

เอกสารอ้างอิง

- ทิพย์วดี อรรถธรรม. 2535. โรควิทยาของแมลง. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตร-
ศาสตร์, กรุงเทพฯ. 205 หน้า.
- นริศ ท้าวจันทร์ และอนุชิต ชินาจิรวงศ์. 2551. ประสิทธิภาพการควบคุมของเชื้อรา *Metarhizium*
anisopliae ในแมลงวันผลไม้ (Diptera: Tephritidae). ว. วิทย์. กษ. 39: 21-25.
- มาลี ตั้งระเบียบ. 2551. เชื้อรากล้ำดแมลง. สถาบันและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง มหาวิทยาลัย
เทคโนโลยีราชมงคลล้านนา, ศิลปการพิมพ์, ลำปาง. 25 หน้า.
- มาลี ตั้งระเบียบ และกรกฎ งานวงศ์พาณิชย์. 2552. ผลของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ต่อเห็บ
โค (*Boophilus microplus*). เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 7: 7-17.
- สืบศักดิ์ สนธิรัตน์. 2539. ความสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพในการเข้าทำลายไข่ไส้เดือนฝอยและ
กิจกรรมเอนไซม์ของเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus*. ว. เกษตรศาสตร์ (วิทย์.) 30: 175-184.
- สุภัทสา ประคองสุข. 2550. ความสามารถในการก่อโรคของ *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลท
ต่าง ๆ กับหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* (F.). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต.
บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 61 หน้า.
- Abbott, W. A. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ.
Entomol. 18: 265-267.
- Abd-Aziz, S., C. C. Fernandez, M. M. Salleh, R. M. Illias, and M. A. Hassan. 2008. Effect of
agitation and aeration rates on chitinase production using *Trichoderma virens* UKM1 in
2-1 stirred tank reactor. Appl. Biochem. Biotechnol. 150: 193-204.
- Ahmad, M., and A. R. Mc Caffery. 1988. Resistance to insecticides in a Thailand strain of
Heliothis armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 81: 45-48.
- Ahmad, S. K., A. Ali, and P. Q. Rizvi. 2008. Influence of varying temperature on the
development and fertility of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) on
cabbage. Asian J. Agric. Res. 2: 25-31.
- Al mazráawi, M. S. 2007. Impact of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* on the
honey bees, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). World J. Agric. Sci. 3: 7-11.

- Anand, R., B. Prasad, and B. N. Tiwary. 2009. Relative susceptibility of *Spodoptera litura* pupae to selected entomopathogenic fungi. *BioControl* 54: 85-92.
- Andersen, O. A., M. J. Dixon, I. M. Eggleston, and D. M. F. van Aalten. 2005. Natural product family 18 chitinase inhibitors. *Nat. Prod. Rep.* 22: 569-579.
- Bai, N. S., T. O. Sasidharan, O. K. Remadevi, P. V. Rajan, and M. Balachander. 2010. Virulence of *Metarhizium* isolates against the polyphagous defoliator pest, *Spilarctia oblique* (Lepidoptera: Arctiidae). *J. Trop. Forest. Sci.* 22: 74-80.
- Batko, A. 1974. Phylogenesis and taxonomic structure of the entomophthoraceae. pp. 1-57. *In*: C. Nowinski (ed.). *Ewolucja biologiczna: Szkice teoretyczne i metodologiczne*. Polska Akademia Nauk, Instytut Filozofii i Socjologii, Warsaw: Ossolineum.
- Bidochka, M. J., N. H. Low, and G. G. Khachatourians. 1990. Carbohydrate storage in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Appl. Environ. Microb.* 56: 3186-3190.
- Bogo, M. R., C. A. Rota, H. Pinto Jr., M. Ocampos, C. T. Correa, M. H. Vainstein, and A. Schrank. 1998. A chitinase encoding gene (*chit 1* Gene) from the entomopathogen *Metarhizium anisopliae*: isolation and characterization of genomic and full-length cDNA. *Curr. Microbiol.* 37: 221-225.
- Boldo, J. T., A. Junges, K. B. Amaral, C. C. Staats, M. H. Vainstein, and A. Schrank. 2009. Endochitinase CHI2 of the biocontrol fungus *Metarhizium anisopliae* affects its virulence toward the cotton stainer bug *Dysdercus peruvianus*. *Curr. Genet.* 55: 551-560.
- Boucias, D. G., and J. C. Pendland. 1998. *Principles of Insect Pathology*. Kluwer Academic Publishers, Norwell, Massachusetts. 537 pp.
- Branco, M. C., and A. G. Gatehouse. 1997. Insecticide resistance in *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the federal district. Brazil. *An. Soc. Entomol. Brasil* 26: 75-59.
- Cai, H., S. Li, K. Ryall, M. You, and S. Lin. 2011. Effects of intercropping of garlic or lettuce with Chinese cabbage on the development of larvae and pupae of diamondback moth (*Plutella xylostella*). *Afr. J. Agric. Res.* 6: 3609-3615.
- Capinera, J. L. 2000. Diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Insecta: Lepidoptera: Plutellidae). EENY-119. IFAS Extension, University of Florida, Gainesville, Florida. 5 pp.

