ว.เกษตรศาสตร์ (วิทย.) 20 : 144 - 154 (2529)

ผลของ Sublethal Dose ของเชื้อนิวเคลียร์โพลี่ฮีโดรซีสไวรัส ที่มีต่อการเจริญเติบโต การวางไข่ และรุ่นลูกของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน, *Heliothis armigera* (Hübner)

The Effects of Sublethal Dose of Nuclear Polyhedrosis Virus on the Development, Fecundity and Progeny of the American Bollworm, *Heliothis armigera* (Hübner)

ศิวิลัย ศิริมังคลารัตน์[1] ทิพย์วดี อรรถธรรม[2] และพูนพิไล สุวรรณฤทธิ์[3]

Sivilai Sirimunkararat, Tipvadee Attathom and Poonpili Suwanarit

ABSTRACT

The results of the bioassay study indicated that the median lethal dose (LD_{50}) of the nuclear polyhedrosis virus (NPV) of the American bollworm, *Heliothis armigera* (Hübner), was 1.94×10^3 PIBs/larva and the sublethal dose was 5.187 PIBs/larva. There was no significant differance between those worms infected with a sublethal dose and the healthy control group in terms of larval age, pupal age, and pupal and adult weight. However, there was a significant difference among the two groups at the adult stage. Pupa and adults infected with a sublethal dose of the NPV were shown to be morphologically similar in shape and size to those of the control group. However, it was found that with a sublethal dose pupation decreased by 20 % and adult male and female emergence decreased by 38 % and 29 % respectively. The male and female ratio of pupa and adult of those infected with a sublethal dose and the healthy control group were similar.

The sublethal dose of the NPV had considerable effects on the progeny of the American bollworm. It was found that the number of eggs per female decreased 60.13 %, egg hatching decreased 33 %, and egg interval decreased from 2.60-5.00 to 2.40-3.80 days. In addition, this virus can be transmitted to the progeny 54.54 % of the time. The results suggest that a low dosage of NPV had significant effects on the American bollworm and their progeny. These effects are very important in determining the value of this virus as a microbial control agent of *H. armigera*.

บทคัดย่อ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อนิวเคลียร์โพลี่ฮีโดรซีสไวรัสกับหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน, *Heliothis armigera* (Hübner) วัยสามพบว่าค่า median lethal dose (LD_{50}) คือ 1.94×10^3 ผลึกโปรตีนต่อหนอนหนึ่งตัว และค่า sublethal dose คือ 5.187 ผลึกโปรตีนต่อหนอนหนึ่งตัว เมื่อศึกษาเปรียบเทียบอายุหนอน อายุดักแด้ น้ำหนักดักแด้และน้ำหนักตัวเต็มวัยของหนอนที่ได้รับเชื้อที่ Sublethal dose กับหนอนปกติ พบว่าค่าที่ได้จากหนอนที่ได้รับเชื้อจะต่ำกว่าแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อายุตัวเต็มวัยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1. ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยขอนแก่น

2. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Dept. of Entomology, Faculty of Agriculture, Kasetsart Univ.

3. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ดักแด้และตัวเต็มวัยที่ได้รับเชื้อมีขนาดและรูปร่างเหมือนปกติ แต่เข้าดักแด้ลดลง 20 เปอร์เซ็นต์ และฟักออกเป็นตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียลดลง 38 และ 29 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม อัตราส่วนเพศผู้เพศเมียของดักแด้และตัวเต็มวัยของตัวที่ได้รับเชื้อมีค่าใกล้เคียงกับปกติ

ผลของ Sublethal dose ของเชื้อนิวเคลียร์โพลี่ฮีโดรซิสที่มีต่อการวางไข่นั้นเห็นได้อย่างชัดเจนคือ ทำให้แมลงวางไข่ลดลง 60.13 เปอร์เซ็นต์ และฟักออกเป็นตัวลดลง 33 เปอร์เซ็นต์ อายุของไข่ลดลงจาก 2.60 – 5.00 วัน เป็น 2.40–3.80 วัน นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อนี้สามารถถ่ายทอดผ่านทางไข่ไปสู่หนอนรุ่นลูกได้ถึง 54.54 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าเชื้อไวรัสความเข้มข้นต่ำแม้จะไม่ทำให้แมลงตาย แต่จะมีผลไปชงักการเจริญเติบโตและลดจำนวนประชากรของแมลงในรุ่นต่อไปได้เป็นอย่างมาก อันเป็นคุณสมบัติที่ดีข้อหนึ่งของเชื้อไวรัสนี้ในการพิจารณานำมาใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน

คำนำ

หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันเป็นแมลงที่ก่อให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจอย่างสูงในแต่ละปี เพราะทำลายพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจหลายอย่างและเป็นแมลงที่สร้างความต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้กำจัดได้รวดเร็วมาก การใช้เชื้อไวรัสจึงเป็นแนวทางใหม่ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูที่สำคัญนี้ อำนวย (2519) ได้ทดลองใช้เชื้อนิวเคลียร์โพลี่ฮีโดรซีสไวรัสกำจัดหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน และรายงานว่ามีแนวโน้มว่าจะเป็นวิธีที่ดีมีประสิทธิภาพ การใช้เชื้อไวรัสกำจัดแมลงนั้นมีหลายวิธี เช่น ฉีดพ่นซ้ำ ๆ เหมือนใช้สารเคมีฆ่าแมลง โดยหวังผลในระยะสั้นของการฉีดพ่นแต่ละครั้ง และการฉีดพ่นน้อยครั้งแต่พยายามทำให้เชื้อนี้กลายเป็นส่วนหนึ่งของธรรมชาติเพื่อให้สามารถระบาดทำลายแมลงในรุ่นต่อไปหรือฤดูกาลต่อไปซึ่งเป็นการหวังผลในระยะยาววิธีหลังนี้จะประหยัดค่าใช้จ่าย แรงงานและรักษาสภาพแวดล้อมในแปลงปลูกพืชให้เหมือนธรรมชาติที่สุด แต่วิธีการดังกล่าวจำเป็นต้องใช้เชื้อที่มีความเข้มข้นพอสมควรเพื่อให้มีแมลงที่ได้รับเชื้อแต่รอดตายบ้าง ซึ่งจะเป็นตัวถ่ายทอดเชื้อให้แพร่ระบาดไปในประชากรของแมลงรุ่นนั้นหรือรุ่นต่อไป

การศึกษานี้ต้องการทดสอบว่าเชื้อนิวเคลียร์โพลี่ฮีโดรซีสไวรัสที่ความเข้มข้นต่ำที่ไม่ทำให้หนอนตาย (sublethal dose) มีผลต่อการเจริญเติบโต การวางไข่ และผลต่อรุ่นลูกของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันมากน้อยเพียงใด ซึ่งข้อมูลที่ได้รับจะเป็นประโยชน์ในการพิจารณานำเชื้อไวรัสมาใช้ป้องกันกำจัดแมลงชนิดนี้ในภายหน้า

อุปกรณ์และวิธีการ

1. หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันและเชื้อไวรัสที่ใช้ในการทดลอง

เก็บหนอนจากแปลงปลูกมะเขือเทศในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐมนำหนอนมาเลี้ยงด้วยอาหารเทียมที่ผสมฟอร์มาลินตามสูตรของโสธร และคณะ (2514) จนหนอนเข้าดักแด้ เก็บดักแด้ใส่ในกล่องพลาสติกทรงสูงที่มีผ้าขาวบางปิดปากกล่อง เพื่อเป็นที่ให้แม่ผีเสื้อวางไข่ นำไข่ที่ใกล้จะฟักแช่ในฟอร์มาลิน 10 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 10 นาที ก่อนจะนำมาเลี้ยงด้วยอาหารเทียมต่อไป ตลอดการศึกษานี้ ได้มีการจับหนอนเป็นครั้งคราวตามแปลงปลูกมะเขือเทศของเกษตรกรข้างเคียงมาผสมกับที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการเพื่อเพิ่มปริมาณและเพิ่มความแข็งแรงให้กับ stock ของหนอนด้วย

เชื้อนิวเคลียร์โพลี่ฮีโดรซีสไวรัสที่ใช้ในการทดลอง แยกมาจากหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันที่พบเป็นโรคตายในแปลงมะเขือเทศของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสนเพิ่มปริมาณเชื้อโดย

ใช้หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันเป็นแมลงอาศัย นำเชื้อไวรัสที่เก็บรวบรวมได้มาทำให้บริสุทธิ์,ด้วยวิธี linear sucrose density gradient centrifugation (SDGC) 2 ครั้ง เก็บเชื้อบริสุทธิ์ในสภาพแช่แข็ง

2. การหาค่า median lethal dose และค่า sublethal dose ของเชื้อไวรัส

นำเชื้อ NPV บริสุทธิ์มาทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อโดยการหาค่า LD_{50} (median lethal dose) คำนวณความเข้มข้นของเชื้อด้วยการนับจำนวนผลึกโปรตีนด้วยเครื่อง Improved Neubauer bright line haemacytometer หยดเชื้อไวรัสที่ทราบความเข้มข้นแล้วจำนวน 30 ไมโครลิตรด้วยเครื่อง Clay Adams microselectapette ลงบนอาหารเทียมที่เจาะด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.0 เซนติเมตร หนา 1.0 เซนติเมตร ให้หนอนวัยสามหนึ่งตัวกินจนหมดแล้วนำไปเลี้ยงตามปกติ ใช้หนอน 75 ตัวในแต่ละความเข้มข้นตรวจนับจำนวนหนอนตาย คำนวณเปอร์เซ็นต์ตายที่ถูกต้องโดยใช้ Abbott's formula (Finney, 1962) คำนวณหา LD_{50} โดยใช้สมการ regression equation (Finney, 1971) ส่วนความเข้มข้นสูงสุดที่ไม่พบหนอนตายเลยถือว่าเป็นความเข้มข้นที่ sublethal dose

