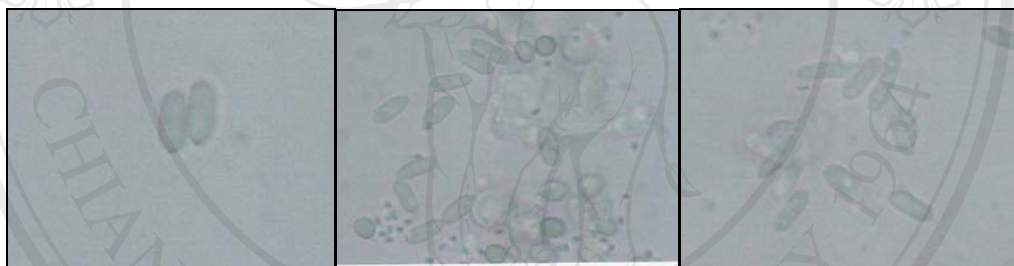


บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การคัดเลือกเชื้อราเขียวในการทำให้เกิดโรคกับหนอนกระทู้ผัก

จากการนำเชื้อราเขียว *M. anisopliae* จำนวน 10 ไอโซเลท มาทดสอบกับหนอนกระทู้ผัก 2 ผลปรากฏว่า เชื้อราเขียว *M. anisopliae* จำนวน 3 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดคือ เชื้อราเขียว BCC1858, BCC4849 และ Khon Kaen ซึ่งทำให้หนอนกระทู้ผัก 2 มีอัตราการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 2 วัน และลักษณะสปอร์ของเชื้อราเขียวทั้ง 3 ไอโซเลท พบว่ามีรูปร่างกระบอกตรงและรูปร่างค่อนข้างกลม สปอร์มีสีเขียว (ภาพที่ 9)



BCC1858

BCC4849

Khon Kaen

ภาพที่ 9 ลักษณะสปอร์ของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* (1000X) 3 ไอโซเลท

4.2 ผลของอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราเขียว

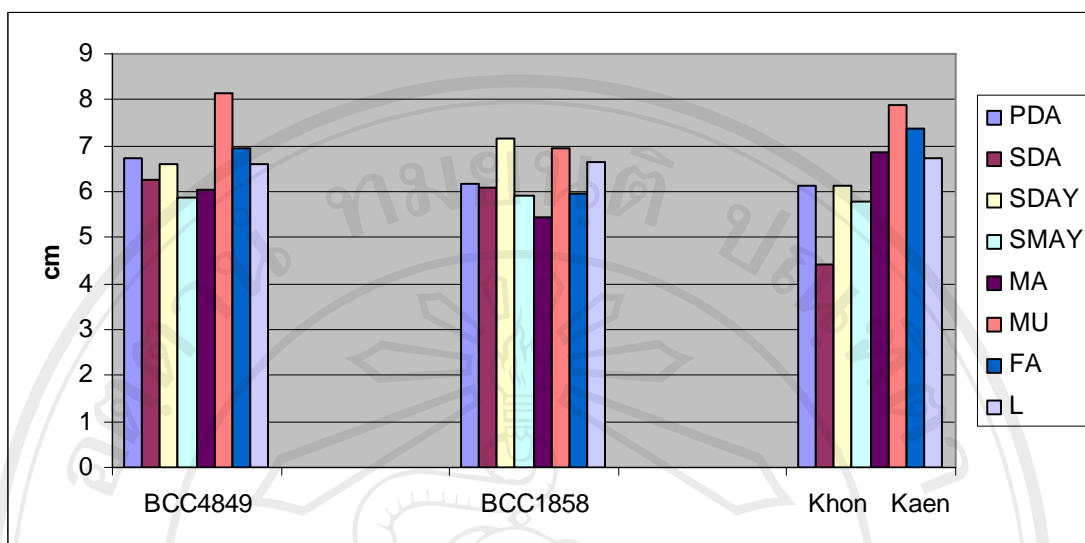
การทดสอบชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อจำนวน 8 ชนิด เพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* จำนวน 3 ไอโซเลท ซึ่งผลการวิเคราะห์ทางสถิติในตารางที่ 3 แสดงให้เห็นว่า เกิดปฏิกิริยาร่วมระหว่าง ไอโซเลทเชื้อราเขียว กับชนิดของอาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P = 0.01$ พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อ Mungbean agar (MU) ทำให้เชื้อราเขียว ไอโซเลท BCC4849 และ Khon Kaen เจริญดีที่สุด มีค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีที่ 15 วัน เท่ากับ 8.14 และ 7.89 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนเชื้อราเขียว ไอโซเลท BCC 1858 เจริญดีที่สุดบนอาหาร L, MU และ

SDAY เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีที่ 15 วัน เท่ากับ 6.66, 6.93 และ 7.15 เซนติเมตร รายละเอียดผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4 และ ภาพที่ 10

