อิทธิพลของแบคทีเรีย *Xenorhabdus nematophilus* (Enterobacteriaceae) ต่อการเลี้ยงขยายปริมาณของไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* (Weiser) ในอาหารเหลว

The Influence of *Xenorhabdus nematophilus* (Enterobacteriaceae) on the Propagation of Entomopathogenic Nematodes *Steinernema carpocapsae* (Weiser) in Liquid Culture

วัชรี สมสุข [1] สุทธิชัย สมสุข [2]

Vacharee Somsook [1] Suthichai Somsook [2]

ABSTRACT

The influence of symbiotic bacterium *Xenorhabdus nematophilus* (Enterobacteriaceae) on the propagation of entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* in liquid medium conducted in the laboratory of Entomology and Zoology Division, Dept. of Agriculture was carried out in the following issues:

1. Culturing *X. nematophilus* and *S. carpocapsae* together in 4 different conditions (treatmens) and each has 5 replications (CRD) as follows:

1.1) culturing bacteria in liquid culture 24 hours long before nematode inoculation,

1.2) inoculation of bacteria and nematode in liquid culture at the same time,

1.3) bacterial cells were cultured 24 hours long and filtered before nematode inoculation and

1.4) culturing nematode without bacterial inoculum.

Thirty ml liquid medium contained in 125 ml conical flask was autoclaved at 121 °c. for 30 min. Each flask was then inoculated with 10^9 bacterial cells and 30,000 infective juveniles of nematode. The result showed that the first treatment gave the highest yield (166,139 nematodes/ml) and is significantly different (P=0.05) from other methods.

Key words : bacteria, nematode, propagation, symbiotic relationship.

---

1 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

1 Entomology and Zoology Division, Department of Agriculture, Bangkok 10900

2 ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

2 Dept. of Agriculture Technology, Fac. of Science and Technology, Thammasat University

2. Study on the effect of inoculum sizes on yield of nematode in liquid medium. Four inoculum sizes of bacteria $3x10^7$, $3x10^8$, $3x10^9$ and $3x10^{10}$ cell/ml. were used. The result showed that the yield of infective juveniles of nematode/ml increased with inoculum sizes of bacteria.

บทคัดย่อ

ศึกษาอิทธิพลของแบคทีเรีย *Xenorhabdus nematophilus* ที่มีต่อการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ในอาหารเหลว ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการกองกีฏและสัตววิทยา โดยทดลองเลี้ยงแบคทีเรีย *X. nematophilus* ในอาหารเหลวร่วมกับการเลี้ยงไส้เดือนฝอยในสภาพต่างๆ 4 วิธีการ มี 5 ซ้ำ วิธีการคือ

1. เลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ในอาหารเหลวที่ใส่แบคทีเรีย *X. nematophilus* ลงไปให้มีการเจริญเติบโตก่อน 24 ชั่วโมง

2. เลี้ยงไส้เดือนฝอยและแบคทีเรียในอาหารเหลวพร้อมกัน

3. เลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเหลว 24 ชั่วโมง ก่อนแล้วกรองเอาเซลแบคทีเรียออกก่อนใส่ไส้เดือนฝอยลงไปเลี้ยง

4. เลี้ยงไส้เดือนฝอยในอาหารเหลวโดยไม่มีการใส่แบคทีเรีย

การเลี้ยงไส้เดือนฝอย ทั้ง 4 วิธี การทำในขวดแก้ว (flask) ขนาด 125 มล.บรรจุอาหาร 30 มล. เขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 25±1° ซ เป็นเวลา 9 วัน จึงทำการตรวจนับปริมาณไส้เดือนฝอยวัย 3 (ระยะเข้าทำลายแมลง) ที่ได้ พบว่า วิธีการที่ 1 ให้ผลผลิต สูงสุด 166,140 ตัว/มล. แตกต่างอย่างนี้มีนัยสำคัญทางสถิติจากวิธีการที่ 2, 3 แล 4 ซึ่งได้ผลผลิต 131,213 5,646 และ 5,086 ตัว/มล. ตามลำดับ

