

การพัฒนาสูตรอาหารเทียมสำหรับเลี้ยงหนอนเพื่อผลิตเชื้อไวรัส เอ็น พี วี
Development of Artificial Diet for Insect Mass Rearing through
Nucleopolyhedrovirus Production

สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี ภัทรพร สรรพนุเคราะห์
รัตนา นชะพงษ์ อิศเรศ เทียนทัต
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การพัฒนาสูตรอาหารเทียมสำหรับเลี้ยงหนอนเพื่อผลิตเชื้อไวรัส เอ็น พี วี ได้ดำเนินการทดลอง ที่ห้องปฏิบัติการอาครวิจัยและพัฒนาศัตรูธรรมชาติ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างเดือนตุลาคม 2552 – เดือนกันยายน 2553 โดยศึกษาสารเคมีชนิดต่างๆเพื่อทดแทนวุ้นที่มีราคาสูง จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ Carragenan , Modifies starch , Pectin , Gelatin , Gum และ Calcium alginate ผลการทดลองพบว่า สารเคมีบางชนิด ได้แก่ Carragenan, modifies starch และ gelatin สามารถขึ้นรูปไม่แตกต่างจากวุ้นที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารเทียมสำหรับเลี้ยงหนอนเพื่อผลิตเชื้อไวรัส แต่เมื่อศึกษาเนื้อสัมผัสของสารเคมีแต่ละชนิดนี้ พบว่ามีเพียงสาร Carragenan และ pectin เท่านั้น ที่มีเนื้อสัมผัสด้านความแข็งตัวไม่แตกต่างจากวุ้น แม้จะมีความแตกต่างด้านสีที่เข้มขึ้นเมื่อนำไปผสมกับวัตถุดิบต่างๆในการผลิตอาหารเทียม และอยู่ระหว่างการศึกษาประสิทธิภาพและคุณภาพในการเลี้ยงหนอนชนิดต่างที่ใช้ในการผลิตเชื้อไวรัส เอ็นพีวี

คำนำ

การค้นคว้าวิจัยจุลินทรีย์เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช ได้มีการนำจุลินทรีย์จากธรรมชาติมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช เพื่อนำไปใช้ลดหรือทดแทนสารเคมีป้องกันกำจัดแมลง โดยการค้นคว้าวิจัยเพื่อนำไวรัสชนิด Nuclear Polyhedrosis Virus (เชื้อไวรัสเอ็นพีวี) มาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช เพื่อทดแทนการใช้สารเคมีกำจัดแมลง จุลินทรีย์ดังกล่าวมีประสิทธิภาพสูง มีความเฉพาะเจาะจงสูงต่อแมลงเป้าหมาย จึงปลอดภัยต่อแมลงศัตรูธรรมชาติและแมลงที่มีประโยชน์ มีความปลอดภัยต่อมนุษย์ สัตว์และสิ่งแวดล้อมสูง (ทิพย์วดี , 2549). แต่ปัญหาหนึ่งที่สำคัญอย่างหนึ่งคือ ต้นทุนของการผลิตหนอนสำหรับเพาะเชื้อ เนื่องจากการเลี้ยงหนอนให้ได้ปริมาณมากต้องใช้อาหารเทียมเป็นหลัก ในปัจจุบันวัตถุดิบที่ใช้ผลิตอาหารเทียมนั้นมีราคาสูงขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อต้นทุนการผลิตหนอน ทำให้ราคาจำหน่ายของจุลินทรีย์ชนิดนี้มีราคาค่อนข้างสูงเนื่องจากต้นทุนที่เปลี่ยนไป (อุทัย, 2540 ; Okada, 1981) ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องศึกษาหาวัตถุดิบอื่นมาทดแทนวัตถุดิบที่ใช้ผลิตอาหารเทียมเดิม เพื่อให้สามารถแข่งขันกับสารฆ่าแมลงที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันได้ และยังช่วยส่งเสริมการใช้เชื้อไวรัส เอ็น พี วี ให้แพร่หลายมากขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้พืชผลมีความปลอดภัยจากพิษตกค้าง มีปลอดภัยทั้งเกษตรกรผู้พ่นสารกำจัดแมลง และผู้บริโภคผลผลิตที่ได้

วิธีดำเนินการ

การศึกษาแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือ

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาการขึ้นรูปของสารเคมีชนิดต่างๆเพื่อทดแทนวุ้น

1. ศึกษาคุณสมบัติการขึ้นรูปของสารเคมีชนิดต่างๆเพื่อมาทดแทนวุ้นที่มีราคาสูงในอาหารเทียม วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 7 กรรมวิธี จำนวน 3 ซ้ำ

