

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

- 1. แผนงานวิจัย** : วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้ประโยชน์ของชีวภัณฑ์สู่เชิงพาณิชย์
- 2. โครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ
กิจกรรม : การผลิตขยายและการใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืช
- 3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : การศึกษาระดับความเป็นพิษของไวรัส NPV ต่อหนอนผีเสื้อศัตรูพืช
ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Study on the Toxicity of Nucleopolyhedro virus to the Lepidopterous Pests
- 4. คณะผู้ดำเนินงาน**
หัวหน้าการทดลอง : นายอนุสรณ์ พงษ์มี สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ผู้ร่วมงาน : นางสาวนันทน์ พินศรี สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
 นายอิศเรศ เทียนทัต สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
- 5. บทคัดย่อ**

การศึกษาระดับความเป็นพิษ (LC_{50}) ของไวรัส NPV จำนวน 3 ชนิด คือ SeNPV, HaNPV และ S1NPV ที่มีต่อหนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้าย และหนอนกระทู้ผัก โดยวิธีให้กิน (Diet surface contamination method) ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างเดือน ตุลาคม 2560 – กันยายน 2562 ผลการทดลองพบว่า ค่า LC_{50} ของเชื้อ SeNPV ต่อหนอนกระทู้หอมมีค่า 5.53×10^5 PIBs/ml, ค่า LC_{50} ของเชื้อ HaNPV ต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายมีค่า 7.59×10^5 PIBs/ml และ ค่า LC_{50} ของเชื้อ S1NPV ต่อหนอนกระทู้ผักมีค่า 1.52×10^6 PIBs/ml ปัจจุบันชีวภัณฑ์ NPV ของกรมวิชาการเกษตรมีอัตราการใช้นั้นำคือ SeNPV ความเข้มข้น 1.5×10^6 PIBs/ml, HaNPV ความเข้มข้น 3×10^6 PIBs/ml และ S1NPV ความเข้มข้น 2.5×10^6 PIBs/ml ซึ่งอัตราการใช้ข้างต้นมีศักยภาพสูง

เพียงพอต่อการใช้ป้องกันกำจัดหนอนผีเสื้อศัตรูพืชทั้ง 3 ชนิด ดังนั้นสามารถนำไปปรับลดอัตราการใช้ของเชื้อ SeNPV และ HaNPV เพื่อลดต้นทุนในการใช้สารชีวภัณฑ์ในอนาคต

Abstract

A study on the lethal concentration (LC_{50}) of Nucleopolyhedro virus (NPV), SeNPV, HaNPV and SlNPV against beet armyworm, cotton bollworm and common cutworm by diet surface contamination method. The experiment was carried out in laboratory at Biological Control Research Group, Entomology and Zoology Division, Plant protection research and development office. During October 2017 – September 2019. The result showed that LC_{50} values of SeNPV against beet armyworm were 5.53×10^5 PIBs/ml., LC_{50} values of HaNPV against cotton bollworm were 7.59×10^5 PIBs/ml. and LC_{50} values of SlNPV against common cutworm were 1.52×10^6 PIBs/ml. . Currently, NPV biological products of Department of Agriculture's has recommended concentration is SeNPV at 1.5×10^6 PIBs/ml., HaNPV at 3×10^6 PIBs/ml. and SlNPV at 2.5×10^6 PIBs/ml. . Therefore, recommended concentration rate of SeNPV and HaNPV can be reducing. Moreover biological products using cost will be reduce.