ส่วนการศึกษาถึงระดับปริมาณของแบคทีเรีย ที่มีผลต่อการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ในอาหารเหลว โดยใส่แบคทีเรีย 4 ระดับ $3x10^7$, $3x10^8$, $3x10^9$ และ $3x10^{10}$ เซล/มล. พบว่าผลผลิตสุดท้ายของไส้เดือนฝอยวัย 3 ที่ได้จากอาหารเหลวจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณของแบคทีเรียที่ใส่ในอาหารดังนี้คือ 81,200 99,800 109,000 และ 128,000 ตัว/มล. ตามลำดับ โดยผลผลิตที่ได้สูงสุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากผลผลิตที่ได้ต่ำสุด ผลการทดลองเหล่านี้แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของแบคทีเรีย *X. nematophilus* ต่อการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* โดยเฉพาะการผลิตไส้เดือนฝอยเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืชเป็นการค้า

คำหลัก : แบคทีเรีย ไส้เดือนฝอย การเลี้ยงขยาย ปริมาณ การอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกัน

คำนำ

Xenorhabdus nematophilus เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ร่วมกับไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinenerma carpocapsae* แบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน (symbiotic relationship) ในธรรมชาติ พบแบคทีเรียชนิดนี้อาศัยอยู่ที่ลำไส้ของไส้เดือนฝอย (Poinar and Thomas, 1965) ซึ่งทำหน้าที่เป็นพาหะโดยที่ไส้เดือนฝอยจะเข้าสู่ภายในลำตัวแมลงทางช่องเปิดต่างๆ เช่น ปาก ทวาร ช่องรูหายใจ จากนั้นจะไชผ่านเข้าไปสู่ช่องว่างของลำตัว (haemocoel) และจะปล่อยแบคทีเรียออกมาสู่กระแสเลือดของแมลงซึ่งเป็นระบบเปิด แบคทีเรียจะมีการแบ่งเซลและเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็วและทำให้แมลงตายภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง เพราะเลือดเป็นพิษ (septicemia)ในขณะเดียวกันแบคทีเรียก็จะสร้างสารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยต่อไปจนอาหารในตัวแมลงหมด

ในประเทศไทยมีการนำไส้เดือนฝอยชนิดนี้ไปควบคุมแมลงศัตรูพืชที่สำคัญต่างๆได้เป็นผลสำเร็จ ได้แก่ หนอนกินใต้ผิวเปลือกลองกอง ตัวอ่อนด้วงหมัดผักในผักกาดหัว ด้วงงวงมันเทศ หนอนกระทู้หอมในดาวเรือง (วัชรี, 2538) ปัจจุบันมีการศึกษาและพัฒนาวิธีการผลิตไส้เดือนฝอยชนิดนี้ให้ได้ปริมาณมากด้วยอาหารเทียม (วัชรีและคณะ, 2539) เพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชทดแทนการใช้สารฆ่าแมลงในการผลิตไส้เดือนฝอยด้วยอาหารเหลว (liquid medium) ซึ่งเป็นวิธีหนึ่งที่จะนำไปสู่การผลิตระดับการค้าได้ (Friedman, 1990) เนื่องจากมีต้นทุนต่ำ

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่าแบคทีเรีย *X. nematophilus* เป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งต่อการดำรงชีวิตของไส้เดือนฝอย และสภาพการเลี้ยงในอาหารเหลวในห้องปฏิบัติการนั้นต่างจากสภาพธรรมชาติซึ่งมีแมลงเป็นแหล่งอาศัย ฉะนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาในประการแรกคือ สภาพการเลี้ยงร่วมกันระหว่างสิ่งมีชีวิตทั้งสองที่จะพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกันให้ได้รับผลประโยชน์สูงสุด และประการที่ 2 ศึกษาถึงระดับของปริมาณแบคทีเรียที่มีผลต่อการเลี้ยงขยายปริมาณไส้เดือนฝอยจากการศึกษาครั้งนี้จะเป็นการยืนยันให้เห็นความสำคัญของแบคทีเรียชนิดนี้ที่มีต่อการเลี้ยงไส้เดือนฝอยเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงในอาหารเหลว ข้อมูลพื้นฐานต่างๆ ที่ได้สามารถนำไปใช้ในการผลิตไส้เดือนฝอยให้ได้ปริมาณมากในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองกระทำในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร ตามขั้นตอนดังนี้