3. ผลของ sublethal dose ของเชื้อไวรัสที่มีต่อการเจริญเติบโต การวางไข่ และรุ่นลูก

ศึกษาผลที่มีต่อการเจริญเติบโตของตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย โดยการศึกษาเปรียบเทียบระหว่าง หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยที่เจริญมาจากตัวหนอนที่ได้รับเชื้อที่ sublethal dose กับหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยปกติ โดยหาค่าเฉลี่ยจาก 100 ตัวอย่าง สำหรับตัวเต็มวัยใช้ตัวผู้ 50 ตัว ตัวเมีย 50 ตัว ทำการศึกษาเปรียบเทียบอายุของหนอน เปอร์เซ็นต์การเข้าดักแด้ น้ำหนักดักแด้ ชั่งภายใน 24 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การออกเป็นตัวเต็มวัย อายุตัวเต็มวัย อัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมียของตัวเต็มวัย คำนวนความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ Z-test

ศึกษาผลที่มีต่อการวางไข่ โดยการนำตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียที่เจริญมาจากหนอนปกติและหนอนที่ได้รับเชื้อ sublethal dose มาอย่างละ 50 คู่ แบ่งใส่กล่องวางไข่ 5 คู่ต่อหนึ่งกล่อง ตรวจนับจำนวนไข่ทุกวันจนแม่ผีเสื้อตายหมด และศึกษาผลที่มีต่ออายุไข่โดยการสุ่มไข่มา 500 ฟอง แบ่งออกเป็น 5 ชุด ๆ ละ 100 ฟอง ตรวจนับอายุของไข่และจำนวนหนอนที่ฟักทุกวันเป็นเวลา 10 วัน นับตั้งแต่วันเก็บไข่

ศึกษาผลที่มีต่อหนอนรุ่นลูก โดยการนำหนอนที่ฟักออกมาจากไข่ของตัวเต็มวัยปกติและตัวเต็มวัยที่ได้รับเชื้อที่ sublethal dose มาอย่างละ 100 ตัว เลี้ยงด้วยอาหารเทียมและตรวจนับจำนวนหนอนที่ตายด้วยเชื้อ NPV จนกว่าหนอนจะตายหมดหรือเข้าดักแด้หมด

ผลและวิจารณ์

1. การหาค่า LD_{50} และ sublethal dose ของเชื้อ NPV ของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน

ผลของการทดลองหาค่า LD_{50} ของเชื้อ NPV ของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน *H. armigera* วัยที่สามอายุ 7 วัน ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 และภาพที่ 1 คำนวณหาค่า LD_{50} โดยใช้ probit analysis (Finney, 1971) และทำการแก้เปอร์เซ็นต์การตายโดยใช้ Abbott's formula ซึ่งคำนวณได้ดังนี้

สมการรีเกรสชั่นค่า $y = 2.54 \pm 0.7526 \pm 0.1$ (S.D.)

ค่า $LD_{50} = 1.94 \times 10^3$ ผลึกโปรตีน (PIBs)/* หนอน 1 ตัว

หรือค่า $LD_{50} = 1940$ ผลึกโปรตีน/หนอน 1 ตัว

* PIBs ย่อมาจาก Polyhedral Inclusion Body เป็นหน่วยที่ใช้บอกความเข้มข้นของเชื้อไวรัส โดยบอกเป็นจำนวนผลึกโปรตีนของเชื้อไวรัสที่หนอนแต่ละตัวได้รับ

ผลการทดลองปรากฏว่าความเข้มข้นสูงสุดของเชื้อ NPV ที่ไม่ทำให้หนอนตายเลย คือความเข้มข้นที่ 5.187 ผลึกโปรตีน/หนอน 1 ตัว (ตารางที่ 1) ซึ่งถือเอาความเข้มข้นนี้ เป็นความเข้มข้นที่ sublethal dose ของเชื้อ NPV สำหรับใช้ตลอดการทดลองนี้