- Castellanos-Moguel, J., M. González-Barajas, T. Mier, M. R. Reyes-Montes, E. Aranda, and C. Toriello. 2007. Virulence testing and extracellular subtilisin-like (Pr1) and trypsin-like (Pr2) activity during propagule production of *Paecilomyces fumosoroseus* isolates from whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae). *Rev. Iberoam. Micol.* 24: 62-68.
- Chapman, R. F. 1998. *The Insects: Structure and Function*. 4th ed. Cambridge University Press, Cambridge. 788 pp.
- Cole, S. C. J., A. K. Charnley, and R. M. Cooper. 1993. Purification and partial characterization of a novel trypsin-like cysteine proteinase from *Metarhizium anisopliae*. *FEMS Microbiol. Lett.* 113: 189-196.
- Cossentine, J. E., G. J. R. Judd, J. D. Bissett, and L. A. Lacey. 2010. Susceptibility of apple clearwing moth larvae, *Synanthedon myopaeformis* (Lepidoptera: Sesiidae) to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum*. *Biocontrol Sci. Techn.* 20: 703-707.
- Cottrell, T. E., and D. I. Shapiro-Ilan. 2003. Susceptibility of native and an exotic lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae) to *Beauveria bassiana*. *J. Invertebr. Pathol.* 84: 137-144.
- Dhar, P., and G. Kaur. 2009. Effects of carbon and nitrogen sources on the induction and repression of chitinase enzyme from *Metarhizium anisopliae* isolates. *Ann. Microbiol.* 59: 545-551.
- Dhar, P., and G. Kaur. 2010. Production of cuticle-degrading proteases by *Beauveria bassiana* and their induction in different media. *Afr. J. Biochem. Res.* 4: 65-72.
- Dias, B. A., P. M. O. J. Neves, L. Furlaneto-Maia, M. C. Furlaneto. 2008. Cuticle-degrading proteases produced by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* in the presence of coffee berry borer cuticle. *Braz. J. Microbiol.* 39: 301-306.
- Draganova, S. A., D. I. Takov, and D. D. Doychev. 2010. Naturally-occurring entomopathogenic fungi on three bark beetle species (Coleoptera: Curculionidae) in Bulgaria. *Pestic. Phytomed. (Belgrade)* 25: 59-63.
- Dromph, K. M., and S. Vestergaard. 2002. Pathogenicity and attractiveness of entomopathogenic hyphomycete fungi to collembolans. *Appl. Soil Ecol.* 21: 197-210.
- Duo-Chuan, L. 2006. Review of fungal chitinases. *Mycopathologia* 161: 345-360.

- Endersby, N. M., and P. M. Ridland. 2001. Insecticide resistance in diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), in southern Australia. In: N. M. Endersby and P. M. Ridland (eds.). The management of diamondback moth and other crucifer pests: proceedings of the Fourth International Workshop, November 10-14, 2001. Melbourne, Victoria, Australia.
- Enkerli, J., V. Ghormade, C. Oulevey, and F. Widmer. 2009. PCR-RFLP analysis of chitinase genes enables efficient genotyping of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. J. Invertebr. Pathol. 102: 185-188.
- Fang, W., B. Leng, Y. Xiao, K. Jin, J. Ma, Y. Fan, J. Feng, X. Yang, Y. Zhang, and Y. Pei. 2005. Cloning of *Beauveria bassiana* chitinase gene Bbchit1 and its application to improve fungal strain virulence. Appl. Environ. Microb. 71: 363-370.
- Fang, W., J. Feng, Y. Fan, Y. Zhang, M. J. Bidochka, R. J. St. Leger, and Y. Pei. 2009. Expressing a fusion protein with protease and chitinase activities increases the virulence of the insect pathogen *Beauveria bassiana*. J. Invertebr. Pathol. 102: 155-159.
- Gasser, R. B., M. Hu, N. B. Chilton, B. E. Campbell, A. J. Jex, D. Otranto, C. Cafarchia, I. Beveridge, and X. Zhu. 2007. Single-strand conformation polymorphism (SSCP) for the analysis of genetic variation. Nat. Protoc. 1: 3121-3128.
- Gillespie, J. P., R. Bateman, and A. K. Charnley. 1998. Role of cuticle-degrading proteases in the virulence of *Metarhizium* spp. for the desert locust *Schistocerca gregaria*. J. Invertebr. Pathol. 71: 128-137.
- Glare, T. R., and A. J. Inwood. 1998. Morphological and genetic characterization of *Beauveria* spp. from New Zealand. Mycol. Res. 102: 250-256.
- Godonou, I., B. James, C. Atcha-Ahowé, S. Vodouhé, C. Kooyman, A. Ahanchédé, and S. Korie. 2009. Potential of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates from Benin to control *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). Crop Prot. 28: 220-224.
- Golizadeh, A., K. Kamali, Y. Fathipour, and H. Abbasipour. 2009. Life table of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) on five cultivated Brassicaceous host plants. J. Agric. Sci. Technol. 11: 115-124.
- Gullan, P. J., and P. S. Cranston. 2005. The Insect: An Outline of Entomology. 3rd ed. Blackwell Publishing, Inc., Malden, Massachusetts. 505 pp.

- Gupta, S. C., T. D. Leathers, G. N. El-Sayed, and C. M. Ignoffo. 1991. Production of degradative enzymes by *Metarhizium anisopliae* during growth on defined media and insect cuticle. *Exp. Mycol.* 15: 310-315.
- Gupta, S. C., T. D. Leathers, G. N. El-Sayed, and C. M. Ignoffo. 1994. Relationships among enzyme activities and virulence parameters in *Beauveria bassiana* infections of *Galleria mellonella* and *Trichoplusia ni*. *J. Invertebr. Pathol.* 64: 13-17.
- Haas-Costa, J., L. F. A. alves, and A. A. Daros. 2010. Safety of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. to *Gallus domesticus* L.. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 53: 465-471.
- Hallsworth, J. E., and N. Magan. 1999. Water and temperature relations of growth of the entomogenous fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces farinosus*. *J. Invertebr. Pathol.* 74: 261-266.
- Hama, H. 1992. Insecticide resistance characteristics of diamondback moth. pp. 455-463. *In*: N. S. Talekar (ed.). *Diamondback moth and other crucifer pests: proceedings of the Second International Workshop, December 10-14, 1990. Tainan, Taiwan.*
- Hatami, S., H. A. Alikhani, H. Besharati, N. Salehrastin, M. Afrousheh, and Z. Y. Jahromi. 2008. Investigation on aerobic cellulolytic bacteria in some of north forest and farming soils. *American-Eurasian J. Agric. Environ. Sci.* 3: 713-716.
- Hayashi, K. 1991. PCR-SSCP: a simple and sensitive method for detection of mutations in the genomic DNA. *Genome Res.* 1: 34-38.
- Hedimbi, M., G. P. Kaaya, M. Samish, G. Gindin, and I. Glazer. 2011. Pathogenicity of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* to the red-legged tick, *Rhipicephalus evertsi evertsi*. *J. Entomol. Nematol.* 3: 68-72.
- Hegedus, D. D., and G. G. Khachatourians. 1995. Identification and differentiation of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* using polymerase chain reaction and single-strand conformation polymorphism analysis. *J. Invertebr. Pathol.* 67: 289-299.
- Henrissat, B. 1991. A classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. *Biochem. J.* 280: 309-316.
- Henrissat, B. 1999. Classification of chitinases modules. pp. 137-156. *In*: P. Jollè and R. A. A. Muzzarelli (eds.). *Chitin and Chitinase*. Birkhäuser Verlag.

