

นิวเคลียร์โพลีฮีโดรซิสไวรัส ของหนอนคืบกะหล่ำปลีในประเทศไทย

Nuclear Polyhedrosis Virus of Cabbage Looper, *Trichoplusia ni* in Thailand

ทิพย์วดี อรรถธรรม¹ และ พิศสุวรรณ พูลพล²

Tipvadee Attathom and Pissawan Poolpol

ABSTRACT

Surveys of vegetable farms from various provinces in the Central Plain area of Thailand indicated that the cabbage looper, *Trichoplusia ni* was the key pest of many vegetable crops especially the celery cabbage, *Brassica pekinensis*. Microorganism was one of the natural mortality factors leading to reduction of this pest population. The microorganism found to possess good potential for control the cabbage looper was the Nuclear polyhedrosis virus (NPV) of single embedded type. This virus infected fat tissue, hypodermis, tracheal cells, mid gut epithelial cells and hemocytes. The infected larvae demonstrated typical signs and symptoms of NPV infection. The larvae died within 3–5 days after infection. Polyhedra of this virus were polyhedral and near spherical in shape with mean diameter of 1.4 μm . Virions and nucleocapsids were rod-shaped with mean widths and lengths of 143×338 nm and 36×250 nm, respectively. Further detail study on other characteristics, host range, mass production methodology and efficacy of this virus would undoubtedly benefit broader application of this virus for control not only the cabbage looper but also other important insect species in Noctuidae and related family as well.

บทคัดย่อ

จากการสำรวจตามแปลงปลูกผักของเกษตรกรในจังหวัดต่าง ๆ ในเขตภาคกลางของประเทศไทย พบว่าหนอนคืบกะหล่ำปลี, *Trichoplusia ni* เป็นแมลงศัตรูสำคัญทางเศรษฐกิจของผักหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งผักกาดขาว *Brassica pekinensis* เชื้อจุลินทรีย์เป็นปัจจัยอย่างหนึ่งในธรรมชาติที่ช่วยลดการระบาดของแมลงนี้ได้ โดยทำให้หนอนตายเป็นจำนวนมาก เชื้อจุลินทรีย์ที่สำรวจพบ คือ เชื้อนิวเคลียร์โพลีฮีโดรซิสไวรัส (Nuclear polyhedrosis virus) ชนิด single embedded ซึ่งจะเข้าทำลายเนื้อเยื่อไขมัน (fat tissue) เนื้อเยื่อใต้ผังก่ำตัว (hypodermis) เซลล์รอบท่อหายใจ (tracheal cells) เซลล์กระเพาะอาหารส่วนกลาง (mid gut epithelial cells)

และเซลล์เม็ดเลือด (hemocytes) หนอนจะตายภายใน 3–5 วันหลังจากได้รับเชื้อ ผลึกโปรตีน (polyhedra) ของเชื้อไวรัสนี้เป็นผลึกหลายด้านค่อนข้างกลม มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 1.4 μm ส่วน virion รูปร่างเป็นท่อนตรง มีขนาดกว้างยาวเฉลี่ย 143×338 nm และ nucleocapsid รูปร่างเป็นท่อนตรงเช่นกัน มีขนาดกว้างยาวเฉลี่ย 36×250 nm เชื้อไวรัสนี้หากได้นำมาศึกษารายละเอียดเพิ่มเติมทางด้านคุณสมบัติต่าง ๆ ของเชื้อ การเพิ่มปริมาณของเชื้อ และประสิทธิภาพของเชื้อ ก็คาดว่าจะสามารถนำมาใช้กำจัดหนอนคืบกะหล่ำปลีได้เป็นผลดี และอาจจะใช้ในการกำจัดหนอนผีเสื้อชนิดอื่นในวงศ์ Noctuidae หรือวงศ์ใกล้เคียงที่เป็นแมลงศัตรูสำคัญของพืชผักได้อีกด้วย

1 ภาควิชาชีววิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2 ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

