

ศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย *Steinernema riobrave* ในการควบคุม
ด้วงหมัดผักแถบลาย *Phyllotreta sinuata* (Stephens)

Efficacy of Entomopathogenic Nematode, *Steinernema riobrave*
against Stripe Flea Beetle, *Phyllotreta sinuata* (Stephens)

วิไลวรรณ เวชยันต์ สาทิพย์ มาลี อิศเรศ เทียนทัต
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ดำเนินการทดลองที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างเดือนตุลาคม 2554 ถึง เดือนกันยายน 2555 ศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย *Steinernema riobrave* ในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย *Phyllotreta sinuata* (Stephens) ในห้องปฏิบัติการ การทดลองที่ 1. ศึกษาลักษณะทางชีววิทยาของด้วงหมัดผักแถบลายเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการบริหารจัดการด้วงหมัดผักที่เหมาะสม โดยการเก็บตัวอย่างหนอนด้วงหมัดผักซึ่งทำการเก็บรวบรวมตัวอย่างด้วงหมัดผักจากแปลงเกษตรกร อ.ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี นำมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการโดยใช้กวางตุ้งเป็นพืชอาหาร พบ ระยะไข่เฉลี่ย 3 วัน หนอนมี 3 วัย ระยะหนอน 9-12 วัน ระยะก่อนเข้าดักแด้ใช้เวลา 1 วัน ระยะดักแด้นาน 6-9 วัน รวมเวลาที่ใช้ตลอดช่วงชีวิตนับจากระยะไข่จนเป็นตัวเต็มวัยเฉลี่ย 19-25 วัน การทดลองที่ 2. ทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ในการเข้าทำลายตัวเต็มวัยด้วงหมัดผัก พบว่าไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 20,000 ตัว ทำให้ด้วงหมัดผักตายสูงสุด 80 ภายในเวลา 120 ชั่วโมง การทดลองที่ 3. ทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ในการเข้าทำลายตัวเต็มวัยด้วงหมัดผักที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส พบว่า *S. riobrave* ทุกความเข้มข้น มีประสิทธิภาพทำให้ด้วงหมัดผักตาย 21-57 เปอร์เซ็นต์ และ 46-80 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 120 ชั่วโมง ตามลำดับ

คำหลัก : *Steinernema riobrave*, ด้วงหมัดผักแถบลาย, ประสิทธิภาพ

รหัสการทดลอง 03-04-54-01-02-04-02-54

คำนำ

ไส้เดือนฝอยที่อยู่ในสกุล *Steinernema* และ *Heterorhabditis* มีการดำรงชีวิตร่วมกับแบคทีเรียที่เป็น symbiotic bacterium โดยไส้เดือนฝอยตัวอ่อนวัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง (infective juvenile) จะมีแบคทีเรียดังกล่าวอยู่ในลำไส้ส่วนหน้า และจะปลดปล่อยในระบบเลือดของแมลงเมื่อมันสามารถไขเข้าไปอยู่ในตัวแมลง ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญทำให้แมลงตายภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง (Poinar and Thomas, 1966) ไส้เดือนฝอยทั้ง 2 สกุลนี้เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีศักยภาพสูงมีการศึกษาวิจัยและพัฒนาเป็นสารชีวอินทรีย์นำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิด (Kaya, 1985; Klein, 1990; Poinar, 1979) สามารถเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วยแมลงอาศัย เช่น หนอนกินรังผึ้ง (*Galleria mellonella* L.) ซึ่งเป็นหนอนที่เลี้ยงขยายเป็นปริมาณมากได้ง่าย จึงนิยมใช้เลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง (วัชรี, 2540) ไส้เดือนฝอยสามารถเลี้ยงเพิ่มปริมาณได้ในอาหารเทียมทั้งอาหารแข็ง (Bedding, 1981, 1984) และในอาหารเหลว (Friendman, 1990; Gaugler and Han, 2002) การเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. ให้ได้ปริมาณมากเพื่อนำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช จะต้องผลิตให้ได้ไส้เดือนฝอยตัวอ่อนระยะที่ 3 ที่เป็นระยะเข้าทำลายแมลง ซึ่งเป็นระยะที่สามารถปรับตัวให้อยู่รอดในสภาพที่ไม่เหมาะสมได้ เช่น สภาพที่ไม่มีอาหารหรือไม่มีแมลงอาศัย ในปัจจุบันมีการศึกษาค้นคว้าสูตรอาหารเทียม และพัฒนาวิธีการผลิตไส้เดือนฝอยให้ได้ปริมาณมากแต่ต้นทุนการผลิตต่ำ เพื่อนำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชในพื้นที่กว้างขวางได้ทุกระดับ การเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วยอาหารเทียมระยะแรก เลี้ยงบนอาหารเทียมที่ไม่มีเชื้ออื่นเจือปนเรียกว่า axenic culture ซึ่งส่วนประกอบของอาหารที่ใช้มีราคาแพง เช่น ตับของกระต่ายที่ตั้งท้อง แต่การเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยไม่ดัดนัก ต่อมามีการพัฒนาการเลี้ยงไส้เดือนฝอยบนอาหารเทียมร่วมกับแบคทีเรียร่วมอาศัยในอาหารแข็ง เรียกการเลี้ยงแบบนี้ว่า monoxenic culture (Bedding, 1981)

ในประเทศไทยโดยกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ได้ทำการทดลองนำไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* (Weiser) ไปควบคุมแมลงศัตรูพืชต่างๆ หลายชนิดได้เป็นผลสำเร็จ คือ หนอนกินใต้ผิวเปลือกองุ่น (วัชรี และคณะ, 2529) ตัวอ่อนของด้วงหมัดผักในผักกาดหัว (วัชรี และคณะ, 2534ก) ด้วงงวงมันเทศ (วัชรี และคณะ, 2534ข) หนอนกระทู้หอมในดาวเรือง (วัชรี และคณะ, 2537) ด้วงหมัดผักที่พบในประเทศไทยมี 2 ชนิด คือ ชนิดสีน้ำเงินเข้ม *Phyllotreta chontanica* Duvivier และชนิดแถบลาย *Phyllotreta flexuosa* (Illiger) = *Phyllotreta sinuata* Stephens) ด้วงหมัดผักแถบลายเป็นแมลงศัตรูผักที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ โดยเฉพาะในแหล่งพื้นที่ปลูกผักชนิดต่างๆ เช่น บริเวณรอบกรุงเทพฯ ปทุมธานี นนทบุรี นครปฐม กาญจนบุรี เป็นต้น แมลงชนิดนี้ชอบทำลายผักในตระกูลกะหล่ำ เช่น กะหล่ำปลีกะหล่ำดอก กะหล่ำปม ผักคะน้า ผักกวางตุ้ง ผักกาดเขียวปลี และผักกาดหัว ระยะกล้าของผักที่มีอายุตั้งแต่ปลูกถึง 1 เดือนเป็นระยะที่

สำคัญหากถูกทำลายจะ ทำให้ผักมีผลผลิตลดลงไม่สามารถส่งขายตลาดได้ หนอนที่ฟักออกจากไข่ใหม่ ๆ จะกัดกินรากของผักหรืออาจซ่อนไข่เข้าไปกินอยู่บริเวณโคนต้นและแทะกินบริเวณผิวของรากทำให้พืชมีอาการเหี่ยวเฉาและตายในที่สุด สำหรับตัวเต็มวัยเข้าทำลายพืชผักทำให้เกิดความเสียหายมากมายโดยการกัดกินผิวด้านล่างของใบจนทำให้ใบมีลักษณะเป็นรูพรุนทั่วทั้งใบ รวมทั้งกัดกินผิวด้าน และกลีบดอกแมลงพวกนี้มักมีนิสัยชอบอยู่รวมกันเป็นกลุ่มๆ ตัวเต็มวัยค่อนข้างว่องไวเวลาถูกกระทบกระเทือนชอบกระโดดและสามารถบินได้ไกล ๆ การป้องกันกำจัดทำได้ยาก แม้การใช้สารฆ่าแมลง (วินัย, 2533) และปัญหาแมลงศัตรูพืชด้านทานต่อสารฆ่าแมลง มีพืชตกค้างในผลผลิต เป็นพิษต่อเกษตรกรผู้บริโภค และทำให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม การควบคุมด้วงหมัดผักแถบสายจึงจำเป็นต้องอาศัยการบริหารจัดการที่มีการประสานวิธีการควบคุมหลายรูปแบบอย่างเหมาะสม

