

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การคัดเลือกเชื้อราเขียวในการทำให้เกิดโรคกับหนอนกระทู้ผัก

จากการทดสอบเบื้องต้นเกี่ยวกับประสิทธิภาพของเชื้อราเขียว จำนวน 10 ไอโซเลท กับหนอนกระทู้ผัก 2 โดยวิธีปล่อยให้หนอนสัมผัสกับสปอร์ของเชื้อราเขียวในจานเลี้ยงเชื้อ ทั้งไว้ประมาณ 30 นาที แล้วเขี่ยหนอนออกมาวางในจานอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ พร้อมใบคาน้ำเพื่อเป็นอาหาร พบว่า เชื้อราเขียว 3 ไอโซเลท คือ BCC 1858, BCC4849 และ Khon Kaen ทำให้หนอนตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 2 วัน สาเหตุที่ทำให้หนอนกระทู้ผัก 2 มีเปอร์เซ็นต์การตายสูง อาจเป็นเพราะเชื้อราเขียวทั้ง 3 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพสูงในการทำให้เกิดโรคต่อแมลงและมีระดับความเข้มข้นของสปอร์สูง วิธีการนี้สามารถคัดเลือกหาเชื้อราเขียวที่มีประสิทธิภาพสูง ในการกำจัดแมลง จากจำนวนเชื้อทั้งหมด 10 ไอโซเลท ซึ่งเป็นวิธีประเมินประสิทธิภาพเบื้องต้นของเชื้อราเขียว โดยยังไม่ได้คำนึงถึงระดับความเข้มข้นของสปอร์แต่อย่างใด ดังนั้นการศึกษาต่อไปนี้จะเน้นเฉพาะเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดแมลงดังกล่าว

5.2 ผลของอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราเขียว

การทดสอบชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ 8 ชนิด ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา 3 ไอโซเลท พบว่าสูตรอาหาร Mungbean agar (MU) มีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยทำให้เชื้อราเขียวเจริญได้ดีที่สุด ทั้ง 3 ไอโซเลท โดยสอดคล้องกับการทดลองของ Krutmuang (1996) ที่พบว่าเชื้อราเขียว *M. anisopliae* var. *majus* และ *M. anisopliae* var. *anisopliae* สามารถเจริญเติบโตได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mungbean agar ที่ใช้ควบคุมปลวก อย่างไรก็ตามเชื้อราไอโซเลท BCC1858เจริญได้ดีบนอาหาร SDAY แต่ก็ไม่มีความแตกต่างจากการเลี้ยงบนอาหาร MU ขณะที่ยุพาและพิพัฒน์พงษ์ (2533) รายงานว่า เชื้อราเขียวสร้างเส้นใยได้ดีบนสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แต่การทดลองครั้งนี้พบว่า สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ MU ทำให้เชื้อรา 2 ไอโซเลท BCC 4849 และ Khon kaen เจริญได้ดีแตกต่างจาก PDA ยกเว้น BCC 1858 ที่ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างสูตรอาหาร PDA และ MU ผลการทดลองในครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ Mungbean agar ช่วยส่งเสริมให้เชื้อราเขียวมีการเจริญทางด้านเส้นใยและสปอร์ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารชนิดอื่น ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากการที่อาหารเลี้ยงเชื้อ Mungbean agar มีถั่วเขียวเป็นส่วนประกอบ

เนื่องจาก ถั่วเขียวมีธาตุไนโตรเจนสูง ซึ่งธาตุไนโตรเจนเจอได้ว่าเป็นธาตุอาหารหลักในอาหารเลี้ยงเชื้อ (เกวลิน, 2547) และราคาต้นทุนการผลิตถูก วัตถุประสงค์ที่ง่าย ดีกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอื่น ๆ จึงเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อ Mungbean agar ดังนั้น หากจะมุ่งค้นหาและคัดเลือกหาไอโซเลทของเชื้อราเขียวที่มีศักยภาพในการป้องกันแมลงศัตรูพืช ขณะเดียวกันก็ควรมีแหล่งวัตถุดิบที่เหลือทิ้งในท้องถิ่นมาใช้ผลิตอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย จึงเป็นสิ่งที่น่าศึกษาและพัฒนาต่อไปอย่างยิ่ง (Bornos *et al.*, 1975 ; Heale *et al.*, 1989)

5.3 ผลของอุณหภูมิต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราเขียว

จากการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา 3 ไอโซเลท พบว่า อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุด สำหรับเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลท เนื่องจากสามารถสร้างเส้นใยและสปอร์ได้ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Greves (1964), Li (1984) และ Milner *et al.* (1998) ที่กล่าวว่าเชื้อราเขียว *M. anisopliae* และ *B. bassiana* สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส และ จากรายงานของ Ihara *et al.* (2003) พบว่า เชื้อราเขียว *M. anisopliae* ไอโซเลท HF 293 ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส แต่จะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

5.4 ผลของแสงต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราเขียว

จากการทดลองเกี่ยวกับแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา 3 ไอโซเลท พบว่า เจริญเติบโตได้ดีที่ แสง 12 ชั่วโมงสลับกับที่มืด 12 ชั่วโมง เป็นช่วงแสงที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลท ซึ่งตรงข้ามกับการทดลองของ Welling *et al.* (1994) ที่กล่าวว่า *M. anisopliae* และ *M. flavoviridae* เจริญเติบโตได้ดีที่แสง 8 ชั่วโมง สลับกับที่มืด 16 ชั่วโมง

5.5 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเขียวในการทำให้เกิดโรคกับหนอนกระทู้ผัก