คำนำ

ผักเป็นพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจอย่างหนึ่งของประเทศไทย ทั้งในด้านใช้บริโภคภายในประเทศ และการส่งจำหน่ายต่างประเทศ ผักมีแมลงศัตรูคอยทำลายอยู่มากมายหลายชนิด ซึ่งส่วนมากได้แก่หนอนกินใบ ความเสียหายบนใบผักแม้ว่าจะเพียงเล็กน้อยก็ทำให้ราคาตกทันที เพราะไม่เป็นที่ยอมรับของตลาด ดังนั้น ผักจึงเป็นพืชที่ต้องดูแลมากและต้องป้องกันไม่ให้หนอนทำลายใบเป็นอันตราย เกษตรกรจึงจำเป็นต้องฉีดยาฆ่าแมลงอย่างหนักเพื่อรักษาให้ผักคงงามอยู่ตลอดเวลา ในบางครั้งฉีดวันเว้นวัน ซึ่งทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายมาก และเกิดผลเสียอื่น ๆ อีกมากมาย เช่น แมลงดื้อยา ทำให้สภาพแวดล้อมเป็นพิษ และเป็นอันตรายแก่เกษตรกรผู้ฉีดยาและผู้บริโภคอื่น ๆ การคิดหาวิธีกำจัดแมลงศัตรูผักวิธีอื่นจึงเป็นสิ่งที่จำเป็นอย่างยิ่ง ปัจจุบันในประเทศไทยเริ่มมีการใช้เชื้อไวรัสในการกำจัดหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* ซึ่งเป็นแมลงศัตรูสำคัญทางเศรษฐกิจของผักอีกชนิดหนึ่ง (ปรีชา, 2521) และมีแนวโน้มว่าจะประสบความสำเร็จเป็นอย่างดี สำหรับหนอนคืบกะหล่ำปลีมีรายงานการทดลองใช้เชื้อไวรัสในการกำจัด (ประเสริฐ, 2504) ซึ่งก็พบว่าสามารถกำจัดหนอนได้ดี แต่ยังไม่มีการศึกษาตัวเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุอย่างจริงจัง และยังไม่มีการนำมาประยุกต์ใช้ในแปลงผักหรือส่งเสริมให้เกษตรกรใช้ การศึกษครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะนำเชื้อไวรัสที่ค้นพบในธรรมชาติ และทราบว่าสามารถใช้กำจัดหนอนคืบกะหล่ำปลีได้ผลดี มาทำการศึกษาถึงรูปร่างลักษณะของเชื้อโรค ลักษณะการทำลายของเชื้อเพื่อรวบรวมเป็นข้อมูลใช้ประกอบในการทดลองนำเชื้อนี้ไปใช้ในการกำจัดแมลงต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่างของเชื้อ

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างหนอนคืบกะหล่ำปลีตามแปลงผักของเกษตรกร ในเขตกรุงเทพมหานคร ปทุมธานี นครปฐม และราชบุรี และนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการด้วยผักกาดเขียวปลีและผัก

กวางตุ้ง หนอนที่แสดงอาการเป็นโรคจะถูกนำมาผ่าและดึงเอาเนื้อเยื่อไขมันออกมาทำการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดาให้แน่ใจว่าหนอนเป็นโรคอันเกิดจากเชื้อสาเหตุเดียวกัน เก็บหนอนดังกล่าวรวมกันใน beaker แล้วแช่แข็งในตู้เย็นเก็บไว้เป็น stock ของเชื้อเพื่อการศึกษาในขั้นต่อไป

สำหรับหนอนปกติ เลี้ยงด้วยอาหารธรรมชาติ ไปจนเข้าดักแด้เป็นตัวเต็มวัย ผสมพันธุ์และวางไข่เมื่อไข่เริ่มเปลี่ยนเป็นสีดำ นำไปแช่น้ำยา formalin 5% นาน 4-10 นาที เพื่อทำการฆ่าเชื้อภายนอก เมื่อตัวหนอนฟักออกมามาเลี้ยงในอาหารเทียมโดยใช้สูตรที่ดัดแปลงจากสูตรของ Shorey and Hale, 1965 คือ มีส่วนประกอบดังนี้ soaked pinto bean, dried brewers' yeast, ascorbic acid, sorbic acid, methyl p-hydroxybenzoate, agar, distilled water และเติมผักกาดเขียวปลีสดอีกประมาณ 10 กรัมต่ออาหารที่เตรียม 500 ซีซี เลี้ยงหนอนในภาชนะที่อุณหภูมิห้องไว้เป็น stock สำหรับการปลูกเชื้อโรคต่อไป

2. การศึกษาทางโรควิทยา

นำหนอนเป็นโรคที่แช่แข็งไว้ออกมาไว้ที่อุณหภูมิห้องให้ละลาย เติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อยพอท่วมตัวหนอน บดหนอนให้ละเอียด ซึ่งจะทำให้เชื้อโรคในตัวหนอนออกมาผสมกับน้ำ นำน้ำกลั่นนี้ไป spray บนผิวหน้าของอาหารเทียมที่ใช้เลี้ยงหนอน โดยคัดหนอนวัยที่ 3 (third-instar) มาปลูกเชื้อ เมื่อหนอนแสดงอาการเป็นโรค คัดตัวหนอนออกเป็นปล้อง ๆ โดยตัดส่วนของขาจริงและขาเทียมทิ้งไป นำชิ้นส่วนที่ตัดนี้แช่ลงในน้ำยา Bouin's นาน 48-72 ชั่วโมง จากนั้นผ่านลงใน ethyl alcohol ที่ความเข้มข้น 50, 70, 80, 95, 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับนานครั้งละ 15 นาที แล้วแช่ในส่วนผสมของ Paraplast^R : butanol 1 : 2 และ 2 : 1 ตามลำดับ อย่างละ 2 ชั่วโมง จากนั้นแช่ลงใน Paraplast^R บริสุทธิ์ในตู้สุญญากาศที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง แล้ว embed ด้วย Paraplast^R บริสุทธิ์ในเบ้าพลาสติก ตัดตัวอย่างที่เตรียมนี้หนา 7 ไมโครเมตร ด้วย rotary microtome วางลงบนสไลด์แก้ว

แล้วย้อมสีด้วยวิธีของ Hamm (1966) และนำมาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ Compound microscope