1. การเตรียมอาหารเหลวที่ใช้ในการทดลอง

เตรียมอาหารใส่ขวดแก้วขนาด 125 มล. ขวดละ 30 มล.ปิดจุกสำลี และนำเข้าอบนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 120° ซ เป็นเวลา 21 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นจึงนำไปทดลอง (รายละเอียดของสูตรอาหารยังไม่เปิดเผย)

2. การเตรียม stock แบคทีเรีย *X. nematophilus* เพื่อใช้ในการทดลอง

นำไส้เดือนฝอย *S.carpocapsae* วัย 3 จำนวนประมาณ 1000 ตัว มาล้างให้สะอาดด้วยน้ำยาไฮยามีน 0.1% 3 ครั้ง และล้างน้ำสะอาดนึ่งฆ่าเชื้อเป็นครั้งสุดท้าย ก่อนนำไปบดในชุดบด homogenizer เพื่อให้เซลแบคทีเรียในลำไส้ของไส้เดือนฝอยหลุดออกมา แล้วใช้เข็มเขี่ยแตะแยกใส่บนอาหาร TTC-Tergital 7 agar ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา ประมาณ 48 ชั่วโมง จึงเลือก colony ของแบคทีเรีย ซึ่งมีลักษณะกลมนูนตรงกลางสีเข้มรอบๆ สีน้ำเงิน ทำการแยกออกมาเลี้ยงไว้บน nutrient agar ให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ เก็บที่อุณหภูมิไม่เกิน 12° ซ เมื่อเวลาจะใช้จึงเขี่ยเชื้อบริสุทธิ์ลงในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ YS broth นำไปเขย่าที่ 28-30° ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งจะได้แบคทีเรียเข้มข้น 10 เซล/มล.เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3. การเตรียม inoculum ไส้เดือนฝอยเพื่อใช้ในการทดลอง

นำไส้เดือนฝอยวัย 3 (ระยะเข้าทำลายแมลง) ที่ได้จากหนอนกินรังผึ้ง *(Galleria mellonella)* ซึ่งเป็นไส้เดือนฝอยที่แข็งแรงมาล้างให้สะอาดด้วย 0.1% ไฮยามีนแล้วล้างด้วยน้ำกลั่นอบนึ่งเพื่อเตรียมไว้ใช้ในการทดลองเลี้ยงในอาหารเหลว

การทดลองแบ่งเป็น 2 หัวข้อ คือ

1. ความสำคัญของแบคทีเรีย *X. nematophilus* กับการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอย *S.carpocapsae* ในอาหารเหลว

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 วิธีการ 5 ซ้ำ วิธีการมีดังนี้

1.1 เลี้ยงไส้เดือนฝอย *S.carpocapsae* ในอาหารเหลวที่ใส่แบคทีเรีย *X. nematophilus* ลงไปเจริญเติบโตก่อน 24 ชั่วโมง

1.2 เลี้ยงไส้เดือนฝอยและแบคทีเรียในอาหารเหลวพร้อมกัน

1.3 เลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเหลว 24 ชั่วโมงก่อน แล้วกรองเอาเซลแบคทีเรียออกก่อนใส่ไส้เดือนฝอยลงไปเลี้ยง

