



ผลของอาหารเลี้ยงเชื้อและเมล็ดธัญพืชต่างชนิดต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสปอร์ของเชื้อราขาว *Beauveria bassiana*

Effect of culture media and different cereal grains on growth and spore production of *Beauveria bassiana*

นิภา แตนสีแสง¹ ศิวาลัย สิริมงคลรัตน์^{2,3,4*} วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์^{3,4}

Nipha Taenseesang¹ Sivilai Sirimungkararat^{2,3,4*} Weerasak Saksirirat^{3,4}

¹ นักศึกษาปริญญาโท สาขาภูมิวิทยา ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

¹ Master student, Entomology Section, Department of Plant Science and Agricultural Resources, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University
รองศาสตราจารย์ สาขาภูมิวิทยา ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

² Associate Professor, Entomology Section, Department of Plant Science and Agricultural Resources, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University

³ กลุ่มวิจัยการเพาะเลี้ยงและพัฒนาผลิตภัณฑ์ไหมป่าและแมลงสำคัญทางเศรษฐกิจเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

³ Cultivation and Product Development Research Group of Wild Silkmoths and Economic Insects for Value Added Creation, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

⁴ ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น และสำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (AG- BIO/PERDO-CHE)

⁴ Agricultural Biotechnology Research Center for Sustainable Economy, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002 and Center of Agricultural Biotechnology (AG- BIO/PERDO-CHE)

* corresponding author, e-mail: sivilai@kku.ac.th

บทคัดย่อ

เชื้อราขาว *Beauveria bassiana* จำนวน 11 ไอโซเลต ซึ่งแยกและคัดเลือกรากจากดินทางการเกษตรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และได้รับความอนุเคราะห์จากหน่วยงานภาครัฐ เมื่อนำมาศึกษาการเจริญเติบโตบนอาหาร Sabouraud dextrose agar + yeast extract (SDAY) พบว่าโคโลนีมีลักษณะต่าง ๆ กันขึ้นอยู่กับไอโซเลต เช่น รูปร่าง กลม-ขรุขระ ผิวค่อนข้างเรียบ/ฟู/คลื่น สีขาว-เหลืองอ่อน สปอร์มีรูปร่างกลม สีขาว เมื่อแก่มีลักษณะคล้ายผงแป้งหรือขอล็ก เส้นใยขยุบตัวลงเมื่อเริ่มสร้างสปอร์ ในการทดสอบการเจริญเติบโตด้วยอาหาร SDAY นั้น มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างไอโซเลต ที่อายุเชื้อ 7 วัน ไอโซเลต IPKKU 252 เจริญเติบโตได้ดีที่สุด โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (Ø) เท่ากับ 21.83 มิลลิเมตร แต่ที่อายุเชื้อ 14 และ 21 วัน ไอโซเลต IPKKU 251 เจริญเติบโตได้ดีที่สุด (Ø 51.17 มิลลิเมตร) และ (Ø 62.83 มิลลิเมตร) ตามลำดับ ส่วนการนำมาเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิดนั้น ที่อายุเชื้อ 14 วัน ไอโซเลต IPKKU 253 เจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหาร SDAY (มี Ø โคโลนีเท่ากับ 56.50 มิลลิเมตร) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับ IPKKU 251 (Ø 54.33 มิลลิเมตร) และเมื่อเปรียบเทียบกันทั้ง 7 ไอโซเลต พบว่า IPKKU 253 มีค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตบนอาหารส่วนใหญ่สูงที่สุดเท่ากับ Ø 48.10 มิลลิเมตร โดยไม่แตกต่างทางสถิติกับ IPKKU 251 (Ø 46.87 มิลลิเมตร) อีกทั้งเมื่อเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด พบว่าอาหาร SDAY ให้ค่าเฉลี่ย Ø โคโลนีของเชื้อ *B. bassiana* สูงที่สุดเท่ากับ 43.43 มิลลิเมตร แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับอาหาร PDA (Ø 42.79 มิลลิเมตร) สำหรับการผลิตมวลชีวภาพของเชื้อ *B. bassiana* จำนวน 3 ไอโซเลต (IPKKU 251, IPKKU 252 และ

IPKKU 253) ด้วยเมล็ดธัญพืชต่างชนิดนั้น พบว่า IPKKU 252 ที่เพาะเลี้ยงด้วยข้าวเสาไห้หักสร้างสปอร์ได้สูงสุดเท่ากับ 4.89×10^9 , 5.37×10^9 , 9.98×10^9 และ 1.15×10^{10} สปอร์ต่อกรัม ที่อายุ 7, 14, 21 และ 28 วัน ตามลำดับ ส่วนการเปรียบเทียบการผลิตสปอร์ของเชื้อราขาวทั้ง 3 ไอโซเลต พบว่า IPKKU 252 มีค่าเฉลี่ยสปอร์มากที่สุดที่ทุกอายุของเชื้อรา (7-28 วัน) ซึ่งแตกต่างกับไอโซเลตอื่นทางสถิติ ($P < 0.05$) รองลงมาคือ IPKKU 253 และ IPKKU 251 ตามลำดับ ในการเปรียบเทียบเมล็ดธัญพืชทั้ง 5 ชนิด เพื่อเพาะเลี้ยงเชื้อนั้น พบว่าเชื้อ *B. bassiana* ที่เจริญบนข้าวเสาไห้หักสร้างสปอร์เฉลี่ยได้มากที่สุด (6.37×10^9 สปอร์ต่อกรัม) ซึ่งแตกต่างกับเมล็ดธัญพืชอื่นทางสถิติ ($P < 0.05$) รองลงมาคือ ข้าวเสาไห้ ข้าวโพดหัก ข้าวโพด และข้าวฟ่าง ตามลำดับ ซึ่งเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลตที่อายุต่างกันจะสร้างสปอร์เฉลี่ยได้แตกต่างกัน โดยสร้างสปอร์เฉลี่ยได้มากที่สุดที่อายุ 28 วัน แตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) กับเชื้อที่อายุอื่นๆ (7, 14, 21 วัน) ส่วนการเพาะเลี้ยงเชื้อราขาวด้วยข้าวเสาไห้ที่ผ่านการหุงสุก พบว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยข้าวเสาไห้ที่หุงสุกซึ่งไม่มีการนึ่งฆ่าเชื้ออีกนั้น เกิดเชื้อราอื่นปนเปื้อนหลังบ่ม 2-3 วัน ส่วนข้าวเสาไห้ที่หุงสุกและผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ พบว่า IPKKU 252 ที่เพาะเลี้ยงด้วยข้าวเสาไห้หักมีปริมาณสปอร์มากที่สุดเท่ากับ 3.09×10^9 , 5.81×10^9 , 1.17×10^{10} และ 1.48×10^{10} สปอร์ต่อกรัม หลังบ่มเชื่อนาน 7, 14, 21 และ 28 วัน ตามลำดับ

Abstract

The white muscardine fungus *Beauveria bassiana* was isolated from cultivated soil of the northeast of Thailand and derived from governmental section in total of 11 isolates. Growth of all isolates was evaluated using Sabouraud dextrose agar + yeast extract (SDAY) medium for 7, 14 and 21 days. The colonies were different among isolates such as circular-verucose shape, nearly flat / proliferate/wavy, colony color from white-light yellow, produced white spores with global shape. Old colony was similar to starch or chalk powder, mycelia became flat when sporulated. The isolate IPKKU 252 grew the best with statistical difference ($P < 0.05$) on SDAY medium evaluated in 7 days after inoculation ($\varnothing$ 21.83 mm), for 14 and 21 days after inoculation IPKKU 251 grew well with $\varnothing$ 51.17 mm and $\varnothing$ 62.83 mm, respectively. Growth of *B. bassiana* on 5 media were tested in 14 days after inoculation. Result showed that IPKKU 253 showed the best hyphal growth ($\varnothing$ 56.50 mm on SDAY), but not significantly different with IPKKU 251 ($\varnothing$ 54.33 mm on SDAY). In comparison among 7 isolates, the IPKKU 253 showed the best average hyphal growth on most media ($\varnothing$ 48.10 mm), but not significantly different to IPKKU 251 ($\varnothing$ 46.87 mm). Among 5 media, the SDAY was suitable medium for *B. bassiana* cultivation ($\varnothing$ 43.43 mm), but not significantly different ($P > 0.05$) with PDA ($\varnothing$ 42.79 mm). Mass production of the white muscardine fungus (3 isolates, IPKKU 251, IPKKU 252 and IPKKU 253) were tested using different cereal grains cultured for 7, 14, 21 and 28 days. The IPKKU 252 grew well on broken grain "Sao Hai" and produced the most spore numbers of 4.89×10^9 , 5.37×10^9 , 9.98×10^9 and 1.15×10^{10} spores/g, respectively. In comparison among 3 isolates, the IPKKU 252 showed the highest average spores amount in all period tested (7-28 days) with significant difference than other isolates. The followed isolates were IPKKU 253 and IPKKU 251, respectively. Among 5 types of cereal grains, the broken grain "Sao Hai" was the most suitable medium for spore production. It expressed statistical significantly different ($P < 0.05$) with maximum spore numbers per gram 6.37×10^{10} spores/g) than other grains. Sao Hai rice grain, broken corn and sorghum grain were ranked in descending order. All isolates of *B. bassiana* produced average spores in different numbers depending on age. The average of maximum spores was detected significantly ($P < 0.05$) in 28 days than other ages (7, 14, 21 days) after inoculation. Comparison of cooked Sao