6. คำนำ

หนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอม มีความสำคัญมากและมีแนวโน้มจะระบาดรุนแรงขึ้นในอนาคต เนื่องจากเป็นหนอนผีเสื้อกลางคืนที่มีขนาดใหญ่ โตเต็มที่มีขนาด 3 – 4 เซนติเมตร แม่ผีเสื้อวางไข่เป็นกลุ่มนับร้อยฟอง เมื่อหนอนฟักออกจากไข่ใหม่ๆ จะอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม และเริ่มแยกย้ายออกจากกลุ่มไปทำลายส่วนต่างๆ ของพืชอาศัย สามารถทำลายได้ทุกส่วนของพืช (กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูผัก ไม้ดอก และไม้ประดับ, 2542) นอกจากนั้นแล้วพบระบาดในพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น หอมแดง หอมหัวใหญ่ ฝ้าย พริก ผักตระกูลกะหล่ำ ทานตะวัน ถั่วลิสง ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ละหุ่ง ข้าว ข้าวโพด ยาสูบ ส้ม สตรอเบอร์รี่ กุหลาบ มันเทศ มะเขือเทศ เป็นต้น (กองกัญและสัตววิทยา, 2544)

หนอนเจาะสมอฝ้าย *Helicoverpa armigera* (Hübner) ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนอยู่ในวงศ์ Noctuidae อันดับ Lepidoptera เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญในแหล่งต่างๆ ทั่วโลก เช่น ทวีปเอเชีย ออฟริกา ยุโรป และออสเตรเลีย และเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญตัวหนึ่งของประเทศไทยในปัจจุบัน และมีแนวโน้มว่าจะเป็นศัตรูร้ายแรงขอประเทศในอนาคต ทั้งนี้เนื่องจากแมลงชนิดนี้มีพืชอาหารกว้างขวางมาก ประกอบกับวงจรชีวิตค่อนข้างสั้น คือ ประมาณ 1 เดือน แม่ผีเสื้อมีความสามารถในการวางไข่ได้ประมาณ 600 - 2,000 ฟอง มักวางไข่บริเวณยอดอ่อน กลีบดอกหรือผลอ่อนของพืช หนอนเมื่อฟักออกจากไข่จะเข้ากัดกินส่วนอ่อนของพืชอาหาร เช่น ยอดอ่อน

ตาตอก ดอกตูม ดอกบาน สมอ ฝัก ผล และลำต้น แมผีเสื้อสามารถเคลื่อนที่ได้เป็นระยะทางไกลๆ ดังนั้นจึงพบว่ามีการระบาดอย่างรวดเร็วและกว้างขวางอยู่บนพืชต่างๆ ตลอดปี (กองกัญและสัตววิทยา, 2544) หนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอมเป็นหนอนในสกุล *spodoptera* ซึ่งเป็นแมลงในกลุ่มที่มีความสามารถในการต้านทานต่อสารฆ่าแมลงได้อย่างรวดเร็วและดีที่สุดในเมื่อเทียบกับแมลงในสกุลอื่น (El-Guidny *et al.*, 1982) ส่วนหนอนเจาะสมอฝ้ายสามารถสร้างความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงได้อย่างรวดเร็วเช่นกันจึงเป็นปัญหามากในการป้องกันกำจัด (กองกัญและสัตววิทยา, 2544) เป็นผลทำให้เกษตรกรต้องพ่นสารฆ่าแมลงบ่อยครั้งขึ้น ใช้ชนิดของสารฆ่าแมลงที่มีฤทธิ์รุนแรงมากขึ้นและใช้สารฆ่าแมลงหลายชนิดปนพร้อมๆ กันในคราวเดียว เป็นสาเหตุทำให้เกษตรกรผู้ใช้สารฆ่าแมลงอาจได้รับอันตรายต่อสุขภาพ ส่งผลกระทบต่ออีกหลายด้านไม่ว่าจะเป็นการส่งออกผลผลิตทางการเกษตรไปจำหน่ายต่างประเทศ หรือต่อสภาพแวดล้อม ดังนั้นการใช้เชื้อ NPV (Nucleopolyhedro virus) ที่เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีประสิทธิภาพสูง มีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อแมลงเป้าหมาย จึงปลอดภัยต่อแมลงศัตรูธรรมชาติและแมลงที่มีประโยชน์ มีความปลอดภัยต่อมนุษย์ สัตว์และสิ่งแวดล้อมสูงและเหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นหลักร่วมกับวิธีการป้องกันกำจัดอื่นๆ ในระบบการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน (Integrated Pest Management) ซึ่งกรมวิชาการเกษตรได้มีนโยบายที่จะลดความเสี่ยงของประชาชน และลดผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมจากสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยหาสิ่งทดแทนเพื่อลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยที่คุณภาพและผลผลิตไม่ลดลงและต้นทุนการผลิตไม่สูงขึ้น (กรมวิชาการเกษตร, 2542)

ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนผีเสื้อศัตรูพืชของไวรัส NPV จะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ หลายประการ เช่น ชนิดของไวรัสและชนิดของหนอน เป็นต้น ปัจจัยสำคัญอีกประการหนึ่งคือ วัยและขนาดของหนอน โดยหนอนจะมีขนาดโตและมีน้ำหนักมากขึ้นตามวัย ทำให้หนอนที่มีขนาดใหญ่สามารถต้านทานต่อไวรัส NPV ได้มากกว่าหนอนขนาดเล็ก ปัจจุบันไวรัส NPV ที่มีการใช้กันมากในประเทศไทยในการป้องกันกำจัดหนอนผีเสื้อศัตรูพืชคือไวรัส NPV ของหนอนกระทู้หอม (SeNPV) หนอนกระทู้ผัก (SiNPV) และหนอนเจาะสมอฝ้าย (HaNPV) ซึ่งจากการเริ่มใช้กันมาจวบจนถึงปัจจุบันเป็นเวลาหลายสิบปี จากอัตราการใช้แรกเริ่มจะใช้ค่อนข้างน้อย แต่ในขณะนี้อัตราการใช้จะอยู่ที่ 30-50 ml/20 l ซึ่งแสดงว่าแมลงได้พัฒนาตัวเองให้มีการต้านทานต่อไวรัส NPV ทำให้อัตราการใช้ต่ำมีประสิทธิภาพน้อยในการป้องกันกำจัด แต่การป้องกันกำจัดหนอนผีเสื้อศัตรูพืชบางชนิดไม่จำเป็นต้องใช้ในอัตราสูงก็สามารถทำการป้องกันกำจัดได้ ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาถึงระดับความเป็นพิษของไวรัส NPV แต่ละชนิด โดยทดสอบความเป็นพิษกับสัตว์ทดลองเพื่อหาค่า Median Lethal Concentration (LC₅₀) เพื่อหาความเข้มข้นของเชื้อ NPV ที่ทำให้สัตว์ทดลองมีอัตราการตายที่ 50% (วสกร, 2555) ซึ่งจากผลของการศึกษาถึงระดับความเป็นพิษดังกล่าวสามารถใช้เป็นค่ามาตรฐานเพิ่มเติมในการกำหนดคุณภาพของไวรัส NPV ร่วมกันกับมาตรฐานเดิมที่มีอยู่ให้มีความน่าเชื่อถือต่อผลิตภัณฑ์มากยิ่งขึ้น

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

1. ไวรัส NPV ของหนอนกระทู้หอม (SeNPV)
2. ไวรัส NPV ของหนอนกระทู้ผัก (SiNPV)
3. ไวรัส NPV ของหนอนเจาะสมอฝ้าย (HaNPV)
4. หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย
5. อาหารเทียมเลี้ยงแมลง
6. micropipette
7. eppendrop tube, ถ้วยพลาสติกขนาด 2 ออนซ์