1.4 เลี้ยงไส้เดือนฝอยในอาหารเหลวโดยไม่มีการใส่แบคทีเรีย

นำขวดอาหารเหลวที่เตรียมไว้ ตามข้อ 1 มาทดลองตามวิธีดังกล่าวแต่ละวิธีการ ใช้อาหารเหลว 5 ขวด (1 ขวด = 1 หน่วยทดลอง) หยดแบคทีเรีย 1 มล. ซึ่งมีปริมาณเซลประมาณ 10^9 ต่ออาหารเหลว 1 ขวด (30 ml.) ใส่ไส้เดือนฝอยทั้งหมด 30,000 ตัว ส่วนในวิธีการที่ 3 นั้นทำการกรองแบคทีเรีย ด้วย microfilter ขนาด 0.2 micron ในทุกวิธีการ หลังจากเตรียมการทดลองแล้ว จะถูกนำไปเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25±1° ซ เป็นเวลา 9 วัน จึงทำการตรวจนับปริมาณไส้เดือนฝอยวัย 3 ในปริมาณอาหารเหลว 1 มล.

2. การศึกษาระดับปริมาณของแบคทีเรีย *X. nematophilus* ต่อผลผลิตไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ในอาหารเหลว

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 วิธีการ 5 ซ้ำ วิธีการมี ดังนี้

2.1 เลี้ยงไส้เดือนฝอยในอาหารเหลวที่ใส่แบคทีเรีย $3x10^7$ เซล/อาหาร 30 มล.

2.2 เลี้ยงไส้เดือนฝอยในอาหารเหลวที่ใส่แบคทีเรีย $3x10^8$ เซล/อาหาร 30 มล.

2.3 เลี้ยงไส้เดือนฝอยในอาหารเหลวที่ใส่แบคทีเรีย $3x10^9$ เซล/อาหาร 30 มล.

2.4 เลี้ยงไส้เดือนฝอยในอาหารเหลวที่ใส่แบคทีเรีย $3x10^{10}$ เซล/อาหาร 30 มล.

นำอาหารเหลวในขวดแก้วที่เตรียมตามวิธีข้อ 1 จำนวน 20 ขวด นำมาทดลองตามวิธีการดังกล่าวข้างต้น 4 วิธีการ วิธีการละ 5 ขวด (1 ขวด = 1 หน่วยทดลอง) โดยหยดแบคทีเรียใส่ในอาหารเหลวอัตราต่างๆ ตามแต่ละวิธีด้วยวิธีการปลอดเชื้อ นำไปเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบ/นาที ที่ 28±1° ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงนำไส้เดือนฝอยล้างให้สะอาดเพื่อลงเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแบคทีเรียระดับต่างๆ รอไว้แล้วโดยใส่ไส้เดือนฝอยลงเลี้ยงในอัตรา 500 ตัว/มล. ทุกวิธีการ (15,000 ตัว/ขวด) แล้วเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบ/นาที ที่ 25±1° ซ เป็นเวลา 9 วัน จึงนำมาตรวจนับผลผลิตไส้เดือนฝอยวัย 3 ที่ได้ในทุกวิธีการ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรีย *X.nematophilus* มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตและขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลวในห้องปฏิบัติการเช่นเดียวกันกับในสภาพธรรมชาติ ตามตารางที่ 1 จะเห็นว่าวิธีการแรกที่มีการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารเหลว 24 ชั่วโมงก่อนแล้วจึงใส่ไส้เดือนฝอยลงไปเลี้ยงจะให้ผลผลิตสูงสุดคือ 166,140 ตัว/มล. ไส้เดือนฝอยสามารถเพิ่มปริมาณได้ถึง 116 เท่า และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากวิธีการที่ 2,3,4 ซึ่งให้ผลผลิตน้อยกว่าตามลำดับ ตามวิธีการที่ 1.1 ซึ่งใส่แบคทีเรียลงไปเลี้ยงก่อนนั้น แบคทีเรียจะอาศัยอาหารเหลวในการขยายปริมาณโดยการแบ่งเซลเป็นจำนวนมากและขณะเดียวกันมันจะผลิตสารบางชนิด (ปัจจุบันยังไม่ทราบชื่อ) ซึ่งมีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอย (Poinar and Thomas, 1966) และขณะเดียวกันมันสามารถป้องกันการปนเปื้อน (contamination) ของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ โดยสร้างสาร antibiotic ได้แก่ xenocoumacins, xenorhabdins