3. การศึกษาทางโครงสร้างจุลภาคของเชื้อไวรัส

ผ่าตัดเอาเนื้อเยื่อไขมันของหนอนที่เป็นโรค ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3-5 มิลลิเมตรใส่ลงในน้ำยา 3% glutaraldehyde เตรียมใน 0.1 M sodium cacodylate buffer นาน 3 ชั่วโมง ล้างด้วย buffer 2 ครั้ง ๆ ละ 15 นาที แล้ว post fixed ใน 1.0% osmium tetroxide นาน 1 ชั่วโมง ล้างด้วย buffer แล้วผ่านชั้นส่วนของเนื้อเยื่อลงใน ethyl alcohol ที่ความเข้มข้น 50, 70, 80, 95 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากนั้นแช่ใน propylene oxide และ embed ในส่วนผสมของ Epon-Araldite (Mollenhauer, 1964) ตัดตัวอย่างที่เตรียมนี้หนา 600-700 Å ด้วย Ultramicrotome วางลงบน copper grid ขนาด 300 mesh ย้อมสีด้วย 1% aqueous uranyl acetate และ 1% lead citrate

ผลและวิจารณ์

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่างของเชื้อ

จากการสำรวจตามแปลงปลูกผักของเกษตรกร พบแมลงศัตรูสำคัญของพืชผักหลายชนิด เช่น หนอนคืบกะหล่ำปลี, *Trichoplusia ni* หนอนกระทู้หอม, *Spodoptera exigua* หนอนใยผัก, *Plutella maculipennis* และอื่น ๆ หนอนคืบกะหล่ำปลีเป็นแมลงศัตรูสำคัญของผักหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งผักกาดขาว อย่างไรก็ตาม พบว่าพืชผักไม่เสียหายมากนัก ทั้งนี้เพราะเกษตรกรฉีดยาฆ่าแมลงอย่างหนักในช่วงซึ่งหนอนระบาดมากจะฉีดยาวันเว้นวัน มิฉะนั้นจะได้รับความเสียหายอย่างมากถึงขั้นที่ไม่สามารถเก็บพืชผลได้เลย ซึ่งทำให้เกษตรกรต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงในการซื้อยาฆ่าแมลง ทั้งยังเป็นอันตรายต่อเกษตรกรผู้ขายเอง และเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคพืชผักเหล่านั้นด้วย หนอนคืบกะหล่ำปลีทำลายพืชผักด้วยการกัดกินบริเวณใบและยอดอ่อน ทำให้ยอดกุด (ภาพที่ 1 a) ในกะหล่ำปลี การกัดกินยอดทำให้ต้นพืชไม่ห่อ เมื่อกิน

ใบอ่อนหมดก็จะกินใบแก่จนบางครั้งกินหมดทั้งต้นเหลือแต่ก้าน ทำความเสียหายให้กับผักมาก

หนอนคืบกะหล่ำปลีปกติจะมีสีเขียว ชอบอาศัยอยู่ใต้ใบ (ภาพที่ 1 b) จากการสำรวจพบหนอนคืบกะหล่ำปลีที่แสดงอาการเป็นโรค กล่าวคือ ตัวหนอนจะเปลี่ยนเป็นสีดำ ห้อยหัวลงมาแขวนอยู่ใต้ใบด้วยขาเทียม เมื่อสัมผัสตัวจะแตก อวัยวะภายในซึ่งเหลวและเป็นสีดำไหลออกมา (ภาพที่ 1 c) ซึ่งเป็นลักษณะประจำของโรคอันเกิดจากเชื้อไวรัสชนิดนิวเคลียร์โพลีอีโดรซิส (Bergold, 1963) จึงได้เก็บหนอนที่เป็นโรคนี้นำมาศึกษาต่อในห้องปฏิบัติการ