- วิธีการ

1. การหาช่วงความเข้มข้นที่ทำให้หนอนตาย 10 – 90 เปอร์เซ็นต์

ทำการเตรียมไวรัส NPV ของหนอนกระทู้ผัก (SiNPV), หนอนกระทู้หอม (SeNPV) และหนอนเจาะสมอฝ้าย (HaNPV) ด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 6 ระดับ ได้แก่ 1×10^3 , 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 และ 1×10^8 PIBs/ml จากนั้นนำหนอนผีเสื้อศัตรูพืชที่สำคัญคือ หนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้ผัก ที่เก็บจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ มาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการด้วยอาหารเทียมจนได้หนอนรุ่นที่ 1 หรือ 2 นำมาทดสอบหาค่าความเป็นพิษของไวรัส NPV แต่ละชนิดตามอัตราความเข้มข้นต่างๆ โดยทำการทดลองบนอาหารเทียมสำหรับหนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอมและหนอนเจาะสมอฝ้าย ในถ้วยพลาสติกขนาด 1 ออนซ์ และมีฝาปิดที่ระบายอากาศได้ หยด NPV อัตราที่จะทดสอบลงบนผิวหน้าอาหารเทียมปริมาณ 30 ไมโครลิตรต่อถ้วย กลี๋ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารเทียม ปล่อยให้แห้งประมาณ 3 นาที ใช้พู่กันเขี่ยหนอนใส่ถ้วยละ 1 ตัว ทดสอบกับไวรัส NPV ที่ความเข้มข้น 1×10^3 , 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 และ 1×10^8 PIBs/ml และใช้น้ำเปล่าเป็นกรรมวิธีควบคุม โดยใช้หนอน 10 ตัวต่อซ้ำ จำนวน 4 ซ้ำ

- ทำการบันทึกการตายของหนอนในแต่ละกรรมวิธีทุก 24 ชั่วโมง หลังการทดลองจนครบ 7 วัน โดยหนอนที่ไม่ตอบสนองต่อการเขี่ยของปลายพู่กันจะถูกพิจารณาว่าตาย

- ในกรณีที่ความเข้มข้นในระดับต่ำไม่ได้ผล จะตัดความเข้มข้นนั้นทิ้ง และจะเพิ่มระดับความเข้มข้นขึ้นไปอีก 10 เท่า โดยที่จำนวนระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นอยู่กับจำนวนความเข้มข้นที่ไม่ได้ผล

- หากพบหนอนตายใน control มากกว่า 5% ให้ปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925)

2. การศึกษาและหาค่า LC50

เมื่อได้ช่วงความเข้มข้นของไวรัสที่ทำให้หนอนตายอยู่ในช่วง 10 – 90 เปอร์เซ็นต์แล้ว จากนั้นกำหนดช่วงความเข้มข้นที่ได้ดังกล่าว แบ่งให้ได้เป็น 5 ระดับความเข้มข้น นำมาทดสอบหาความเป็นพิษ

ของ S/NPV, SeNPV และ HaNPV โดยวิธีให้กิน (Diet surface contamination method) กับหนอนวัย 2, 3 และ 4 ทดลองบนอาหารเทียมโดยหยดไวรัส NPV ในอัตราต่างๆ ดังกล่าวลงบนอาหารเทียมที่เตรียมไว้ในถ้วยพลาสติกขนาด 1 ออนซ์ สำหรับทดสอบ ถ้วยละ 30 ไมโครลิตร ปล่อยหนอนทดลองลงไปถ้วยละ 1 ตัว ทำการทดสอบ 4 ซ้ำ ใช้หนอนซ้ำละ 10 ตัว

การบันทึกผลการทดลอง

- ทำการบันทึกการตายของหนอนในแต่ละกรรมวิธีทุก 24 ชั่วโมง หลังการทดลองจนครบ 7 วัน โดยหนอนที่ไม่ตอบสนองต่อการเชื้อของปลายฟูกันจะถูกพิจารณาว่าตาย
- หากพบหนอนตายใน control มากกว่า 5% ให้ปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์หนอนตายมาหาค่าความเข้มข้นของสารที่ทำให้หนอนตาย 50% ด้วยโปรแกรม Probit analysis

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา : ตุลาคม 2560 – กันยายน 2562

สถานที่ : ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การหาช่วงความเข้มข้นที่ทำให้หนอนตาย 10 – 90 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

