussein et al., 2012).

This study tested EPN persistence on leaf discs when combined with APSA-80™ or Barricade® under laboratory and greenhouse conditions. When applied to foliage, the survival rate of EPNs plus Barricade® exceeded that of EPNs plus APSA-80™. Our results with Barricade® support the idea that EPN efficacy on surfaces can be enhanced using this material (Lacey et al., 2010; Shapiro-Ilan et al., 2010, 2015). Barricade® is an anti-desiccant polymer with water swelling capacity and can provide EPNs with moisture for an extended period (Hussein et al., 2012). Moreover, the concentration of Barricade® (0.25% and 0.5%) used in this study had no

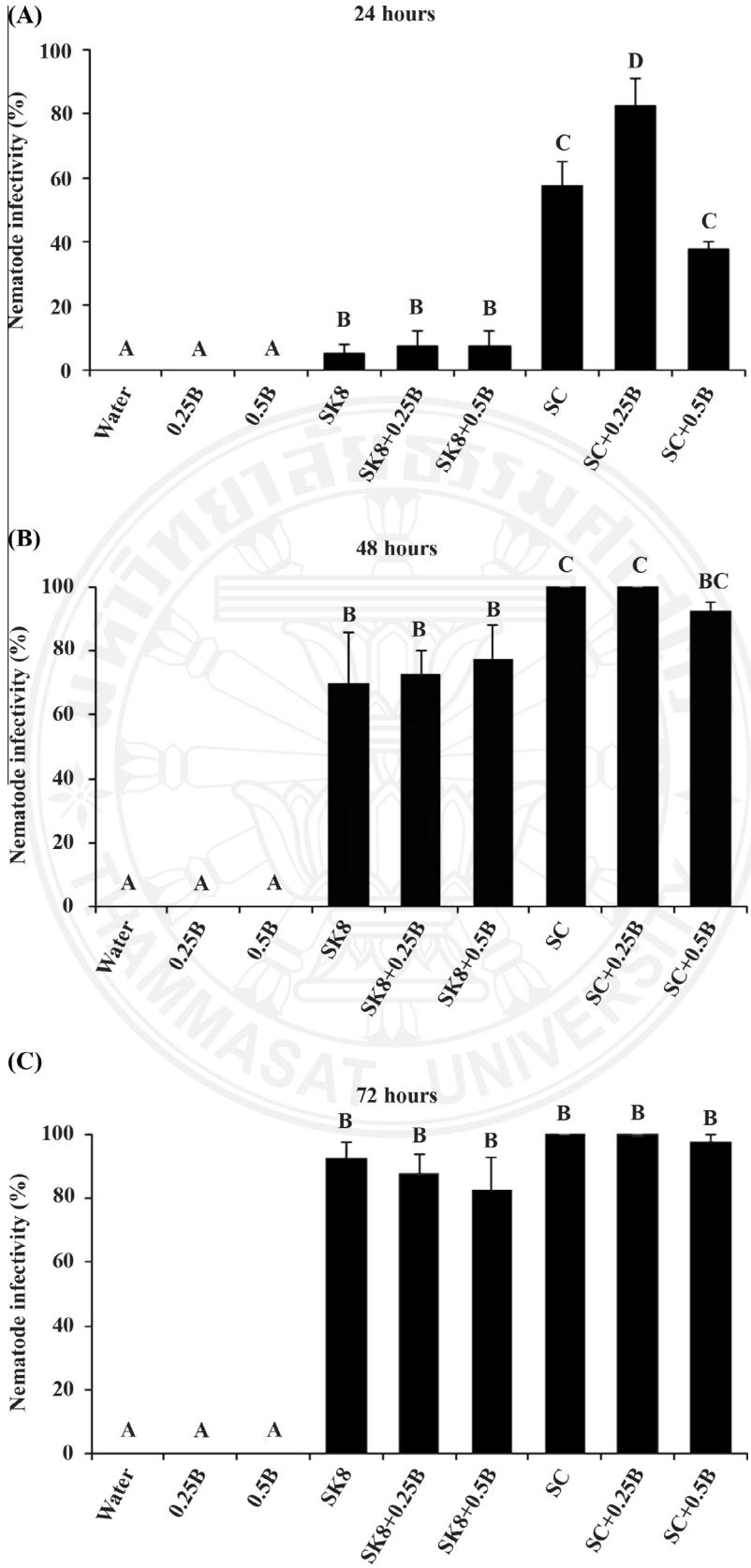



**Fig. 2.** The infectivity of *Steinernema carpocapsae* and *Steinernema* sp. isolate K8 plus Barricade® against *Spodoptera litura* larvae (A) 24 h, (B) 48 h, and (C) 72 h. The same letters above the bars indicate no significant difference among means at $P = 0.05$. Bars show standard error of the mean. Water = tap water; 0.25B = tap water plus 0.25% Barricade®; 0.5B = tap water plus 0.5% Barricade®; SK8 = *Steinernema* sp. isolate K8; SK8 + 0.25B = *Steinernema* sp. isolate K8 plus 0.25% Barricade®; SK8 + 0.5B = *Steinernema* sp. isolate K8 plus 0.5% Barricade®; SC = *S. carpocapsae*; SC + 0.25B = *S. carpocapsae* plus 0.25% Barricade®; SC + 0.5B = *S. carpocapsae* plus 0.5% Barricade®.