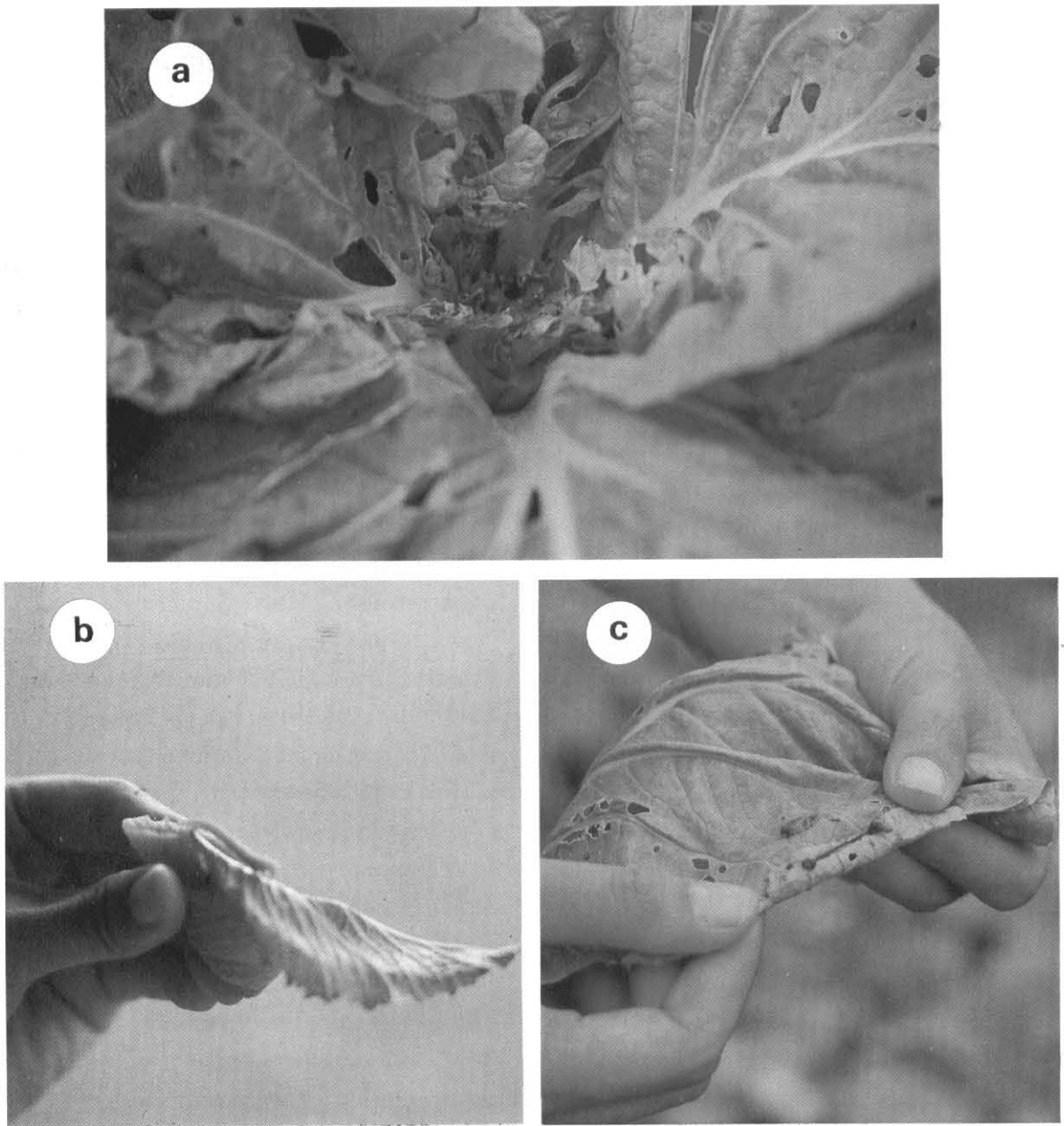
2. การศึกษาทางโรควิทยา

ก. การศึกษาทาง gross pathology

หนอนคืบกะหล่ำปลีได้รับเชื้อโรคจากการกินอาหารเทียมที่ฉีดเชื้อโรคไว้ที่ผิวหน้าอาหาร จะแสดงอาการเป็นโรคดังนี้ ตัวหนอนจะเปลี่ยนเป็นสีขาว โดยเกิดขึ้นเป็นแห่ง ๆ ก่อน แล้วจะขยายบริเวณออกไปจนเป็นสีขาวครึ้มหมดทั้งตัว หนอนจะเชื่องช้าลง ไม่กินอาหาร ไม่ตอบสนองต่อแรงกระตุ้น ตัวหนอนจะบวมและหดสั้น ก่อนตายหนอนจะขึ้นไปที่ฝาภาชนะที่เลี้ยงและห้อยหัวลงมาตายโดยเกาะกับฝาภาชนะด้วยขาเทียม ซากหนอนจะเปลี่ยนเป็นสีดำต่อมาผนังลำตัวจะแตก และอวัยวะภายในที่เหลวจะหมดแล้วจะไหลออกมา ซึ่งจะมีผลึกโปรตีนของเชื้อไวรัสจำนวนมากผสมอยู่ด้วย หนอนจะตายภายใน 3-5 วัน หลังจากได้รับเชื้อ ซึ่งอาการดังกล่าวตรงกับอาการของหนอนคืบกะหล่ำปลีที่เป็นโรคอันเกิดจากเชื้อ Nuclear polyhedrosis virus รายงานโดย Drake และ McEwen, 1959

ข. การศึกษาทาง histopathology

ผลจากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์จากเนื้อเยื่อของหนอนที่เป็นโรค พบว่า เชื้อไวรัสนี้เข้าทำลายและทวีจำนวนที่นิวเคลียส (nucleus) ของเซลล์ ซึ่งทำให้นิวเคลียสขยายใหญ่ และดันไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ไปอยู่รอบ ๆ เซลล์ นิวเคลียสจะขยายใหญ่ขึ้นเรื่อย ๆ จนเต็มเซลล์ และในที่สุดเซลล์จะแตกอันเป็นสาเหตุให้อวัยวะภายในของหนอนถูกทำลาย



ภาพที่ 1 หนอนคืบกะหล่ำปลี, *Trichoplusia ni* และลักษณะการทำลาย
(a) ผักกาดขาวที่ถูกหนอนทำลายที่บริเวณยอดและใบ
(b) หนอนปกติเกาะอยู่ใต้ใบ
(c) หนอนเป็นโรคอันเกิดจากเชื้อนิวเคลียร์โพลีโอโครซิสไวรัส