ลักษณะของโคโลนีบนอาหารแต่ละชนิดแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด เมื่อเชื้ออายุ 15 วัน คือ เชื้อราเขียว ไอโซเลท BCC4849 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MU มีเส้นใยสีขาว โคโลนีหนาแน่นคล้ายกำมะหยี่ต่อมาบางแห่งยุบลงมีสีเหลือง บริเวณกลางโคโลนีมีการสร้างสปอร์ที่มีสีเขียว เชื้อราเขียว ไอโซเลท BCC1858 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY เริ่มต้นโดยการสร้างเส้นใยสีขาวบางๆ โดยแผ่แนบไปผิวอาหาร โดยแผ่เป็นวงๆ ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเหลือง เนื่องจากมีการสร้างสปอร์สีเหลือง จากนั้นเปลี่ยนเป็นสีเขียวบางบริเวณของโคโลนี สปอร์มีสีเขียว และเชื้อราเขียว ไอโซเลท Khon Kaen บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MU ซึ่งสร้างเส้นใยสีขาว ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้ม ขอบโคโลนีมีสีขาว ลักษณะของสปอร์คล้ายผงมีสีเขียว (ภาพที่ 11-13)

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ความผันแปรทางสถิติสำหรับ factorial treatment effects และ interactions การเจริญของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* 3 ไอโซเลท บนอาหาร 8 ชนิด หลังการทดสอบ 15 วัน

Source	df	MS	F	P
Rep	3	0.05		
Isolate (I)	2	1.11	20.50	0.00
Media (M)	7	4.87	90.06	0.00
I*M	14	1.49	27.52	0.00
Error	69	0.05		
Total	95			
Coefficient of variance		3.61%		



ภาพที่ 10 การเจริญของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* 3 ไอโซเลท บนอาหาร 8 ชนิด หลังการทดสอบ 15 วัน

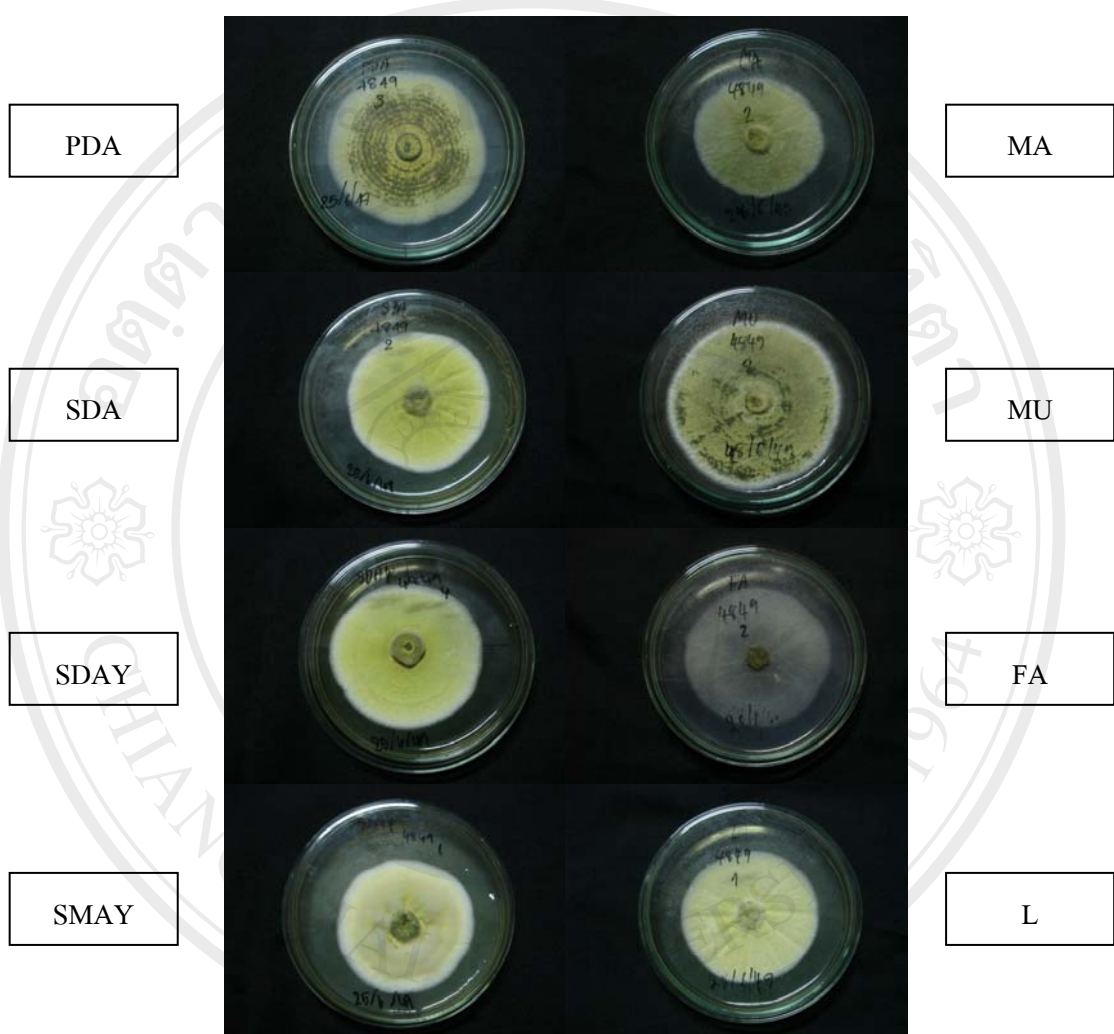
ตารางที่ 4 การเจริญเติบโตของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* จำนวน 3 ไอโซเลท บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ กัน โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี เมื่ออายุ 15 วัน