- Hernandez, C. E. M., I. E. P. Guerrero, G. A. G. Hernandez, E. S. Solis, and J. C. T. Guzman. 2010. Catalase overexpression reduces the germination time and increases the pathogenicity of the fungus *Metarhizium anisopliae*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 87: 1033-1044.
- Howard, M. B., N. A. Ekborg, R. M. Weiner, and S. W. Hutcheson. 2003. Detection and characterization of chitinases and other chitin-modifying enzymes. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 30: 627-635.
- Htwe, A. N., K. Takasu, and M. Takagi. 2009. Laboratory rearing of the diamondback moth *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) with artificial diet. J. Fac. Agr. Kyushu U. 54: 147-151.
- Inglis, G. D., M. S. Goettel, and D. L. Johnson. 1995. Influence of ultraviolet light protectants on persistence of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. Biolog. Control 5: 581-590.
- IPM DANIDA. 2547. กะหล่ำปลี คู่มือการจัดการศัตรูพืชและระบบนิเวศ. โครงการ IPM DANIDA. กรุงเทพฯ. 266 หน้า.
- Jun, M. 2000. Laboratory susceptibility of *Plutella xylostella* to *Metarhizium anisopliae* and *Nuraea rileyi*. Entomol. Sin. 7: 53-57.
- Jungbluth, F. 1996. Crop protection policy in Thailand: economic and political factors influencing. Pesticide policy project, GTZ/University of Hannover, Hannover, Germany.
- Kanga, L. H. B., W. A. Jones, and R. R. James. 2003. Field trials using the fungal pathogen, *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes: Hyphomycetes) to control the Ectoparasitic Mite, *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bee, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies. J. Econ. Entomol. 96: 1091-1099.
- Kassa, A., M. Brownbridge, B. L. Parker, M. Skinner, V. Gouli, S. Gouli, M. Guo, G. Lee, and T. Hata. 2008. Whey for mass production of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Mycol. Res. 112: 583-591.
- Klowden, M. J. 2002. Physiological Systems in Insects. Academic Press, San Diego, California. 415 pp.

- Knodel, J. J., and M. Gancharachchi. 2008. Diamondback moth in canola: Biology and integrated pest management. E-1346. NDSU Extension Service, North Dakota State University, Fargo, North Dakota. 7 pp.
- Koga, D., M. Mitsutomi, M. Kono, and M. Matsumiya. 1999. Biochemistry of chitinases. pp. 111-123. *In*: P. Jollè and R. A. A. Muzzarelli (eds.). Chitin and Chitinase. Birkhäuser Verlag.
- Kulkarni, S. A., V. Ghormade, G. Kulkarni, M. Kapoor, S. B. Chavan, A. Rajendran, S. K. Patil, Y. Shouche, and M. V. Deshpande. 2008. Comparison of *Metarhizium* isolates for biocontrol of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in chickpea. *Biocontrol Sci. Techn.* 8: 809-828.
- Kuo, H. Y. Su, H. Yang, and T. Chen. 2005. Identification of Chinese medicinal fungus *Cordyceps sinensis* by pcr-single-stranded conformation polymorphism and phylogenetic relationship. *J. Agric. Food Chem.* 53: 3963-3968.
- Legaspi, J. C., T. J. Poprawski, and B. C. Legaspi. 2000. Laboratory and field evaluation of *Beauveria bassiana* against sugarcane stalkborers (Lepidoptera: Pyralidae) in the lower rio grand valley of Texas. *J. Econ. Entomol.* 93: 54-59.
- Lihong, Z., L. Ruijun, L. Xiujun, Z. Yongjium, D. Jiangzhen, Y. Xiangdong, and T. Bu. 2009. Screening of highly virulent *Beauveria bassiana* isolates against *Plutella xylostella* in Zhangbei. *Plant Prot.* 35: 121-123.
- Loc, N. T., and V. T. B. Chi. 2007. Biocontrol potential of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against Diamondback Moth, *Plutella xylostella*. *Omonrice* 15: 86-93.
- Lowry, O. H., N. J. Rosenbrough, A. L. Farr, and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Maketon, M., P. Orosz-Coghlan, and J. Sinprasert. 2008. Evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycota; Hyphomycetes) for control of broad mite *Polyphagotarsonemus latus* (Acari: Tarsonemidae) in mulberry. *Exp. Appl. Acarol.* 46: 157-167.
- Mancebo, A., F. González, S. Lugo, B. González, A. M. Bada, L. Aldana, Y. González, M. E. Arteaga, and D. Fuentes. 2005. Toxicity/pathogenicity evaluation of *Metarhizium anisopliae* LMA-06 by means of oral and intranasal dosing. *Pak. J. Biol. Sci.* 8: 969-973.