Hai rice with autoclaved and non autoclaved, it was found that the non autoclaved-cooked rice treatments were contaminated by fungi 2-3 days after inoculation. Whereas, IPKKU 252 cultured on broken grain “Sao Hai” and autoclaved, exhibited maximum spore numbers of 3.09×10^9 , 5.81×10^9 , 1.17×10^{10} and 1.48×10^{10} spores/g, after 7, 14, 21 and 28 days of incubation, respectively.

คำสำคัญ: เชื้อราขาว, มวลชีวภาพ, เมล็ดธัญพืช, อาหารเลี้ยงเชื้อ

Keywords: white muscardine fungus, mass production, cereal grain, culture media

1. บทนำ

เชื้อราขาว *Beauveria bassiana* เป็นเชื้อก่อโรคแมลงที่สำคัญชนิดหนึ่ง และมีรายงานการนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีอย่างแพร่หลายทั่วโลก โดยที่เชื้อราชนิดนี้สามารถเข้าทำลายแมลงได้หลากหลายชนิด อีกทั้งเป็นเชื้อที่เพาะเลี้ยงได้ง่าย จึงได้รับความนิยมนำไปใช้ในรูปแบบของสารชีววินทรีย์ฆ่าแมลง (mycoinsecticide) สำหรับในต่างประเทศนั้นได้มีการใช้เชื้อราขาวควบคุมแมลงศัตรูพืชที่สำคัญชนิดต่างๆ เช่น เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยกระโดดหลังขาว และเพลี้ยจักจั่นสีเขียว โดยใช้ความเข้มข้น 10^6 - 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งสามารถควบคุมแมลงได้ประมาณ 30-90 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของแมลงและสภาพแวดล้อม (1, 2) และมีการผลิตเป็นรูปการค้าต่างๆ เช่น Conidia®, Green Muscle® และ Mycotrol GH® สำหรับวิธีการผลิตให้ได้สปอร์จำนวนมากและมีประสิทธิภาพสูง เพื่อใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชนั้นมีการศึกษาในต่างประเทศ เช่น การเปรียบเทียบการผลิตสปอร์ของเชื้อราขาว *B. bassiana* ด้วยการใช้เมล็ดธัญพืชและส่วนหัวของพืช พบว่า การใช้หัวแครอทเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อราขาว ให้ผลผลิตสปอร์ที่สูงที่สุด 2.08×10^{10} สปอร์ต่อ 100 มิลลิลิตร รองลงมาเป็นหัวมันสำปะหลังให้ค่าสปอร์ 1.45×10^{10} สปอร์ต่อ 100 มิลลิลิตร (3) ส่วนในประเทศไทยยังขาดการศึกษารวบรวมข้อมูล โดยเฉพาะการผลิตสปอร์ในเชิงปริมาณอย่างเป็นรูปธรรมกับไอโซเลตท้องถิ่น เพื่อเป็นแหล่งข้อมูลในการนำไปใช้อย่างถูกต้อง มีประสิทธิภาพ และต้นทุนในการผลิตต่ำ แม้จะมีการศึกษาอยู่บ้างแล้ว (4, 5, 6) แต่ก็ยังไม่มีรายงานการศึกษาถึงเชื้อราขาวไอโซเลตภาคตะวันออกเฉียงเหนือแต่อย่างใด การวิจัยนี้จึง

มุ่งศึกษาเพื่อการคัดเลือกหาเชื้อราขาว โดยเฉพาะไอโซเลตภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่มีประสิทธิภาพ และเพื่อการผลิตสปอร์เชิงปริมาณอย่างมีศักยภาพ สำหรับเป็นข้อมูลประกอบการคัดเลือก ปรับปรุง และพัฒนาไอโซเลตของเชื้อราขาวในการนำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

2. วิธีการวิจัย

2.1 การรวบรวมและคัดเลือกเชื้อราขาว

สำรวจและรวบรวมตัวอย่างดินทางการเกษตรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และนำมาแยกหาเชื้อราขาว *B. bassiana* โดยใช้วิธีเหยื่อล่อ (baiting technique) ดัดแปลงตามวิธีของ Bidochka และคณะ ในปี ค.ศ. 1998 และ Davet และ Rouxel ในปี ค.ศ. 2000 (7, 8) และรวบรวมจากหน่วยงานราชการที่มีการเผยแพร่ให้เกษตรกรนำไปใช้ ซึ่งเชื้อราขาวไอโซเลตต่างๆ ที่ได้นำมาเพาะเลี้ยงและเพิ่มปริมาณในอาหาร Sabouraud dextrose agar (SDA) สำหรับใช้ในการทดลอง และเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อเป็นสต็อก ส่วนการนำมาคัดเลือกไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในเบื้องต้นโดยการทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Nilaparvata lugens* คละเวีย้นัน ดำเนินการโดยวิธีกลิ้งบนโคโลนีของเชื้อราขาวที่อุณหภูมิ 28 ± 0.2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 77-84 เปอร์เซ็นต์ ประยุกต์ตามวิธีของ Samuels ในปี ค.ศ. 1986 (9)

2.2 การศึกษาลักษณะและการเจริญเติบโตของเชื้อราขาว

วางแผนการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) มี 7 กรรมวิธี

(ไอโซเลต, isolate) 3 ซ้ำ นำเชื้อราขาวไอโซเลตต่างๆ ที่ผ่านการคัดเลือกและรวบรวมในข้อ 2.1 มาเพาะเลี้ยง ด้วยอาหาร SDA บ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 0.5 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 77-84 เปอร์เซ็นต์ นาน 7 วัน สำหรับการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อราขาวนั้น โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY ด้วยการใช้ cork borer (เส้นผ่าศูนย์กลาง ($\varnothing$) 0.7 เซนติเมตร) ตัดบริเวณที่เชื้อเจริญเติบโตในระดับเส้นรอบวงเดียวกัน นำมาวางลงตรงกลางจานที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY ($\varnothing$ 90 มิลลิเมตร) ไอโซเลตละ 3 ซ้ำ และบ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 0.5 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-77 เปอร์เซ็นต์ ให้สังเกตผลการทดลอง วัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีที่ 7, 14 และ 21 วัน หลังจากการบ่มเชื้อ บันทึกรูปร่างลักษณะ สี การเจริญเติบโตของโคโลนี รูปร่าง ลักษณะ สีของสปอร์และบันทึกภาพ วิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีด้วย Least significant difference (LSD)

2.3 การเปรียบเทียบการผลิตมวลชีวภาพของเชื้อราขาว

2.3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ

วางแผนการทดลองแบบ factorial in CRD มี 2 ปัจจัย ปัจจัยที่ 1 คือเชื้อราขาวจำนวน 7 ไอโซเลต และปัจจัยที่ 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิด มี 35 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ นำเชื้อราขาวไอโซเลตต่างๆ ซึ่งผ่านการคัดเลือกในเบื้องต้นด้วยการนำเชื้อราไปเลี้ยงบนโคโลนีของเชื้อราขาวเพื่อดูการเข้าทำลาย โดยคัดเฉพาะไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพ 60 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป นำมาศึกษาเพื่อเปรียบเทียบการผลิตในเชิงปริมาณ ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิด คือ PDA (potato dextrose agar), SDA, SDAY (Sabouraud dextrose agar + yeast extract), YM (yeast malt extract) และ FA (fungus agar) บ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 0.5 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-77 เปอร์เซ็นต์ ให้สังเกตผลการทดลอง เปรียบเทียบความแตกต่างของการผลิตมวลชีวภาพโดยการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีที่อายุ 14 วัน สำหรับการเตรียมและการปฏิบัตินั้นดำเนินการเช่นเดียวกับข้อ 2.2