เชื้อ	อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่าง ๆ (ซ.ม.) ¹							
	PDA	SDA	SDAY	SMAY	MA	MU	FA	L
BCC4849	6.75	6.26	6.59	5.89	6.04	8.14	6.93	6.61
BCC1858	6.18	6.08	7.15	5.90	5.45	6.93	5.95	6.66
Khon Kaen	6.11	4.40	6.11	5.78	6.85	7.89	7.36	6.71

LSD_{0.05} = 0.33

LSD_{0.01} = 0.44

¹ ค่าเฉลี่ยคิดจาก 4 ซ้ำ



ภาพที่ 11 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเหี่ยว *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC4849 ที่เจริญบนอาหาร 8 ชนิด หลังการทดสอบ 15 วัน

PDA = Potato dextrose agar

SDA = Sabouraud dextrose agar

SDAY = Sabouraud dextrose agar with yeast extract

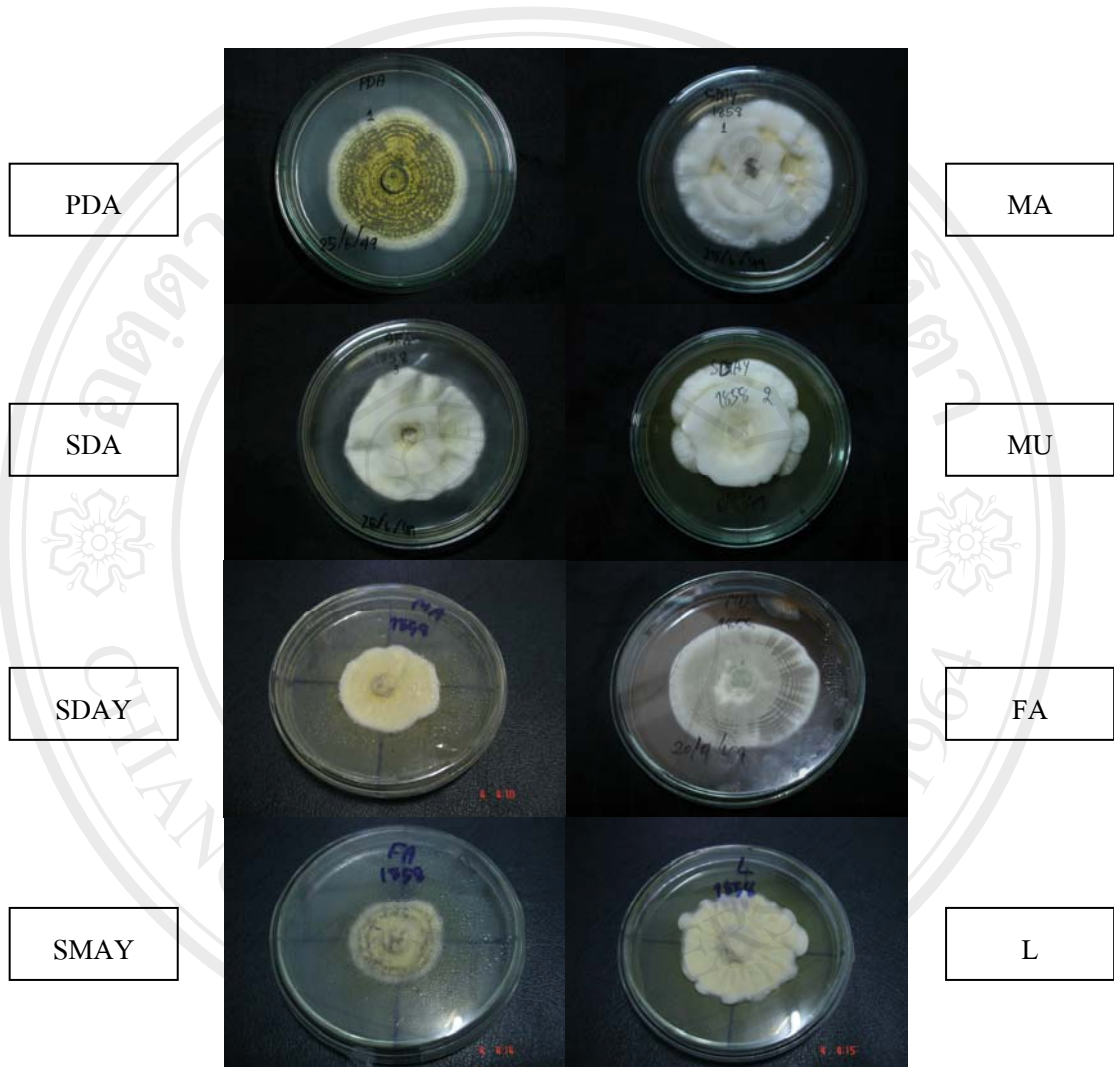
SMAY = Sabouraud maltose agar with yeast extract