- Masuda, T. 2000. Microbial control of the diamondback moth, *Plutella xylostella* by an entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* II. Effects of temperature on mycoses and conidial invasion time. Jpn. J. Appl. Entomol. Zool. 44: 177-182.
- Matsumoto, K. S. 2006. Fungal chitinases. pp. 289-304. *In*: R. G. Guevara-González and I. Torres-Pacheco (eds.). Advances in Agricultural and Food Biotechnology. Research Signpost, Kerala, India.
- Merzendorfer, H., and L. Zimoch. 2003. Chitin metabolism in insects: structure, function and regulation of chitin synthases and chitinase. J. Exp. Biol. 206: 4396-4412.
- Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem. 31: 426-428.
- Mohanty, S. S., K. Raghavendra, and A. P. Dash. 2008. Induction of chymoelastase (Pr1) of *Metarhizium anisopliae* and its role in causing mortality to mosquito larvae. World J. Microbiol. Biotechnol. 24: 2283-2288.
- Moulton, J. K., D. A. Pepper, R. K. Jansson, and T. J. Dennehy. 2002. Pro-active management of beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to tebufenozide and methoxyfenozide: baseline monitoring, risk assessment and isolation of resistance. J. Econ. Entomol. 95: 414-424.
- Nation, J. L. 2008. Insect physiology and biochemistry. 2nd ed. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, Florida. 544 pp.
- NC-IUBMB. 2011. EC 3. Hydrolase nomenclature. (Online). Available: <http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/EC3/> (September 17, 2011).
- Nirmal, N. P., S. Shankar, and R. S. Laxman. 2011. Fungal proteases: an overview. Int. J. Biotech. Biosci. 1: 1-40.
- Nishiguchi, M. K., P. Doukakis, M. Egan, D. Kizirian, A. Phillips, L. Prendini, H. C. Rosenbaum, E. Torres, Y. Wyner, R. DeSalle, and G. Giribet. 2002. DNA isolation procedures. pp. 250-281. *In*: R. DeSalle, G. Giribet and W. Wheeler (eds.). Methods and Tools in Biosciences and Medicine Techniques in molecular systematic and evolution. Birkhäuser Verlag.
- Nopparat, C., M. Jatupornpiat, and A. Rittiboon. 2007. Isolation of phosphate solubilizing fungi in soil from Kanchanaburi, Thailand. KMITL Sci. Tech. J. 7: 137-146.

- Onofre, S. B., C. M. Miniuk, N. M. de Barros, and J. L. Azevedo. 2001. Growth and sporulation of *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride* on culture media and lighting regimes. *Sci. agric.* 58: 613-616. *World J. Chem.* 4: 34-38.
- Parker, B. L., M. Skinner, S. D. Costa, S. Gouli, W. Reid, and M. E. Bouhssini. 2003. Entomopathogenic fungi of *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae): collection and characterization for development. *Biolog. Control* 27: 260-272.
- Peveling, R., S. Attignon, J. Langewald, and Z. Ouambama. 1999. An assessment of the impact of biological and chemical grasshopper control agents on ground-dwelling arthropods in Niger, based on presence/absence sampling. *Crop Prot.* 18: 323-339.
- Purwanto, L. A., D. Ibrahim, and H. Sudrajat. 2009. Effect of agitation speed on morphological changes in *Aspergillus niger* hyphae during producing of tannase.
- Rehner, S. A. 2005. Phylogenetics of the the insect pathogenic genus *Beauveria*. pp. 3-27. *In*: F. E. Vega and M. Blackwell (eds.). *Insect-Fungal Associations Ecology and Evolution*. Oxford University Press, Oxford, New York.
- Remadevi, O. K., T. O. Sasidharan, M. Balachander, and N. S. Bai. 2010. *Metarhizium* based mycoinsecticides for forest pest management. *J. Biopest.* 3: 470-473.
- Roberts, D. W., S. Gupta, and R. J. St. Leger. 1992. Metabolite production by entomopathogenic fungi. *Pesq. agropec. bras.* 27: 325-347.
- Robertus, J. D., and A. F. Monzingo. 1999. The structure and action of chitinase. pp. 125-136. *In*: P. Jollè and R. A. A. Muzzarelli (eds.). *Chitin and Chitinase*. Birkhäuser Verlag.
- Romoser, W. S. 1981. *The Science of Entomology*. 2nd ed. Macmillan Publishing, Inc., New York. 575 pp.
- Rovensky, J., J. Payer, R. B. Clague, M. Herold, M. Bayer, H. Tauchmannová, M. Ferencik, and Z. Killinger. 2009. *Dictionary of Rheumatology*. Springer-Verlag/Wien, New York. 230 pp.
- Rowell, B., N. Bunsong, K. Satthaporn, S. Phithamma, and C. Doungsa-Ard. 2005. Hymenopteran parasitoids of diamondback moth (Lepidoptera: Ypeunomutidae) in northern Thailand. *J. Econ. Entomol.* 98: 449-456.

- Rushtapakornchai, W., and A. Vattanatangum. 1986. Present status of insecticidal control of diamondback moth in Thailand. pp. 307-312. *In*: N. S. Talekar and T. D. Griggs (eds.). Diamondback moth management: proceedings of the First International Workshop, March 11-15, 1986. Tainan, Taiwan.
- Saguez, J., C. Vincent, and P. Giordanengo. 2008. Chitinase inhibitors and chitin mimetics for crop protection. *Pest Tech.* 2: 81-86.
- Sassá, D. C., G. Varéa-Pereira, P. M. O. J. Neves, and J. E. Garcia. 2009. Genetic variation in a chitinase gene of *Beauveria bassiana*: lack of association between enzyme activity and virulence against *Hypothenemus hampei*. *J. Entomol.* 6: 35-41.
- Scholte, E., B. G. J. Knols, and W. Takken. 2005. Infection of the malaria mosquito *Anopheles gambiae* with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* reduces blood feeding and fecundity. *J. Invertebr. Pathol.* 91: 43-49.
- Screen, S. E., and St. Leger, R. J. 1999. Cloning, expression and analysis of an extracellular chitinase from the entomopathogenic fungus *Metarhizium flavoviride*. Unpublished.
- Shah, F. A., C. S. Wang, T. M. Butt. 2005. Nutrition influences growth and virulence of the insect-pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *FEMS Microbiol. Lett.* 251: 259-266.
- Silva, V. C. A., R. Barros, E. J. Marques, and J. B. Torres. 2003. Susceptibility of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) to the fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.). *Sorok. Neotrop. Entomol.* 32: 653-658.
- Sridevi, M., and K. V. Mallaiah. 2008. Factors effecting chitinase activity of *Rhizobium* sp. From *Sesbania sesban*. *Biologia* 63: 307-312.
- St. Leger, R. J., A. K. Charnley, and R. M. Cooper. 1986a. Cuticle-degrading enzymes of entomopathogenic fungi: synthesis in culture on cuticle. *J. Invertebr. Pathol.* 48: 85-95.
- St. Leger, R. J., R. M. Cooper, and A. K. Charnley. 1986b. Cuticle-degrading enzymes of entomopathogenic fungi: cuticle degradation *in vitro* by enzymes from entomopathogens. *J. Invertebr. Pathol.* 47: 167-177.
- St. Leger, R. J., A. K. Charnley, and R. M. Cooper. 1987a. Characterization of cuticle-degrading proteases produced by the entomopathogen *Metarhizium anisopliae*. *Arch. Biochem. Biophys.* 253: 221-232.