2.3.2 เมล็ดธัญพืช

ก) วิธีต้มสุก ใช้แผนการทดลอง

แบบ factorial in CRD มี 2 ปัจจัย ปัจจัยที่ 1 คือเชื้อราขาวจำนวน 3 ไอโซเลต ไอโซเลตที่ผ่านการคัดเลือกจากการทดสอบประสิทธิภาพกับเชื้อราโคดสีน้ำตาล (อยู่ระหว่างการเผยแพร่ผลงาน) และปัจจัยที่ 2 คือชนิดของเมล็ดธัญพืช 5 ชนิด มี 15 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ นำเชื้อราขาวจำนวน 3 ไอโซเลต มาเพาะเลี้ยงในเมล็ดธัญพืช 5 ชนิด คือ ข้าวเสาไห้(เมล็ดเต็ม) ข้าวเสาไห้หัก ข้าวโพด(เมล็ดเต็ม) ข้าวโพดหัก และข้าวฟ่าง(เมล็ดเต็ม) โดยชั่งเมล็ดธัญพืชแต่ละชนิดหนัก 100 กรัม นำไปต้มพอสุกบรรจุใส่ถุงพลาสติกร้อน ขนาด 6×9 นิ้ว ปิดจุกด้วยคอกขวดพลาสติกและสำลี นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วใช้ cork borer ($\varnothing$ 0.6 เซนติเมตร)เจาะบริเวณปลายเส้นใยโคโลนีของเชื้อราขาวที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 14 วัน จำนวน 5 ชิ้นต่อถุง จากนั้นเขย่าให้เชื้อกระจายโดยทั่ว บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 76-84 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพที่มีการให้แสงตลอด ตรวจนับสปอร์ของเชื้อราทุก 7 วัน จนครบ 28 วัน คัดแปลงตามวิธีของ Suasa-ard และคณะ ในปี ค.ศ. 2011 (5)

ข) วิธีหุงสุก ใช้แผนการทดลอง

แบบ factorial in CRD มี 2 ปัจจัย ปัจจัยที่ 1 คือเชื้อราขาวจำนวน 3 ไอโซเลต และปัจจัยที่ 2 คือวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อและการไม่นึ่งฆ่าเชื้อเมล็ดธัญพืชหุงสุก มี 12 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อราขาวจำนวน 3 ไอโซเลต ไอโซเลตที่ผ่านการคัดเลือก เช่นเดียวกับข้อ 2.3.2 ก) วิธีต้มสุก โดยคัดแปลงตามวิธีการของ Chamswarn และ Intanoo ในปี ค.ศ. 2002 (10) ด้วยการนำมาหุงสุกด้วยหม้อหุงข้าวไฟฟ้า แล้วชั่งเมล็ดธัญพืชที่ผ่านการคัดเลือก 100 กรัม นำมาบรรจุใส่ถุงพลาสติกร้อน ขนาด 6×9 นิ้ว ปิดจุกด้วยคอกขวดพลาสติกและสำลี แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อส่วนหนึ่ง อีกส่วนหนึ่งไม่นึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นนำมาปลูกด้วยเชื้อราขาว เพาะเลี้ยงและตรวจนับสปอร์โดยปฏิบัติเช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงในเมล็ดธัญพืช 5 ชนิด ดังกล่าวข้างต้น

2.3.3 การวิเคราะห์สถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ค่า LSD

3. ผลการวิจัย

3.1 การรวบรวมและคัดเลือกเชื้อราขาว

ได้เชื้อราขาวที่ผ่านการคัดเลือกจำนวน 5 ไอโซเลตแล้ว โดยการทดสอบประสิทธิภาพกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพห้องปฏิบัติการด้วยการกลึงบนโคโลนีของเชื้อ ซึ่งเป็นเชื้อราขาวที่แยกได้จากตัวอย่างดินทางการเกษตรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ เชื้อไอโซเลตที่แยกได้จาก ป่าไผ่ จังหวัดอุดรธานี (IPKKU 251), มันสำปะหลัง จังหวัดนครราชสีมา (IPKKU 252), ข้าวโพด จังหวัดนครราชสีมา (IPKKU 253), มันสำปะหลัง จังหวัดสกลนคร (IPKKU 254) และดินป่า จังหวัดสกลนคร (IPKKU 255) อีกทั้งได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์บริหารศัตรูพืชจังหวัดพิษณุโลกอีก 2 ไอโซเลต ได้แก่ ไอโซเลต ก 1 และ ก 2 เพื่อใช้เป็นไอโซเลตเปรียบเทียบ รวมทั้งหมดที่นำมาทดสอบต่อไป 7 ไอโซเลต

3.2 ลักษณะและการเจริญเติบโตของเชื้อราขาว

ลักษณะโคโลนีของเชื้อราขาวต่างไอโซเลตจำนวน 7 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหาร SDAY นั้นพบว่ามีลักษณะต่างๆ กล่าวคือ โคโลนีมีลักษณะ กลม-

ขรุขระ เรียบ-ขรุขระ ผิวค่อนข้างเรียบ/ฟู/คลื่น สีขาว เหลืองอ่อน และเส้นใย มีสีแตกต่างกันได้แก่ สีขาว-ขาวปนเหลือง เจริญได้ดี สร้างสปอร์มีรูปร่างกลมขาว สปอร์มีสีขาว ลักษณะคล้ายผงแป้งหรือขอล็ก เส้นใยขยุบตัวลงเมื่อเริ่มสร้างสปอร์ ลักษณะโคโลนีมีความแตกต่างกันบ้างระหว่างไอโซเลต ในการวัดการเจริญเติบโตของเชื้อราขาว *B. bassiana* จำนวน 7 ไอโซเลตที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหาร SDAY พบว่าที่ 7 วัน เชื้อไอโซเลต IPKKU 252, IPKKU 251, IPKKU 254, IPKKU 255 และ IPKKU 253 มี 0 โคโลนีเท่ากับ 21.83, 21.17, 20.83, 19.50 และ 18.83 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ขณะที่อายุ 14 วัน ไอโซเลต IPKKU 251, IPKKU 252 และ IPKKU 253 มีการเจริญเติบโตดีที่สุด ซึ่งมี 0 โคโลนีไม่แตกต่างกันทางสถิติ และมีค่าเท่ากับ 51.17, 46.00 และ 45.50 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเชื้อราเจริญได้ 21 วัน ไอโซเลต IPKKU 251 มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด (0 62.83 มิลลิเมตร) ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) กับไอโซเลตอื่นๆ ส่วนไอโซเลตอื่นที่มี 0 โคโลนีรองลงมา 2 อันดับได้แก่ IPKKU 252 (54.00 มิลลิเมตร) และ IPKKU 253 (51.83 มิลลิเมตร) ตามลำดับ เมื่อประเมินโดยภาพรวมไอโซเลต IPKKU 251, IPKKU 252 และ IPKKU 253 มีการเจริญด้วยอาหาร SDAY ได้ดีที่สุด ส่วนไอโซเลตที่มีการเจริญเติบโตช้าที่สุดโดยรวมเมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มเชื้อราที่แยกได้จากดินในครั้งนี้ได้แก่ ไอโซเลต IKKU 255 ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1. การเจริญเติบโตของเชื้อราขาว *Beauveria bassiana* ไอโซเลตต่างๆ บนอาหาร SDAY (Sabouraud dextrose agar + yeast extract)

ไอโซเลต	ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (มม.)		
	7 วัน	14 วัน	21 วัน
IPKKU 251	21.17 a	51.17 a	62.83 a
IPKKU 252	21.83 a	46.00 a	54.00 b
IPKKU 253	18.83 abc	45.50 a	51.83 bc
IPKKU 254	20.83 ab	28.33 b	44.83 cd
IPKKU 255	19.50 abc	29.67 b	43.83 d
ก 1	17.67 bc	31.50 b	48.00 bcd
ก 2	16.83 c	31.00 b	45.17 cd
C.V. (%)	10.20	9.09	8.65

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$, LSD)