(Akhurst, 1982; Mc Inerney et.al., 1991 a and 1991 b) และ bacteriocins (Boemare et al., 1992) และการขยายปริมาณเซลของแบคทีเรียนี้อย่างรวดเร็ว ทำให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ไม่สามารถแข่งขันได้ เมื่อสภาพต่างๆ ที่เหมาะสมดังกล่าวเกิดขึ้นในอาหารเหลวแล้วจึงใส่ไส้เดือนฝอยลงเลี้ยงซึ่งจะได้รับสารอาหารที่จำเป็นทันทีจึงสามารถเจริญเติบโตและขยายพันธุ์

วิธีการที่ 1.2 ซึ่งใส่เชื้อแบคทีเรียและใส่ไส้เดือนฝอยลงเลี้ยงในอาหารเหลวพร้อมกัน ได้ผลผลิตรองลงมาคือ 131,213 ตัว/มล. เพิ่มปริมาณได้ 131 เท่า สภาพที่แบคทีเรียและไส้เดือนฝอยที่ต้องอาศัยอยู่ร่วมกันตั้งแต่เริ่มต้นของการเลี้ยงนั้น เนื่องจากปัจจัยต่างๆ ในการเจริญเติบโตในอาหารที่ใช้เลี้ยงมีอยู่อย่างจำกัด อาจมีการแข่งขันในการใช้ปัจจัยต่างๆ ระหว่างสิ่งมีชีวิตทั้ง 2 นี้ แบคทีเรียไม่สามารถที่จะขยายปริมาณหรือแบ่งเซลได้เต็มที่ ฉะนั้นการสร้างสารอาหารที่จำเป็นต่อไส้เดือนฝอยลดน้อยลงกว่าวิธีที่ 1.1 ซึ่งมีผลต่อผลผลิตของไส้เดือนฝอยในขณะเดียวกันการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่นมีโอกาสมากขึ้น

วิธีการที่ 1.3 ในช่วง 24 ชั่วโมงแรกนั้นจะมีสภาพคล้ายกับวิธีการที่ 1.1 แต่สารที่จำเป็นนี้อาจไม่พอกับความต้องการของไส้เดือนฝอย ปริมาณไส้เดือนฝอยที่ได้ต่ำมาก 5646 ตัว/มล. ขยายปริมาณได้ 5.6 เท่า เพราะหลังจาก 24 ชั่วโมงแล้วแบคทีเรียจะถูกกรองออก ฉะนั้นจึงมีผลกระทบต่อการขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอย ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียนี้จะต้องมีความสัมพันธ์กับไส้เดือนฝอยตลอดระยะเวลาที่เลี้ยงร่วมกันจึงจะได้ผลผลิตสูงสุด และโอกาสที่จะถูกปนเปื้อนโดยเชื้อจุลินทรีย์อื่นก็มีมากกว่าวิธีที่ 1.1 และ 1.2

ส่วนวิธีการที่ 1.4 นั้น ซึ่งไม่ได้ใส่แบคทีเรียลงไปเลี้ยงร่วมกับไส้เดือนฝอย แต่อย่างไรก็ตามไส้เดือนฝอยก็ยังเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ได้ แต่ผลผลิตน้อย ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับวิธีที่ 1.3 ตามปกติในลำไส้ไส้เดือนฝอยมีแบคทีเรียชนิดนี้อาศัยอยู่ แต่มีปริมาณน้อย มันจะถูกปล่อยออกมาในอาหารพร้อมกับการขับถ่ายของเสียของไส้เดือนฝอย อย่างไรก็ตามการสร้างสารที่จำเป็นและสาร antibiotic ก็มีน้อยเช่นกัน ฉะนั้นโอกาสที่จะถูกปนเปื้อนก็มีมากขึ้นเช่นเดียวกับวิธีที่ 1.3 สภาพเช่นนี้ไม่เหมาะกับไส้เดือนฝอย