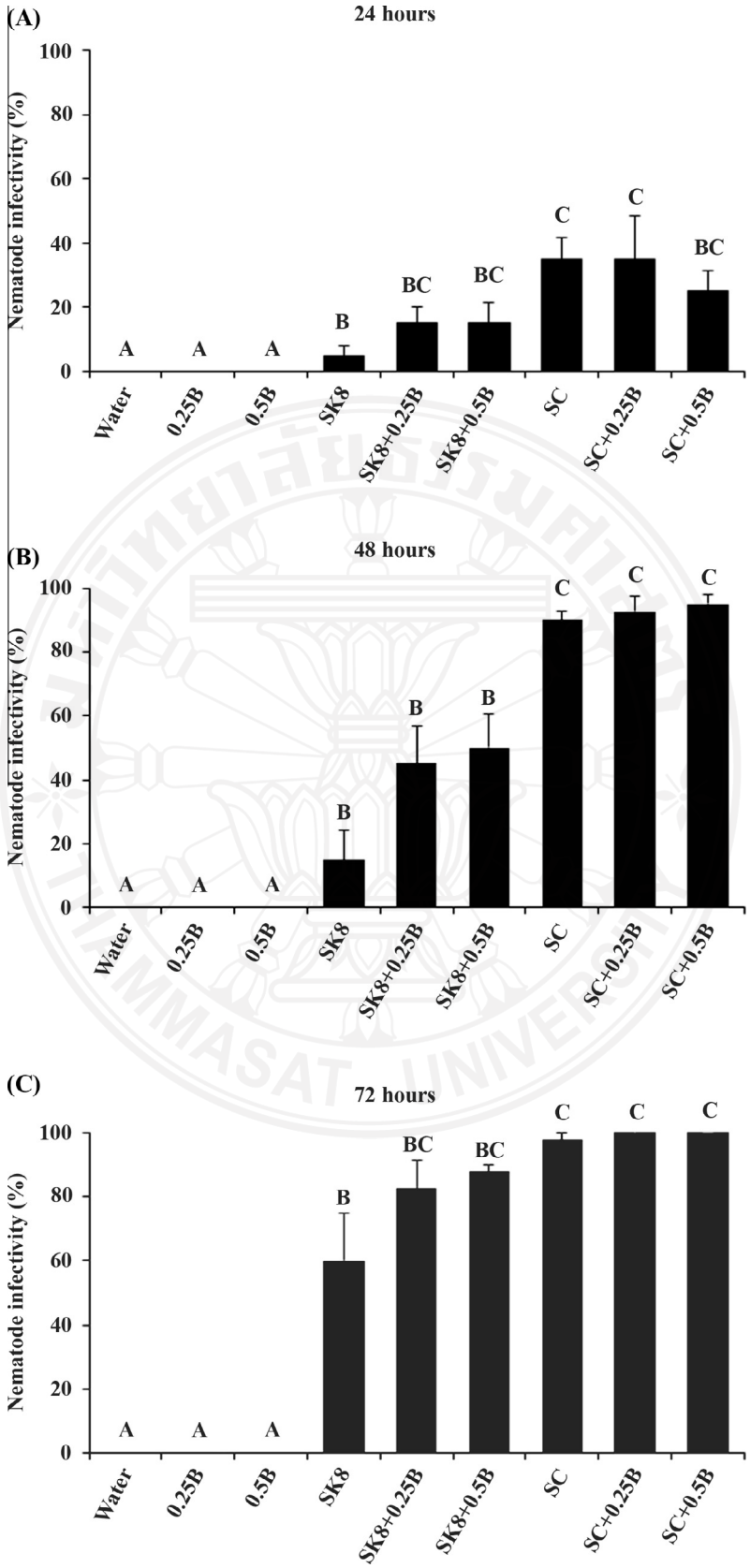



**Fig. 3.** The infectivity of *Steinernema carpocapsae* and *Steinernema* sp. isolate K8 plus Barricade® against *Plutella xylostella* larvae (A) 24 h, (B) 48 h, and (C) 72 h. The same letters above the bars indicate no significant difference among means at $P = 0.05$. Bars show standard error of the mean. Water = tap water; 0.25B = tap water plus 0.25% Barricade®; 0.5B = tap water plus 0.5% Barricade®; SK8 = *Steinernema* sp. isolate K8; SK8 + 0.25B = *Steinernema* sp. isolate K8 plus 0.25% Barricade®; SK8 + 0.5B = *Steinernema* sp. isolate K8 plus 0.5% Barricade®; SC = *S. carpocapsae*; SC + 0.25B = *S. carpocapsae* plus 0.25% Barricade®; SC + 0.5B = *S. carpocapsae* plus 0.5% Barricade®.

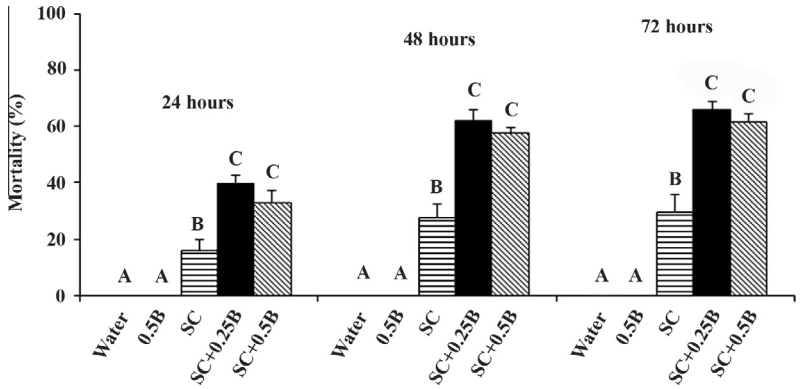



**Fig. 4.** Mortality rates of *Spodoptera litura* larvae killed by *Steinernema carpocapsae* plus Barricade® after 24, 48, and 72 h under greenhouse conditions. The same letters above the bars (within the same exposure period) indicate no significant difference among means at $P = 0.05$. Bars show standard error of the mean. Water = tap water; 0.5B = tap water plus 0.5% Barricade®; SC = *S. carpocapsae*; SC + 0.25B = *S. carpocapsae* plus 0.25% Barricade®; SC + 0.5B = *S. carpocapsae* plus 0.5% Barricade®.

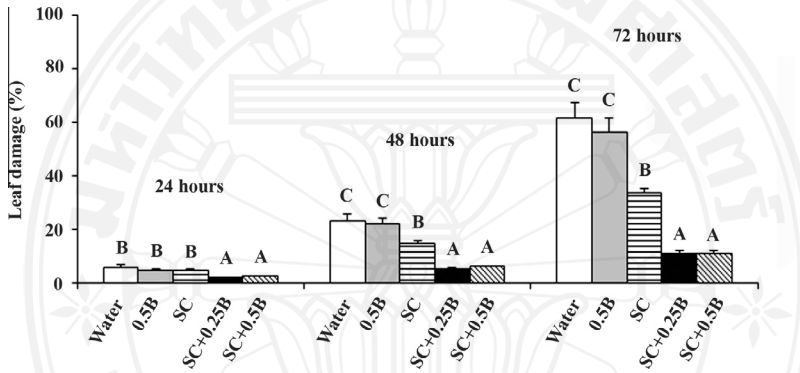



**Fig. 5.** Percentages of leaf area damaged by *Spodoptera litura* larvae after being sprayed with *Steinernema carpocapsae* plus Barricade® after 24, 48, and 72 h under greenhouse condition. The same letters above the bars (within the same exposure period) indicate no significant difference among means at $P = 0.05$. Bars show standard error of the mean. Water = tap water; 0.5B = tap water plus 0.5% Barricade®; SC = *S. carpocapsae*; SC + 0.25B = *S. carpocapsae* plus 0.25% Barricade®; SC + 0.5B = *S. carpocapsae* plus 0.5% Barricade®.

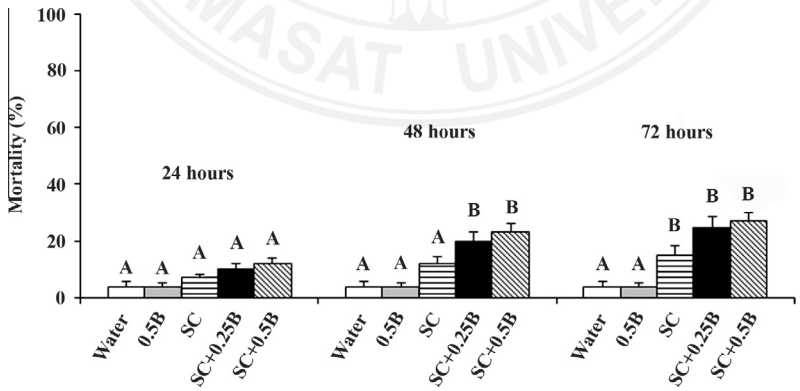



**Fig. 6.** Mortality rates of *Plutella xylostella* larvae killed by *Steinernema carpocapsae* plus Barricade® after 24, 48, and 72 h under greenhouse condition. The same letters above the bars (within the same exposure period) indicate no significant difference among means at $P = 0.05$. Bars show standard error of the mean. Water = tap water; 0.5B = tap water plus 0.5% Barricade®; SC = *S. carpocapsae*; SC + 0.25B = *S. carpocapsae* plus 0.25% Barricade®; SC + 0.5B = *S. carpocapsae* plus 0.5% Barricade®.

deleterious effects on EPNs. Shapiro-Ilan et al. (2006) also demonstrated that Barricade® can enhance the efficacy of aboveground EPN applications and showed no toxicity to the EPNs.