- St. Leger, R. J., R. M. Cooper, and A. K. Charnley. 1987b. Production of cuticle-degrading enzymes by the entomopathogen *Metarhizium anisopliae* during infection of cuticles from *Calliphora vomitoria* and *Manduca sexta*. J. Gen. Microbiol. 133: 1371-1382.
- St. Leger, R. J. 1995. The role of cuticle-degrading proteases in fungal pathogenesis of insects. Can. J. Bot. 73: 1119-1125.
- St. Leger, R. J., L. Joshi, M. J. Bidochka, N. W. Rizzo, and D. W. Roberts. 1996. Characterization and ultrastructural localization of chitinases from *Metarhizium anisopliae*, *M. flavoviride* and *Beauveria bassiana* during fungal invasion of Host (*Manduca sexta*) cuticle. Appl. Environ. Microb. 62: 907-912.
- Suckling, D. M., A. R. Gibb, J. M. Daly, D. J. Rogers, and G. P. Walker. 2002. Improving the pheromone lure for diamondback moth. N. Z. Plant Prot. 55: 182-187.
- Sun, J., J. R. Fuxa, and G. Henderson. 2002. Sporulation of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* on *Coptotermes formosanus* and *in vitro*. J. Invertebr. Pathol. 81: 78-85.
- Sundararajan, S., C. N. Kannan, and S. Chittibabu. 2010. Alkaline protease from *Bacillus cereus* VITSN04: Potential application as a dehairing agent. J. Biosci. Bioeng. 111: 128-133.
- Syed, A. R. 1992. Insecticide resistance in Malaysia. pp. 437-442. In: N. S. Talekar (ed.). Diamondback moth and other crucifer pests: proceedings of the Second International Workshop, December 10-14, 1990. Tainan, Taiwan.
- Tabashnik, B. E., N. Finson, J. M. Schwartz, M. A. Caprio, and M. W. Johnson. 1992. Diamondback moth resistance to *Bacillus thuringiensis* in Hawaii. pp. 175-183. In: N. S. Talekar (ed.). Diamondback moth and other crucifer pests: proceedings of the Second International Workshop, December 10-14, 1990. Tainan, Taiwan.
- Talaei-Hassanloui, R., A. Kharazi-Pakdel, M. Goettel, and J. Mozaffari. 2006. Variation in virulence of *Beauveria bassiana* isolates and its relatedness to some morphological characteristics. Biocontrol Sci. Techn. 16: 525-534.
- Talekar, N. S., and A. M. Shelton. 1993. Biology, ecology, and management of the diamondback moth. Annu. Rev. Entomol. 38: 275-301.
- Tanada, Y., and H. K. Kaya. 1993. Insect Pathology. Academic Press, Inc., San Diego, California. 666 pp.

- Thungrabeab, M., and S. Tongma. 2007. Effect of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* (Balsam) and *Metarhizium anisopliae* (Metsch) on non target insects. KMITL Sci. Tech. J. 7: 8-12.
- Triplehorn, C. A., and N. F. Johnson. 2005. Borror and DeLong's Introduction to the Study of Insects. 7th ed. Thomson Brooks/Cole, Belmont, California. 864 pp.
- Trizelia, and F. Nurdin. 2010. Virulence of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* isolates to *Crocidolomia pavonana* (F.) (Lepidoptera: Crambidae). Agrivita 32: 254-261.
- Vorechovsky, I. 2005. Single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis. pp. 73-77. In: J. M. Walker and R. Rapley (eds.). Medical Biomethods Handbook. Humana Press, Inc., Totowa, New Jersey.
- Wakisaka, S., R. Tsukuda, and F. Nakasuji. 1990. Effects of natural enemies, rainfall, temperature and host plants on survival and reproduction of the diamondback moth. pp. 15-26. In: N. S. Talekar (ed.). Diamondback moth and other crucifer pests: proceedings of the Second International Workshop, December 10-14, 1990. Tainan, Taiwan.
- Wang, C., and J. E. Powell. 2002. Isolation and evaluation of *Beauveria bassiana* for control of *Coptotermes formosanus* and *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae). Sociobiology 41: 1-13.
- Welling, M., G. Nachtigall, and G. Zimmermann. 1994. *Metarhizium* spp. isolates from Madagascar: morphology and effect of high temperature on locust, *Locusta migratoria*. Entomophaga 39: 351-361.
- Wiwat, C., S. Thaithanun, S. Pantuwatana, and A. Bhumiratana. 2000. Toxicity of chitinase-producing *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* HD-1 (G) toward *Plutella xylostella*. J. Invertebr. Pathol. 76: 270-277.
- Wu, J. H., S. Ali, and S. X. Ren. 2010. Evaluation of chitinase from *Metarhizium anisopliae* as biopesticide against *Plutella xylostella*. Pakistan J. Zool. 42: 521-528.
- Yike, I. 2011. Fungal proteases and their pathophysiological effects. Mycopathologia 171: 299-323.
- Yoon, C. S., G. H. Sung, H. S. Park, S. G. Lee, and J. O. Lee. 1999. Potential of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* strain CS-1 as a biological control agent of *Plutella xylostella* (Lep., Yponomeutidae). J. Appl. Ent. 123: 423-425.