3.3 การเปรียบเทียบการผลิตมวลชีวภาพของเชื้อราขาว

3.3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ จากการนำเชื้อราขาวจำนวน 7 ไอโซเลต มาเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิด พบว่าเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังปรากฏในตารางที่ 2 ซึ่งเชื้อราทุกไอโซเลตสามารถเจริญเติบโตด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด โดยการตรวจสอบกับเชื้อราขาว *B. bassiana* ที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหาร SDAY ที่ 14 วัน เชื้อราขาว IPKKU 253 มีการเจริญเติบโตดีที่สุดโดยมีค่า $\varnothing$ โคโลนีเท่ากับ 56.50 มิลลิเมตร ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับไอโซเลต IPKKU 251 ($\varnothing$ 54.33 มิลลิเมตร รองลงมาคือ ไอโซเลต IPKKU 253 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA ($\varnothing$ 52.00 มิลลิเมตร) โดยไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) กับไอโซเลต IPKKU 252 ที่เพาะเลี้ยง

ด้วยอาหาร PDA ($\varnothing$ 49.33 มิลลิเมตร) และ SDAY ($\varnothing$ 48.67 มิลลิเมตร) ส่วนไอโซเลตที่มีการเจริญเติบโตได้ต่ำที่สุด คือ ไอโซเลต ก 2 ที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหาร SDA ซึ่งมีค่า $\varnothing$ โคโลนีเท่ากับ 27.33 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตทั้ง 7 ไอโซเลต พบว่า IPKKU 253 มีค่าเฉลี่ยของการเจริญเติบโตบนอาหารทุกชนิดดีที่สุดเท่ากับ 48.10 มิลลิเมตร ดังรูปที่ 1 ซึ่งให้ค่าไม่แตกต่างทางสถิติกับ IPKKU 251 ($\varnothing$ 46.87 มิลลิเมตร) และเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด พบว่าด้วยอาหาร SDAY นั้น $\varnothing$ เชื้อราขาวทุกไอโซเลตเจริญเติบโตได้ดีมีค่าเฉลี่ย $\varnothing$ โคโลนีเท่ากับ 43.43 มิลลิเมตร และไม่แตกต่างกันทางสถิติกับอาหาร PDA ($\varnothing$ 42.79 มิลลิเมตร) ส่วนเชื้อราขาวที่เลี้ยงด้วยอาหาร FA, YM และ SDA นั้นมีการเจริญเติบโตช้ากว่า ซึ่งมีค่าเฉลี่ย $\varnothing$ โคโลนีเท่ากับ 39.31, 38.43 และ 38.01 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ตารางที่ 2. การผลิตมวลชีวภาพของเชื้อราขาว *Beauveria bassiana* ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

ไอโซเลต	อาหารเลี้ยงเชื้อ (Ø มม.) ¹					เฉลี่ย (Ø มม.)
	PDA	SDA	SDAY	YM	FA	
IPKKU 251	44.67 ghij	42.67 ijkl	54.33 ab	48.33 def	44.33 ghijk	46.87 ab
IPKKU 252	49.33 cd	47.83 defg	48.67 cde	41.17 jklm	45.17 efghi	46.43 b
IPKKU 253	52.00 bc	40.33 lmn	56.50 a	44.83 fghi	46.83 defgh	48.10 a
IPKKU 254	44.00 hijk	36.67 opq	37.00 nop	36.17 opqr	36.50 opqr	38.07 c
IPKKU 255	41.00 klm	38.00 mno	37.33 nop	36.33opqr	36.83 nopq	37.90 c
ก 1	34.50 opqrs	33.23 qrs	36.00 opqr	33.00 rs	33.33 qrs	34.01 d
ก 2	34.00 pqrs	27.33 u	34.17 pqrs	29.17 tu	32.17 st	31.37 e
เฉลี่ย	42.79 a	38.01 b	43.43 a	38.43 b	39.31 b	

C.V. (%) เท่ากับ 5.57 เปอร์เซ็นต์

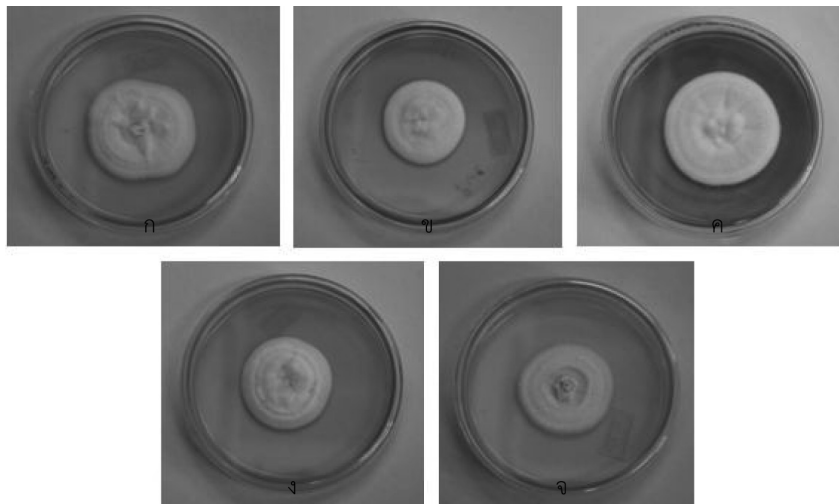
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละอายุเชื้อไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$, LSD)

^{1/} เมื่อเชื้ออายุ 14 วัน

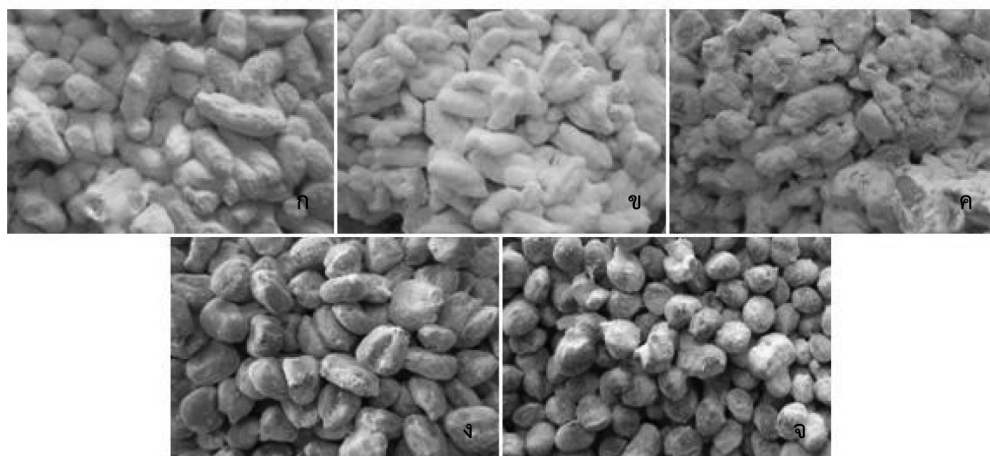
3.3.2 เมล็ดธัญพืช

ก) **วิธีต้มสุก** การผลิตมวลชีวภาพจากเมล็ดธัญพืชด้วยเชื้อราขาวจำนวน 3 ไอโซเลต ที่ผ่านการคัดเลือกแล้วพบว่ามีประสิทธิภาพต่อเพื่อยักระโคตสีน้ำตาล ซึ่งจัดอยู่ในระดับสูง-สูงที่สุด 3 อันดับนั้น พบว่าเชื้อราขาวทั้ง 3 ไอโซเลต สามารถเจริญและเพิ่มปริมาณด้วยเมล็ดธัญพืชทั้ง 5 ชนิด ขณะเดียวกันมีการสร้างสปอร์ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3) โดยมีเส้นใยสีขาวขึ้นปกคลุมเมล็ดธัญพืช แต่ปริมาณเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราซึ่งเป็นไอโซเลตเดียวกันเจริญบนเมล็ดธัญพืชต่างกันนั้นมีลักษณะต่างๆ (รูปที่ 2) โดยที่อายุ 7 วัน พบว่าไอโซเลต IPKKU 252 ที่เพาะเลี้ยงด้วยข้าวเสาไห้หักสร้างสปอร์ได้ดีที่สุดเท่ากับ 4.89×10^9 สปอร์ต่อกรัม ส่วนที่อายุ 14 วัน เชื้อราขาว IPKKU 252 ที่เพาะเลี้ยงด้วยข้าวเสาไห้หักสร้างสปอร์สูงที่สุดเท่ากับ 5.37×10^9 สปอร์ต่อกรัม สำหรับที่อายุ 21 วัน IPKKU 252 ที่เพาะเลี้ยงด้วยข้าวเสาไห้หักสร้างสปอร์สูงที่สุดเท่ากับ 9.98×10^9 สปอร์ต่อกรัม รองลงมา คือ IPKKU 252 ที่เพาะเลี้ยงด้วยเมล็ดข้าวเสาไห้ (6.33×10^9 สปอร์ต่อกรัม) ส่วนที่อายุ 28 วัน ก็เช่นกันไอโซเลต IPKKU 252 ซึ่งเพาะเลี้ยงด้วยข้าวเสาไห้หักยังคงมีปริมาณสปอร์สูงที่สุดเท่ากับ 1.15×10^{10} สปอร์ต่อกรัม รองลงมา คือ ไอโซเลต IPKKU 252 ที่เลี้ยงด้วยเมล็ดข้าวเสาไห้ (7.26×10^9