MA = Malt agar

MU = Mungbean agar

FA = Fungus agar

L = Latch's medium



ภาพที่ 12 ลักษณะโคโลนีเชื้อราเขียว *M. anisopliae* ไอโซเลท BCC1858 ที่เจริญบนอาหาร 8 ชนิด หลังการทดสอบ 15 วัน

PDA = Potato dextrose agar

SDA = Sabouraud dextrose agar

SDAY = Sabouraud dextrose agar with yeast extract

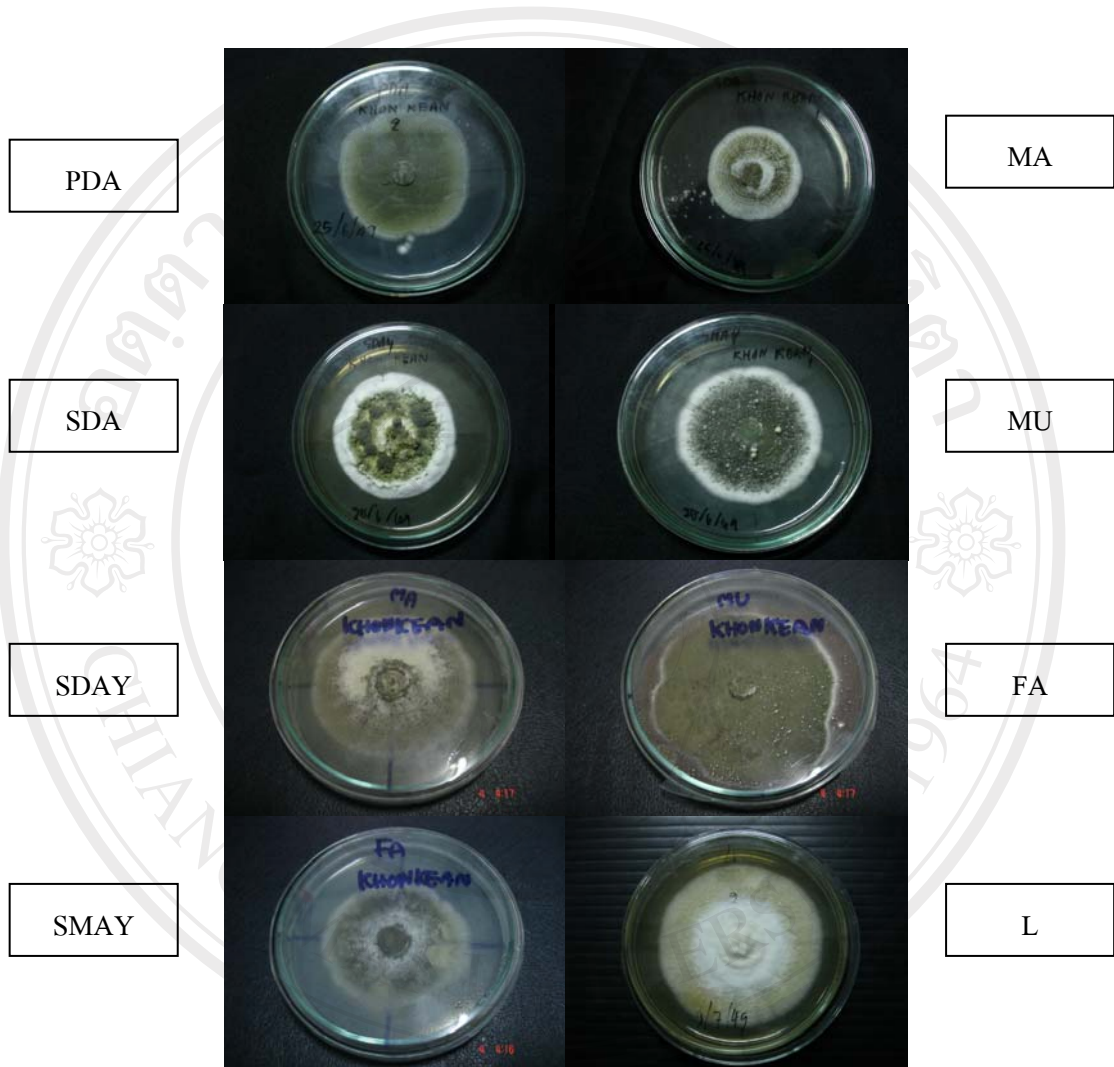
SMAY = Sabouraud maltose agar with yeast extract

MA = Malt agar

MU = Mungbean agar

FA = Fungus agar

L = Latch's medium



ภาพที่ 13 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* ไอโซเลท Khon Kaen ที่เจริญบนอาหาร 8 ชนิด หลังการทดสอบ 15 วัน