- Zhang, Y., M. Feng, Y. Fan, Z. Luo, X. Yang, D. Wu, and Y. Pei. 2008. A cuticle-degrading protease (CDEP-1) of *Beauveria bassiana* enhances virulence. *Biocontrol Sci. Techn.* 18: 551-563.
- Zimmermann, G., B. Zelazny, R. Kleespies, and M. Welling. 1994. Biological control of African locusts by entomopathogenic microorganisms. pp. 127-138. *In*: S. Krall and H. Wilps (eds.). *New Trends in Locust Control*. GTZ, Eschborn, TZ-Verlagsgesellschaft Rossdorf.
- Zimmermann, G. 2007a. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Sci. Techn.* 17: 553-596.
- Zimmermann, G. 2007b. Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Sci. Techn.* 17: 879-920.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการเตรียมอาหาร และสารละลาย

1. Potato Dextrose Agar (PDA)

มันฝรั่งปอกเปลือกแล้ว	200	กรัม
Dextrose (D-glucose)	20	กรัม
ผงวุ้น	15	กรัม
dH2O added	1,000	มิลลิลิตร

ปอกเปลือกมันฝรั่ง และซั้งให้ได้ 200 กรัม แล้วหั่นมันฝรั่งเป็นชิ้นเล็ก ๆ คล้ายลูกเต๋า ประมาณ 1-2 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต้มกับน้ำกลั่นประมาณ 300 มิลลิลิตร จนสุก (ไม่ถึงกับเละ) กรองเอาเฉพาะส่วนน้ำด้วยผ้าขาวบาง เติมผง Dextrose ลงไปละลายในน้ำมันฝรั่ง คนให้เข้ากัน จากนั้นต้มผงวุ้นในน้ำประมาณ 500 มิลลิลิตร จนผงวุ้นสุก แล้วนำสารละลายทั้ง 2 มาผสมกัน แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2. Malt Agar (MA)

Malt extract	20	กรัม
ผงวุ้น	15	กรัม
dH2O added	1,000	มิลลิลิตร

นำผง malt extract ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 300 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน จากนั้นต้มผงวุ้นในน้ำประมาณ 500 มิลลิลิตร จนผงวุ้นสุก แล้วนำสารละลายทั้ง 2 มาผสมกัน แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

3. การเตรียม Colloidal Chitin Agar

1. colloidal chitin	150	กรัม
2. NaCl	0.250	กรัม
3. KH_2PO_4	0.375	กรัม
4. $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.125	กรัม
5. $(\text{NH}_4)_2\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_7$	0.625	กรัม
6. CaCO_3	0.375	กรัม
7. glycerol 87%	6.5	มิลลิลิตร
8. ฝรั่งน	15	กรัม
9. dH_2O added	1,000	มิลลิลิตร

4. Enzyme Producing Medium (EPM)

1. colloidal chitin	50	กรัม
2. NaCl	0.250	กรัม
3. KH_2PO_4	0.375	กรัม
4. $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.125	กรัม
5. $(\text{NH}_4)_2\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_7$	0.625	กรัม
6. CaCO_3	0.375	กรัม
7. glycerol 87%	6.5	มิลลิลิตร
8. dH_2O added	1,000	มิลลิลิตร

5. EDTA (pH 8.0)

EDTA ($\text{Na} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	186.1	กรัม
ddH_2O added to	1,000	มิลลิลิตร

6. Acetic acid solution (10%)

Glacial acetic acid	250	มิลลิลิตร
ddH_2O added to	2,500	มิลลิลิตร

7. 40% Acrylamide (49:1)

Acrylamide	156.8	กรัม
Bis-acrylamide	3.2	กรัม
ddH ₂ O added to	400	มิลลิลิตร

8. 40% Acrylamide (19:1)

Acrylamide	152	กรัม
Bis-acrylamide	8	กรัม
ddH ₂ O added to	400	มิลลิลิตร

9. AgNO₃ solution (0.1%)

AgNO ₃	2.5	กรัม
ddH ₂ O added to	2,500	มิลลิลิตร

10. Nitric acid solution (1%)

65% Nitric acid	35.5	มิลลิลิตร
ddH ₂ O added to	2,500	มิลลิลิตร

11. 1× TE buffer

1M Tris pH 8.0	10	มิลลิลิตร
0.5 M EDTA	2	มิลลิลิตร
ddH ₂ O added to	1,000	มิลลิลิตร

12. 10× TBE buffer

Tris-base	270	กรัม
Boric acid	137.5	กรัม
0.5M EDTA	100	มิลลิลิตร
ddH ₂ O added to	2,500	มิลลิลิตร

13. 50× TAE buffer

Tris-base	242	กรัม
Glacial Acetic acid	57.1	มิลลิลิตร
0.5 EDTA	100	มิลลิลิตร
ddH ₂ O added to	1,000	มิลลิลิตร

14. Phosphate-buffered saline (PBS) pH 4.7

NaCl	8	กรัม
Na ₂ HPO ₄ •2H ₂ O	1.44	กรัม
KH ₂ PO ₄	0.24	กรัม
KCl	0.20	กรัม
ddH ₂ O added to	1,000	มิลลิลิตร

15. 6% Polyacrylamide gel

Urea	1.5	กรัม
40%PAA (19:1)	0.75	มิลลิลิตร
10× TBE buffer	0.50	มิลลิลิตร
10% APS	50	ไมโครลิตร
TEMED	5	ไมโครลิตร
ddH ₂ O added to	5	มิลลิลิตร

16. 10% SSCP gel

40% PAA (49:1)	5	มิลลิลิตร
10× TBE buffer	1	มิลลิลิตร
Glycerol: Formamide	1	มิลลิลิตร
10% APS	50	ไมโครลิตร
TEMED	5	ไมโครลิตร
ddH ₂ O added to	20	มิลลิลิตร

17. SSCP loading buffer

Bromophenol blue	0.03	กรัม
Xylenecyanol	0.035	กรัม
ddH ₂ O	200	ไมโครลิตร
5N NaOH	100	ไมโครลิตร
Formamide added to	50	มิลลิลิตร

19. 0.2M Acetate buffer pH 5.0

Acetic acid	11.55	มิลลิลิตร
C ₂ H ₃ O ₂ Na	16.4	กรัม
ddH ₂ O added to	1,000	มิลลิลิตร