นอกจากสภาพการเลี้ยงมีผลต่อการเจริญเติบโตและขยายปริมาณไส้เดือนฝอยแล้ว ระดับปริมาณของแบคทีเรียที่ใส่ลงในอาหารที่เลี้ยงร่วมกับไส้เดือนฝอยก็มีผลต่อผลผลิตไส้เดือนฝอยเช่นกัน จากตารางที่ 2 ในสภาพการเลี้ยงที่เหมาะสมที่สุด (ตามวิธีการที่ 2.1) ปริมาณแบคทีเรียสูงสุดที่ $3x10^{10}$ เซล/30 มล. ใช้เป็น inoculum ในอาหารเหลวให้ผลผลิตสูงสุด แสดงให้เห็นว่าเมื่อแบคทีเรียมีจำนวนมากขึ้น การสร้างสารที่จำเป็นต่อการดำรงชีพก็มีมากขึ้น และการปนเปื้อนก็น้อยลง ซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยมากขึ้น

การทดลองทั้ง 2 หัวข้อนี้ให้ผลสอดคล้องกัน แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลในทางบวกของแบคทีเรีย *X. nematophilus* ต่อการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* นอกจากนี้ยังมีปัจจัยที่สำคัญอื่นๆ ที่มีผลต่อการเลี้ยงขยายปริมาณไส้เดือนฝอยคือ อ๊อกซิเจน อุณหภูมิ องค์ประกอบของอาหารเหลว ความเหมาะสมระหว่างจำนวนประชากรของแบคทีเรียและไส้เดือนฝอย (Pace et al., 1986; Friedman et al., 1989; Buecher and Popiel, 1989) ซึ่งจะต้องมีการทดสอบหาข้อมูลต่อ เพื่อให้การเพิ่มผลผลิตได้สูงสุด

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาอิทธิพลของแบคทีเรีย *X. nematophilus* ต่อการเลี้ยงขยายปริมาณ ของไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ในอาหารเหลว โดยการทดลองปรับ

สภาพการเลี้ยงร่วมกันระหว่างสิ่งมีชีวิตทั้งสอง 4 วิธีการด้วยกัน พบว่า วิธีการที่เลี้ยงแบคทีเรียให้เจริญในอาหารเหลวก่อน 24 ชั่วโมง แล้วจึงใส่ไส้เดือนฝอยลงไปเลี้ยงร่วมกันเป็นเวลา 9 วัน จะได้ผลผลิตไส้เดือนฝอยวัย 3 (ระยะเข้าทำลายแมลง) สูงสุดเฉลี่ย 166,140 ตัว ต่ออาหาร 1 มิลลิลิตร และแตกต่างจากวิธีการอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ปริมาณแบคทีเรียที่ใส่ลงไปเลี้ยงในระดับสูงสุด คือ $3x10^{10}$ เซล ต่ออาหาร 1 มิลลิลิตร จะได้ผลผลิตสูงสุดเฉลี่ย 128,800 ตัว ต่ออาหาร 1 มิลลิลิตร และแตกต่างจากผลผลิตที่ได้จากการใส่แบคทีเรียระดับต่ำสุด ($3x10^{7}$ เซล) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การทดลองนี้แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของแบคทีเรีย *X. nematophilus* ต่อการเลี้ยงขยายปริมาณไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการผลิตไส้เดือนฝอย ในระดับการค้าเพื่อนำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชทดแทนสารเคมีฆ่าแมลง

คำขอบคุณ

ผลงานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการพัฒนาการผลิตไส้เดือนฝอยควบคุมศัตรูพืชในระดับการค้า ซึ่งได้รับเงินอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ผู้เขียนใคร่ขอขอบคุณ รวมทั้งผู้ร่วมโครงการ นักวิชาการที่ช่วยงานวิจัย คือ คุณดิลก บุตะเดช และคุณสุวรรณา มณีกร และสุดท้ายคือ คุณวัลลภา จันทรศร ที่ช่วยในการจัดพิมพ์งานนี้ให้เสร็จสมบูรณ์

Table 1 Effect of bacterial cell *X. nematophilus* on development of *S. carpocapsae* in liquid culture.