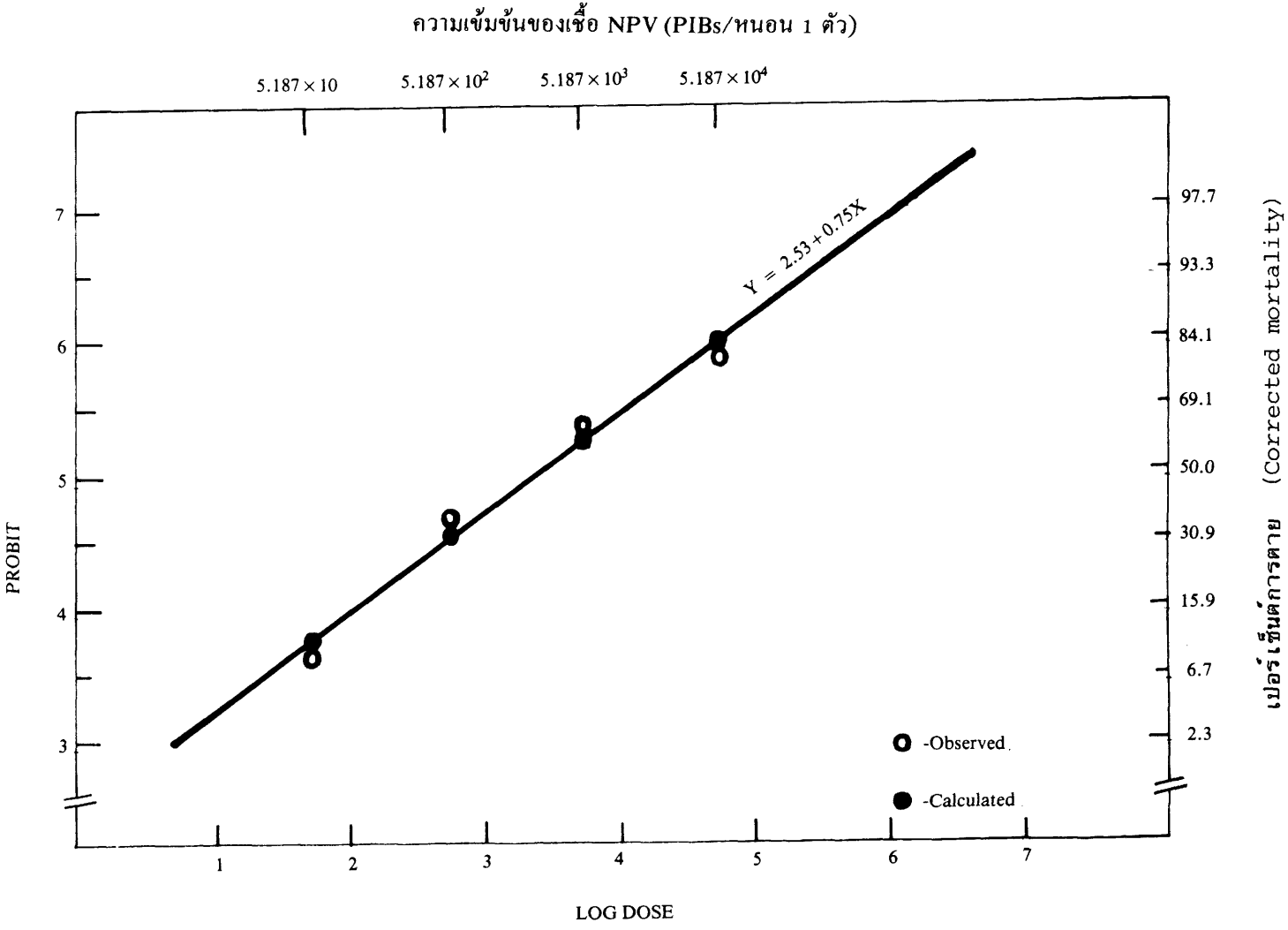
Williams and Payne (1984) รายงานว่าค่า LD_{50} ของเชื้อไวรัสแบบ multiple-embedded (MNPV) และแบบ single-embedded (SNPV) ของหนอน *H. armigera* อายุ 6 วันคือ 1400 และ 670 ผลึกโปรตีน/หนอน 1 ตัวตามลำดับ ดังนั้น ค่า LD_{50} ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้จึงใกล้เคียงกับค่า LD_{50}ของ-MNPV ที่ Williams และ Payne รายงานไว้ แต่เชื้อไวรัสที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นแบบ SNPV ความแตกต่างของค่า LD_{50} ที่ได้ในแต่ละการทดลองนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง อายุของแมลงที่ใช้ทดลองเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่ง เพราะ Williams และ Payne (1984)-พบว่าเมื่อใช้หนอนอายุ 6 วันค่า LD_{50} เพิ่มขึ้นกว่าเมื่อใช้หนอนแรกฟัก (neonate) ถึง 100 เท่า น้ำหนักของแมลงที่ใช้ทดลอง ควรเป็นปัจจัยสำคัญอีกอย่างหนึ่ง แต่มิได้มีรายงานแน่ชัดในเรื่องนี้ สายพันธุ์ของแมลงก็เป็นปัจจัยสำคัญเช่นกัน Shapiro และ Ignoffo (1970) พบว่าค่า LD_{50} ของเชื้อ NPV ของหนอน *Heliothis* 34 สายพันธุ์ มีค่าแตกต่างกันมาก นอกจากนี้วิธีการคำนวณที่แตกต่างกันก็ทำให้ได้ผลต่างกันด้วย อำนวย (2519) รายงานว่าค่า LD_{50} ของเชื้อ NPV ของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันคือ 1.096×10^8 ผลึกโปรตีน/ซี.ซี. อย่างไรก็ตามการคำนวณค่า LD_{50} โดยคิดเป็นจำนวยผลึกโปรตีนต่อหนอนหนึ่งตัว จะทำให้ได้ค่า-LD_{50} ที่สมจริง เนื่องจากเป็นจำนวนเชื้อที่แมลงกินเข้าไปจริง ๆ ซึ่งยังผลให้แมลงตาย