เหลวและ ผลึกโปรตีนของเชื้อไวรัสจำนวนมากมาย จะถูกปล่อยออกมาจากเซลล์ ลักษณะอาการดังกล่าว เป็นลักษณะประจำของโรคอันเกิดจากเชื้อนิวเคลียส-โพลีอีโครซิสไวรัส

เชื้อไวรัสนี้จะเข้าทำลายเนื้อเยื่อไขมัน (fat tissue) (ภาพที่ 2 a) เนื้อเยื่อใต้หนังลำตัว (hypodermis) (ภาพที่ 2 b) เซลล์รอบท่อหายใจ (tracheal cells) (ภาพที่ 2 c) เซลล์รอบท่ออาหารส่วนกลาง (mid gut epithelial cells) (ภาพที่ 2 c, d) และเซลล์เม็ดเลือด (hemocytes) โดยจะสังเกตได้จากนิวเคลียสของเซลล์เหล่านี้จะขยายใหญ่ (hypertrophy) จนเกือบเต็มเซลล์ และภายในจะเห็นผลึกโปรตีนของเชื้อไวรัส ซึ่งจะติดสีแดงเข้มเมื่อผ่านการย้อมสีตามกรรมวิธีของ Hamm (1966) ต่างจากเซลล์ปกติซึ่งจะมีนิวเคลียสขนาดเล็กมากจนมองเกือบไม่เห็น สำหรับนิวเคลียสของเซลล์รอบท่ออาหารส่วนกลางนั้น แม้ว่าจะไม่ขยายใหญ่จนเกือบเต็มเซลล์เหมือนเซลล์ชนิดอื่นที่ถูกทำลาย แต่ก็มีการขยายใหญ่กว่าเซลล์ในสภาพปกติ และติดสีแดงเข้ม แสดงว่ามีผลึกโปรตีนของเชื้อไวรัสอยู่ภายใน อย่างไรก็ตาม พบว่าเซลล์รอบท่ออาหารส่วนกลาง ไม่ได้ถูกทำลายทุกเซลล์พร้อมกัน เพราะบางเซลล์ยังมีสภาพปกติ ผิดกับเซลล์ของเนื้อเยื่อไขมัน เนื้อเยื่อใต้หนังลำตัว และเซลล์รอบท่อหายใจ ซึ่งถูกเข้าทำลายอย่างสม่ำเสมอทุกเซลล์ และระยะเวลาเข้าทำลายใกล้เคียงกัน เพราะมีผลึกโปรตีนของเชื้อไวรัสปรากฏอยู่ในนิวเคลียสของแต่ละเซลล์ในจำนวนมากเหมือนกัน จากการศึกษาจึงสรุปได้ว่า เซลล์ของเนื้อเยื่อไขมัน เนื้อเยื่อใต้หนังลำตัว เซลล์รอบท่อหายใจ และเซลล์เม็ดเลือด เป็นเนื้อเยื่อและเซลล์หลักของหนอนคิบกะหล่ำปลีที่จะถูกทำลายด้วยไวรัสชนิดนี้ เมื่อเข้าทำลายเนื้อเยื่อดังกล่าวหมดแล้ว เชื้อไวรัสจึงเริ่มเข้าทำลายเซลล์รอบท่ออาหารส่วนกลางต่อไป ทำให้สภาพของเซลล์ขณะนำมาเตรียมตัวอย่างยังไม่ได้ถูกทำลายมากนัก เพราะเป็นเนื้อเยื่อชนิดสุดท้ายที่เชื้อเข้าทำลาย

ผลการศึกษาทางโรควิทยาแสดงให้เห็นว่า เชื้อไวรัสของหนอนคิบกะหล่ำปลีชนิดนี้เป็นเชื้อรุนแรง เพราะหนอนทุกตัวที่ได้รับเชื้อจะแสดงอาการเป็นโรค และหนอนจะเริ่มแสดงอาการเร็วมาก คือ ภายใน