ภาคผนวก ข

วิธีการคำนวณที่ใช้ในการทดลอง และการย้อมเจดด้วยวิธี silver staining

1. การคำนวณหาความเข้มข้นของสารแขวนลอยจากเชื้อรา

อุปกรณ์ที่ใช้นับปริมาณโคนีเดียมีหลายชนิด ในการนับโคนีเดีย หรือสปอร์ที่มีขนาดเล็ก ความหนาแน่นสูง นิยมใช้ hemacytometer ซึ่งเป็นอุปกรณ์ขนาดเล็กมีรูปร่างคล้ายสไลด์ที่มีความหนามากกว่าสไลด์แก้วธรรมดา ตรงกลางมีร่องเป็นรูปตัว H ซึ่งเป็น scale ที่ใช้ในการตรวจนับเพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของสารแขวนลอย (ภาพผนวก 1) ลักษณะบนแผ่น hemacytometer นอกจากบอกชื่อบริษัท และแหล่งผลิตแล้ว ยังมีรายละเอียดอื่นๆ อีก เช่น

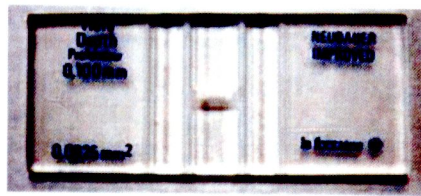
1. บอกระดับความลึก ทั่วไปคือ 0.1 มิลลิเมตร
2. บอกการขีดตาราง เช่น Hemacytometer เป็นตารางแบบ IMPROVED NEUBAUER (ภาพผนวก 4)
3. บอกระดับความลึก 0.1 มิลลิเมตร
4. บอกช่องเล็กที่สุดที่ขีดตารางไว้ เช่น 1/400 ตารางมิลลิเมตร
5. Hemacytometer จะมีตาราง 2 ตาราง มองดีๆ จะเห็นเส้นของตาราง

การคำนวณหาความเข้มข้นโดยใช้ Haemacytometer

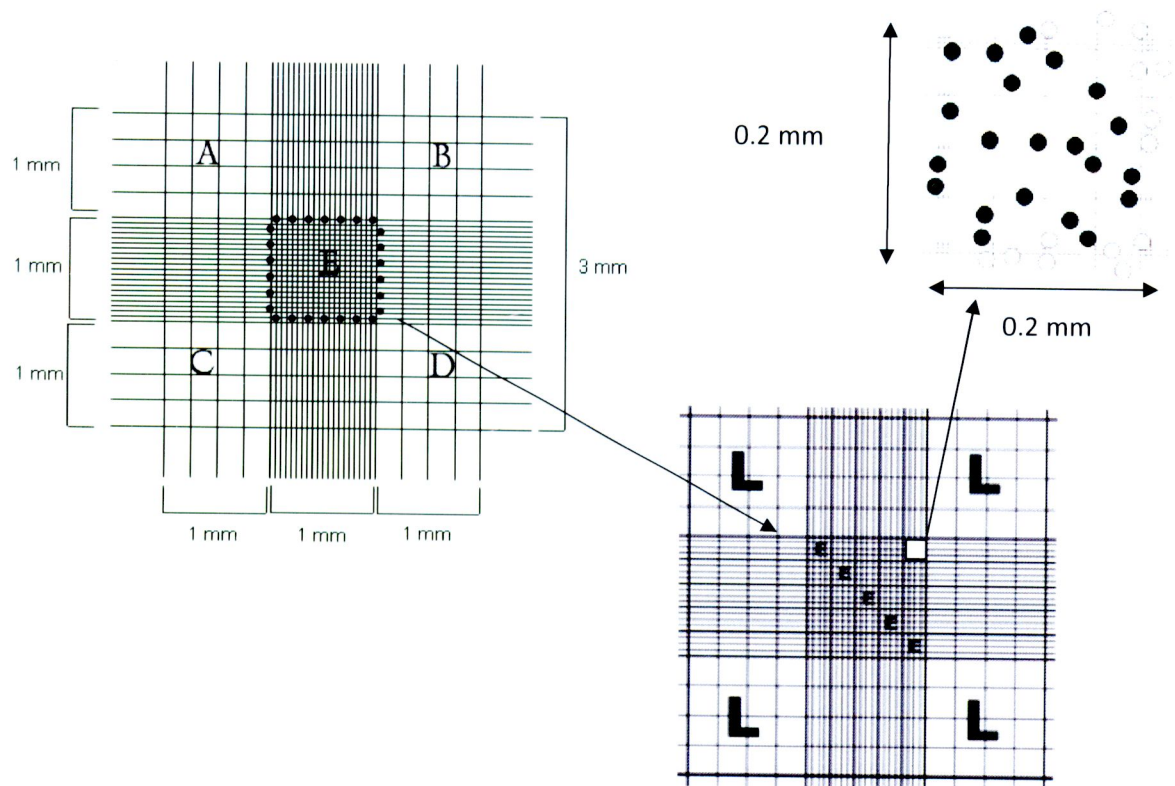
สารแขวนลอยของเชื้อราที่ใช้ในการคำนวณความเข้มข้นนั้นจะเติมด้วย Tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้โคนีเดียของเชื้อรามีการกระจายตัว โดยก่อนที่จะนำไปคำนวณนั้น จำนวน หรือปริมาณของโคนีเดียนั้นจะต้องถูกเจือจางด้วย Tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในอัตราส่วนต่าง ๆ แล้วหยดตัวอย่างสารแขวนลอยลงบนตารางทั้ง 2 ที่ปรากฏบน Haemacytometer โดยใช้ไมโครปิเปต แล้วใช้ cover slip ปิดทับเบาๆ และนำไปคำนวณหาความเข้มข้นภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100 เท่า ดังนี้

1. ช่อง 1, 2, 3, 4 และ 5 มีความกว้าง และยาว เท่ากับ 0.2 มิลลิเมตร
2. ดังนั้นปริมาตรสารแขวนลอยของตัวอย่างของช่อง 1, 2, 3, 4 หรือ 5 ช่องใดช่องหนึ่ง เท่ากับ ความกว้าง×ความยาว×ความลึก
3. ดังนั้นจะเท่ากับ 0.2 มม.×0.2 มม.×0.1 มม.