Treatment bacteria and nematode in liquid medium	Yields of nematode/ml (9 days)	
1. culturing bact. 24h. prior nema inoculation	166,139.80 a	*
2. nema. and bact. cultured at the same time	131,213.20 b	
3. 24h. cultured bact. was filtered prior inoculation of nema.	5,646.39 c	
4. nema. culturing alone without bact. inoculation	5,086.00 c	
CV (%)	20.40	

*Means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 2 Effect of bacterial inoculum size on liquid culture production of *S. carpocapsae*

Treatment bacteria and nematode in liquid medium	Yields of nematode/ml (9 days)	
1. $3x10^{7}$	81,200 c	*
2. $3x10^{8}$	99,800 bc	
3. $3x10^{9}$	109,000 ab	
4. $3x10^{10}$	128,800 a	
CV (%)	14.21	

* Means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

เอกสารอ้างอิง

วัชรี สมสุข 2538. การผลิตและการใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช. หน้า 207-221. ใน เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช จัดพิมพ์โดย สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และ กรมวิชาการเกษตร

วัชรี สมสุข ประยูร จันทร์นาม และพิมลพร นันทะ. 2539. พัฒนาการผลิตขยายไส้เดือนฝอยเป็นประมาณมากด้วยอาหารเทียม. หน้า 256-264. ในรายงานการประชุมสัมมนาทางวิชาการแมลง และสัตว์ศัตรูพืช ครั้งที่ 10, กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร

Akhurst, R.J. 1982. Antibiotic activity of *Xenorhabodus spp;* bacteria symbiotically associated with insect pathogenic nematodes of the families Heterorhabditidae and Steinernematidae. *J. Gen Microbiol.* 128: 3061-3065.

Boemare, N.E.; M.H. Boyer-Giglio; J.O. Thaler; R.J. Akhurst and M. Brehelin. 1992. Lysogeny and bacteriocigeny in *Xenorhabdus spp.* bacteria associated with entomopathogenic nematodes. *Appl. Environ.* Microbiol. 58: 3032-3037.

Buecher, E.J. and I. Popiel. 1989. Liquid culture of the entomogenous nematodes *Steinernema feltiae* with its bacterial symbiont. *Journal of Nematology 21: 500-504.*

Friedman, M.J. 1990. Commercial production and development. pp. 153-172. In: Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. R. Gaugler and H. K.Kaya. eds. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

Friedman, M.J.;S.L. Langston and S.Pollitt, 1989. Mass Production in liquid culture of insect-killing nematodes. International Patent, Wo 89/04602, 12 pp.

Mc Inerney, B.V.; R.P. Gregson; M.J. Lacey; R.J. Akhurst; G.R.Lyons; S.H. Rhodes; D.R.J. Smith; L.M.Engelhardt and A.H. White. 1991 a. Biologically active metabolites from *Xenorhabdus spp.* Part I: Dithiopyrrolone derivatives with antibiobic activity. *J.Nat. Product* 54:774-784.

Mc Inerney, B.V.; W.C. Taylor; M.J. Lacey; R.J. Akhurst and R.P. Gregson. 1991 b. Biologically active metabolites from *Xenorhabdus spp.* Part II : Benzopyran -T-one derivatives with gastroprotective activity. *J. Nat. Produc.* 54:785-795.

Pace, W.G.; W. Grote; D.E. Pitt and J.M. Pitt. 1986. Liquid culture of nematades. International Patent Application, WO 86/01074, 14 PP.

Poiner, G.O. and G.M. Thomas. 1965. A new bacterium, *Achromobacter*-nematophilus sp. NOV (Achromo bacteriaceae : Eubacteriales) associated with a nematode. *International Bulletin of Bacteriological Nomenclature and Taxonomy.* 15(4) 249-252.

Poinar, G.O. and G.M. Thomas. 1966. Significance of *Achromobacter nematophinar* and Thomas. (Achromobacleriaceae : Eubacteriales) in the development of the nematode, DD 136 (*Neoaplectana sp.*, Steinernem-atidae). Parasitology 56: 385-390.