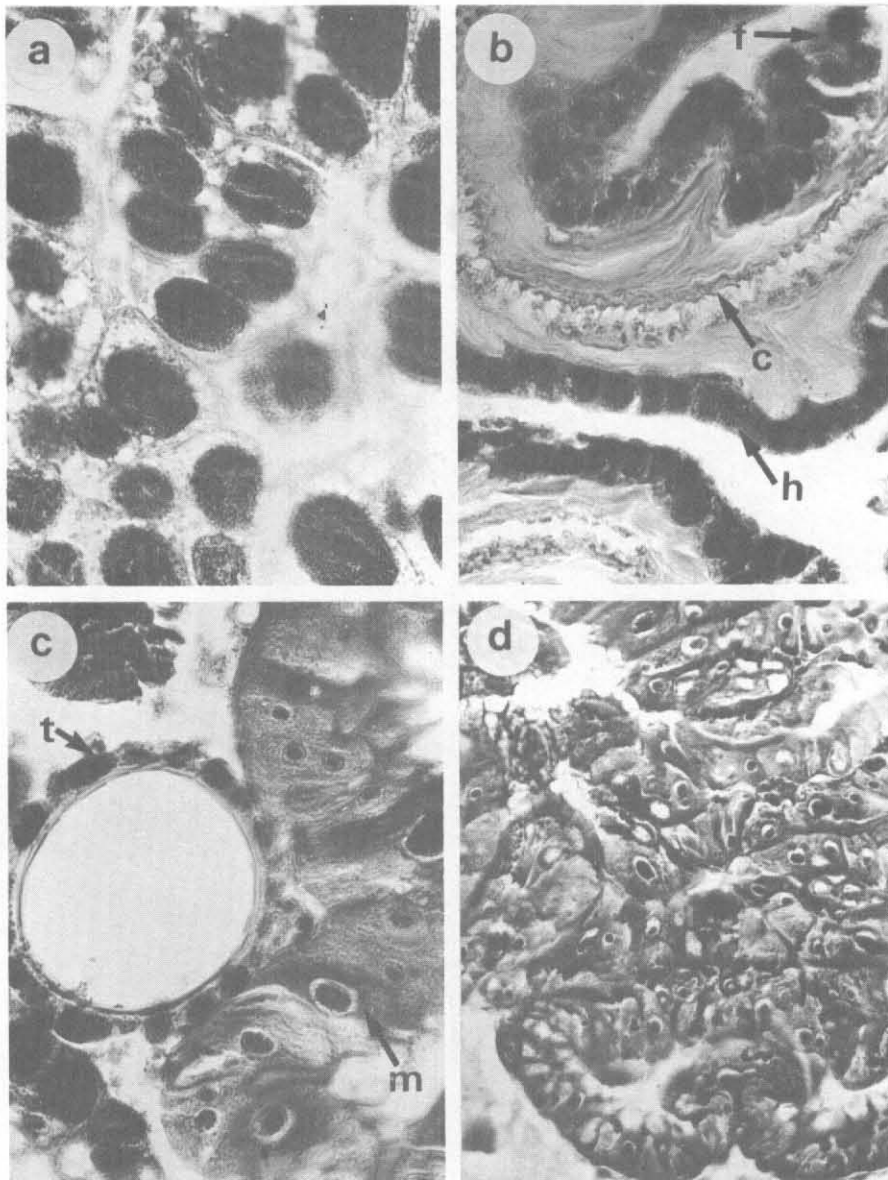
1-2 วันหลังจากได้รับเชื้อ หนอนจะไม่กินอาหาร อยู่กับที่เฉย ๆ ซึ่งหากนำเชื้อนี้ไปปรับใช้ในการกำจัดแมลง แม้แมลงจะไม่ตายทันทีที่ได้รับเชื้อ แต่แมลงก็จะหยุดกินอาหาร คือ ไม่ทำลายพืชผักต่อไป ทำให้มีผลในการทำลายแมลงได้ดี

3. การศึกษาทางโครงสร้างจุลภาค

เชื้อไวรัสที่สำรวจพบนี้เป็นเชื้อ Nuclear polyhedrosis virus (NPV) ซึ่งจะสร้างผลึกโปรตีนหุ้มตัวเอง และขยายทวีจำนวนในนิวเคลียสของเซลล์ (ภาพที่ 3 a) การเข้าทำลายนิวเคลียสของเซลล์ ทำให้นิวเคลียสขยายใหญ่ขึ้น ทำให้ nuclear membrane เสื่อมรูปร่าง บางครั้งจะขาดจากกัน (ภาพที่ 3 a) ส่วนประกอบต่าง ๆ ของเซลล์ในนิวเคลียสและไซโตพลาสซึมถูกทำลายไม่เห็นเป็นรูปทรงเดิม ทำให้ดูลักษณะของเซลล์ไม่เป็นระเบียบ (ภาพที่ 3 a)

จากภาพถ่ายอิเล็กตรอนแสดงว่า เชื้อ NPV ของหนอนคิบกะหล่ำปลีนี้เป็นชนิด single embedded type คือ มี virus particle หรือ nucleocapsid เพียงอันเดียวใน membrane ที่ห่อหุ้มอยู่ (ภาพที่ 3 b, c) ผลึกโปรตีน (polyhedra) จะมีรูปร่างต่าง ๆ กัน เช่น รูปหลายด้าน รูปค่อนข้างกลม โดยมีด้านใดด้านหนึ่งค่อนข้างแหลมออกมา protein subunit ที่ประกอบกันขึ้นมาเป็นผลึกโปรตีนนี้จะเรียงตัวกันอย่างมีระเบียบเป็นผลึกที่เรียกว่า paracrystalline lattice (ภาพที่ 3 c) เมื่อผลึกโปรตีนนี้เจริญเติบโตเต็มที่แล้ว จะมีผนังบาง ๆ ล้อมรอบเรียกว่า polyhedral membrane (ภาพที่ 3 c) ผลึกโปรตีนมีขนาดต่าง ๆ กัน จากการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉพาะจาก polyhedra ที่เจริญเต็มที่แล้ว จะมีค่าเฉลี่ยประมาณ 1.4 μm