Somvanshi et al. (2006) and Mukherjee et al. (2009) suggested that the commercial dispersant APSA-80™ could be used as an effective adjuvant for fungicides, herbicides, and insecticides. Hollingsworth (2005) reported that adding 0.5% APSA-80™ to insecticides improved control of mealy bugs, scale insects, whiteflies and aphids. APSA-80™ is a surfactant that might increase the dispersion of EPN suspensions on the plant leaf after spraying, thus enhancing efficacy (Wright et al., 2005), but our study shows neither an increase in EPN survival nor a decrease in leaf damage when they are applied with this material. Somvanshi et al. (2006) indicated that APSA-80™ at 0.3%, 1%, or 2% induced a low

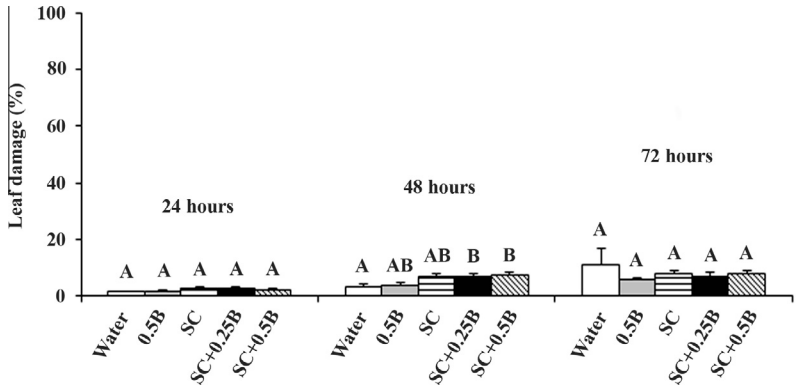



**Fig. 7.** Percentages of leaf area damaged by *Plutella xylostella* larvae after being sprayed with *Steinernema carpocapsae* plus Barricade® after 24, 48, and 72 h under greenhouse condition. The same letters above the bars (within the same exposure period) indicate no significant difference among means at $P = 0.05$. Bars show standard error of the mean. Water = tap water; 0.5B = tap water plus 0.5% Barricade®; SC = *S. carpocapsae*; SC + 0.25B = *S. carpocapsae* plus 0.25% Barricade®; SC + 0.5B = *S. carpocapsae* plus 0.5% Barricade®.

mortality rate in IJs 24 h after incubation. Such studies revealed that increased incubation time of IJs resulted in a slight reduction of nematode survival but a significant difference was not observed.

Studies on other adjuvants, including Triton X-00, Glycerol, Croduvant, Crovol L27, and Crovol L40 at 2% and 4%, demonstrated that their effects on survival of IJs were not significant after 24 h (Mason et al., 1998). However, higher mortality of IJs was found at higher concentrations and increasing the duration of observations might reveal increased direct toxicity of the adjuvant to IJs (Somvanshi et al., 2006). Infectivity assays showed no negative effects on infectivity of *Steinernema thermophilum* Ganguly & Singh and *Heterorhabditis indica* against *G. mellonella* larvae, but Mason et al. (1998) observed a significant reduction in infectivity of *S. carpocapsae* and *Heterorhabditis* sp. to *G. mellonella* larvae in combination with adjuvants. The reduction in infectivity of *H. indica* might be attributed to the significant mortalities in IJs due to the direct toxicity of APSA-80™ at higher concentrations than recommended (Somvanshi et al., 2006).

Both treatments of *S. carpocapsae* plus Barricade® were chosen for subsequent greenhouse testing because of the pathogenicity and higher survival rates when exposed to desiccation on a leaf surface in the laboratory test. This study showed that Barricade® significantly increased the efficacy of EPN against *S. litura* larvae. In contrast, EPN plus Barricade® did not affect mortality rates when applied against *P. xylostella* larvae on plant leaves under greenhouse conditions. Navon et al. (2002) reported that smaller insects, such as *P. xylostella*, suffered lower mortality rates due to EPN exposure than *Spodoptera littoralis* (Boisduval) or *Helicoverpa armigera* (Hübner) larvae. However, Miller and Bedding (1982) tested the potential of a wetting agent, Arlatone®, in combination with *Steinernema feltiae* (Filipjev) for controlling the currant borer, *Synanthedon tipuliformis* (Clerck) and concluded that the adjuvant did not enhance the effect of the EPNs.

In summary, the results of this study were similar to previous studies that tested the ability of Barricade® to extend the duration of EPN virulence when applied to surfaces such as bark or leaves. Barricade® protects EPNs from rapid desiccation after application at least for 3 h. Therefore, EPNs formulated with protective compounds before application can have improved survival and efficacy in foliar applications.

## Acknowledgments

This research was supported by collaboration between the Thailand Research Fund, Office of the Higher Education Commission and Kasetsart University Research and Development Institute (Grant# MRG5580193). We also thank Professor Dr. Gerald T. Baker of Mississippi State University, Amanda Eiden, Sirirut Mangtub, and Weerachai Somsri for their valuable assistance.

## References

Ahmad, M., Arif, I., Ahmad, M., 2007. Occurrence of insecticide resistance in field populations of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) in Pakistan. Crop Prot. 26, 807–809.

Baur, M.E., Kaya, H.K., Gaugler, R., Tabashnik, B., 1997. Effects of adjuvants on entomopathogenic nematode persistence and efficacy against *Plutella xylostella*. Biocontrol Sci. Technol. 7, 513–525.

Beck, B., Brusselman, E., Nuyttens, D., Moens, M., Pollet, S., Temmerman, F., Spanoghe, P., 2013. Improving foliar applications of entomopathogenic nematodes by selecting adjuvants and spray nozzles. Biocontrol Sci. Technol. 23 (5), 507–520.

Choudhary, R.K., Swathi, P., Upadhayay, S., Singh, S.B., Sharma, M., 2014. Efficacy of insect growth regulators against diamondback moth and tobacco caterpillar infesting cabbage crop. Ann. Plant Soil Res. 16 (4), 308–311.

Georgis, R., Gaugler, R., 1991. Predictability in biological control using entomopathogenic nematodes. J. Econ. Entomol. 84, 713–720.

Glazer, I., Lewis, E.E., 2000. Bioassays for entomopathogenic nematodes. In: Navon, A., Ascher, K.R.S. (Eds.), Bioassays of Entomopathogenic Microbes and Nematodes. CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 229–247.