ไส้เดือนฝอยในวงศ์ Steinernematidae และ Heterorhabditidae เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่มีศักยภาพสูงในการควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด โดยเฉพาะแมลงที่อาศัยในดินหรือที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะสม (Poinar, 1979; Kaya, 1995; Klein, 1990) *S. riobrave* เป็นไส้เดือนฝอยที่มีลักษณะเด่น คือ มีชีวิตรอดและคงประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงได้ดีแม้อุณหภูมิเพิ่มสูงถึง 35 °C โดยเฉพาะ *S. riobrave* ที่ยังคงมีประสิทธิภาพสูงกว่า 80% แม้อุณหภูมิจะสูงถึง 40 °C (Cabanillas et al., 1994.) จากการดำเนินการวิจัยและพัฒนาศักยภาพของไส้เดือนฝอยทั้งการเพิ่มปริมาณและนำไปทดสอบกับแมลงศัตรูพืชสำคัญหลายชนิด พบว่าไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* สามารถเข้าทำลายแมลงศัตรูพืชได้แก่ หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้ผัก หนอนใยผัก ได้เป็นผลดีที่ระดับอุณหภูมิสูง 25-30 °C โดยทดสอบในห้องปฏิบัติการ (วิไลวรรณ และคณะ 2551; Chongchitmate, 2005; Sasnarukkit, 2003; Somsook and Somsook, 2003) วัชร และคณะ (2551) รายงานว่า ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* และ *S. carpocapsae* จะมีชีวิตรอดและมีประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงมากกว่า 80 % ในสภาพที่มีความชื้นดิน 16% อุณหภูมิ 25 °C คงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บนาน 30 วัน วัชร และ วิไลวรรณ (2547) รายงานว่า *S. riobrave* และ *S. carpocapsae* มีประสิทธิภาพของ ในการเข้าทำลายหนอนกระทู้ผักเท่ากับ 92-100 % ที่อุณหภูมิ 5-30 °C วัชร และคณะ (2534) รายงานว่า การใช้ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ควบคุมด้วงหมัดผักในผักกาดหัว โดยใช้ไส้เดือนฝอย อัตรา 320 ล้านตัว/น้ำ 160 ลิตร ในพื้นที่ 1 ไร่ พ่นหรือราดลงดินในเวลาเย็นหลังการรดน้ำแปลง เมื่อผักอายุได้ 0 10 20 และ 30 วัน หลังหว่านเมล็ด วัชร และคณะ (2537) รายงานว่าใช้ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ในอัตรา 40 ล้านตัว/น้ำ 20 ลิตร โดยพ่นบริเวณยอดอ่อนและดอกดาวเรืองในเวลาเย็น ทุก 5-7 วัน สามารถควบคุมหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* ได้เช่นเดียวกับการพ่น *S. carpocapsae* สูตรผสมละลายน้ำ อัตรา 2,000 ตัว และ 4,000 ตัว มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ผักในดาวเรืองได้ไม่แตกต่างกับการใช้ไส้เดือนฝอยชนิดบรรจุในชั้นฟองน้ำ (สาทิพย์ และ คณะ, 2551)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ดั้วหมัดฝัก
2. กล่องเลี้ยงแมลง
3. ผ้าขาวบาง
4. กวางตุ้ง
5. กรงเลี้ยงแมลง
6. ไข่เดือนฝอย *Steinernema riobrave*
7. ถาดหลุม ขนาด 24 หลุมต่อถาด
8. ที่ดูดสารอัตโนมัติ
9. กล้องจุลทรรศน์
10. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ
11. จานเลี้ยงเชื้อพลาสติก
12. สารเคมีต่างๆ เช่น Alcohol, formalin เป็นต้น

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่างแมลงเพื่อใช้ในการทดลอง

ทำการเก็บรวบรวมตัวอย่างด้วงหมัดฝักแถบปลายจากพื้นที่ปลูกฝักของเกษตรกร
เกษตรกร อ. ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี นำมาเพาะเลี้ยงในกล่องพลาสติกใสใบกวางตุ้งเพื่อเป็นพืชอาหาร
นำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 27 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-80 % RH. แยก
เลี้ยงไข่และหนอนในกล่องพลาสติก ขนาด 4x7x9 เซนติเมตร โดยมีต้นกล้ากวางตุ้งขนาดเล็กที่มีราก
สมบูรณ์ เป็นอาหาร

2. การเตรียมไข่เดือนฝอยศัตรูแมลง *S. riobrave*

เลี้ยงขยายไข่เดือนฝอย *S. riobrave* ด้วยหนอนกินรังผึ้ง โดยเตรียมสารแขวนลอย
ไข่เดือนฝอยอัตรา 2,000 ตัวในน้ำ 1 มล. หยดลงบนกระดาษกรองในจานพลาสติกขนาด 9 เซนติเมตร
ก่อนใส่หนอนกินรังผึ้งจานละ 10 ตัว เก็บจานพลาสติกที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จากนั้น 48
ชั่วโมงหลังหยดไข่เดือนฝอย นำหนอนที่ตายมา Trap ในกล่องขึ้น นาน 10 วัน เพื่อล่อให้ไข่เดือนฝอย
ระยะเข้าทำลายแมลงออกจากซากหนอนลงสู่พื้น จึงทำการเทเก็บและกรองล้างไข่เดือนฝอยให้สะอาด
และเก็บไข่เดือนฝอยในชั้นฟองน้ำสังเคราะห์ปิดปากถุงให้สนิทเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมินาน 2 สัปดาห์
ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง

3. ทดสอบประสิทธิภาพของไข่เดือนฝอย *S. riobrave* ในการเข้าทำลายตัวเต็มวัยด้วงหมัดฝัก

วางแผนการทดลองแบบ CRD 10 ซ้ำ มี 3 กรรมวิธี คือ ไข่เดือนฝอย *S. riobrave*
เข้มข้น 2,000, 10,000 และ 20,000 ตัว ทำการทดลองด้วยวิธี paper bioassay ตามวิธีการของ
Glazer and Lewis (2000) เตรียมไข่เดือนฝอย *S. riobrave* อัตราความเข้มข้น 2,000, 10,000

และ 20,000 ตัวในน้ำ 500 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษกรองในงานทดลองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ใส่ใบกว้างตั้งเพื่อเป็นอาหารของด้วงหมัดผัก จากนั้นใส่ตัวเต็มวัยด้วงหมัดผัก จำนวน 10 ตัว ทำกรรมวิธีละ 10 ซ้ำ (งานทดลอง) นำงานทดลองเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำการตรวจนับและบันทึกจำนวนด้วงหมัดผักที่ตายที่เวลา 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ

4. ทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinenema riobrave* ในการเข้าทำลายตัวเต็มวัยด้วงหมัดผัก ที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส

ดำเนินการทดลองด้วยวิธี paper bioassay ตามวิธีการของ Glazer and Lewis (2000) โดยใช้งานทดลองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.5 เซนติเมตร ภายในรองกันด้วยกระดาษกรองจำนวน 1 แผ่น วางแผนการทดลองแบบ (CRD) มี 10 ซ้ำละ 10 ตัว จำนวน 6 กรรมวิธี คือ ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตราความเข้มข้น 0, 500, 1,000, 2,000, 4,000 และ 8,000 ตัวในน้ำ 500 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษกรองในงานทดลอง จากนั้นใส่ใบกว้างตั้งเพื่อเป็นอาหารของด้วงหมัดผัก ส่วนชุดควบคุม (control) ใส่น้ำเปล่าจำนวน 500 ไมโครลิตรแทนไส้เดือนฝอย จากนั้นใส่ตัวเต็มวัยด้วงหมัดผัก จำนวน 10 ตัว นำงานทดลองเก็บที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส ในสภาพมืด หลังการทดลองนาน 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ตรวจนับการตายของด้วงหมัดผัก การบันทึกข้อมูลบันทึกจำนวนด้วงหมัดผักที่ตาย ข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติที่เหมาะสม

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกข้อมูล ขนาด และลักษณะของระยะไข่ ระยะหนอน ระยะดักแด้ และตัวเต็มวัย
- จำนวนด้วงหมัดผักที่ตายภายในเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง
- จำนวนไส้เดือนฝอยวัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง (infective juvenile) ที่ออกจากตัวซากแมลง
- ข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติที่เหมาะสม

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2554 – เดือนกันยายน 2555

สถานที่ : ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1. ศึกษาลักษณะทางชีววิทยาของด้วงหมัดผักแถบลายเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการบริหารจัดการด้วงหมัดผักที่เหมาะสม จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างด้วงหมัดผักจากแปลงเกษตรกร อ.ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี นำมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยการเลี้ยงตัวเต็มวัยใน

กล่องพลาสติกขนาด 12x17x6 เซนติเมตร ภายในใส่ใบกว้างตั้งเพื่อเป็นอาหารของตัวเต็มวัย และเพื่อให้ตัวเต็มวัยจับวางไข่ ทำการเปลี่ยนพืชอาหารทุก 2 วัน ตรวจสอบไข่บนใบกว้างตั้งภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ พบว่า ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่เป็นฟองเดี่ยว หรืออาจวางเป็นกลุ่มบนใบพืชใกล้กาบใบ ไข่ มีขนาดเล็กรูปร่างรีสีขาว ผิวเรียบเป็นมัน ไข่มีขนาดความกว้าง 0.25 มิลลิเมตร และยาว 0.35 มิลลิเมตร ทำการแยกเลี้ยงไข่และตัวอ่อน ตามวิธีการของจอมสุรางค์ และคณะ (2550) ในกล่องพลาสติก ขนาด 9x13x4 เซนติเมตร ภายในใส่ดินร่วนปนทราย พรมน้ำให้ชุ่ม ก้อนวางใบกว้างตั้งที่มีไข่ของด้วงหมัดผักแถบลายลงบนดิน ไข่ใช้เวลา 3 วันจึงฟักออกเป็นหนอน ซึ่งมี 3 วัย หนอนวัย 1 มีลักษณะบางใส หัวสีดำ มีขาจริง 3 คู่ เคลื่อนไหวรวดเร็ว หนอนที่เพิ่งฟักออกจากไข่ มีลำตัวบางใส แผ่นแข็งด้านบนท้องปล้องสุดท้าย (anal plate) มีสีขาวใสเป็นมัน ลำตัวแบ่งออกเป็นปล้องๆ ไม่ชัดเจนแต่ละปล้องของหนอนมีจุดสีน้ำตาล เมื่อหนอนเริ่มกินอาหารลำตัวมีสีเหลืองใส ส่วนหัวและสันหลังอกปล้องแรก เริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ส่วนแผ่นแข็งบนท้องปล้องสุดท้ายเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ขนาดลำตัวยาว 2.66 มิลลิเมตร กว้าง 0.26 มิลลิเมตร หนอนวัยที่ 2 มีลักษณะทางสรีรวิทยาคล้ายกับหนอนวัยที่ 1 ลำตัวมีขนาดใหญ่ขึ้น แบ่งออกเป็นปล้องๆ เห็นชัดเจนมีทั้งหมด 11 ปล้อง ขนาดลำตัวยาว 3.36 มิลลิเมตร กว้าง 0.41 มิลลิเมตร หนอนวัย 3 มีสีเหลืองครีม เคลื่อนไหวช้า ขนาดความกว้างของหัวกะโหลก 0.28 มิลลิเมตร และลำตัวยาว 4.21 มิลลิเมตร กว้าง 0.56 มิลลิเมตร เมื่อหนอนโตเต็มที่มีขนาดลำตัวใหญ่อ้วนกลม ขนาด 0.69 มิลลิเมตร ระยะเวลาเข้าดักแด้ หนอนจะกินอาหารลดลง ลำตัวเริ่มหดสั้น และโค้งงอเป็นรูปตัวซี ส่วนหัว ส่วนอก และส่วนท้องมีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ ระยะเวลาไม่มีการเคลื่อนไหว ระยะดักแด้ มีรูปร่างแบบ exarate pupa คือ มีปีกและขาแยกออกจากลำตัวเป็นอิสระเคลื่อนไหวได้ ลำตัวดักแด้มีขนาดเล็ก ยาว 2.18 มิลลิเมตรและกว้าง 0.90 มิลลิเมตร (Table 1) เมื่อเข้าดักแด้ ใหม่ ๆ มีสีขาวใสเป็นมัน ตารวมมีสีขาว และสีเข้มขึ้นเมื่อดักแด้มีอายุมากขึ้น เมื่อดักแด้ใกล้ฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัย ส่วนที่เป็นหัว หนวด ขา และปีกเปลี่ยนเป็นสีค่อนข้างดำ ดักแด้ใช้เวลาในการเจริญเติบโต 6-9 วันจึงพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย (Table 2) วงจรชีวิตที่สมบูรณ์จากระยะไข่ถึงตัวเต็มวัยใช้เวลาประมาณ 19-25 วัน (Fig.1) เช่นเดียวกับการศึกษาของจอมสุรางค์ และคณะ (2550) พบว่า ระยะไข่และหนอนวัยที่ 1 ของด้วงหมัดผักชนิด *Phyllotreta flexuosa* มีอัตราการตายสูงโดยมีสาเหตุจากหลายปัจจัย เช่น พันธุกรรมของแมลง ความสมบูรณ์แข็งแรงของเพศเมีย ประสิทธิภาพของการผสมพันธุ์ สรีรวิทยา และโครงสร้างของไข่ และโครงสร้างของหนอนมีขนาดเล็กบอบบาง จึงมีโอกาสถูกกระแทกทำให้เกิดบาดแผลและตายได้โดยง่าย