สปอร์ต่อกรัม) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบระหว่างค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์ต่อกรัมบนเมล็ดธัญพืชชนิดของเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลต ที่อายุ 7, 14, 21 และ 28 วัน พบว่า โดยไอโซเลต IPKKU 252 มีค่าเฉลี่ยสปอร์ต่อกรัมมากที่สุดเท่ากับ 6.10×10^9 สปอร์ต่อกรัม ที่อายุ 28 วัน ซึ่งแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$) กับค่าเฉลี่ยของเชื้อไอโซเลต IPKKU 253 และ IPKKU 251 ซึ่งเรียงจากมากไปน้อยตามลำดับ และค่าเฉลี่ยของสปอร์ต่อกรัมที่อายุเชื้อ 21, 14 และ 7 วัน ก็ให้ผลในการทำงานเดียวกัน โดยที่อายุเชื้อ 21 วัน มีค่ามากกว่า 14 และ 7 วัน ตามลำดับ และมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) ระหว่างไอโซเลตในแต่ละอายุ (ตารางที่ 3 และรูปที่ 3) ส่วนเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์ของเชื้อราทุกไอโซเลตที่เลี้ยงด้วยเมล็ดธัญพืชแต่ละชนิดใน 5 ชนิดนี้ ที่อายุระหว่าง 7-28 วัน พบว่าเชื้อราขาว *B. bassiana* ที่เจริญบนข้าวเสาไห้หักผลิตสปอร์เฉลี่ยได้มากที่สุด (6.37×10^9 สปอร์ต่อกรัม) ที่อายุ 28 วัน ซึ่งแตกต่างกับเมล็ดธัญพืชอื่นทางสถิติ ($P<0.05$) รองลงมาคือ ข้าวเสาไห้ ข้าวโพดหัก ข้าวโพดและข้าวฟ่าง ตามลำดับ โดยข้าวโพดและข้าวฟ่างให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งเชื้อราขาวที่เพาะเลี้ยงเมล็ดด้วยธัญพืชที่ต่างกัน จะสร้างสปอร์เฉลี่ยได้แตกต่างกัน โดยสร้างสปอร์เฉลี่ยได้มากที่สุดที่อายุ 28 วัน ในเชื้อทุกไอโซเลต (ตารางที่ 3 และรูปที่ 4)



รูปที่ 1. การเจริญเติบโตของเชื้อราขาว *Beauveria bassiana* IPKKU 253 บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ ที่อายุ 14 วัน ก อาหาร PDA ข อาหาร SDA ค อาหาร SDAY ง อาหาร YM จ อาหาร FA

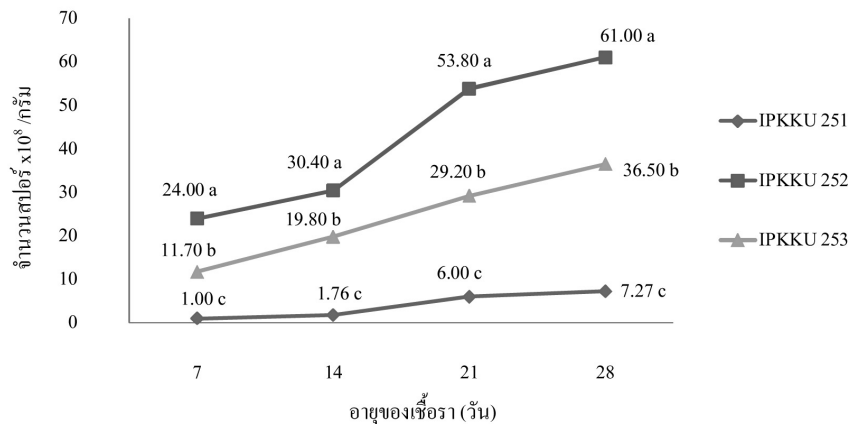


รูปที่ 2. ลักษณะของเชื้อราขาว *Beauveria bassiana* ไอโซเลต IPKKU 252 ที่เจริญบนเมล็ดธัญพืชต่างชนิด ก ข้าวเสาไห้หัก ข เมล็ดข้าวเสาไห้ ค ข้าวโพดหัก ง เมล็ดข้าวโพด จ เมล็ดข้าวฟ่าง

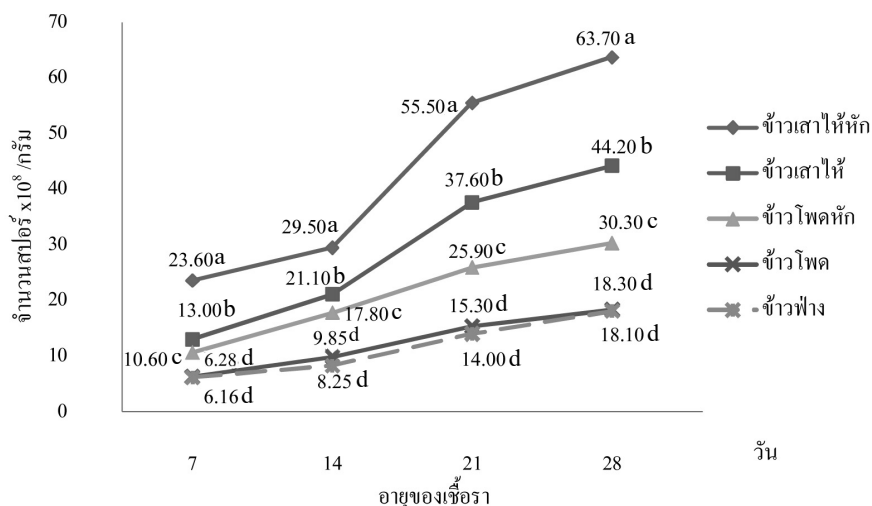
ตารางที่ 3. การผลิตมวลชีวภาพของเชื้อราขาว *Beauveria bassiana* ด้วยเมล็ดธัญพืชชนิดต่างๆ ที่ผ่านการต้มสุก และผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ

อายุเชื้อ/ ไอโซเลต	จำนวนสปอร์/กรัม(×10 ⁸)					เฉลี่ย (×10 ⁸) (สปอร์/กรัม)
	ข้าวเสาไห้หัก	ข้าวเสาไห้	ข้าวโพดหัก	ข้าวโพด	ข้าวฟ่าง	
7 วัน						
IPKKU 251	2.50 gh	2.20 gh	0.23 h	0.04 h	0.05 h	1.00 c
IPKKU 252	48.90 a	22.50 b	18.90 cd	16.30 de	13.60 ef	24.00 a
IPKKU 253	19.50 bc	14.40 ef	13.00 f	4.48 gh	4.88 g	11.30 b
เฉลี่ย	23.60 a	13.00 b	10.60 c	6.28 d	6.16d	
14 วัน						
IPKKU 251	4.87 fg	3.23 gh	0.31 h	0.28 h	0.11 h	1.76 c
IPKKU 252	53.70 a	31.30 b	26.80 c	22.30 d	17.30 e	30.40 a
IPKKU 253	29.90 bc	28.80 bc	26.30 c	7.02 f	6.98 f	19.80 b
เฉลี่ย	29.50 a	21.10 b	17.80 c	9.85d	8.25 d	
21 วัน						
IPKKU 251	13.00 f	9.08 f	7.02 fg	0.51 g	0.45 g	6.00 c
IPKKU 252	99.80 a	63.30 b	39.80 d	34.90 df	31.20 e	53.80 a
IPKKU 253	53.70 c	40.30 d	30.90 e	10.50 f	10.30 f	29.20 b
เฉลี่ย	55.50 a	37.60 b	25.90 c	15.30 d	14.00 d	
28 วัน						
IPKKU 251	15.10 fg	10.20 fg	8.88 gh	1.10 h	1.04 h	7.27 c
IPKKU 252	115.00 a	72.60 b	43.20 de	36.80 e	36.70 e	61.00 a
IPKKU 253	60.40 c	49.70 d	38.90 e	17.70 f	16.70 fg	36.50 b
เฉลี่ย	63.70 a	44.20 b	30.30 c	18.30 d	18.10 d	