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นที่ sublethal dose ของเชื้อ NPV ในตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเชื้อไวรัสกับเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน, *H. armigera* (Hübner)

ความเข้มข้นของเชื้อ NPV (ผลึกโปรตีน/หนอน 1 ตัว)	เปอร์เซ็นต์ตาย[1/]
5.187×10^6	100.00
5.187×10^5	100.00
5.187×10^4	82.94
5.187×10^3	66.89
5.187×10^2	34.78
5.187×10	9.37
5.187*	0.00
0.5187	0.00
Control	0.00

1/ เปอร์เซ็นต์ตายที่ถูกต้องคำนวนโดย Abbott's formula

* ระดับความเข้มข้นสูงสุดที่ไม่ทำให้หนอนที่ใช้ทดลองตาย ถือเป็น sublethal dose



ภาพที่ 1 Probit regression line แสดงความสัมพันธุ์ระหว่างความเข้มข้นของเชื้อ NPV ของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน ,*H. armigera* (Hübner) และเปอร์เซ็นต์การตาย

2. ผลของ sublethal dose ของเชื้อ NPV ที่มีต่อการเจริญเติบโต การวางไข่ และรุ่นลูกของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน

ก. ผลที่มีต่อการเจริญเติบโตของหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย

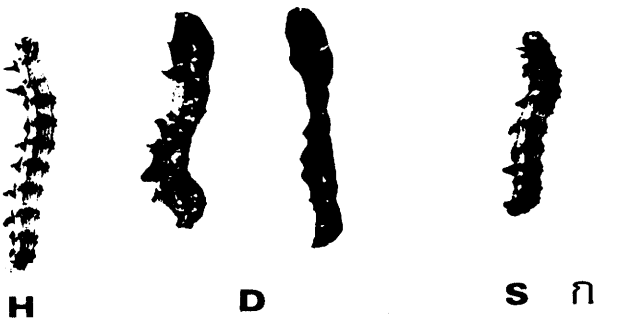
ผลการทดลองได้แสดงไว้ในตารางที่ 2 เมื่อคำนวณค่าทางสถิติและเปรียบเทียบการทดลองโดยใช้การทดสอบแบบ Z-test พบว่า อายุของหนอน อายุดักแด้ น้ำหนักดักแด้ และน้ำหนักตัวเต็มวัย ทั้งเพศผู้และเพศเมียของหนอนปกติและหนอนที่ได้รับเชื้อในระดับ sublethal dose ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับที่ Whitlock (1978) รายงานไว้ แต่อายุตัวเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมียของการทดลองทั้งสองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<.05$) คือตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียของหนอนปกติ มีอายุเฉลี่ย 9.07 ± 1.97 วัน และ 7.15 ± 2.09 วันตามลำดับ ส่วนตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียที่เจริญมาจากหนอนที่ได้รับเชื้อมีอายุเฉลี่ย 6.81 ± 1.67 วัน และ 5.55 ± 1.64 วัน ตามลำดับ อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาดูผลการทดลองในตารางที่ 2 จะเห็นว่าโดยเฉลี่ยแล้ว พวกที่ได้เชื้อในระดับ sublethal dose จะมีอายุและน้ำหนักของหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยน้อยกว่าปกติ ยกเว้นอายุของดักแด้ที่ได้ผลในทางตรงกันข้าม ซึ่งอาจอธิบายเหตุผลประกอบได้ว่า แมลงสร้างความต้านทานขึ้นมาในระยะหลังของการเจริญของตัวอ่อน (late stage) คือ สร้าง gut cell ที่มีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อขึ้นมาแทน regenerative cell ที่ถูกทำลายไปจนกว่า regenerative cell จะทำหน้าที่ได้ตามปกติ (Campbell, 1963) ดังนั้นในช่วงซึ่งตัวหนอนที่ได้รับเชื้อเปลี่ยนเป็นเข้าดักแด้ จึงเป็นระยะที่มีการปรับตัวและสร้างความต้านทานต่อเชื้อ ทำให้อายุของดักแด้ยาวนานออกไปกว่าตัวปกติ

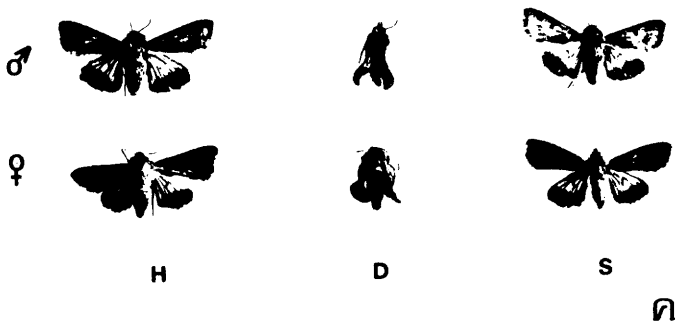
รูปร่าง ลักษณะ และขนาดของตัวหนอนดักแด้และตัวเต็มวัยที่เจริญมาจากหนอนที่ได้รับเชื้อที่ sublethal dose ไม่แตกต่างไปจากปกติมากนักเพียงแต่มีขนาดเล็กลงเล็กน้อย (ภาพที่ 2) แต่ดักแด้และตัวเต็มวัยที่เจริญมาจากหนอนที่ได้รับเชื้อในระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น (5.187×10^3–10^4 ผลึกโปรตีน/หนอน 1 ตัว) และรอดตายมาได้จะมีรูปร่าง ลักษณะ และขนาดแตกต่างไปจากปกติอย่างเห็นได้ชัด กล่าวคือ ดักแด้จะมีขนาดเล็กกว่าปกติมาก มีรูปร่างไม่สมประกอบ (ภาพที่ 2ข) และจะตายในที่สุด ถ้ารอดตายออกเป็นตัวเต็มวัยก็จะพิการ มีขนาดเล็ก ปีกหยิก บิดเบี้ยว และตายในเวลาต่อมา (ภาพที่ 2ค)