การทดลองที่ 2. ทดสอบประสิทธิภาพของ *Steinernema riobrave* ในการเข้าทำลายด้วงหมัดผักระยะตัวเต็มวัย ดำเนินการทดลองโดยวิธี paper bioassay วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 10 ซ้ำ (จาน) ซ้ำละ 10 ตัว เตรียมไส้เดือนฝอย *S. riobrave* เข้มข้น 2,000, 10,000 และ 20,000 หยดลงบนกระดาษกรองในจานทดลอง พบว่า ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ทุกอัตราความเข้มข้น มีประสิทธิภาพทำให้ด้วงหมัดผักตายภายในเวลา 48 ชั่วโมงเท่ากับ 13, 18 และ 28 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และการตายของด้วงหมัดผักเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นจาก 48 เป็น 72, 96

และ 120 ชั่วโมง (Fig. 2) โดยที่ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 10,000 และ 20,000 ตัว มีประสิทธิภาพทำให้ด้วงตายสูงกว่าและแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับที่ไส้เดือนฝอยอัตรา 2,000 ตัว ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 20,000 ตัว มีประสิทธิภาพทำให้ด้วงตายสูงสุดเท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 120 ชั่วโมง (Table 3) และเมื่อนำด้วงหมัดฝักที่ตายมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยการใช้เข็มเขี่ยแยกซากด้วงหมัดฝักและหยดสารละลาย pepsin solution ไม่พบการพัฒนาของไส้เดือนฝอยในด้วงหมัดฝัก

การทดลองที่ 3. ทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายด้วงหมัดฝักระยะตัวเต็มวัยที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส ดำเนินการทดลองด้วยวิธี paper bioassay ตามวิธีการของ Glazer *et al.* (2002) โดยใช้จานทดลองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.5 เซนติเมตร ภายในรองกันด้วยกระดาษกรองจำนวน 1 แผ่น วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 10 ซ้ำละ 10 ตัว จำนวน 6 กรรมวิธี คือ ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตราความเข้มข้น 0, 500, 1,000, 2,000, 4,000 และ 8,000 ตัวในน้ำ 500 ไมโครลิตร

จาก Table 4 พบว่า ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 8,000 ตัว มีประสิทธิภาพเข้าทำลายด้วงหมัดฝักระยะตัวเต็มวัยได้ ภายในเวลา 48 ชั่วโมง พบการตายของด้วงหมัดฝักเท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าและแตกต่างทางสถิติกับทุกอัตราความเข้มข้น

ที่ 72 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 8,000 ตัว ทำให้ด้วงหมัดฝักตายเท่ากับ 36 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าและแตกต่างทางสถิติกับที่อัตรา 4,000 และ 2,000 ตัว (18 และ 17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ที่อัตรา 500 และ 1,000 พบเปอร์เซ็นต์การตายของด้วงหมัดฝักระยะตัวเต็มวัยต่ำสุดเท่ากับ 3 และ 6 ตามลำดับ (Fig 3)

ที่ 96 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 8,000 ตัว ทำให้ด้วงหมัดฝักตายสูงสุดเท่ากับ 47 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือที่อัตรา 4,000, 2,000 และ 1,000 ตัว (35, 28 และ 17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ)

ที่ 120 ชั่วโมง พบการตายของด้วงหมัดฝักสูงสุด 57 เปอร์เซ็นต์ ที่อัตราความเข้มข้นไส้เดือนฝอย *S. riobrave* 8,000 ตัว รองลงมาคือ ที่อัตรา 4,000 ตัว พบการตายเท่ากับ 54 เปอร์เซ็นต์