C.V. (%) เท่ากับ 15.49, 12.82, 15.32 และ 13.86 เปอร์เซ็นต์ ที่อายุเชื้อ 7, 14, 21 และ 28 วัน ตามลำดับ
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละอายุเชื้อไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$, LSD)



รูปที่ 3. ค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ต่อกรัมวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อราขาว *Beauveria bassiana* ต่างไอโซเลตที่เพาะเลี้ยงด้วยเมล็ดธัญพืชรวม 5 ชนิด ที่อายุ 7, 14, 21 และ 28 วัน ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในอายุของเชื้อเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$, LSD)



รูปที่ 4. ค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ต่อกรัมวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อราขาว *Beauveria bassiana* จากทั้ง 3 ไอโซเลตที่อายุต่าง ๆ กัน ที่เพาะเลี้ยงด้วยเมล็ดธัญพืช 5 ชนิด ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในอายุของเชื้อเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$, LSD)

ข) วิธีหุงสุก สำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อราขาวด้วยเมล็ดธัญพืชที่เหมาะสม ซึ่งผ่านการคัดเลือกว่าง่่าข้างต้น (ข้อ 3.3.2 เมล็ดธัญพืช, ก) วิธีต้มสุก) และผลจากการผลิตด้วยข้าวเสาไห้ที่หักและไม่หักซึ่งผ่านการหุงให้สุก พบว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยข้าวเสาไห้ที่หักและไม่หักที่หุงสุกแต่ไม่มีการนึ่งฆ่าเชื้อนั้นเกิดการ

ปนเปื้อนของเชื้อราชนิดอื่นๆ หลังบ่ม 2-3 วัน ส่วนข้าวเสาไห้ที่หุงสุกและผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (ตารางที่ 4) นั้น ไอโซเลต IPKKU 252 ในข้าวเสาไห้หักผลิตสปอร์ได้มากที่สุดเท่ากับ 3.09×10^9 , 5.81×10^9 , 1.17×10^{10} และ 1.48×10^{10} สปอร์ต่อกรัม หลังบ่มเขื่อนาน 7, 14, 21 และ 28 วัน ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$) กับเชื้อไอโซเลตอื่นๆ

และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์ต่อกรัมกับข้าวเสาไห้ 2 ชนิดด้วยเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลต ที่อายุ 7, 14, 21 และ 28 วัน พบว่า โดยไอโซเลต IPKKU 252 มีค่าเฉลี่ยสปอร์มากที่สุดเท่ากับ 1.13×10^{10} สปอร์ต่อกรัม ที่อายุ 28 วัน ซึ่งแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) กับเชื้อไอโซเลต IPKKU 253 และ IPKKU 251 ตามลำดับ และค่าเฉลี่ยสปอร์ต่อกรัมที่อายุเชื้อที่ 21, 14 และ 7 วัน ก็ให้ผลในทำนองเดียวกัน โดยที่อายุของเชื้อ 28 วัน ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์มากกว่าที่อายุ 21, 14 และ 7 วัน ตามลำดับ ในทุกไอโซเลตดังรูปที่ 5 ส่วนเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์ของเชื้อราทุกไอโซเลตที่เลี้ยงด้วยข้าว

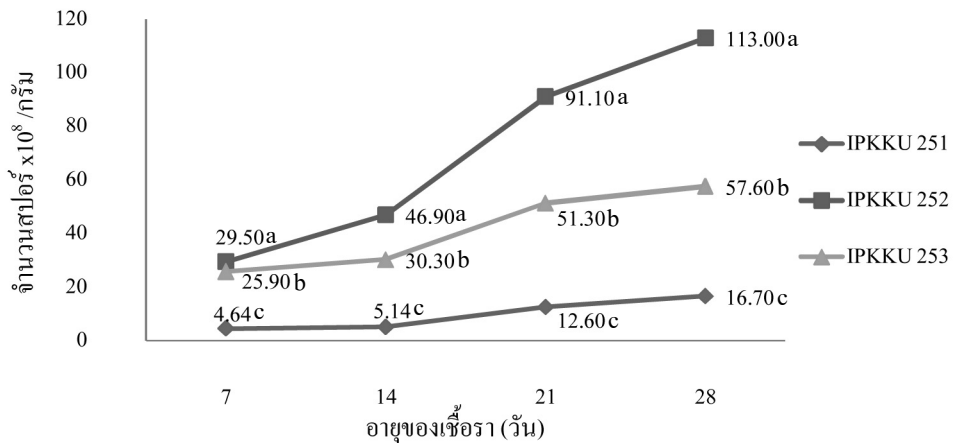
เสาไห้ 2 รูปแบบ ที่อายุระหว่าง 7-28 วัน พบว่าเชื้อราขาวที่เพาะเลี้ยงด้วยข้าวเสาไห้หักผลิตสปอร์เฉลี่ยได้มากที่สุด (8.00×10^9 สปอร์ต่อกรัม) ที่อายุ 28 วัน ซึ่งแตกต่างกับข้าวเสาไห้ทางสถิติ ($P < 0.05$) อย่างชัดเจนกับเชื้อราที่เพาะเลี้ยงด้วยข้าวเสาไห้ ซึ่งเชื้อราที่เพาะเลี้ยงด้วยเมล็ดธัญพืชที่ต่างกันจะสร้างสปอร์เฉลี่ยได้แตกต่างกัน โดยมีการสร้างสปอร์เพิ่มขึ้นตามอายุของเชื้อที่เพิ่มขึ้น ซึ่งสร้างสปอร์เฉลี่ยได้มากที่สุดที่อายุ 28 วัน รองลงมาตามลำดับคือ ที่อายุ 21, 14, และ 7 วัน ในทุกไอโซเลต โดยทุกช่วงอายุไอโซเลต IPKKU 252 มีค่ามากกว่า IPKKU 253 และ IPKKU 251 ตามลำดับ (รูปที่ 6)

ตารางที่ 4. จำนวนสปอร์ต่อกรัมวัสดุเพาะเลี้ยงของเชื้อราขาว *Beauveria bassiana* ด้วยข้าวเสาไห้ที่หุงสุกและที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อายุเชื้อ 7, 14, 21 และ 28 วัน

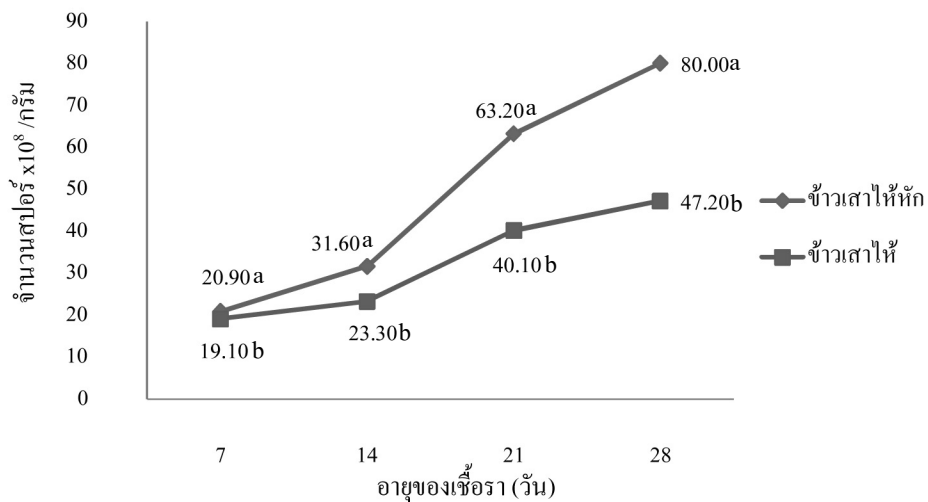
ไอโซเลต/ อายุเชื้อ	จำนวนสปอร์/กรัม(×10 ⁸)		เฉลี่ย (x 10 ⁸) (สปอร์/กรัม)
	ข้าวเสาไห้หัก	ข้าวเสาไห้ไม่หัก	
7 วัน			
IPKKU 251	4.69 d	4.59 d	4.64 c
IPKKU 252	30.90 a	28.10 b	29.50 a
IPKKU 253	27.20 b	24.60 c	25.90 b
เฉลี่ย	20.90 a	19.10 b	
14 วัน			
IPKKU 251	5.56 d	4.72 d	5.14 c
IPKKU 252	58.10 a	35.70 b	46.90 a
IPKKU 253	31.10 c	29.40 c	30.30 b
เฉลี่ย	31.60 a	23.30 b	
21 วัน			
IPKKU 251	15.80 d	9.42 d	12.60 c
IPKKU 252	117.00 a	65.00 b	91.10 a
IPKKU 253	56.80 bc	45.80 c	51.30 b
เฉลี่ย	63.20 a	40.10 b	
28 วัน			
IPKKU 251	21.20 d	12.30 d	16.70 c
IPKKU 252	148.00 a	78.30 b	113.00 a
IPKKU 253	64.10 bc	51.10 c	57.60 b
เฉลี่ย	80.00 a	47.20 b	