ผลการทดลองในตารางที่ 3 แสดงให้เห็นว่าเชื้อ NPV ที่ความเข้มข้น sublethal dose นั้นยังมีผลต่อเปอร์เซนต์การเข้าดักแด้ คือทำให้ลดลงจาก 88 เหลือ 68 เปอร์เซนต์คือลดลง 20 เปอร์เซนต์ อัตราส่วนดักแด้เพศผู้และเพศเมียใกล้เคียงกับปกติ แต่เปอร์เซนต์การฟักออกเป็นตัวเต็มวัยเพศผู้ลดลงจาก 90 เหลือ 52 เปอร์เซนต์ คือลดลง 38 เปอร์เซนต์ และในเพศเมียลดลง 29 เปอร์เซนต์คือลดจาก 92 เหลือ 63 เปอร์เซนต์ ซึ่งได้ผลใกล้เคียงกับ Atger (1969) ซึ่งรายงานไว้ว่าหนอนที่ได้รับเชื้อ NPV ตอนอายุมาก จะรอดพ้นจากการตาย สามารถเข้าดักแด้ได้ แต่มีเพียง 50 เปอร์เซนต์เท่านั้นฟักออกเป็นตัวเมีย อัตราส่วนตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียที่ได้จากการทดลองนี้ไม่แตกต่างกันมากนักคือ เปลี่ยนจาก 1.27:1 เป็น 1.08:1 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับผลการทดลองของ Mourikis and Vassilaina-Alexopoulou (1970) ซึ่งรายงานว่าอัตราส่วนตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันคือ 1:1

ข. ผลที่มีต่อการวางไข่ของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน

จำนวนไข่เฉลี่ยของตัวเต็มวัยเพศเมีย 1 ตัว ที่เจริญมาจากหนอนที่ได้รับเชื้อ NPV ที่ sublethal dose ลดลงกว่าปกติอย่างเห็นได้ชัด คือลดลงถึง 60.13 เปอร์เซนต์ จาก 493.34 ฟอง/ตัว เหลือเพียง 196.68 ฟอง/ตัว และเปอร์เซนต์การฟักออกของไข่ก็ลดลงอย่างมากด้วยเช่นกัน คือลดลงจาก 70 เหลือ 37 เปอร์เซนต์ หรือลดลง 33 เปอร์เซนต์ แต่อายุของไข่ก่อนฟักนั้นใกล้เคียงกันคือเปลี่ยนจาก 2.4–3.8 วัน เป็น 2.6–5.0 วัน (ตารางที่ 4) การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อ NPV นั้นแม้จะที่ระดับความเข้มข้นต่ำก็ยัง





ภาพที่ 2 ผลของ sublethal dose ของเชื้อ NPV ที่มีต่อการเจริญเติบโตของตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน *H. armigera* (Hübner)
H = ตัวปกติ, D = ตัวที่เป็นโรค และ S = ตัวที่ได้รับเชื้อที่ sublethal dore

ตารางที่ 2 ผลของ sublethal dose ของเชื้อ NPV ที่มีต่อการเจริญเติบโตของตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน H. armigera (Hiibner)

การทดลอง	หนอน	อายุ (วัน) ± ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน[1]				น้ำหนัก (กรัม) ± ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน[1]			
		ดักแด้		ตัวเต็มวัย		ดักแด้		ตัวเต็มวัย	
		เพศผู้	เพศเมีย	เพศผู้	* เพศเมีย	เพศผู้	* เพศเมีย	เพศผู้	เพศเมีย
ไม่ปลูกเชื้อ	24.67±0.95	12.80±1.60	12.56±1.47	9.07±1.97*	7.15±0.09*	0.25±0.04	0.27±0.04	0.109±0.03	0.129±0.03
ปลูกเชื้อที่ sublethal dose	24.57±1.26	13.15±1.26	12.91±1.35	6.81±1.67	5.55±1.64	0.24±0.05	0.26±0.04	0.108±0.04	0.126±0.03

1 ค่าเฉลี่ยจากตัวหนอน 100 ตัว ดักแด้เพศผู้ 50 ตัว เพศเมีย 50 ตัว และตัวเต็มวัยเพศผู้ 50 ตัว เพศเมีย 50 ตัว