PDA = Potato dextrose agar

SDA = Sabouraud dextrose agar

SDAY = Sabouraud dextrose agar with yeast extract

SMAY = Sabouraud maltose agar with yeast extract

MA = Malt agar

MU = Mungbean agar

FA = Fungus agar

L = Latch's medium

4.3 ผลของอุณหภูมิต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราเขียว

การทดสอบอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* จำนวน 3 ไอโซเลท บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MU ที่ระดับอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 30 องศาเซลเซียส และ 35 องศาเซลเซียส ปรากฏว่าเกิดปฏิกิริยาร่วมระหว่างไอโซเลทของเชื้อราเขียวกับอุณหภูมิ ดังแสดงในตารางที่ 5 ($P = 0.01$) พบว่า เชื้อราเขียวทั้ง 3 ไอโซเลท เจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ BCC 4849 ซึ่งเจริญได้ดีที่สุด มีค่าเท่ากับ 7.16 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99 % การสร้างสปอร์ของเชื้อราเขียว ไอโซเลท BCC1858 สร้างมากที่สุดที่ระดับอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ส่วนเชื้อราเขียว ไอโซเลท BCC4849 และ เชื้อราเขียว ไอโซเลท Khon Kaen สร้างสปอร์มากที่สุดที่ระดับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 14 และตารางที่ 6)

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความผันแปรทางสถิติสำหรับ factorial treatment effects และ interactions การเจริญของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* 3 ไอโซเลท ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน 3 ระดับ บนอาหาร Mungbean agar หลังการทดสอบ 15 วัน

Source	df	MS	F	P
Rep	3	0.59		
Isolate (I)	2	18.69	116.49	0.00
Media (M)	2	12.78	79.65	0.00
Temperature (T)	2	14.28	89.04	0.00
isolate x media	4	0.45	2.80	0.03
isolate x temperature	4	3.38	21.06	0.00
M*T	4	0.09	0.62	0.65
I*T *M	8	0.25	1.59	0.14
Error	78	0.16		
Total	107			
Coefficient of variance	7.67 %			

ตารางที่ 6 การเจริญของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* จำนวน 3 ไอโซเลท ที่ระดับอุณหภูมิแตกต่างกันบนอาหาร Mungbean agar หลังการทดสอบ 15 วัน

เชื้อ	อุณหภูมิ	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (ซ.ม.) ¹
BCC1858	25 องศาเซลเซียส	4.69
	30 องศาเซลเซียส	4.56
	35 องศาเซลเซียส	5.97
BCC4849	25 องศาเซลเซียส	5.25
	30 องศาเซลเซียส	6.19
	35 องศาเซลเซียส	7.16
Khonkean	25 องศาเซลเซียส	6.33
	30 องศาเซลเซียส	5.16
	35 องศาเซลเซียส	6.35

LSD_{0.05} = 0.56

LSD_{0.01} = 0.75

¹ ค่าเฉลี่ยคิดจาก 4 ซ้ำ

เชื้อ 1858

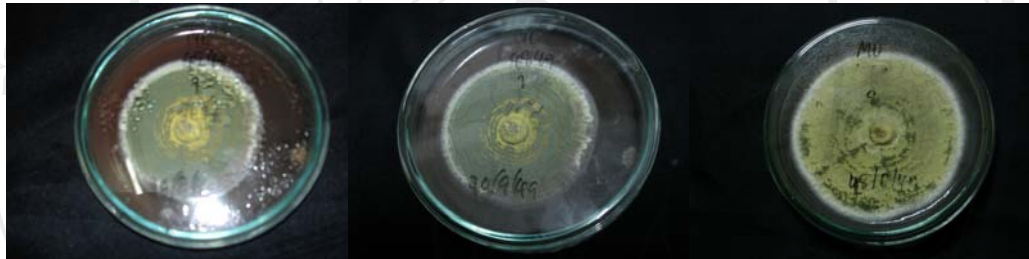


25 องศาเซลเซียส

30 องศาเซลเซียส

35 องศาเซลเซียส

เชื้อ BCC 4849



25 องศาเซลเซียส

30 องศาเซลเซียส

35 องศาเซลเซียส

เชื้อ Khon Kaen



25 องศาเซลเซียส

30 องศาเซลเซียส

35 องศาเซลเซียส

ภาพที่ 14 การเจริญของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* จำนวน 3 ไอโซเลต คือ เชื้อ BCC4849, BCC1858 และเชื้อ Khon Kaen (ที่ระดับอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 30 องศาเซลเซียส และ 35 องศาเซลเซียส) บนอาหาร Mungbean agar หลังการทดสอบ 15 วัน