จาก Table 5 พบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 8,000 ตัว ทำให้ด้วงหมัดฝักตายสูงสุดเท่ากับ 19 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 48 ชั่วโมง รองลงมาคือที่ 4,000 ตัว การตายของด้วงหมัดฝักเท่ากับ 11 เปอร์เซ็นต์

ที่เวลา 72 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 8,000 และ 4,000 ตัว ทำให้ด้วงหมัดฝักตายเท่ากับ 40 และ 31 เปอร์เซ็นต์

ที่เวลา 96 และ 120 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 8,000 ตัว ทำให้ด้วงหมัดฝักตายสูงสุดเท่ากับ 63 และ 80 รองลงมาคือ อัตรา 4,000 ตัว พบการตายของด้วงหมัดฝักเท่ากับ 52 และ 67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Fig 4)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. จากการศึกษาลักษณะทางชีววิทยาของด้วงหมัดผักแถบลายชนิด *Phyllotreta sinuata* (Stephens) พบว่า วงจรชีวิตจากระยะไข่ถึงตัวเต็มวัยใช้เวลาประมาณ 19-25 วัน ระยะหนอนประมาณ 9-12 วัน ซึ่งข้อมูลที่ได้ยังไม่สมบูรณ์ จำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติม เพื่อให้ได้ตารางชีวิต และข้อมูลวงจรชีวิตของด้วงหมัดผักที่สมบูรณ์ เพื่อนำไปใช้ในการบริหารจัดการด้วงหมัดผักที่เหมาะสมต่อไป

2. ไล่เดือนฝอย *S. riobrave* อัตรา 20,000 ตัว มีประสิทธิภาพสามารถทำให้ด้วงหมัดผักตัวเต็มวัยตายได้ตั้งแต่เวลา 48 ชั่วโมง และด้วงหมัดผักตายสูงสุด 80 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 120 ชั่วโมง เมื่อทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ ทั้งนี้ต้องทำการทดสอบประสิทธิภาพของไล่เดือนฝอย *S. riobrave* ในการเข้าทำลายด้วงหมัดผักระยะอื่นซึ่งอาศัยอยู่ในดินด้วย เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์ขึ้น และเพื่อเป็นข้อมูลในการส่งเสริมและแนะนำเกษตรกรในการนำไล่เดือนฝอยไปใช้ควบคุมด้วงหมัดผักในพืชผักตระกูลกะหล่ำต่อไป

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ นางสาวประยูร จันทร์นาม นักวิชาการเกษตร กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ตลอดจนทุกท่านที่มีส่วนช่วยในงานทดลองนี้ จนทำให้งานทดลองสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- จอมสุรางค์ ดวงสนธิ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ ไสว บูรณพานิชพันธ์ และจิราพร ตยติวุฒิกุล. 2550. ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของด้วงหมัดผักแถบลายในเขตภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย. วิทยาสารกำแพงแสน. 5 (1): 20-29.
- วัชรีย์ สมสุข พิมพ์พร นันทะ และ เอนก บุตรรักษ์. 2537. การควบคุมหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* ในดาวเรืองด้วยไล่เดือนฝอย ผลงานแผ่นภาพ ในการประชุมสัมมนาทางวิชาการ แมลงและสัตว์ศัตรูพืช ครั้งที่ 9 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 55-62.
- วัชรีย์ สมสุข และคณะ. 2534. การใช้ไล่เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ควบคุมด้วงหมัดผักในผักกาดหัว วารสารกีฏและสัตววิทยา 13(4) : 183-188 (2534) กรมวิชาการเกษตร.
- วัชรีย์ สมสุข และ วิไลวรรณ เวชยันต์. 2547. ประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนผีเสื้อของไล่เดือนฝอยศัตรูแมลง. ใน การประชุมวิชาการประจำปี 2547 ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ. 22-25 มิถุนายน 2547 ณ โรงแรมโนโวเทล โคลาเรีย รีมเพ อ.แกลง จ.ระยอง.

- วัชรี สมสุข วินัย รัชตปภรณ์ชัย และพิมลพร นันทะ. 2534ก. การใช้ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* (Weiser) ควบคุมด้วงหมัดผักในผักกาดหัว. วารสารกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 13 : 183 – 188.
- วัชรี สมสุข สุรน สุวรรณบุตร และพิมลพร นันทะ. 2534ข. ศึกษาการใช้ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* (Weiser) ในการควบคุมด้วงวงมันเทศในสภาพธรรมชาติ. รายงานผลวิจัยประจำปี 2534 กองกีฏและสัตววิทยา. 10 หน้า.
- วัชรี สมสุข, อัจฉรา ตันติโชค และอุทัย เกตุญาติ. 2529. ไส้เดือนฝอยควบคุมหนอนกินใต้ผิวเปลือกไม้ สกกลางสาด. ว. กีฏ. สัตว์. 8(3): 115-119.
- วินัย รัชตปภรณ์ชัย. 2533. การป้องกันกำจัดด้วงหมัดผักในผักกาดหัว วารสารกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร 12 : 4-10.
- วินัย รัชตปภรณ์ชัย. 2532. การป้องกันกำจัดด้วงหมัดผักในผักกาดเขียวปลี. วารสารกีฏและสัตววิทยา 11(1): 2-11.
- วัชรี สมสุข และสุทธิชัย สมสุข. 2544. ศึกษาอาหารเหลวเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* (Weiser) ใน “ผลงานวิจัย โครงการวิจัยและพัฒนาการผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในระดับการค้า” หน้า 28-40. จัดพิมพ์โดยกรมวิชาการเกษตร สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- Cabanillas, H.E., G.O. Jr. Poinar and J.R. Raulston. 1994. *Steinernema riobravis* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae) from Texas. Fundam. Appl. Nematol. 17:123-131
- Poiner, G.O. and G.M. Thomas 1965. A new bacterium, *Achromobacter nematophilus* sp. NOV (Achromobacteriaceae : Eubacteriales) associated with a nematode. International bulletin of bacteriological nomenclature and taxonomy Vol. 15: 4, 249-252.