Glazer, I., Klein, M.G., Navon, A., Nakache, Y., 1992. Comparison of efficacy of entomopathogenic nematodes combined with antidesiccants applied by canopy sprays against three cotton pests (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 85, 1636–1641.

Grewal, P.S., 2002. Formulation and application technology. In: Gaugler, R. (Ed.), Entomopathogenic Nematology. CABI Publishing, NY, pp. 265–287.

Grewal, P.S., Georgis, R., 1999. Entomopathogenic nematodes. In: Hall, F.R., Menn, J. J. (Eds.), Methods in Biotechnology, vol. 5: Biopesticides: Use and Delivery, vol. 5. Humanna Press, Totowa, NJ, pp. 271–299.

Grewal, P.S., Ehlers, R.U., Shapiro-Ilan, D.I. (Eds.), 2005. Nematode and Biological Control Agents. CABI Publishing, Wallingford, UK.

Hollingsworth, R.G., 2005. Limonene, a citrus extract, for control of mealybugs and scale insects. J. Econ. Entomol. 98 (3), 772–779.

Hussein, H.M., Adel, M.M., Gelbic, I., 2012. Effectiveness of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* in agar gel formulations against larvae of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say.) (Coleoptera: Chrysomelidae). Cent. Eur. J. Biol. 7 (1), 77–82.

Kaya, H.K., Koppenhöfer, A.M., 1996. Effects of microbial and other antagonistic organism and competition on entomopathogenic nematodes. Biocontrol Sci. Technol. 6, 333–345.

Kaya, H.K., Stock, S.P., 1997. Techniques in insect nematology. In: Lacey, L.A. (Ed.), Manual of Techniques in Insect Pathology. Academic Press, San Diego, CA, pp. 281–324.

Kirsch, K., Schmutterer, H., 1988. Low efficacy of a *Bacillus thuringiensis* (Berl.) formulation in controlling the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), in the Philippines. J. Appl. Entomol. 105, 249–255.

Kranthi, K.R., Jadhav, D.R., Kranthi, S., Wanjari, R.R., Ali, S.S., Russell, D.A., 2002. Insecticide resistance in five major insect pests of cotton in India. Crop Prot. 21 (6), 449–460.

Kung, S.P., Gaugler, R., Kaya, H.K., 1991. Effects of soil temperature, moisture and relative humidity on entomopathogenic nematode persistence. J. Invertebr. Pathol. 57, 242–249.

Lacey, L.A., Shapiro-Ilan, D.I., Glenn, G.M., 2010. Post-application of anti-desiccant agents improves efficacy of entomopathogenic nematodes in formulation host cadavers or aqueous suspension against diapausing codling moth larvae moth (Lepidoptera: Tortricidae). Biocontrol Sci. Technol. 20 (9), 909–921.

Lewis, E.E., Clarke, D.J., 2012. Nematode parasites and entomopathogens. In: Vega, F., Kaya, H.K. (Eds.), Insect Pathology, second ed. Elsevier, Amsterdam, Netherlands, pp. 395–424.

Lewis, E.E., Hazir, S., Hodson, A., Gulcu, B., 2015. Trophic relationships of entomopathogenic nematodes in agricultural habitats. In: Campos-Herrera, R. (Ed.), Nematode Pathogenesis of Insects and Other Pests. Springer International Publishing, Switzerland, pp. 139–163.

MacVean, C.M., Brewer, J.W., Capinera, J.L., 1982. Field tests of antidesiccants to extend the infection period of an entomogenous nematode, *Neoaplectana carpocapsae*, against the Colorado potato beetle. J. Environ. Entomol. 75, 97–100.

Mason, J.M., Matthews, G.A., Wright, D.J., 1998. Screening and selection of adjuvants for the spray application of entomopathogenic nematodes against a foliar pest. Crop Prot. 17, 463–470.

Miller, L.A., Bedding, R.A., 1982. Field testing of the insect parasitic nematode, *Neoaplectana bibionis* (Nematoda: Steinernematidae) against currant borer moth, *Synanthedon tipuliformis* (Lep: Sesiidae) in blackcurrants. Entomophaga 27, 109–114.

Mukherjee, I., Haldar, D., Ghosh, S., Moulik, S.P., 2009. Physicochemical studies on an all-purpose pesticide spray adjuvant-(APSA-80™). J. Dispersion Sci. Technol. 30, 1430–1441.

Navon, A., Nagalakshmi, V.K., Shlomit, L., Salame, L., Glazer, I., 2002. Effectiveness of entomopathogenic nematodes in an alginate gel formulation against lepidopterous pests. Biocontrol Sci. Technol. 12, 737–746.

Noosidum, A., Hodson, A.K., Lewis, E.E., Chandrapatya, A., 2010. Characterization of new entomopathogenic nematodes from Thailand: foraging behavior and virulence to the Greater wax moth, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). J. Nematol. 42 (4), 281–291.

Poinar Jr., G.O., 1990. Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: Gaugler, R., Kaya, H.K. (Eds.), Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 23–61.

Satpathy, S., Kumar, A., Singh, A.K., Pandey, P.K., 2005. Chlorfenapyr: a new molecule for diamondback moth (*Plutella xylostella* L.) management in cabbage. Ann. Plant Prot. Sci. 13, 88–90.

Schroer, S., Ehlers, R.-U., 2005. Foliar application of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* for biological control of diamondback moth larvae (*Plutella xylostella*). Biol. Control 33, 81–86.

Shapiro-Ilan, D.I., Gouge, D.H., Piggott, S.J., Fife, J.P., 2006. Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. Biol. Control 38, 124–133.

Shapiro-Ilan, D.I., Cottrell, T.E., Mizell III, R.F., Horton, D.L., Behle, R.W., Dunlap, C.A., 2010. Efficacy of *Steinernema carpocapsae* for control of the lesser peachtree borer, *Synanthedon pictipes*: improved aboveground suppression with a novel gel application. Biol. Control 54, 23–28.

Shapiro-Ilan, D.I., Cottrell, T.E., Mizell III, R.F., Horton, D.L., Zaid, A., 2015. Field suppression of the peachtree borer, *Synanthedon exitiosa*, using *Steinernema carpocapsae*: effects of irrigation, a sprayable gel and application method. Biol. Control 82, 7–12.

Somvanshi, V.S., Ganguly, S., Paul, A.V.N., 2006. Field efficacy of the entomopathogenic nematode *Steinernema thermophilum* Ganguly and Singh (Rhabditida: Steinernematidae) against diamondback moth (*Plutella xylostella* L.) infesting cabbage. Biol. Control 37, 9–15.

White, G.F., 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. Science 66, 302–303.

Wright, D.J., Peters, A., Schroer, S., Fife, J.P., 2005. Application technology. In: Grewal, P.S., Ehlers, R.-U., Shapiro-Ilan, D.I. (Eds.), Nematodes as Biological Control Agents. CABI Publishing, New York, NY, pp. 91–106.