4.4 ผลของแสงต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราเขียว

ผลการทดสอบสภาพแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* จำนวน 3 ไอโซเลท ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าเกิดปฏิกิริยาร่วมระหว่างไอโซเลทของเชื้อราเขียวกับสภาพแสงที่ได้รับ ($P = 0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 7 โดยที่เชื้อราเขียว ไอโซเลท BCC1858 และ BCC4849 เจริญเติบโตได้ดีที่แสง 12 ชั่วโมงสลับกับที่มืด 12 ชั่วโมง ส่วนเชื้อราเขียว ไอโซเลท Khon Kaen เจริญเติบโตได้ดีในที่มืด 24 ชั่วโมง โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 7.03 เซนติเมตร 7.57 เซนติเมตร และ 7.89 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99% การสร้างสปอร์ของเชื้อราเขียวไอโซเลท BCC1858 และ Khon Kaen สร้างสปอร์มากใน ที่มีแสง 12 ชั่วโมงสลับกับที่มืด 12 ชั่วโมง ส่วนเชื้อ BCC4849 สร้างสปอร์มากในที่มืด 24 ชั่วโมง (ภาพที่ 15 และ ตารางที่ 8)

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์ความผันแปรทางสถิติสำหรับ factorial treatment effects และ interactions การเจริญของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* 3 ไอโซเลท ที่สภาพแสงแตกต่างกัน หลังการทดสอบ 15 วัน

Source	df	MS	F	P
Rep	3	0.25		
Isolate (I)	2	31.70	8.78	0.00
Light (L)	2	14.11	12.86	0.00
Media (M)	2	23.74	58.71	0.00
I*L	4	0.39	0.17	0.15
isolate x media	4	1.74	0.42	0.00
light x media	4	0.99	0.84	0.00
isolate x light x media	8	0.45	0.78	0.06
Error	78	0.23		
Total	107			
Coefficient of variance	8.10 %			

ตารางที่ 8 การเจริญของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* จำนวน 3 ไอโซเลท ที่สภาพแสงแตกต่างกัน 3 แบบ บนอาหาร Mungbean agar หลังการทดสอบ 15 วัน

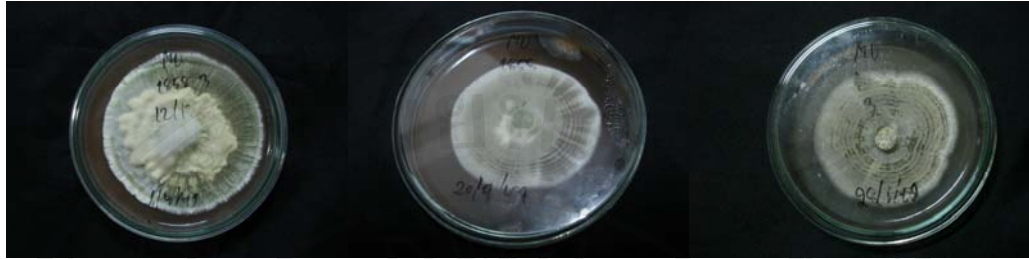
ชื่อ	แสง	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (ซ.ม.) ¹
BCC1858	แสง12ชั่วโมง/มืด12ชั่วโมง	7.03
	แสง 24 ชั่วโมง	5.07
	มืด 24 ชั่วโมง	6.07
BCC4849	แสง12ชั่วโมง/มืด12ชั่วโมง	7.57
	แสง 24 ชั่วโมง	6.09
	มืด 24 ชั่วโมง	7.03
Khonkean	แสง12ชั่วโมง/มืด12ชั่วโมง	7.69
	แสง 24 ชั่วโมง	5.75
	มืด 24 ชั่วโมง	7.89

LSD_{0.05} = 0.67

LSD_{0.01} = 0.89

¹ ค่าเฉลี่ยคิดจาก 4 ซ้ำ

เชื้อ BCC1858



แสง 12 ชั่วโมง/มืด 12 ชั่วโมง แสง 24 ชั่วโมง มืด 24 ชั่วโมง

เชื้อ BCC 4849



แสง 12 ชั่วโมง/มืด 12 ชั่วโมง แสง 24 ชั่วโมง มืด 24 ชั่วโมง

เชื้อ Khon Kaen



แสง 12 ชั่วโมง/มืด 12 ชั่วโมง แสง 24 ชั่วโมง มืด 24 ชั่วโมง

ภาพที่ 15 การเจริญของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* จำนวน 3 ไอโซเลท คือ เชื้อ BCC4849, BCC1858 และเชื้อ Khon Kaen (แสง 12 ชั่วโมง/มืด 12 ชั่วโมง แสง 24 ชั่วโมง และ มืด 24 ชั่วโมง) บนอาหาร Mungbean agar หลังการทดสอบ 15 วัน

4.5 ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเขียวในการทำให้เกิดโรคกับหนอนกระทู้ผัก

ผลจากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* จำนวน 3 ไอโซเลท ซึ่งผลการวิเคราะห์ทางสถิติในตารางที่ 9 พบว่า ไอโซเลท เชื้อราเขียว กับหนอนกระทู้ผัก วัยที่ 1, 2 และ 3 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99 % หลังพ่นเชื้อ 7 วัน ปรากฏว่า เชื้อราเขียว ไอโซเลท BCC1858 มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงสุดที่หนอนกระทู้ผักวัยที่ 1 คือ 78.95 % ส่วนเชื้อราเขียว ไอโซเลท BCC4849 และ Khon Kaen มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงสุดที่หนอนกระทู้ผักวัยที่ 3 คือ 79.49 % และ 59.46 % ตามลำดับ (ภาพที่ 16)