- (1) สาร Carragenan อัตรา 10 กรัม
- (2) แป้ง Modified starch อัตรา 5 กรัม
- (3) สาร Pectin อัตรา 10 กรัม
- (4) สาร Gelatin อัตรา 15 กรัม
- (5) สาร Gum อัตรา 10 กรัม
- (6) สาร Calcium alginate อัตรา 10 กรัม
- (7) วุ้น อัตรา 5 กรัม

2. เตรียมสารเคมีชนิดต่างๆตามกรรมวิธีที่กำหนดในข้อ 1 ผสมกับน้ำ 160 มล.เหมือนกันทุกกรรมวิธี กวนให้เข้ากัน แล้วจึงนำไปต้มด้วย Hot plate กวนอย่างสม่ำเสมอเพื่อไม่ให้สารติดภาชนะ ต้มจนเดือดจึงยกลง ทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที จึงเทลงใส่ถ้วยพลาสติกเลี้ยงหนอนขนาด 25 ซม.³ ถ้วยละ 10 มล. จับเวลาตั้งแต่เทสารลงถ้วยจนถึงเวลาที่สารเคมีเหล่านี้แข็งตัว

3. สังเกตสี ความหนาแน่น การแข็งตัว และเนื้อสัมผัสด้วยแรงกดแยก (Shear-pressure) ของสารเคมีแต่ละชนิด

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาหาอัตราส่วนผสมระหว่างวุ้น, แป้ง modifies starch และน้ำสะอาด

นำแป้ง modifies starch มาผสมกับวุ้นที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยวางแผนการทดลองแบบ 3x2 Factorial experimental design in CRD ที่มี ปัจจัย 2 ระดับ มี 4 ข้ำ ได้แก่ วุ้น อัตราต่ำ 1 กรัม กับอัตราสูง 5 กรัม แป้ง modifies starch อัตราต่ำ 1 กรัม กับอัตราสูง 5 กรัม และน้ำสะอาด ปริมาตรต่ำ 160 มล. กับ ปริมาตรสูง 320 มล. โดยมีกรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 วุ้น 1 กรัม ผสม แป้ง 1 กรัม และน้ำ 160 มล.

กรรมวิธีที่ 2 วุ้น 1 กรัม ผสม แป้ง 1 กรัม และน้ำ 320 มล.

กรรมวิธีที่ 3 วุ้น 1 กรัม ผสม แป้ง 5 กรัม และน้ำ 160 มล.

กรรมวิธีที่ 4 วุ้น 1 กรัม ผสม แป้ง 5 กรัม และน้ำ 320 มล.

กรรมวิธีที่ 5 วุ้น 5 กรัม ผสม แป้ง 1 กรัม และน้ำ 160 มล.

กรรมวิธีที่ 6 วุ้น 5 กรัม ผสม แป้ง 1 กรัม และน้ำ 320 มล.

กรรมวิธีที่ 7 วุ้น 5 กรัม ผสม แป้ง 5 กรัม และน้ำ 160 มล.

กรรมวิธีที่ 8 วุ้น 5 กรัม ผสม แป้ง 5 กรัม และน้ำ 320 มล.

กรรมวิธีที่ 9 วุ้น 3 กรัม ผสม แป้ง 3 กรัม และน้ำ 240 มล. (mid point)

2. เตรียมสารเคมีชนิดต่างๆตามกรรมวิธีที่กำหนดในข้อ 1 ผสมกับน้ำกวนให้เข้ากันจนสารละลายหมด แล้วจึงนำไปต้มด้วย Hot plate กวนอย่างสม่ำเสมอเพื่อไม่ให้สารติดภาชนะ พอเดือดจึงยกกลงทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที จึงเทลงใส่ถ้วยพลาสติกเลี้ยงหนอนขนาด 25 ซม.³ ถ้วยละ 10 มล. จับเวลาตั้งแต่เทสารลงถ้วยจนถึงเวลาที่สารเหล่านี้นแข็งตัว

3. สังเกตสี ความหนาแน่น การแข็งตัว และเนื้อสัมผัสด้วยแรงกดแยก (Shear-pressure) ของแต่ละกรรมวิธี นำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Stepwise multiple regression เปรียบเทียบกับสูตรอาหารเดิมที่ใช้เลี้ยงหนอน เพื่อหาสูตรที่เหมาะสมต่อไป

ขั้นตอนที่ 3 การผสมสูตรอาหารเทียมเลี้ยงหนอน และศึกษาการนำไปเลี้ยงหนอนในห้องปฏิบัติการ