# ประสิทธิภาพของเจลชนิดใหม่และสารจับใบต่ออัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในระดับห้องปฏิบัติการ

# Efficacy of Novel Gel and Surfactant on Survival Rates of Entomopathogenic Nematodes under Laboratory Condition

**ภัททิรา ศาตร์วงษ์ อธิราช หนูสีดำ และอังศุมาลย์ จันทราปัตย์***

**Pattira Satwong, Atirach Noosidum and Angsumarn Chandrapatya***

**ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ**

**Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Chatuchak Bangkok**

## Abstract

This study examined the survival rates of infective juvenile stage (IJ) from 3 entomopathogenic nematodes including *Steinernema* sp. Isolate K8, *Steinernema siamkayai* and *Steinernema carpocapsae* which were mixed with a surfactant of 0.2% and 0.4% APSA-80® and a novel gel of 0.25% and 0.5% of Barricade® gel. Approximately 200 IJs/250 $\mu$l of all prepared suspensions were sprayed onto 4.5 cm diameter Kale leaf disc and then counted the living nematode. After applied for 180 min, the survival rates of *S.* isolate K8 in 0.25% Barricade® gel was the highest (85.03±1.54 %) and did not differ for *S. carpocapsae* in 0.25% and 0.5**%** Barricade® gel which were 84.38±0.88 and 83.02±1.61 %, respectively. Whereas, *S.* isolate K8 in 0.2% APSA-80® showed the lowest survival rate which was only 12.99±5.52 %. However, all treatments of *S.* isolate K8 and *S. carpocapsae* mixed with Barricade® gel were higher survival rates than control and APSA-80®. Additionally, we evaluated the nematode infectivity of two selected strains against the greater wax moth (*Galleria mellonella* L.) by using 100 IJs/50 $\mu$l of prepared suspensions and then all cadavers were dissected to count numbers of IJs. The results indicated that *S. carpocapsae* mixed with 0.25% Barricade® gel presented the highest infectivity after applied at 48 and 72 hours (40.45±3.50 IJs/larvae) and was not different for *S.* isolate K8 in 0.25% Barricade® gel at 48 and 72 hours (34.58±4.92 and 34.90±4.87 IJs/larvae). After applied for 72 hours, the infectivities of two species were mixed with Barricade® gel in all treatments was not differ for control except, *S. carpocapsae* and in 0.25% Barricade® gel.

**Keywords:** Entomopathogenic nematodes, *Steinernema*, Surfactant, Adjuvant

**บทคัดย่อ**

การทดลองหาอัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงระยะ Infective Juvenile (IJ) ของสายพันธุ์ *Steinernema* sp. Isolate K8, *Steinernema siamkayai* และ *Steinernema carpocapsae* ที่ผสมกับสารจับใบ APSA-80® เข้มข้น 0.2% และ 0.4% และเจลชนิดใหม่ Barricade® gel เข้มข้น 0.25% และ 0.5% โดยฉีดพ่น 200 IJs/น้ำ 250 ไมโครลิตร บนใบคะน้าเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5 เซนติเมตร พบว่าจำนวนไส้เดือนฝอยที่มีชีวิตรอดหลังการฉีดพ่นที่เวลา 180 นาที ของไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ *S.* isolate K8 ที่ผสมกับ Barricade® gel 0.25% มีอัตราการอยู่รอดสูงที่สุด เท่ากับ 85.03±1.54 % และไม่แตกต่างกับสายพันธุ์ *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ Barricade® gel 0.25% และ 0.5% เท่ากับ 84.38±0.88 และ 83.02±1.61 % ตามลำดับ ในขณะที่สายพันธุ์ *S.* isolate K8 ที่ผสมกับ APSA-80® 0.2% พบอัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยต่ำสุด เพียง 12.99±5.52 % อย่างไรก็ตาม ไส้เดือนฝอยที่ผสมด้วย Barricade® gel มีอัตราการอยู่รอดบนใบพืชสูงกว่าชุดควบคุม และ APSA-80® สำหรับ *S.* isolate K8 และ *S. carpocapsae* นอกจากนั้น ผลการคัดเลือกเพื่อที่จะทดลองหาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงทั้ง 2 ชนิด ที่เข้าทำลายหนอนกินรังผึ้ง (*Galleria mellonella* L.) โดยใช้ไส้เดือนฝอยความเข้มข้น 100 IJs/น้ำ 50 ไมโครลิตร และผ่าซากหนอนนับจำนวนไส้เดือนฝอย พบว่า ไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ Barricade® gel 0.25% ที่ช่วงเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง มีอัตราการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งสูงที่สุด คือ 40.45±3.50 IJs/หนอน และไม่แตกต่างกับสายพันธุ์ *S.* isolate K8 ที่ผสมกับ Barricade® gel ความเข้มข้น 0.25% ที่ช่วงเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง ซึ่งเท่ากับ 34.58±4.92 และ 34.90±4.87 IJs/หนอน นอกจากนั้นเมื่อเวลาผ่านไปยาวนานขึ้นถึง 72 ชั่วโมง พบว่า ไส้เดือนฝอยที่ผสมด้วย Barricade® gel ทั้งสองความเข้มข้น มีอัตราการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งได้ดีไม่แตกต่างจากชุดควบคุม ยกเว้น *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ Barricade® gel 0.25%

**คำสำคัญ** : ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง, *Steinernema*, สารจับใบ, สารเสริมประสิทธิภาพ

## คำนำ

ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง (entomopathogenic nematode) จัดอยู่ในวงศ์ Steinernematidae และ Heterorhabditidae มีแบคทีเรียร่วมอาศัย (symbiotic bacteria) ในสกุล *Xenorhabdus* และ *Photorhabdus* ตามลำดับ (Akhurst and Boemare, 1990; Gaugler, 2002) ไส้เดือนฝอยอาศัยอยู่ในดินและเข้าทำลายแมลงทางรูเปิดธรรมชาติ เช่น รูหายใจ ปาก ทวารหนัก หรือบางชนิดสามารถเจาะเข้าทางผนังลำตัว และสามารถทำให้แมลงตายได้ภายใน 24-48 ชั่วโมง (Kaya, 1990) ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเป็นไส้เดือนฝอยที่มีประโยชน์ มีศักยภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืชได้ดี และไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม จึงมีผู้นำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชอย่างแพร่หลาย (Schauff and LaSalle, 1998; Grewal *et al*., 2005) อย่างไรก็ตาม การใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเพื่อควมคุมศัตรูพืชกลุ่มที่อาศัยและเข้าทำลายอยู่บนใบพืช จะมีข้อจำกัดในเรื่อง

ของความชื้น และแสงจากดวงอาทิตย์ (Gaugler and Boush, 1979) เพราะไส้เดือนฝอยมีอัตราการอยู่รอดต่ำในพื้นที่ที่มีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ เนื่องจากไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงต้องอาศัยความชื้นและน้ำในการเคลื่อนที่เข้าหาเหยื่อ (Moore, 1973)