ตารางที่ 9 ผลการวิเคราะห์ความผันแปรทางสถิติสำหรับ factorial treatment effects และ interactions เชื้อราเขียว *M. anisopliae* 3 ไอโซเลท ระดับความเข้มข้น 4 ระดับ และ เพอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผัก วัยที่ 1, 2 และ 3 หลังทดสอบ 7 วัน

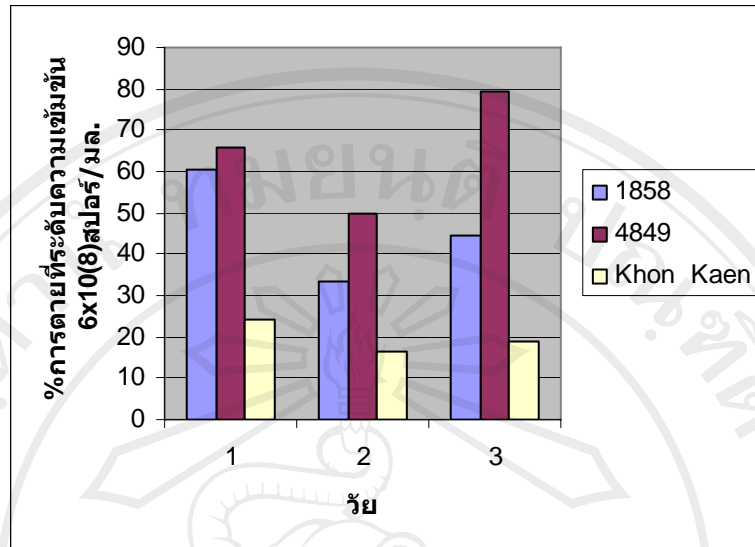
Source	df	MS	F	P
Rep	3	2.53		
Concentration (C)	4	152.92	37.67	0.00
Isolate (I)	2	54.32	13.38	0.00
Lavae (L)	2	6.72	1.65	0.20
concentration x isolate	8	14.89	3.67	0.00
concentration x larve	8	12.46	3.07	0.00
I*L	4	2.63	0.65	0.63
C*I*L	16	2.70	0.66	0.82
Error	132	4.06		
Total	179			
Coefficient of variance		50.80 %		

ตารางที่ 10 แสดงเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผักวัย 1, 2 และ 3 หลังฉีดพ่นเชื้อราเขียว *M. anisopliae* ไอโซเลต BCC 4849 ที่ 3, 5 และ 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 4 ระดับ

ระดับความเข้มข้น (สปอร์/มล.)	วัย	อัตราการตาย 3 วัน %การตายที่จริง	อัตราการตาย 5 วัน %การตายที่จริง	อัตราการตาย 7 วัน %การตายที่จริง
6×10^7	1	0.00	13.16	15.79
	2	0.00	5.26	13.16
	3	0.00	20.51	53.85
6×10^8	1	2.63	60.53	65.79
	2	10.53	39.47	50.00
	3	2.56	51.28	79.49
6×10^9	1	5.26	42.11	47.37
	2	0.00	55.26	57.89
	3	0.00	33.33	48.72
6×10^{10}	1	15.79	71.05	76.32
	2	2.63	42.11	44.74
	3	2.56	56.41	61.54
control	1	5.00	5.00	5.00
	2	5.00	5.00	5.00
	3	2.50	2.50	2.50