C.V. (%) เท่ากับ 5.07, 8.77, 16.35 และ 19.91 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละอายุเชื้อไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$, LSD)



รูปที่ 5. ค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ต่อกรัมวัสดุเพาะเลี้ยงของข้าวเสาไห้ 2 ประเภทที่ได้จากเชื้อราขาว *Beauveria bassiana* ไอโซเลต IPKKU 251, PKKU 252 และ IPKKU 253 ที่อายุ 7, 14, 21 และ 28 วัน



รูปที่ 6. ค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ต่อกรัมวัสดุเพาะเลี้ยง (ข้าวเสาไห้หัก, ข้าวเสาไห้) ของเชื้อราขาว *Beauveria bassiana* จำนวน 3 ไอโซเลตที่อายุ 7, 14, 21 และ 28 วัน

4. สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

เชื้อราขาว *B. bassiana* ที่ผ่านการคัดเลือกเบื้องต้นแล้วด้วยการกลิ้งเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลบนโคโลนีของเชื้อราขาวจำนวน 7 ไอโซเลต เมื่อนำมาศึกษาการเจริญเติบโตด้วยอาหาร SDAY พบว่าโคโลนีมีรูปร่างกลม เรียบ เส้นใยมีสีแตกต่างกันระหว่างสีขาว - สีเหลืองอ่อน เส้นใยฟูสม่ำเสมอ สร้างสปอร์รูปร่างกลมสีขาว ลักษณะคล้ายผงแป้งหรือขอล็ก เส้นใยยวบตัวลงเมื่อเริ่มสร้างสปอร์ซึ่งมีลักษณะต่างกันในแต่ละไอโซเลต คล้ายกับการศึกษาของ Hangtrakul และคณะ ในปี ค.ศ. 2008 (11) ที่รายงานว่าเชื้อราขาวมีเส้นใยสีขาวฟู สปอร์เป็นผงสีขาวหรือสีขาว ขาวอมเหลือง สำหรับลักษณะและการเจริญของโคโลนีเชื้อราขาวนั้นแตกต่างกันขึ้นอยู่กับ ไอโซเลต ชนิดของอาหาร อายุของเชื้อ และสภาวะแวดล้อม ซึ่งอาจมีผลต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของเชื้อรา *B. bassiana* สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับการเจริญเติบโตของเชื้อราขาวบนอาหาร SDAY นั้น โดยการเปรียบเทียบขนาด ϕ โคโลนี พบว่าค่าเฉลี่ยของ ϕ โคโลนีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่อายุ 7 วัน ไอโซเลต IPKKU 252 เจริญเติบโตได้ดีที่สุด (21.83 มิลลิเมตร) ที่อายุ 14 และ 21 วัน ไอโซเลต IPKKU 251 เจริญเติบโตได้ดีที่สุด (51.17 และ 62.83 มิลลิเมตร ตามลำดับ) ส่วนการนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิดนั้น ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลทำให้การเจริญของเชื้อราขาวแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งเชื้อราขาวทุกไอโซเลตสามารถเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ โดยการศึกษาที่ 14 วัน นั้น IPKKU 253 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร SDAY มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด (ϕ โคโลนีเท่ากับ 56.50 มิลลิเมตร) ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติกับไอโซเลตอื่นๆ ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างกับไอโซเลต IPKKU 251 ที่เจริญเติบโตบนอาหาร SDAY (ϕ 54.33 มิลลิเมตร) รองลงมาคือ IPKKU 253 ที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหาร PDA (ϕ 52.00 มิลลิเมตร) โดยไอโซเลต IPKKU 253 ให้ค่าไม่แตกต่างกับไอโซเลต IPKKU 252 ที่เจริญบน PDA (ϕ 49.33 มิลลิเมตร) และ SDAY (ϕ 48.67 มิลลิเมตร) เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตทั้ง 7 ไอโซ

เลต เพื่อการผลิตเชิงปริมาณด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด พบว่า IPKKU 253 มีค่าเฉลี่ยของการเจริญเติบโตที่ดีที่สุดเท่ากับ 48.10 มิลลิเมตร และมีค่าไม่แตกต่างทางสถิติกับ IPKKU 251 (46.87 มิลลิเมตร) โดยไอโซเลตที่มีการเจริญเติบโตช้านั้นต่างเป็นไอโซเลตที่ได้จากศูนย์บริหารศัตรูพืชจังหวัดพิษณุโลก เมื่อเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด พบว่าอาหาร SDAY เป็นอาหารที่เชื้อราขาวทุกไอโซเลตเจริญเติบโตได้ดีที่สุด (ϕ โคโลนี 43.43 มิลลิเมตร) และไม่แตกต่างทางสถิติกับอาหาร PDA (42.79 มิลลิเมตร) โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่แตกต่างกัน มีผลทำให้ลักษณะและการเจริญเติบโตของโคโลนีเชื้อราขาวแตกต่างกัน ซึ่งให้ผลตรงกันข้ามกับการศึกษาของ Suasa-ard และคณะ ในปี ค.ศ. 2008 (12) ที่ว่าเชื้อราขาวสามารถเจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร PDA (ค่าเฉลี่ย ϕ 88.70 มิลลิเมตร) รองลงมา คือ SDA, SDAY, Corn Meal agar (CMA) และ Water agar (WA) (ค่าเฉลี่ย ϕ 73.10, 70.70, 69.10 และ 64.80 มิลลิเมตร ที่อายุ 25 วัน ตามลำดับ) ทั้งนี้ น่าจะเป็นเนื่องจากเป็นเชื้อราขาวต่าง ไอโซเลตกัน และอาจเนื่องมาจากมีอายุต่างกันก็เป็นไปได้ ส่วนการผลิตมวลชีวภาพด้วยเมล็ดธัญพืชต่างชนิดกันนั้น เชื้อราขาวสามารถเพิ่มปริมาณด้วยเมล็ดธัญพืช 5 ชนิด และสร้างสปอร์ซึ่งมีค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีเส้นใยสีขาวขึ้นปกคลุมเมล็ดธัญพืช แต่ปริมาณเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราซึ่งเป็นไอโซเลตเดียวกันนั้นมีลักษณะต่างกัน โดยที่อายุ 7, 14, 21 และ 28 วัน ไอโซเลต IPKKU 252 เพาะเลี้ยงด้วยข้าวเสาไห้หักสร้างสปอร์ได้ดีที่สุดเท่ากับ 4.89×10^9 , 5.37×10^9 , 9.98×10^9 และ 1.15×10^{10} สปอร์ต่อกรัม ตามลำดับ ซึ่งถ้าเปรียบเทียบระหว่างไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในระดับสูง-สูงที่สุดนั้น ได้แก่ ไอโซเลต IPKKU 251, IPKKU 252 และ IPKKU 253 พบว่าไอโซเลต IPKKU 252 มีสปอร์เฉลี่ยสูงที่สุดอยู่ระหว่าง 2.40×10^9 - 6.10×10^9 สปอร์ต่อกรัม ที่อายุ 7-28 วัน ส่วนเมื่อเปรียบเทียบเมล็ดธัญพืชทั้ง 5 ชนิด พบว่าข้าวเสาไห้หักสร้างสปอร์ได้สูงที่สุดเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 2.36×10^9 - 6.37×10^9 สปอร์ต่อกรัม ที่อายุ 7-28 วัน ซึ่งเชื้อไอโซเลตเดียวกันที่อายุต่างกันจะสร้างสปอร์ได้แตกต่างกัน ดังเช่น IPKKU 252 ซึ่งเป็นไอโซเลตที่ดีที่สุด