การศึกษาแนวทางการยืดอายุไส้เดือนฝอยให้สามารถอยู่รอดในสภาพที่มีความชื้นต่ำได้นานขึ้น โดยเพิ่มสารเสริมประสิทธิภาพหรือสารลดแรงตึงผิวกับสารแขวนลอยไส้เดือนฝอย เพื่อลดการสูญเสียความชื้นหรือช่วยให้น้ำระเหยช้าลง เป็นทางเลือกหนึ่งที่จะพัฒนาผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอยให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น และนำมาทดแทนการใช้สารเคมีได้ เมื่อปี ค.ศ. 1994 Bedding and Butler ได้พัฒนาผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอยโดยใช้เจล (gel) ที่มีลักษณะเป็นของเหลวที่มีความเข้มข้นสูงผสมกับไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง พบว่าไส้เดือนฝอยบางส่วนจะตายเพราะถูกแสงแดดเผาไหม้ แต่บางส่วนสามารถอยู่รอดได้ แต่ก็ยังมีอุปสรรคในการนำไปใช้ เพราะจะทำให้หัวฉีดของเครื่องฉีดอุดตัน ต่อมา Shapiro-Ilan *et al*. (2010) นำไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ผสมกับเจลชนิดใหม่ชื่อว่า Barricade® gel และทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนเจาะต้นพืช (*Synanthedon pictipes* Grote & Robinson) ใน ค.ศ. 2008 และ 2009 พบว่า สามารถควบคุมหนอนเจาะต้นพืชได้เพิ่มขึ้นจาก 70 เป็น 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นมาก็ยังไม่มีผู้ใดศึกษาผลของการใช้เจลชนิดนี้หรือสารจับใบเพื่อยืดอายุของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงอีก

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการยืดอายุของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงด้วยการผสมกับสารจับใบหรือเจลชนิดใหม่ และทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาและเพิ่มประสิทธิภาพในการนำไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช

## อุปกรณ์และวิธีการ

### การยืดอายุไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง

เตรียมสารแขวนลอยไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ *Steinernema siamkayai, S. carpocapsae* และ *S.* isolate K8 โดยผสมกับสารจับใบ APSA-80® (0.2% หรือ 0.4%) หรือสารเสริมประสิทธิภาพ Barricade® gel (0.25% หรือ 0.5%) นำสารแขวนลอยดังกล่าวซึ่งมีไส้เดือนฝอย ระยะเข้าทำลายแมลง (Infective juvenile = IJ) จำนวน 200 IJs/น้ำ 250 ไมโครลิตร ฉีดพ่นบนใบคะน้า เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5 เซนติเมตรซึ่งวางบนสำลีเปียกบรรจุในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร (วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) แบ่งเป็น 5 กรรมวิธีๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 3 ใบ มีน้ำเป็นชุดควบคุม) นำจานเลี้ยงเชื้อดังกล่าวไปวางในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 25$\pm$2 องศาเซลเซียส จดบันทึกจำนวนไส้เดือนฝอยทั้งหมด และจำนวนที่รอดชีวิตที่เวลา 60, 120 และ 180 นาทีหลังการฉีดพ่น โดยล้างไส้เดือนฝอยที่ติดอยู่บนใบคะน้าในจานเลี้ยงเชื้อด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง และนับจำนวนไส้เดือนฝอยทั้งหมดภายใต้กล้อง stereomicroscope นำผลการทดลองมาวิเคราะห์อัตราการรอดชีวิตโดยใช้ 3 Way-ANOVA (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Tukey's test (Multiple Comparisons of

Means: Tukey Contrasts) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรม R i386 version 3.0.0 (R Development Core Team, 2012)

**การทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ผสมกับเจลชนิดใหม่**

คัดเลือกสารเสริมประสิทธิภาพที่ได้ผลดีจากการทดลองแรกมาทำการทดสอบประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้ง ด้วยวิธี filter paper bioassay โดยใช้ 24 well-plates ซึ่งรองก้นด้วยกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 จำนวน 2 แผ่น หยดสารแขวนลอยไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ *S. carpocapsae* และสายพันธุ์ *S.* isolate K8 ที่ผสมกับ Barricade® gel ความเข้มข้น 0.25% หรือ 0.5% โดยใช้อัตราสารแขวนลอยไส้เดือนฝอย 100 IJs/50 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษกรอง จากนั้นใส่หนอนกินรังผึ้งจำนวน 1 ตัว/หลุม (หนอน 20 ตัว/ความเข้มข้น) และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส (วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ มี 3 กรรมวิธีๆ ละ 20 ซ้ำ ใช้น้ำเป็นชุดควบคุม) บันทึกอัตราการตายของหนอนที่ทดสอบและตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยภายในซากหนอนหลังการทดสอบ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง โดยนำหนอนมาล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง ก่อนนำไปผ่าและตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยในตัวแมลงภายใต้กล้อง stereomicroscope นำผลการทดลองมาวิเคราะห์อัตราการรอดชีวิตโดยใช้ 3 Way-ANOVA (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Tukey's test (Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรม R i386 version 3.0.0 (R Development Core Team, 2012)

## ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการเพิ่มสารจับใบ (APSA-80®) หรือเจลชนิดใหม่ (Barricade® gel) ส่งผลกระทบต่ออัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยแตกต่างกัน นอกจากนั้นผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าปัจจัยทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ สายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง เวลา และความเข้มข้นของสาร ส่งผลร่วมกันต่อการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยบนใบพืชด้วย (df= 16, F= 22.41, P<0.05) เมื่อพิจารณาแยกตามแต่ละปัจจัยพบว่า จำนวนไส้เดือนฝอยที่มีชีวิตรอดหลังการฉีดพ่นที่เวลา 180 นาที ของไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ *S.* isolate K8 ที่ผสมกับ Barricade® gel 0.25% มีอัตราการอยู่รอดสูงที่สุด (85.03±1.54 %) ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ (P>0.05) กับ Barricade® gel 0.5% (80.19±0.99 %) และ APSA-80® 0.4% (76.41±7.07 %) ส่วนสายพันธุ์ *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ Barricade® gel 0.25% และ 0.5% มีจำนวนไส้เดือนฝอยอยู่รอด 84.38±0.88 และ 83.02±1.61 % ตามลำดับ ในขณะที่สายพันธุ์ *S.* isolate K8 ที่ผสมกับ APSA-80® เข้มข้น 0.2% พบอัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยต่ำสุดเพียง 12.99±5.52 % เท่านั้น ทั้งไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ *S.* isolate K8 และ *S. carpocapsae* ที่ผสมด้วย Barricade® gel มีอัตราการอยู่รอดบนใบพืชสูงกว่าชุดควบคุม และสารจับใบ APSA-80® ในทุกความเข้มข้น อย่างไรก็ดีการเติมสารจับใบหรือเจลไม่สามารถช่วยยืดอายุของไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* ได้ (ตารางที่ 1) จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าเมื่อเวลาผ่านไปยาวนานขึ้นอัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยที่ผสมด้วยสารจับใบลดลง อาจเนื่องมาจากคุณสมบัติของสารจับใบที่ช่วยกระจายสารให้ทั่วบริเวณพื้นผิวแต่มีความหนืดที่ต่ำ ซึ่งต่างกับสารเสริมประสิทธิภาพ Barricade® gel และ กลีเซอรีน ที่มีความหนืดอยู่