หนอนกระทู้หอม

จากการทดลองเป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่าหนอนกระทู้หอมวัย 2 และวัย 3 ในกรรมวิธีควบคุมมีอัตราการตาย 7.5 เปอร์เซ็นต์ จึงได้ปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายด้วย Abbott's formula และพบว่า ช่วงความเข้มข้นของไวรัส SeNPV ที่ทำให้หนอนกระทู้หอมตายในช่วง 10 – 90 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ SeNPV ความเข้มข้น 1×10^3 - 1×10^5 PIBs/ml ทำให้หนอนกระทู้หอมวัย 2 ตายที่ 10.81 - 83.78 เปอร์เซ็นต์, SeNPV ความเข้มข้น 1×10^3 - 1×10^5 PIBs/ml ทำให้หนอนกระทู้หอมวัย 3 ตายที่ 16.22 - 83.78 เปอร์เซ็นต์ และ SeNPV ความเข้มข้น 1×10^4 - 1×10^6 PIBs/ml ทำให้หนอนกระทู้หอมวัย 4 ตายที่ 22.50 - 82.50 เปอร์เซ็นต์

หนอนเจาะสมอฝ้าย

จากการทดลองเป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่าช่วงความเข้มข้นของไวรัส HaNPV ที่ทำให้หนอนเจาะสมอฝ้ายตายในช่วง 10 – 90 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ HaNPV ความเข้มข้น 2×10^3 PIBs/ml ทำให้หนอนเจาะสมอฝ้ายวัย 2 ตายที่ 77.50 เปอร์เซ็นต์, HaNPV ความเข้มข้น $2 \times 10^3 - 2 \times 10^5$ PIBs/ml ทำให้หนอนเจาะสมอฝ้ายวัย 3 ตายที่ 35.00 - 72.50 เปอร์เซ็นต์ และ HaNPV ความเข้มข้น $2 \times 10^3 - 2 \times 10^6$ PIBs/ml ทำให้หนอนเจาะสมอฝ้ายวัย 4 ตายที่ 27.50 - 72.50 เปอร์เซ็นต์

หนอนกระตุ้ฝัก

จากการทดลองเป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่าช่วงความเข้มข้นของไวรัส S1NPV ที่ทำให้หนอนกระตุ้ฝักตายในช่วง 10 – 90 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ S1NPV ความเข้มข้น 1×10^6 PIBs/ml ทำให้หนอนกระตุ้ฝักวัย 2 ตายที่ 70.00 เปอร์เซ็นต์, S1NPV ความเข้มข้น $1 \times 10^5 - 1 \times 10^8$ PIBs/ml ทำให้หนอนกระตุ้ฝักวัย 3 ตายที่ 10.00 – 85.00 เปอร์เซ็นต์ และ S1NPV ความเข้มข้น $1 \times 10^4 - 1 \times 10^7$ PIBs/ml ทำให้หนอนกระตุ้ฝักวัย 4 ตายที่ 40.00 - 87.50 เปอร์เซ็นต์

2. การศึกษาและหาค่า LC50

เมื่อทราบช่วงความเข้มข้นของไวรัส NPV ที่ทำให้หนอนแต่ละชนิดตายในช่วง 10 – 90 เปอร์เซ็นต์แล้ว จึงทำการกำหนดช่วงความเข้มข้นของไวรัส NPV เพื่อใช้ในการทดลองดังนี้