Table 1 Average length of body and width of head capsule of Striped Flea beetle, *Phyllotreta sinuata* (Stephen) at each development stage.

Developmental stage	Mean \pm S.D. (mm.) ^{1/}	
	Width	Length
Egg	0.25 \pm 0.01	0.35 \pm 0.02
larval instar:		
1 st	0.26 \pm 0.01	2.66 \pm 0.01
2 nd	0.41 \pm 0.00	3.36 \pm 0.01
3 rd	0.56 \pm 0.03	4.21 \pm 0.03
pre pupal	0.69 \pm 0.01	2.87 \pm 0.01
pupal	0.90 \pm 0.02	2.18 \pm 0.02

^{1/} average size \pm standard deviation

Table 2 Developmental stages of Striped Flea beetle, *Phyllotreta sinuata* (Stephen) under laboratory conditions (25.61 \pm 0.62 °C and 92.00 \pm 0.25% RH).

Developmental stage	Range (days)
Egg incubation	1 - 3
larval instar:	
1 st	3-4
2 nd	3-4
3 rd	3-4
larval period	9-12
pre pupal	1
pupal period	6-9
Total development period	
from egg to adult	19-25

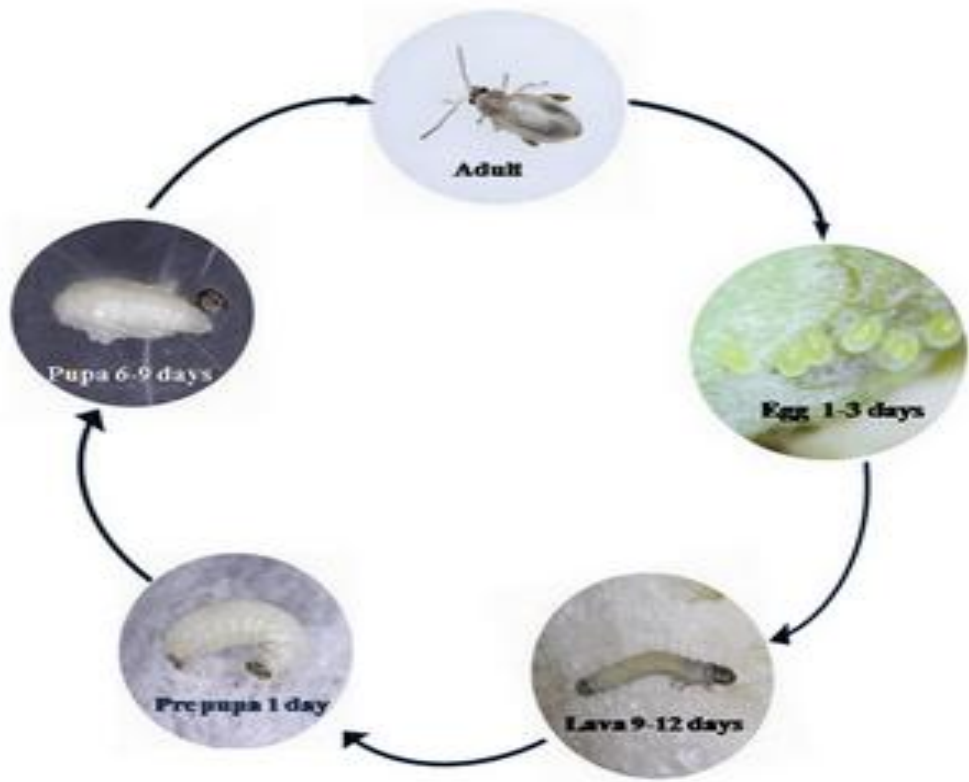


Fig. 1 Life cycle of Striped flea beetle, *Phyllotreta sinuata* (Stephen).

Table 3 Percentage mortality of Striped Flea beetle, *Phyllotreta sinuata* (Stephen) by entomopathogenic nematode, *Steinernema riobrave* at different concentrations under laboratory conditions.