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* จำนวน 3 ไอโซเลทกับ หนอนกระทู้ผักวัยที่ 1, 2 และ 3 พบว่าเชื้อราเขียวไอโซเลท BCC4849 ที่ระดับความเข้มข้น 6×10^8 สปอร์/มล. มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผักสูงสุด โดยหลังจากทดสอบ 5 วันพบว่า หนอนกระทู้ผักวัยที่ 3 มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตาย 51.28 % และหลังจากทดสอบ 7 วันพบว่า หนอนกระทู้ผักวัยที่ 3 มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตาย 79.49 % จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า ที่ระดับความเข้มข้น 6×10^8 สปอร์/มล. สามารถทำให้หนอนกระทู้ผักวัยที่ 3 มีอัตราการตายสูง โดยที่ระดับความเข้มข้นที่สูงกว่า 6×10^8 สปอร์/มล. มีอัตราการตายน้อย อาจเกิดจากการใช้ระดับความเข้มข้นที่สูงเกินไป ซึ่งสอดคล้องกับ Bandara

and Ahangama (1994) ที่กล่าวว่าหากใช้ความเข้มข้นที่สูงเกินไป จะมีผลไปลดประสิทธิภาพของเชื้อรา ซึ่งเชื้อราเกิดภาวะแข่งขันซึ่งกันและกัน ในการเข้าทำลายแมลง เเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงต่ำ

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงยังไม่สูงเท่าที่ควร อาจเป็นเพราะสภาพอุณหภูมิ และความชื้น ในการทดลองนี้อาจยังไม่เหมาะสมและอีกสาเหตุที่ทำให้เปอร์เซ็นต์การตายที่ไม่สูงมาก คือ การเก็บเชื้อไว้นานและการเก็บรักษาไม่เหมาะสม ทำให้เชื้อมีความรุนแรงลดลง ซึ่งอาจแก้ปัญหาโดยการใช้ วิธี spray - drying technique โดยทำให้ blastospore ของเชื้อราแห้งและ/หรือ submerged conidia ซึ่งไม่ทำให้สูญเสียความมีชีวิตและเป็นการยืดเวลาการสูญเสียประสิทธิภาพของเชื้อรา ซึ่งสามารถใช้ได้กับเชื้อรา *M. anisopliae*, *M. flavoviridae* และ *B. bassiana* โดยใช้อุณหภูมิ inlet และ outlet ที่ 64.2 และ 48.2 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และ protective agent ที่ดีที่สุด สำหรับ submerged spore คือ skimmed milk power ที่ความเข้มข้น 10 หรือ 20 เเปอร์เซ็นต์ เพิ่มน้ำตาล 2.5 เเปอร์เซ็นต์ sugar beet syrup ลงไปเพื่อปรับปรุงความมีชีวิต หลังจากทำ spray - drying และ การทดสอบการงอกของ spore เหล่านี้กับสปอร์ใหม่ๆ พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งวิธีนี้สามารถเก็บรักษาสปอร์ของเชื้อราโรคแมลงได้ (Stephan and Zimmermann, 1998) ซึ่งขณะทำการทดลองมีการฉีดพ่นเชื้อราในตอนเย็น ซึ่งเป็นช่วงที่อุณหภูมิลดต่ำลง จึงไม่เป็นอันตรายต่อเชื้อราและการทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการนั้น เชื้อราไม่ได้รับแสงแดดโดยตรง ซึ่งปัจจัยของแสงมีผลกระทบต่อการใช้ชีวิตและการงอกของสปอร์ แสงอาทิตย์จะฆ่าสปอร์ของเชื้อราได้ (Roberts and Yendol, 1971) เชื้อราโรคแมลงในกลุ่ม Deuteromycetes จะไม่งอกที่ความชื้นต่ำกว่า 93 เเปอร์เซ็นต์ (Walstad *et al.* 1970) ความชื้นมีความสำคัญต่อการงอกของเชื้อราและยังมีอิทธิพลต่อการสร้างสปอร์บนตัวแมลงที่ตาย ซึ่งจะทำให้แพร่ระบาดไปยังแมลงตัวอื่นๆ ต่อไปได้ (Roberts and Yendol, 1971)

ผลการศึกษาครั้งนี้ พบเชื้อราเขียว *M. anisopliae* เป็นเชื้อสาเหตุที่ทำให้หนอนกระทู้ฝักตายนั้นสามารถยืนยันได้ เนื่องจากเมื่อพ่นเชื้อนี้ให้หนอนกระทู้ฝักที่มีชีวิตอยู่ แล้วเมื่อมีการตายของหนอนกระทู้ฝักเกิดขึ้น ได้นำซากหนอนมาฆ่าเชื้อที่ผิวทันที แล้วนำมาทำ moist chamber ก็พบเชื้อราเขียว *M. anisopliae* เจริญคลุมตัวหนอนกระทู้ฝัก และในประเทศไทยมีการจำหน่าย เชื้อราเขียว *M. anisopliae* ในรูปการค้า เช่น เมทาซาน ซึ่งอยู่ในรูปผงเปียกน้ำ เข้มข้น 1×10^9 cfu/gm อัตราที่ใช้ฉีดพ่น 50-100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เริ่มพ่นตั้งแต่ปริมาณของแมลงยังน้อยอยู่ และฉีดซ้ำทุก ๆ 5-7 วัน จนกว่าแมลงจะหยุดระบาด ซึ่งให้ผลดีในการป้องกันกำจัดแมลงปากดูดหลายชนิด อาทิเช่น เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยอ่อน เพลี้ยจักจั่นสีเขียว หนอนด้วง และหนอนของผีเสื้อ สามารถใช้ผสมน้ำฉีดพ่นพืชผัก ไม้ผล ไม้ดอกและไม้ประดับทุกชนิด และทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช (บริษัท แอปพลายเค็ม ประเทศไทย, 2550)