สามารถผลิตสปอร์ได้ดีที่สุดที่ 28 วัน ด้วยการเพาะเลี้ยงด้วยข้าวเสาไห้หัก (1.15×10^{10} สปอร์ต่อกรัม) และมีค่าเฉลี่ยสปอร์สูงที่สุดจากเมล็ดธัญพืชเพาะเลี้ยง 5 ชนิด เท่ากับ 6.10×10^9 สปอร์ต่อกรัม ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับเชื้อต่างไอโซเลตที่อายุเดียวกัน ($P < 0.05$) และเมล็ดธัญพืชที่สร้างสปอร์ได้สูงที่สุดคือ ข้าวเสาไห้หัก โดยมีค่าเฉลี่ยสปอร์สูงที่สุดที่ 28 วันเท่ากับ 63.70×10^8 สปอร์ต่อกรัม รองลงมาคือ ข้าวเสาไห้ ข้าวโพดหัก ข้าวโพด และข้าวฟ่าง ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนในต่างประเทศนั้นมีรายงานของ Sahayaraj และ Namasivayam ในปี ค.ศ. 2008 (13) พบว่าเมล็ดธัญพืชที่ให้ปริมาณสปอร์มากที่สุดคือ ข้าวสาลี (11.76×10^8 สปอร์ต่อ 100 กรัม) ขณะที่อาหารเหลวที่ให้ปริมาณสปอร์มากที่สุดคือ นมมะพร้าว มีค่าเท่ากับ 12.10×10^8 สปอร์ต่อ 100 มิลลิลิตร และอาหารแข็งที่ให้ปริมาณสปอร์มากที่สุดคือ แครอท (10.76×10^8 สปอร์ต่อ 100 กรัม) หลังเพาะเลี้ยงเชื้อรา 15 วัน สำหรับการศึกษาในประเทศนั้นได้มีการเพาะเลี้ยงเชื้อราข้าวด้วยวัสดุต่างกัน พบว่าวัสดุเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมที่สุดในการเพิ่มปริมาณเชื้อราเมื่อบ่มเชื้อไ้เป็นเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน คือ ปลายข้าวกล้อง รองลงมาคือ ข้าวเสาไห้ ข้าวฟ่าง และข้าวโพด (5) ส่วนในการประยุกต์ศึกษานี้ด้วยการเพาะเลี้ยงด้วยข้าวเสาไห้ที่ผ่านการหุงสุกแสดงให้เห็นว่า การเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยข้าวเสาไห้หุงสุกและไม่มี การนึ่งฆ่าเชือนั้นไม่สามารถนำมาศึกษาได้ เนื่องจากการฆ่าเชื้อด้วยการหุงข้าวเพียงเพื่อให้สุกนั้น ไม่เพียงพอต่อการทำให้เกิดสภาพปลอดเชื้อก่อนการปลูก เชื้อราขาว จึงเกิดการปนเปื้อนหลังบ่ม 2-3 วัน แต่ข้าวเสาไห้ที่หุงสุกและมีการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว พบว่าเชื้อราสามารถเจริญเติบโตได้ และไอโซเลต IPKKU 252 ในข้าวเสาไห้หักมีปริมาณสปอร์มากที่สุดเท่ากับ 3.09×10^9 , 5.81×10^9 , 1.17×10^{10} และ 1.48×10^{10} สปอร์ต่อกรัม หลังบ่มเชื้อนาน 7, 14, 21 และ 28 วัน ตามลำดับ อีกทั้งไอโซเลต IPKKU 253 และ IPKKU 251 ที่เลี้ยงในข้าวเสาไห้หักก็มีปริมาณสปอร์มากกว่าที่เลี้ยงในข้าวเสาไห้เช่นเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์ต่อกรัมบนข้าวเสาไห้ทั้ง 2 รูปแบบที่ผลิตด้วยแต่ละไอโซเลต ที่อายุ 7-28 วัน พบว่าโดยไอโซเลต IPKKU 252 มีค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์มาก

ที่สุดเท่ากับ 1.13×10^{10} สปอร์ต่อกรัม ที่อายุ 28 วัน ซึ่งแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) กับไอโซเลตอื่น โดยมีค่ามากกว่าไอโซเลต IPKKU 253 และ IPKKU 251 ตามลำดับ ส่วนเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์ของเชื้อราทุกไอโซเลตที่เพาะเลี้ยงด้วยข้าวเสาไห้ 2 รูปแบบ ที่อายุระหว่าง 7-28 วัน พบว่าเชื้อราขาวที่เพาะเลี้ยงด้วยข้าวเสาไห้หักผลิตสปอร์เฉลี่ยได้มากที่สุด (8.00×10^9 สปอร์ต่อกรัม) ที่อายุ 28 วัน ซึ่งมีความแตกต่างกับข้าวเสาไห้(เมล็ดเต็ม) ทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยเชื้อราทุกไอโซเลต IPKKU 251, IPKKU 252 และ IPKKU 253 สามารถสร้างสปอร์ได้เพิ่มขึ้นตามอายุของเชื้อที่เพิ่มขึ้นซึ่งจาก 7, 14, 21 และ 28 วัน ตามลำดับ

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตรมหาวิทยาลัยร่วม มหาวิทยาลัยขอนแก่น สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (AG-BIO/PERDO-CHE), ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน และกลุ่มวิจัยการเพาะเลี้ยงและพัฒนาผลิตภัณฑ์ไหมป่าและแมลงสำคัญทางเศรษฐกิจ เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม คณะเกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่ได้สนับสนุนทุนวิจัย เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ และสถานที่ทดลอง

6. เอกสารอ้างอิง

- (1) Aguda, R.M., Litsinger, J.A., and Roberts, D.W. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* on brown planthopper (BPH) whitebacked planthopper (WBPH), and green leafhopper (GLH). International Rice Research Notes 1984; 9(6): 20.
- (2) Hongke, Li. *Beauveria bassiana* for controlling brown planthopper (BPH) and green leafhopper (GLH). International Rice Research Notes 1986; 11(3): 22.

- (3) Abraham, T., Easwaramoorthy, S., and Santhakumari, G. Mass production of *Beauveria bassiana* isolated from sugarcane root borer, *Emmalocera depressella* Swinhoe. Sugar Tech. 2003; 5(4): 225-229.
- (4) Clinic Technology Call Center. Entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* [Internet]. 2011[cited 2012 August 25]. Available from: http://www.ttc.most.go.th/online/callcenter/call_Detail.asp?rid=18521
- (5) Suasard, W., Sommartya, P., Buchatian, P., Changsin, R., and Puntongcum, A. Materials suitable for mass production conidia of white muscardine, *Beauveria bassiana* (Balsmo) Vuillemin. Proceedings of 49th Kasetsart University Annual Conference, 1- 4 February 2011. Kasetsart University. Bangkok. Thai.
- (6) Jongjangklang, C.Y., Anh Nhung, N.H., Kitsubun, P., and Amnuaykanjanasin, A. Scale-up production of *Beauveria bassiana* conidia for biocontrol by solid state fermentation. The 4th International on Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products. 29-31 August 2011. Kosa Hotel, Khon Kaen.
- (7) Bidochka, M.J., Kasperski, J.E., and Wild, G.A.M. Occurrence of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in soil from temperate and near northern habitats. Can. J. Bot. 1998; 76: 1198-1204.
- (8) Davet, P., and Rouxel, F. Detection and isolation of soil fungi. Science Publishers, Inc.: New Hampshire. 2000.
- (9) Samuels, K.D.Z. Genetical studies and strain selection in *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin for the control of *Nilaparvata lugens* (Stål), the brown planthopper of rice. [PhD thesis]. London: University of London; 1986.
- (10) Chamswarn, C., and Intanoo, W. Production of *Trichoderma* fresh culture by simple technique for controlling damping-off of yard long bean caused by *Sclerotium rolfsii*. Proceedings of 40th Kasetsart University Annual Conference 4- 7 February 2002. Kasetsart University. Bangkok. Thai.
- (11) Hangtrakul, S., Sommartya, P., Soyong, K., and Poemai, S. Diversity analysis of entomopathogenic fungi, *Beauveria* sp. by restriction fragment length polymorphism of the ITS regions. Proceedings of 46th Kasetsart University Annual Conference. 29 January- 1 February 2008. Kasetsart University. Bangkok. Thai.
- (12) Suasard, W., Sommartya, P., Buchatian, P., Changsin, R., and Puntongcum, A. Evaluation of efficiency of white muscardine, *Beauveria bassiana* to control economic important pest. Proceedings of 46th Kasetsart University Annual Conference. 29 January - 1 February 2008. Kasetsart University. Bangkok. Thai.
- (13) Sahayaraj, K., and Namasivayam, S.K.R. Mass production of entomopathogenic fungi using agricultural products and by-products. African Journal of Biotechnology 2008; 7(12): 1907-1910.