ระหว่าง 1400-50,000 Pa-s (Barricade International, Inc., 2013) นอกจากนั้น Barricade® gel ยังมี sodium polyacrylate ผสมอยู่ ซึ่งเป็นส่วนประกอบในการผลิตผ้าอ้อม (Vidreira, 1998) เจลชนิดนี้ยังเปรียบเสมือนกำแพงกั้นระหว่างไฟและสิ่งต่างๆ ที่ป้องกันอยู่ นอกจากนี้ยังทำหน้าที่ให้ความชื้นคล้ายกับผ้าเปียก ซึ่งเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และสลายตัวได้เองตามธรรมชาติ (Barricade International, Inc., 2013) ยังมีรายงานว่าสารในรูปแบบเจลช่วยยืดอายุของไส้เดือนฝอยที่ฉีดพ่นบนใบพืชและไม่มีพิษกับไส้เดือนฝอย (Sasnarukkit, 2003; Schroer and Ehlers, 2005; Shapiro-Ilan *et al*., 2010) ซึ่งโดยธรรมชาติมีไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในวงศ์ Steinernematid ไม่กี่สายพันธุ์ที่สามารถปรับตัวให้อยู่รอดได้ในสภาพที่ไม่มีน้ำหรือบนใบพืชได้ดี แต่สำหรับสายพันธุ์ *S. carpocapsea* นั้น มีรายงานว่า สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่มีแสงแดดจัดได้ดีกว่าไส้เดือนฝอยชนิดอื่นๆ (Kung et *al.,* 1991) นอกจากนั้น Jin *et al.* (2004) พบว่ากลีเซอรีนสามารถยืดอายุของไส้เดือนฝอยได้ โดยพบว่าการผสม ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* กับกลีเซอรีน 0, 0.2, 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ไส้เดือนฝอยมีอัตราการอยู่รอด 0.3, 4.5, 11.0 และ 18.5 เปอร์เซ็นต์ หลังการฉีดพ่นด้วยเครื่องพ่นสารเคมี 24 ชั่วโมงและพบจำนวนไส้เดือนฝอยบนใบพืช 0.03, 0.3, 0.9 และ 1.6 IJs/ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ ทั้งนี้อัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยจะมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นของกลีเซอรีน และการทดลองของ Hussein *et al*. (2012) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. feltiae* ที่ผสมกับ agar gel เพื่อควบคุมตัวอ่อนของด้วง Colarado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say.) พบว่าไส้เดือนฝอยที่ผสมกับ agar gel มีอัตราการตายลดลง 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับไส้เดือนฝอยที่อยู่ในน้ำเพียงอย่างเดียว ในขณะที่ Sasnarukkit (2003) พบว่าไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ *Steinernema siamkayai* ที่ผสมกับกลีเซอรีนเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ไส้เดือนฝอยสามารถอยู่บนใบในสภาพธรรมชาติได้มากกว่า 12 ชั่วโมง

ประสิทธิภาพการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงทั้งสองสายพันธุ์ที่ผสมด้วย Barricade® gel พบว่าส่วนใหญ่ให้ผลไม่แตกต่างกับชุดควบคุม นอกจากนั้นผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่าปัจจัยระหว่างสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงกับเวลา และสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยกับความเข้มข้นของสาร ส่งผลร่วมกันต่อการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้ง (df= 2, F= 14.23, $P<0.05$ และ df= 2, F= 4.50, $P<0.05$ ตามลำดับ) ซึ่งไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ *S. carpocapsea* ที่ผสมกับ Barricade® gel 0.25% ที่ช่วงเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง มีอัตราการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งสูงที่สุด คือ 40.45±3.50 IJs/หนอน และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับสายพันธุ์ *S.* isolate K8 ที่ผสมกับ Barricade® gel ความเข้มข้น 0.25% ที่ช่วงเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง เท่ากับ 34.58±4.92 และ 34.90±4.87 IJs/หนอน (ตารางที่ 2) เมื่อพิจารณาโดยรวมพบว่าเมื่อเวลาผ่านไปยาวนานขึ้นถึง 72 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยที่ผสมด้วย Barricade® gel 0.25% ในทุกชุดการทดลอง มีอัตราการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งได้ดี ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุม ยกเว้น *S.* isolate K8 ที่ผสมกับ Barricade® gel 0.25% ที่เวลา 24 ชั่วโมง (ตารางที่ 2) อย่างไรก็ตาม Schroer and Ehlers (2005) รายงานว่าเมื่อผสมไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ *S. carpocapsae* ร่วมกับสารจับใบและสารเหนียว (0.3% Rimulgan® + 0.3% polymer-xanthan; SPF) โดยมีน้ำเป็นชุดควบคุม ในอัตรา 75 IJs/ตารางเซนติเมตร พบว่าไส้เดือนฝอยที่ผสมกับ SPF

ทำให้หนอนมีอัตราการตายสูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนั้นไส้เดือนฝอยที่ผสมกับ SPF ที่ความชื้น 60 เปอร์เซนต์ ไส้เดือนฝอยอยู่รอดได้มากกว่า 20 ชั่วโมง และเมื่อความชื้นเพิ่มเป็น 80 เปอร์เซ็นต์ จะส่งผลให้ไส้เดือนฝอยอยู่รอดได้สูงขึ้นถึง 58 ชั่วโมง ในขณะที่ Sasnarukkit (2003) พบว่า การใช้ไส้เดือนฝอยในอัตรา $1 \times 10^4$ ตัว/มิลลิลิตร ผสมกับกลีเซอรีน 2 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้อัตราการอยู่รอดของหนอนใยผักลดลง 67.65 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 96 ชั่วโมง เช่นกัน

## สรุปผลการทดลอง

ไส้เดือนฝอยในชุดควบคุมและไส้เดือนฝอยที่ผสมกับ APSA-80® มีแน้วโน้มของอัตราการรอดชีวิตค่อยๆ ลดลง จากช่วงเวลา 60-180 นาที หลังการฉีดพ่นไส้เดือนฝอยบนใบพืช ในขณะที่เมื่อผสมไส้เดือนฝอยกับ Barricade® gel จะพบว่าอัตราการรอดชีวิตของไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ *S. carpocapsae* และ *S.* isolate K8 เพิ่มสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัด เมื่อเปรียบเทียบกับทั้ง 2 ชุดการทดลองข้างต้น โดยยังคงพบไส้เดือนฝอยที่มีชีวิตมากกว่า 80% ในทั้งสองความเข้มข้นหลังการฉีดพ่นผ่านไป 180 นาที และเมื่อคัดเลือกไส้เดือนฝอยเพียง 2 ชนิด (*S. carpocapsae* และ *S.* isolate K8) ที่ผสมกับ Barricade® gel เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้ง พบว่า ส่วนใหญ่ไส้เดือนฝอยทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่ผสมกับ Barricade® gel มีจำนวนไส้เดือนฝอยที่เข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งสูงและไม่แตกต่างกับชุดควบคุม ยกเว้น *S. carpocapsae* ที่ผสมกับ Barricade® gel 0.25% และจากการศึกษาพบว่า Barricade® gel มีความเหมาะสมที่จะนำมาประยุกต์ใช้ร่วมกับไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชที่ทำลายและอาศัยอยู่บนใบพืชต่อไป