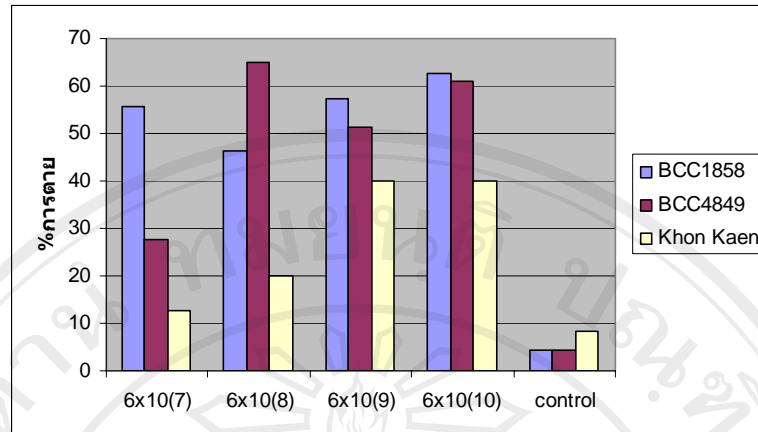
$$\text{LSD}_{0.05} = 2.82$$

$$\text{LSD}_{0.01} = 3.72$$



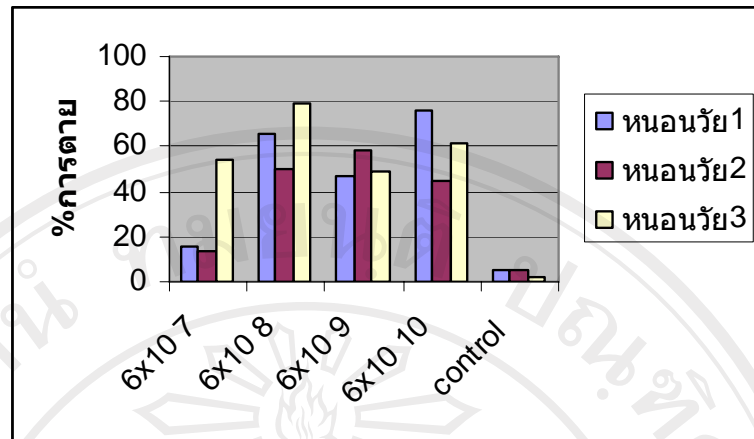
ภาพที่ 16 เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผัก วัยที่ 1, 2 และ 3

ผลจากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* จำนวน 3 ไอโซเลท พบว่า เกิดปฏิกิริยาร่วมระหว่างไอโซเลทของเชื้อราเขียว กับ ระดับความเข้มข้น 4 ระดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99 % หลังพ่นเชื้อ 7 วัน พบว่าระดับความเข้มข้นสูงสุด ทำให้เชื้อราเขียว ไอโซเลท BCC1858 และ Khon Kaen มีเปอร์เซ็นต์การตาย คือ 62.58 % และ 40.02 % ตามลำดับ ส่วนเชื้อราเขียว ไอโซเลท BCC4849 ที่ระดับความเข้มข้น 6×10^8 สปอร์/มล. มีเปอร์เซ็นต์การตาย เป็น 65.09 % (ภาพที่ 17)



ภาพที่ 17 เปอร์เซนต์การตายของหนอนกระทู้ผัก (ปฏิกริยาร่วมระหว่างไอโซเลทของเชื้อราเขียว กับระดับความเข้มข้น 4 ระดับ)

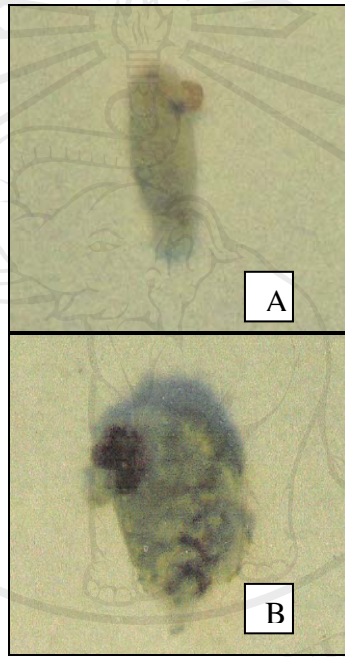
ผลจากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* จำนวน 3 ไอโซเลท พบว่าเกิดปฏิกริยาร่วมระหว่าง ระดับความเข้มข้น 4 ระดับ กับ หนอนกระทู้ผักวัยที่ 1, 2 และ 3 ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99 % ปรากฏว่า เชื้อราเขียวไอโซเลท BCC 4849 ที่ระดับความเข้มข้น 6×10^8 สปอร์/มล. มีประสิทธิภาพในการทำให้เกิดโรคกับหนอนกระทู้ผักมากที่สุด ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซนต์การตายสูงสุดในช่วง 7 วัน หลังการทดสอบ พบว่า หนอนกระทู้ผักวัยที่ 1 มีเปอร์เซนต์การตาย 65.79 % , หนอนกระทู้ผักวัยที่ 2 มีเปอร์เซนต์การตาย 50.00 % และ หนอนกระทู้ผักวัยที่ 3 มีเปอร์เซนต์การตาย 79.49 % (ภาพที่ 18 และ ตารางที่ 10)



ภาพที่ 18 เปรียบเทียบการตายของหนอนกระตุ้แก้วที่ 1, 2 และ 3 ของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* ไอโซเลท BCC 4849 (ที่เกิดปฏิกิริยาร่วมระหว่างระดับ ความเข้มข้น 4 ระดับกับหนอนกระตุ้แก้วที่ 1, 2 และ 3)

ลักษณะอาการของหนอนกระทู้ผักที่ถูกเชื้อราเขียวเข้าทำลาย

เมื่อนิคพ่นเชื้อราเขียวจำนวน 3 ไอโซเลท บนตัวหนอนกระทู้ผักวัย 1, 2 และ 3 หลังจากนิคพ่น 7 วัน พบว่าหนอนที่ตายมีเส้นใยสีขาว (mycelium) บนตัวหนอน หลังจากนั้นประมาณ 14-15 วัน จะเริ่มเปลี่ยนเป็นสปอร์สีเขียว (ภาพที่ 19)



ภาพที่ 19 หลังนิคพ่นเชื้อราเขียว 7 วัน หนอนที่ตายมีเส้นใยสีขาว (mycelium) ปกคลุม (A) และหลังนิคพ่นเชื้อราเขียว 14-15 วัน หนอนที่ตายมีสปอร์สีเขียว (B)