Virions ซึ่งประกอบด้วย nucleocapsid เพียงอันเดียวใน membrane ที่ล้อมรอบจะฝังตัวอยู่ใน polyhedra แบบกระจัดกระจาย และมีรูปร่างเป็นท่อนตรง (rodshaped) มีขนาดเฉลี่ยกว้าง 143 nm และยาว 338 nm มี membrane 2 ชั้นล้อมรอบ ส่วน nucleocapsid มีรูปร่างเป็นท่อนตรงเช่นกัน และมีขนาดเฉลี่ยกว้าง 36 nm และยาว 250 nm



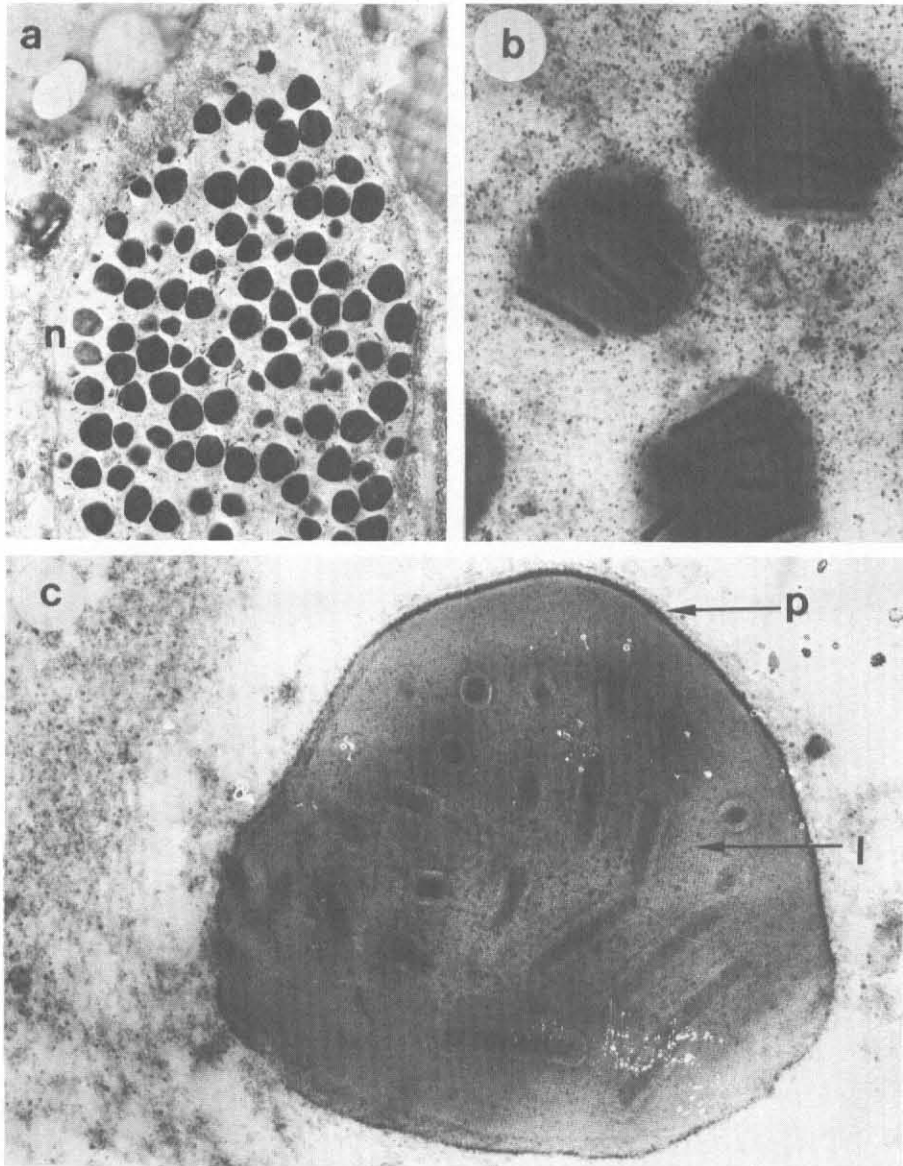
ภาพที่ 2 เนื้อเยื่อของหนอนคืบกะหล่ำปลี, *Trichoplusia ni* ถูกทำลายด้วยเชื้อนิวเคลียร์โพลีโอโดรซิสไวรัส สังเกตได้จากนิวเคลียสของเซลล์ขยายใหญ่จนเห็นได้ชัด และภายในมีผลึกโปรตีนของเชื้อไวรัสบรรจุอยู่เต็ม

(a) เนื้อเยื่อไขมัน (fat tissue). 600x

(b) เนื้อเยื่อใต้หนังลำตัว (hypodermis, h) c = cuticle f = fat tissue. 300x

(c) เนื้อเยื่อรอบท่ออากาศ (tracheal matrix, t) และเซลล์รอบท่ออาหารส่วนกลาง (mid gut epithelial cell, m). 370x

(d) เซลล์รอบท่ออาหารส่วนกลาง (mid gut epithelial cell). 200x



ภาพที่ 3 ภาพถ่ายอิเล็กตรอนของเชื่อนิวเคลียร์โพล์อีโครชีสไวรัสของหนอนคืบกะหล่ำปลี, *Trichoplusia ni*.