- 1) SeNPV ทดสอบกับหนอนกระตุ้หอมวัย 2 อยู่ในช่วงความเข้มข้น $1 \times 10^3 - 1 \times 10^5$ PIBs/ml
- 2) SeNPV ทดสอบกับหนอนกระตุ้หอมวัย 3 อยู่ในช่วงความเข้มข้น $1 \times 10^3 - 1 \times 10^5$ PIBs/ml
- 3) SeNPV ทดสอบกับหนอนกระตุ้หอมวัย 4 อยู่ในช่วงความเข้มข้น $1 \times 10^4 - 1 \times 10^6$ PIBs/ml
- 4) HaNPV ทดสอบกับหนอนเจาะสมอฝ้ายวัย 2 อยู่ในช่วงความเข้มข้น $2 \times 10^3 - 2 \times 10^5$ PIBs/ml
- 5) HaNPV ทดสอบกับหนอนเจาะสมอฝ้ายวัย 3 อยู่ในช่วงความเข้มข้น $2 \times 10^3 - 2 \times 10^5$ PIBs/ml
- 6) HaNPV ทดสอบกับหนอนเจาะสมอฝ้ายวัย 4 อยู่ในช่วงความเข้มข้น $2 \times 10^3 - 2 \times 10^6$ PIBs/ml
- 7) S1NPV ทดสอบกับหนอนกระตุ้ฝักวัย 2 อยู่ในช่วงความเข้มข้น $1 \times 10^5 - 1 \times 10^7$ PIBs/ml
- 8) S1NPV ทดสอบกับหนอนกระตุ้ฝักวัย 3 อยู่ในช่วงความเข้มข้น $1 \times 10^5 - 1 \times 10^8$ PIBs/ml
- 9) S1NPV ทดสอบกับหนอนกระตุ้ฝักวัย 4 อยู่ในช่วงความเข้มข้น $1 \times 10^4 - 1 \times 10^7$ PIBs/ml

แบ่งแต่ละช่วงความเข้มข้นให้ได้อย่างน้อย 5 ระดับความเข้มข้น นำมาทดสอบหาเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระตุ้หอม หนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระตุ้ฝักวัย 2, 3 และวัย 4 ที่มีต่อไวรัส SeNPV, HaNPV และ S1NPV เป็นระยะเวลา 7 วัน โดยวิธีให้กิน (Diet surface contamination method) เพื่อหาค่าระดับความเป็นพิษของไวรัส NPV (LC_{50}) ด้วยโปรแกรม Probit analysis จากผลการทดลองพบว่า ไวรัส SeNPV มีระดับความเป็นพิษต่อหนอนกระตุ้หอมแต่ละวัยแตกต่างกัน โดยมีค่า LC_{50} ต่อหนอนกระตุ้หอมวัย 2, 3 และ 4 เท่ากับ 0.76×10^2 , 1.57×10^3 และ 5.53×10^5 PIBs/ml ตามลำดับ ไวรัส HaNPV มีค่า LC_{50} ต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายวัย 2, 3 และ 4 เท่ากับ 5.61×10^3 ,

6.84x10⁴ และ 7.59x10⁵ PIBs/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 3) และไวรัส SeNPV มีค่า LC₅₀ ต่อหนอนกระทู้ฝักวัย 2, 3 และ 4 เท่ากับ 2.34x10⁵, 1.52x10⁶ และ 4.91x10⁴ PIBs/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ปัจจัยที่มีผลโดยตรงที่ทำให้ค่า LC₅₀ เพิ่มขึ้น คือ น้ำหนักของแมลงทดลอง ซึ่งเมื่ออายุหรือวัยของแมลงทดลองมากขึ้น น้ำหนักตัวแมลงทดลองก็เพิ่มขึ้น ซึ่งผลคือ เกิดการเจือจางลงของเชื้อที่แมลงทดลองกินเข้าไป โดยต้องกินเชื้อในปริมาณที่มากขึ้นและมากพอที่เชื้อจะทำลายอวัยวะภายในของแมลงทดลองได้อย่างสมบูรณ์ (Monobrullah and Nagata, 2000) ส่วนในด้านการสร้างความต้านทานของหนอนฝักต่อเชื้อ NPV นั้นสามารถเกิดขึ้นได้โดยหนอนฝักที่มีศักยภาพในการพัฒนาความต้านทานต่อไวรัสได้ตามธรรมชาติ (Briese and Podgwaite 1985)

นอกจากนี้การที่เชื้อ NPV มีค่า LC₅₀ ต่อหนอนฝักแต่ละวัยแตกต่างกัน อาจเป็นผลมาจากปัจจัยอื่นด้วย เช่น สภาพอุณหภูมิขณะระหว่างการทดลอง หรือ ปริมาณเชื้อ NPV ที่หนอนกินไป เป็นต้น ซึ่งอาจทำให้ผลการทดลองมีความคลาดเคลื่อนได้