เลือกสูตรอาหารเทียมที่มีคุณลักษณะใกล้เคียงกับวุ้นจากขั้นตอนที่ 2 ไปผสมกับส่วนผสมที่เหลือ ได้แก่ ถั่วเขียวบด, แร่ธาตุ สารกันบูด และวิตามินต่างๆ ความเข้มข้นเหมือนสูตรที่ใช้ตามปกติของ อุทัย (2534) เปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่ใช้อยู่เดิม โดยเตรียมอาหารเทียมสำหรับเลี้ยงหนอนในภาชนะมีฝาปิดขนาดกลาง แล้วนำถ้วยอาหารเทียมทั้งหมดที่เตรียมเสร็จแล้วไปเลี้ยงหนอนชนิดต่างๆ คือ หนอนกระทุ้หอม หนอนเจาะสมอฝ้าย และหนอนกระทุ้ผัก ใช้

หนอนวัย 1 และวัย 3 สำหรับเลี้ยงทดสอบโดยหนอนวัย 1 ใช้ไข่หนอนประมาณ 50 ฟองต่อถ้วย ชนิดละ 10 ถ้วย ส่วนหนอนวัย 3 ใช้หนอนถ้วยละ 5 ตัว ชนิดละ 10 ถ้วยเช่นกัน นำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส สำหรับหนอนวัย 3 ซึ่งน.น.หนอนก่อนเลี้ยง และหลังเลี้ยงทุกๆ 3 วันจนเข้าดักแด้ สำหรับหนอนวัย 1 นับจำนวนหนอนที่ฟักออกจากไข่ เลี้ยงบนอาหารเทียมจนหนอนเข้าสู่ส่วนวัย 3 จึงเริ่ม ซึ่ง น.น. ปฏิบัติเช่นเดียวกับหนอนวัย 3 เลี้ยงบนอาหารเทียมจนหนอนเข้าดักแด้ แล้วเก็บดักแด้เข้ากรงเลี้ยงจำนวนกรงละ 10 ดักแด้ โดยแบ่งเป็นเพศละ 5 ตัว ทิ้งไว้ให้หนอนฟักออกเป็นตัวมีเสื่อ เมื่อมีเสื่อผสมพันธุ์แล้ววางไข่ จึงนับจำนวนไข่และนับจำนวนหนอนที่ฟัก

การบันทึกข้อมูล

ขั้นตอนที่ 1 บันทึกค่าสี ความหนาแน่น การแข็งตัว และเนื้อสัมผัสด้วยแรงบิดแยก (Shear-pressure) ของสารเคมีแต่ละชนิด

ขั้นตอนที่ 2 บันทึกค่าสี ความหนาแน่น การแข็งตัว และเนื้อสัมผัสด้วยแรงบิดแยก (Shear-pressure) ของแต่ละกรรมวิธี

ขั้นตอนที่ 3 บันทึกจำนวนหนอนที่ฟักออกจากไข่ จำนวนหนอน น.น.ของหนอนแต่ละชนิดก่อนเลี้ยง และทุก 3 วันจนเข้าดักแด้ ดูลักษณะภายนอกของดักแด้ จำนวนดักแด้ที่ฟัก และความสมบูรณ์ของมีเสื่อ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การพัฒนาสูตรอาหารเทียมสำหรับเลี้ยงหนอนเพื่อผลิตเชื้อไวรัส เอ็น พี วี โดยคัดเลือกสารเคมีที่นำมาทดสอบเพื่อทดแทนวุ้น จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ Carragenan , แป้ง Modified starch , Pectin , Gelatin , Gum และ Calcium alginate ผลการทดลองพบว่า สารเคมีบางชนิด ได้แก่ Carragenan, modified starch และ , gelatin สามารถขึ้นรูปไม่แตกต่างจากวุ้นที่ใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตอาหารเทียมสำหรับเลี้ยงหนอนเพื่อผลิตเชื้อไวรัส แต่เมื่อศึกษาเนื้อสัมผัสของสารเคมีแต่ละชนิดนี้ พบว่ามีเพียงสาร Carragenan และ pectin เท่านั้น ที่มีเนื้อสัมผัสด้านความแข็งตัวไม่แตกต่างจากวุ้น แม้จะมีความแตกต่างด้านสีที่เข้มขึ้นเมื่อนำไปผสมกับวัตถุดิบต่างๆในการผลิตอาหารเทียม โดยจะทดสอบเพิ่มเติมจากการนำไปเลี้ยงหนอนชนิดต่างๆ ได้แก่ หนอนกระทุ้ฝัก หนอนกระทุ้หอม และหนอนเจาะสมอฝ้าย เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของหนอนต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- ทิพย์วดี อรรถธรรม. 2549. ไวรัสของแมลงนิวกีวคือโอโพสทีโตไวรัส. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพมหานคร. 395 หน้า.
- อุทัย เกตุญาติ. 2540. การควบคุมแมลงศัตรูพืชด้วยเชื้อไวรัส เอ็น พี วี. กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 72 หน้า.
- Okada, M.1981. Utilization and Mass Production of *Spodoptera litura* Nuclear Polyhedrosis Virus for control of the Tobacco Cutworm, *Spodoptera litura* Fabricius