* ตัวเลขในช่องเดียวกันตามแนวตั้ง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการวิเคราะห์แบบ Z-test

ตารางที่ 3 ผลของ sublethal dose ของเชื้อ NPV ที่มีต่อการเข้าดักแด้และการฟักออกของตัวเต็มวัยของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน *H. armigera* (Hübner)

หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน	ไม่ปลูกเชื้อ	ปลูกเชื้อ sublethal dose
การเข้าดักแด้ (%)	88.00	68.00
อัตราส่วนดักแด้, เพศผู้ : เพศเมีย	1.33:1*	1.13:1
การฟักออกเป็นตัวเต็มวัย, เพศผู้(%)	90.00	52.00
เพศเมีย(%)	92.00	63.00
อัตราส่วนตัวเต็มวัย, เพศผู้ : เพศเมีย	1.27:1	1.08:1

มีผลต่อการแพร่พันธุ์ของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันมาก ตัวหนอนแม้จะรอดตายเป็นตัวเต็มวัยได้ก็ไม่สามารถเจริญขยายพันธุ์ได้เต็มประสิทธิภาพ นั่นคือวางไข่น้อยลงกว่าปกติและเปอร์เซนต์การฟักเป็นตัวก็ลดต่ำลงด้วย เชื้อ NPV นั้นมีประสิทธิภาพรุนแรงมักทำให้หนอนตายก่อนเป็นตัวเต็มวัย จึงไม่ค่อยมีรายงานถึงผลของเชื้อที่มีต่อระบบสืบพันธุ์ของแมลง การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าหากหนอนไม่ตายและเจริญเติบโตจนเป็นตัวเต็มวัย การเจริญของเชื้อ NPV ภายในตัวแมลงมีผลกระทบกระเทือนต่อระบบสืบพันธุ์อย่างแน่นอน หรืออาจแพร่กระจายไปทำลายอวัยวะต่าง ๆ ในระบบสืบพันธุ์เลยก็ได้

ค. ผลของ sublethal dose ของเชื้อ NPV ที่มีต่อรุ่นลูกของผีเสื้อหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน

ผลการทดลองได้แสดงไว้ในตารางที่ 5 ซึ่งพบว่าเมื่อสุ่มเอาหนอน 100 ตัว มาจากไข่แต่ละชุดที่วางโดยตัวเต็มวัยปกติ และตัวเต็มวัยที่ได้รับเชื้อ sublethal dose ปรากฏว่าหนอนรุ่นลูกของตัวเต็มวัยที่ได้รับเชื้อจะตายสูงสุดถึง 66% เมื่อหาค่าเฉลี่ยและแก้ไขหาค่าเปอร์เซนต์ตายที่ถูกต้องด้วย Abbott's formula พบว่ามีการตายถึง 54.54 เปอร์เซนต์ ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อ NPV สามารถถ่ายทอดผ่านทางไข่ไปสู่ลูกหลานได้ Hungspruke (1981) ได้รายงานไว้ว่าหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันในวัยที่ 4 และ 5 ซึ่งได้รับเชื้อ NPV ที่ความเข้มข้นต่ำ เมื่อเจริญเป็นตัวเต็มวัยจะถ่ายทอดเชื้อผ่านจากไข่ไปยังหนอนรุ่นลูกได้ถึง 60–70 เปอร์เซนต์ ข้อแตกต่างอาจเนื่องจาก Hungspruke ใช้หนอนวัยสี่และห้าทดลองในขณะที่การทดลองนี้ใช้หนอนวัยสาม อย่างไรก็ตามเป็นที่ยืนยันได้แน่นอนว่าเชื้อนี้สามารถถ่ายทอดผ่านทางไข่ได้ด้วยเปอร์เซนต์ค่อนข้างสูง ดังนั้นในการใช้เชื้อ NPV กำจัดหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันนั้น หนอนบางกลุ่มที่ได้รับเชื้อเพียงเล็กน้อยไม่สามารถทำให้ตายได้ หรือหนอนที่อยู่ในวัยแก่แล้วซึ่งอาจจะไม่ตาย หนอนเหล่านี้จะเป็นตัวช่วยแพร่กระจายเชื้อไปสู่ลูกหลานในรุ่นต่อไป เป็นการเพิ่มการระบาดของโรคและลดจำนวนประชากรของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันในรุ่นต่อไปได้เป็นอย่างดี

ตารางที่ 4 ผลของ sublethal dose ของเชื้อ NPV ที่มีต่อการวางไข่ของตัวเต็มวัยของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน *H. armigera* (Hübner)

หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน	ไม่ปลูกเชื้อ	ปลูกเชื้อ sublethal dose
จำนวนไข่/ตัวเมีย	493.34	196.68
อายุของไข่ (วัน)	2.40–3.80	2.60–5.00
การฟักของไข่ (%)	70.00	37.00

ตารางที่ 5 ผลของ sublethal dose ที่มีต่อรุ่นลูกของผีเสื้อหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน *H. armigera* (Hübner)