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้ฝักวัย 2, 3 และ 4 ที่มีต่อความเข้มข้นของไวรัส SeNPV, HaNPV และ SeNPV จำนวน 6 ระดับ ในระยะเวลา 7 วัน

ชนิดของไวรัส NPV	ความเข้มข้น (PIBs/ml)	Corrected mortality (%)		
		หนอนวัย 2	หนอนวัย 3	หนอนวัย 4
SeNPV	1x10 ³	10.81	16.22	5.00
	1x10 ⁴	45.95	75.68	22.50
	1x10 ⁵	83.78	83.78	42.50
	1x10 ⁶	100.00	95.00	82.50
	1x10 ⁷	100.00	100.00	92.50
	1x10 ⁸	100.00	100.00	100.00
	control	7.50	7.50	2.50
HaNPV	2x10 ³	77.50	35.00	27.50
	2x10 ⁴	100.00	45.00	37.50
	2x10 ⁵	100.00	72.50	37.50
	2x10 ⁶	100.00	100.00	72.50
	2x10 ⁷	100.00	100.00	97.50
	2x10 ⁸	100.00	100.00	97.50
	control	2.50	0.00	2.50
SeNPV	1x10 ³	0.00	0.00	2.50
	1x10 ⁴	2.50	10.00	40.00

	1x10 ⁵	7.50	35.00	30.00
	1x10 ⁶	70.00	37.50	85.00
	1x10 ⁷	97.50	85.00	87.50
	1x10 ⁸	97.50	85.00	90.00
	control	5.00	0.00	2.50

ตารางที่ 2 ค่า LC₅₀ ของเชื้อ SeNPV ต่อหนอนกระทู้หอมโดยวิธี Diet surface contamination method เป็นระยะเวลา 7 วัน

หนอนกระทู้หอม	N	LC ₅₀ [PIBs/ml]	Upper - Lower	Slope ± SE
วัย 2	240	0.76x10 ²	-	0.512± 0.123
วัย 3	240	1,57x10 ³	0.22x10 ³ – 3,40x10 ³	0.983± 0.119
วัย 4	240	5.53x10 ⁵	2.24x10 ⁵ – 1.53x10 ⁷	0.699± 0.100

ตารางที่ 3 ค่า LC₅₀ ของเชื้อ HaNPV ต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายโดยวิธี Diet surface contamination method เป็นระยะเวลา 7 วัน

หนอนเจาะสมอฝ้าย	N	LC ₅₀ [PIBs/ml]	Upper - Lower	Slope ± SE
วัย 2	240	5.61x10 ³	4.29x10 ³ – 7.05x10 ³	1.188± 0.109
วัย 3	240	6.84x10 ⁴	2.19x10 ⁴ – 1.44x10 ⁹	0.635± 0.098
วัย 4	240	7.59x10 ⁵	1.38x10 ⁵ – 1.23x10 ¹⁰	0.432± 0.066

ตารางที่ 4 ค่า LC₅₀ ของเชื้อ SINPV ต่อหนอนกระทู้ผักโดยวิธี Diet surface contamination method เป็นระยะเวลา 7 วัน

หนอนกระทู้ผัก	N	LC ₅₀ [PIBs/ml]	Upper - Lower	Slope ± SE
วัย 2	240	2.34x10 ⁵	3.83x10 ⁴ – 5.05x10 ⁵	1.032± 0.102
วัย 3	240	1.52x10 ⁶	2.75x10 ⁴ – 9.01x10 ⁶	0.698± 0.069
วัย 4	240	4.91x10 ⁴	1.18x10 ⁴ – 1.17x10 ⁵	0.839± 0.073