- (a) ผลึกโปรตีนของเชื้อไวรัสในนิวเคลียสของเซลล์ ผังนิวเคลียส (nuclear membrane, n) บางแห่งขาดจากกัน ส่วนประกอบต่าง ๆ ของเซลล์ในนิวเคลียสและไซโทพลาสซึมถูกทำลาย 4,500x
- (b) ผลึกโปรตีนของเชื้อไวรัส แสดงว่าเป็นเชื้อ NPV ชนิด single-embedded type. 46,000x
- (c) ผลึกโปรตีนของเชื้อไวรัสที่เจริญเต็มที่แล้ว มี polyhedral membrane (p) ล้อมรอบ มี virions ฝังตัวอยู่ในผลึก ซึ่งประกอบด้วย protein subunit เรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ paracrystalline lattice (l). 74,300x

เชื้อไวรัสของหนอนคืบกะหล่ำปลีที่มีรายงานในต่างประเทศมีทั้งแบบ single embedded และ multiple embedded คือ มีหลาย virus particle ใน membrane เดียวกัน แม้ว่าในแบบเดียวกันก็ยังมีขนาดและรูปร่างต่างกัน ซึ่งเมื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบทางจุลชีววิทยา ก็ปรากฏว่าเป็นคนละชนิด (Tipvadee, 1978) ในประเทศไทย เชื้อไวรัสของหนอนคืบกะหล่ำปลีก็อาจจะมีหลายชนิด การศึกษาทางโครงสร้างจุลภาคจะช่วยแยกชนิดของเชื้อไวรัสได้ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการคัดเลือกชนิดที่มีประสิทธิภาพเพื่อนำมาใช้ในการกำจัดแมลงต่อไป

สรุป

หนอนคืบกะหล่ำปลีเป็นแมลงศัตรูสำคัญที่ทำให้ความเสียหายให้ผักปลามาก ๆ แต่ในธรรมชาติก็มีปัจจัยสำคัญที่จะช่วยทำลายแมลงศัตรูชนิดนี้ นั่นคือเชื้อโรค ซึ่งยังไม่สามารถแสดงประสิทธิภาพได้เต็มที่ เราจึงต้องนำเชื้อโรคนีมาศึกษาเพื่อหาทางส่งเสริมให้เชื้อโรคนั้น ๆ มีโอกาสได้แสดงความสามารถได้อย่างเต็มที่ เพื่อช่วยในการกำจัดแมลงดังกล่าว จากการสำรวจพบเชื้อไวรัสชนิด nuclear polyhedrosis virus แบบ single embedded type ซึ่งมีประสิทธิภาพในการทำให้หนอนตายได้ในเวลาค่อนข้างเร็ว จึงได้นำเชื้อไวรัสมาศึกษาถึงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ และลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อ การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อในห้องปฏิบัติการและในแปลงทดลอง การเพิ่มปริมาณของเชื้อ และการทำเชื้อบริสุทธิ์ เป็นเรื่องที่จะต้องศึกษาทดลองต่อไป เพื่อรวบรวมข้อมูลมาวิเคราะห์หาวิธีที่เหมาะสมในการนำเชื้อนี้ไปใช้ป้องกันกำจัดแมลงให้มีประสิทธิภาพที่สุด

เอกสารอ้างอิง

ปรีชา อารีกุล. 2521. โรคไวรัสของแมลงที่พบในประเทศไทยและการใช้เชื้อไวรัสกำจัดแมลงศัตรูพืช, น. 55-68 ในเอกสารประมวลผล

การค้นคว้าวิจัยเสนอในที่ประชุมสรุปผลการค้นคว้าวิจัย 19-23 มิถุนายน 2521. กองกัญและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

ประเสริฐ เพ็ญจิตร์. 2504. การทดลองใช้เชื้อไวรัสกำจัดหนอนคืบกะหล่ำปลี. กสิกร. 34 (1) : 43-53.

Attathom, T. 1978. A Comparative Study of Six Baculovirus Isolates from Larvae of the Family Noctuidae (Insecta : Lepidoptera.). Ph.D. dissertation, Univ. of Calif., Riverside.

Bergold, G.H. 1963. The nature of nuclear polyhedrosis viruses, pp. 413-456. In E.A. Steinhaus (ed.). Insect Pathology, An Advanced Treatise. Academic Press, New York.

Drake, E.L. and McEwen, F.L. 1959. Pathology of a nuclear polyhedrosis of the cabbage looper, *Trichoplusia ni* (Hubner). J. Insect Pathol. 1 : 281-293.

Hamm, J.J. 1966. A modified azan staining technique for inclusion body viruses. J. Invertebr. Pathol. 8 : 125-126.

Mollenhauer, H.H. 1964. Plastic mixtures for use in electron microscopy. Stain Technol. 39 : 111-114.

Shorey, H.H. and Hale, R.L. 1965. Mass-rearing of the larvae of nine noctuid species on a simple artificial medium. J. Econ. Entomol. 58 : 522-524.