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ เรื่อง การพัฒนาวิธีการใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเพื่อควบคุมหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผักในแปลงกะหล่ำ (รหัสโครงการ MRG55-อธิราช หนูสีดำ โดยการสนับสนุนจาก สกว. สกอ. และ สวพ.มก.) ทุนสนับสนุนการทำวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ม. เกษตรศาสตร์ ประจำปี 2556 และกลุ่มงานไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร ซึ่งได้อนุเคราะห์ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงสายพันธุ์ *Steinernema carpocapsae* ในการทำวิจัยครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

Akhurst, R.J. and N.E. Boemare. 1990. Biology and taxonomy of *Xenorhabdus*, pp.75-90. *In* R. Gaugler and H.K. Kaya, eds. Entomopathogenic Nematodes in Biological control. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.

Barricade International, Inc. 2013. Barricade fire blocking gel "Save Your World". Available from: www.firegel.com.

Bedding, R.A. and K.L. Butler. 1994. Method for storage of insecticidal nematode. World Patent No. WO 94/05150.

Gaugler, R. 2002. Entomopathogenic Nematology. CABI Publishing, Wallingford. UK.

Gaugler, R. and G.M. Boush. 1979. Laboratory tests on ultraviolet protectant of an entomopathogenic nematode. Environmental Entomology 8: 810-813.

Grewal, P.S., R.U. Ehlers and D.I. Shapiro-Ilan. 2005. Nematode as Biocontrol Agents. CABI Publishing. Wallingford, UK.

Hussein, H.M., M.M. Adel and I. Gelbic. 2012. Effectiveness of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* in agar gel formulations against larvae of the Colarado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say.) (Coleoptera: Chrysomelidae). Central European Journal of Biology 7(1): 77-82.

Jin, Y., R. Han and B. Cong. 2004. Effects of application parameters and adjuvants on the foliar survival and persistence of entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* all strain on cabbages. Insect Science 11: 99-112.

Kaya, H.K. 1990. Soil ecology, pp. 93-115. *In* R. Gaugler and H.K. Kaya, eds. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.

Moore, G.E. 1973. Moisture requirements of the DD-136 strain of *Neoaplectana carpocapsae* (Nematoda: Rhabditida) as related to host infection. Experimental Parasitology 33(2): 207-211.

R Development Core Team. 2012. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL http://www.R-project.org/.

Sasnarukkit, A. 2003. Efficacy of an Entomopathogenic Nematode, *Steinernema siamkayai* Stock, Somsook and Reid on Controlling Diamondbak Moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus). Ph.D. Thesis, Kasetsart University.

Schauff, M.E. and J. LaSalle. 1998. The relevance of systematic to biological control: protecting the investment in research, pp. 425-436. *In* M.P. Zaluki, R.A.I. Drew and G.G. White, eds. Pest Management-Future Challenges. Australasian Applied Entomological Research Conference Procceeding 6th. University of Queensland Printery.

Schroer, S. and R.-U. Ehlers. 2005. Foliar application of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* for biological control of diamondback moth larvae (*Plutella xylostella*). Biological Control 33: 81–86.

Shapiro-Ilan, D.I., T.E. Cottrell, R.F. Mizell, D.L. Horton, R.W. Behle and C.A. Dunlap. 2010. Efficacy of *Steinernema carpocapsae* for control of the lesser peachtree borer, *Synanthedon pictipes*: Improved aboveground suppression with a novel gel application. Biological Control 54: 23–28.

Vidueira, J. 1998. Firefighter invents revolutionary gel. South Florida Business Jounnal 19(7): 3.

**Table 1** Survival rates of entomopathogenic nematode mixed with APSA-80® and Barricade® gel sprayed onto Kale leaf discs after 60, 120 and 180 minutes.

| Nematodes | Times | Treatments (%nematode survival rates)* | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Control | APSA-80® 0.2% | APSA-80® 0.4% | Barricade® 0.25% | Barricade® 0.50% |
| **S. isolate K8** | **60** | 90.25±0.76 b | 84.42±3.50 b | 54.33±3.33 a | 82.02±2.21 b | 84.90±1.75 b |
| | **120** | 83.20±1.24 b | 63.61±5.61 a | 57.57±5.25 a | 83.47±1.65 b | 80.47±1.14 b |
| | **180** | 64.63±1.99 b | 12.99±5.52 a | 76.41±7.07 bc | 85.03±1.54 c | 80.19±0.99 bc |
| ***S. siamkayai*** | **60** | 53.03±1.39 a | 55.58±2.35 ab | 69.34±1.18 c | 60.95±4.66 ab | 64.99±2.36 bc |
| | **120** | 37.31±1.44 a | 42.89±3.27 a | 38.12±3.45 a | 65.63±3.55 b | 63.88±3.88 b |
| | **180** | 35.94±2.87 a | 54.56±3.87 b | 33.42±3.95 a | 41.63±3.04 ab | 44.98±5.33 ab |
| ***S. carpocapsea*** | **60** | 55.06±1.03 c | 49.32±1.87 b | 36.60±1.66 a | 87.16±0.67 d | 92.96±0.54 e |
| | **120** | 53.35±2.70 b | 48.29±2.45 ab | 43.70±2.10 a | 87.79±1.25 c | 92.68±1.09 c |
| | **180** | 51.43±1.12 b | 62.92±5.88 b | 32.71±3.03 a | 84.38±0.88 c | 85.02±1.71 c |

*Means±SE followed by the same letters were not significantly different at the 5% level as determined by Tukey's test ($\alpha$=0.05).

**Table 2** The infectivities of nematode mixed with APSA-80® and Barricade® gel against the greater wax moth (*Galleria mellonella* L.) at 24, 48 and 72 hours.

| Nematode species | Times | Treatments (nematode of IJs/larvae) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Control | Barricade® 0.25% | Barricade® 0.50% |
| **S. isolate K8** | **24** | 3.78±1.16 a | 8.88±2.81 a | 6.95±3.36 a |
| | **48** | 23.10±2.98 ab | 34.58±4.92 b | 16.68±3.84 a |
| | **72** | 23.10±2.98 ab | 34.90±4.87 b | 20.10±3.67 a |
| ***S. carpocapsea*** | **24** | 23.15±3.20 a | 40.45±3.50 b | 16.50±1.53 a |
| | **48** | 26.55±2.94 a | 40.45±3.50 b | 18.40±1.58 a |
| | **72** | 26.55±2.94 a | 40.45±3.50 b | 18.40±1.58 a |

*Means±SE followed by the same letters were not significantly different at the 5% level as determined by Tukey's test (α=0.05).