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาระดับความเป็นพิษของไวรัส NPV ของหนอนกระทู้หอม (SeNPV), ไวรัส NPV ของหนอนเจาะสมอฝ้าย (HaNPV) และ ไวรัส NPV ของหนอนกระทู้ฝัก (SlNPV) พบว่าค่า LC_{50} ของเชื้อ SeNPV ต่อหนอนกระทู้หอมมีค่าสูงสุด 5.53×10^5 PIBs/ml, ค่า LC_{50} ของเชื้อ HaNPV ต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายมีค่าสูงสุด 7.59×10^5 PIBs/ml และ ค่า LC_{50} ของเชื้อ SlNPV ต่อหนอนกระทู้ฝักมีค่าสูงสุด 1.52×10^6 PIBs/ml

ในปัจจุบัน ชีวภัณฑ์ NPV ของกรมวิชาการเกษตรมีอัตราการใช้คือ SeNPV ความเข้มข้น 1×10^9 PIBs/ml ในอัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร คิดเป็นความเข้มข้น 1.5×10^6 PIBs/ml, HaNPV ความเข้มข้น 2×10^9 PIBs/ml ในอัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร คิดเป็นความเข้มข้น 3×10^6 PIBs/ml และ SlNPV ความเข้มข้น 1×10^9 PIBs/ml ในอัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร คิดเป็นความเข้มข้น 2.5×10^6 PIBs/ml ซึ่งอัตราการใช้ข้างต้นมีปริมาณมากและเพียงพอต่อการใช้ป้องกันกำจัดหนอนผีเสื้อศัตรูพืชทั้ง 3 ชนิด โดยจากผลการทดลองที่ได้สามารถนำไปปรับลดอัตราการใช้ของเชื้อ SeNPV และ HaNPV เพื่อลดต้นทุนในการใช้สารชีวภัณฑ์ในการป้องกันกำจัดหนอนผีเสื้อศัตรูพืชในอนาคต

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ : 1. ได้ข้อมูลระดับความเป็นพิษของไวรัส NPV ชนิดต่างๆที่มีต่อหนอนผีเสื้อศัตรูพืช

2. เพื่อนำระดับความเป็นพิษที่ได้มาใช้เป็นค่ามาตรฐานในการกำหนดคุณภาพของไวรัส NPV

11. คำขอบคุณ (ถ้ามี) : ขอขอบคุณ คุณมยุรา พงษ์ชวาล คุณปานภา ภูทอง คุณจิราพร เอี่ยมงาม คุณอำไพ หาญมนตรี คุณประมวล ศรีไชโย คุณจันทร์ โยธาแก้ว และทีมงานทุกท่าน ที่ให้ความร่วมมือและช่วยปฏิบัติงานทดลองครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

12. เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2542. นโยบายการอารักขาพืชของกรมวิชาการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 20 หน้า.

กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูผัก ไม้ดอก และไม้ประดับ. 2542. แมลงศัตรูผัก. เอกสารวิชาการ. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 32 หน้า.

- กองกึ่งและสัตว์วิทยา. 2544. คู่มือการตรวจแมลงไรและสัตว์ศัตรูพืชเศรษฐกิจ. เอกสารวิชาการ. กอง
กึ่งและสัตว์วิทยา กรมวิชาการเกษตร. 275 หน้า.
- วสกร บัลลังก์โพธิ์. 2555. เอกสารคำสอน วิชาเนศวิทยา (01424381). ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยา
ศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 36 หน้า.
- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J.
Econ. Entomol. 18: 256-267.
- Briese D. T. and J. D. Podgwaite. 1985. Development of viral resistance in insect
populations. pp. 361-389. *In*: Maramorosch K. and K. E. Sherman (eds.). Viral
insecticides for biological control. Acad. Press, London.
- El-Guidny, M.A., Madi, S.M. Keddis, M.E., Issa, Y.H. and Abbel-Sattar, M.M. 1982.
Development of resistance to pyrethroids in field populations of Egyptian
Cotton Leafworm *Spodoptera littularis* (Boisd.). International Pest Control 124:
6-11.
- Monobrullah M. and M. Nagata. 2000. Effects of larval age on susceptibility of
Spodoptera litura (Lepidoptera: Noctuidae) to *Spodoptera litura* multiple
nuclear polyhedrosis virus. Can Entomol 132: 337-340.