กลุ่มของไข่[1]	เปอร์เซนต์การตายของหนอนที่ฟักออกมา	
	ไม่ปลูกเชื้อ	ปลูกเชื้อ sublethal dose
1	3	66
2	0	39
3	1	58
4	1	51
5	1	61
ค่าเฉลี่ย	1.2	55
เปอร์เซนต์ตายที่ถูกต้อง		54.54[2]

1 ไข่กลุ่มละ 100 ฟอง

2 คำนวณโดยใช้ Abbott's formula

สรุป

การป้องกันกำจัดหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันด้วยสารเคมีนั้น เริ่มให้ผลไม่คุ้มค่าและก่อให้เกิดอันตรายอย่างใหญ่หลวงต่อผู้ใช้และสภาพแวดล้อม เพราะต้องใช้สารเคมีมากขึ้นและมีพิษร้ายแรงขึ้น การใช้เชื้อไวรัสกำจัดแมลงชนิดนี้จึงเป็นอีกหนทางหนึ่งที่น่าจะได้มีการศึกษาค้นคว้า และส่งเสริมให้มีการใช้อย่างจริงจัง มีรายงานว่าเชื้อไวรัสของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันที่พบในประเทศไทยมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดแมลง การศึกษาทดลองครั้งนี้ เน้นให้เห็นถึงประสิทธิภาพของเชื้อไวรัสนี้ โดยชี้ให้เห็นว่าเชื้อไวรัสที่ระดับความเข้มข้นต่ำแม้ไม่ทำให้หนอนตายแต่ก็จะมีผลกระทบกระเทือนต่อการเจริญเติบโตของตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ทำให้เปอร์เซนต์การวางไข่และฟักไข่ลดลงอย่างเห็นได้ชัด และเชื้อยังถ่ายทอดไปสู่ไข่ทำให้ตัวอ่อนที่ฟักออกมาเป็นโรคและตายได้ ดังนั้นในสภาพธรรมชาติ แม้แมลงจะได้รับเชื้อไม่เพียงพอทำให้ตายหรือได้รับเชื้อในวัยแก่เชื้อไวรัสก็จะมีผลต่อวงจรชีวิตของแมลงตามที่ได้รายงานไว้นี้ ผลจากการศึกษานี้ยังใช้เป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาใช้เชื้อไวรัสกำจัดหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันในระยะยาว คือให้เชื้อนี้มีอยู่เป็นส่วนหนึ่งของธรรมชาติที่สามารถแพร่ระบาดถ่ายทอดจากหนอนรุ่นหนึ่งไปอีกรุ่นหนึ่ง ซึ่งจะช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายในการกำจัดแมลงได้เป็นอย่างมาก

เอกสารอ้างอิง

โสธร ประเสริฐผล, ปรีชา อารีกุล และอุทัย เกตุนุติ. 2514. การเลี้ยงหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันด้วยอาหารเทียม. วิทยาศาสตร์เกษตร. 4(1): 39 – 44.

อำนวย อิศรางกูร ณ อยุธยา. 2519. การศึกษาโรคไวรัสของหนอนเจาะสมอฝ้าย. I. การทดลองหา LD_{50} ของเชื้อ NPV ต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย *Helicoverpa armigera* (Hübner). ในรายงานผลการค้นคว้าวิจัยปี 2519 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

Atger, P. 1969. Observations on the nuclear polyhedrosis of *Heliothis armigera* (Hbn.). Chad. Rev. Appl. Entomol. Ser. A. 61(3): 232 (Abstr.)

Campbell, R.W. 1963. The role of disease and desication in the population dynamics of the Gypsy moth *Porthetria dispar* (L.) (Lepidoptera: Lymantridae). Can. Entomol. 95: 426 - 434.

Finney, D.J. 1962. Probit Analysis. 2nd ed. Cambridge Univ. Press, London.

Finney, D.J. 1971. Probit Analysis. 3rd ed. Cambridge Univ. Press, London.

Hungspruke, S. 1981. Studies on nuclear polyhedrosis viruses recovered from *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera exigua* larvae in Thailand. M.S. thesis, Mahidol University, Bangkok.

Mourikis, P.A. and P. Vassilaina-Alexopoulou. 1970. The behavior of adults of *Heliothis armigera* (Hubner) (Lep.: Noctuidae) under laboratory conditions. Rev. Appl. Entomol. Ser. A. 61(5): 396 (Abstr.).

Shapiro, M. and C.M. Ignoffo. 1970. Nuclear polyhedrosis of *Heliothis:* activity of isolation from *Heliothis zea.* J. of Invertebr. Pathol. 16: 107 - 111.

Williams, C.F. and C.C. Payne. 1984. The susceptibility of *Heliothis armigera* larvae to three nuclear polyhedrosis viruses. Ann. of Appl. Biol. 104(3): 405 - 412.

Whitlock, V.H. 1978. Dosage-mortality studies of a granulosis and a nuclear polyhedrosis virus of a laboratory strain of *Heliothis armigera.* J. of Invertebr. Pathol. 32: 386 - 387.