Nematode species	Nematode concentration (IJs)	Mortality percentage of <i>P. sinuata</i> caused by <i>S. riobrave</i> at different time (h)			
		48	72	96	120
<i>S. riobrave</i>	2,000	13	22 b	27 b	42 b
	10,000	18	40 a	55 a	67 a
	20,000	28	46 a	65 a	80 a
CV (%)		89.2	52.4	38.3	34.0

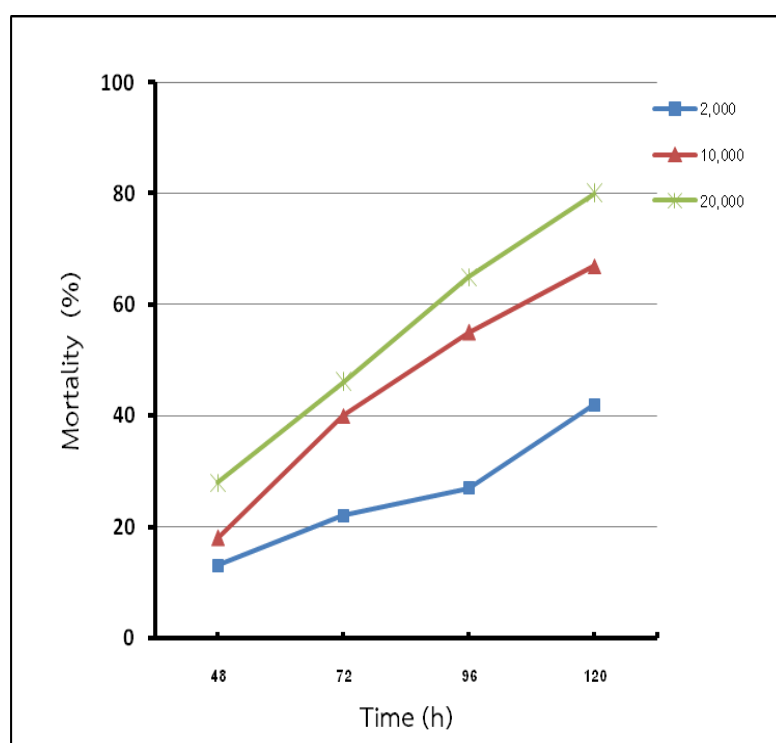


Fig. 2 Mean mortality percentages of *Phyllotreta sinuata* (Stephen) adult infected with *Steinernema riobrave* at different concentrations under laboratory condition recorded at different times.

Table 4 Percentage mortality of Striped Flea beetle, *Phyllotreta sinuata* (Stephen) by entomopathogenic nematode at different concentrations under laboratory conditions (25 °C)

Nematode concentration (IJs)	Mortality percentage of <i>P. sinuata</i> caused by entomopathogenic nematode <i>S. riobrave</i> at different time			
	48	72	96	120
500	0 b	3 c	7 d	21 d
1,000	0 b	6 c	17 cd	38 c
2,000	2 b	17 b	28 bc	40 bc
4,000	2 b	18 b	35 ab	54 ab
8,000	10 a	36 a	47 a	57 a
CV (%)		77.9	57.4	37.4

In a column, means followed by a common letter are not significantly different at 95% level by DMRT.

Table 5 Percentage mortality of Striped Flea beetle, *Phyllotreta sinuata* (Stephen) by entomopathogenic nematode at different concentrations under laboratory conditions (30 °C)

Nematode concentration (IJ)	Mortality percentage of <i>P. sinuata</i> caused by entomopathogenic nematode <i>S. riobrave</i> at different time			
	48	72	96	120
500	0 c	4 b	23 c	46 c
1,000	0 c	17 b	29 c	48 c
2,000	2 bc	17 b	42 b	56 bc
4,000	11 ab	31 a	52 ab	67 ac
8,000	19 a	40 a	63 a	80 a
CV (%)	163.7	67.5	35.3	32.3

In a column, means followed by a common letter are not significantly different at 95% level by DMRT.

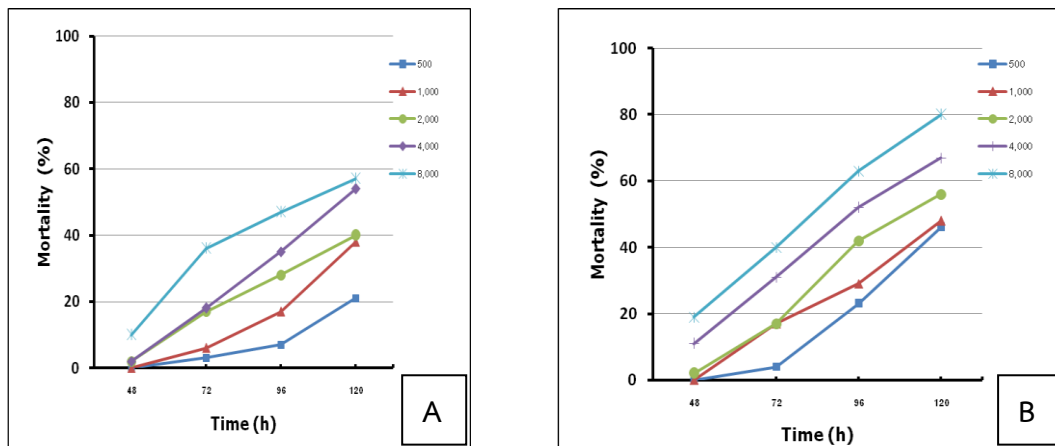


Fig. 3 Mean mortality percentages of *Phyllotreta sinuata* (Stephen) adult infected with *Steinernema riobrave* at 25 °C (A) and 30°C (B), at different times