4. เมื่อทำให้อยู่ในรูปของหน่วย เซนติเมตร จะต้องเอา 10 ไปหาร ดังนั้นจะเท่ากับ $0.02 \text{ ซม.} \times 0.02 \text{ ซม.} \times 0.01 \text{ ซม.}$
5. เมื่อนำมาคูณกันทั้งหมดจะเท่ากับ 0.000004 ลบ.ซม. หรือ 0.000004 มล. หรือ $4 \times 10^{-6} \text{ มล.}$
6. เมื่อนับจำนวนของโคนิตีช่อง 1, 2, 3, 4 และ 5 ความหนาแน่นของโคนิตีจะเท่ากับ ค่าเฉลี่ยของโคนิตี 5 ช่อง $\times 1/4 \times 10^6$ โคนิตี/มิลลิลิตร หรือ ค่าเฉลี่ยของโคนิตี 5 ช่อง $\times 2.5 \times 10^5$ โคนิตี/มิลลิลิตร



ภาพผนวก 1 ลักษณะของ hemacytometer ที่ใช้ในการคำนวณความเข้มข้นของสารแขวนลอย



ภาพผนวก 2 ลักษณะตารางของ hemacytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า

2. การปรับเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงด้วย Abbott's formula

หากมีการตายของแมลงในกรรมวิธีควบคุม (control) ในช่วง 5-10 เปอร์เซ็นต์ ให้ปรับเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงด้วย Abbott's formula ดังนี้

$$\text{Corrected mortality (\%)} = \left(\frac{M_o - M_c}{100 - M_c} \right) \times 100$$

โดย M_o = เปอร์เซ็นต์การตายของแมลงที่สังเกต

M_c = เปอร์เซ็นต์การตายของแมลงในชุดควบคุม (control)

3. การย้อมด้วยวิธี silver staining

แช่แผ่นเจลใสในสารละลายกรดอะซิติก (acetic acid) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำไปแช่ในสารละลายกรดไนตริก (nitric acid) ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างด้วย dH_2O จำนวน 3 ครั้ง ก่อนนำไปแช่ด้วยสารละลาย silver nitrate ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ซึ่งถูกผสมด้วย formaldehyde ความเข้มข้น 37 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 300 ไมโครลิตร เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นล้างด้วย dH_2O จำนวน 2 ครั้ง และล้างด้วยสารละลาย $NaCO_2$ (เย็น) ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ที่เจือจางด้วย dH_2O ในอัตราส่วน 1: 2 ซึ่งถูกผสมด้วย formaldehyde ความเข้มข้น 37 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 300 ไมโครลิตร จำนวน 2 ครั้ง หลังจากนั้นแช่ในสารละลาย $NaCO_2$ (เย็น) ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งแถบดีเอ็นเอปรากฏจึงหยุดปฏิกิริยาด้วยสารละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลาสั้น ๆ ประมาณ 2 วินาที แล้วนำไปล้างด้วย dH_2O จำนวน 3 ครั้ง ก่อนนำแผ่นเจลไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง gel dryer

ภาคผนวก ค

วิธีการเตรียมซัพสเตรท การวัดกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนส และวิธีการทำเส้นมาตรฐาน

1. วิธีการเตรียม Colloidal Chitin

ชั่งผงไคตินมา 10 กรัม ละลายในกรดฟอสฟอริก ความเข้มข้น 85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (ค่อย ๆ คนให้ผงไคตินชุ่มไปด้วยกรดในบีกเกอร์ขนาด 2,000 มิลลิลิตร) แล้วปิดด้วยกระดาษฟลอยด์ และนำไปเก็บไว้ในตู้เย็นข้ามคืนที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นล้างกรดออกจากไคตินด้วยน้ำประปา และค่อย ๆ คนจนเกิดลักษณะแขวนลอย (คล้ายวุ้นสีขาวขุ่น) แล้วกรองด้วยผ้าขาวบางประมาณ 2 ชั้น ทำเช่นนี้หลาย ๆ รอบจน pH ของน้ำที่ผ่านการกรองด้วยผ้าขาวบาง เท่ากับ 7 และนำ colloidal chitin ที่ได้จากการกรองไปอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมงครึ่ง และนำไปเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2. วิธีการเตรียม DNS ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

ชั่ง NaOH 8 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50-100 มิลลิลิตร แล้วชั่ง DNS 5 กรัม เติลงไปในสารละลายซึ่งจะทำให้มีลักษณะเป็นก้อนที่ยังไม่ละลาย ค่อย ๆ เติม Na-K ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 150 กรัม จนละลายทั้งหมด (ใช้เวลาประมาณครึ่งวัน) ซึ่งสารละลายจะมีสีแดงอิฐ และหนืด (ในการเตรียม DNS นั้นต้องครอบด้วยวัสดุทึบแสงในขณะที่ทำการละลายบน stirrer เพราะสารตัวนี้ไวต่อแสง) จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น และเก็บไว้ในขวดสีชา

3. การวัดกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนส

การวัดกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสเป็นวิธีการวัดปริมาณของน้ำตาล (reducing sugar) ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ไคตินเนสกับสารตั้งต้นที่เป็นไคติน

สารเคมีที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา

5% colloidal chitin

0.1 M acetate buffer pH 5.0

1% DNS reagent

ตารางผนวก 1 ปฏิริยาของสารผสมที่ใช้ในการวัดกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนส

Reaction	Enzyme (μl)	5% colloidal chitin (μl)	0.1 M Acetate buffer (μl)
Enzyme substrate	125	125	-
Enzyme blank	125	-	125
Substrate blank	-	125	125
Blank	-	-	250

ปฏิริยาของสารผสมถูกนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติม 3,5 – Dinitrosalicylic acid (DNS) ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร เพื่อหยุดปฏิริยาของเอนไซม์ และนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีแดงอิฐ หลังจากนั้นนำไปแช่ในน้ำเย็นทันที และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer และนำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อคำนวณหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์

โดยเอนไซม์ 1 ยูนิต (IU) หมายถึงปริมาณของเอนไซม์ที่สามารถย่อยไคตินไปเป็น N-acetylglucosamine (GlcNAc) 1 ไมโครโมล ภายในเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

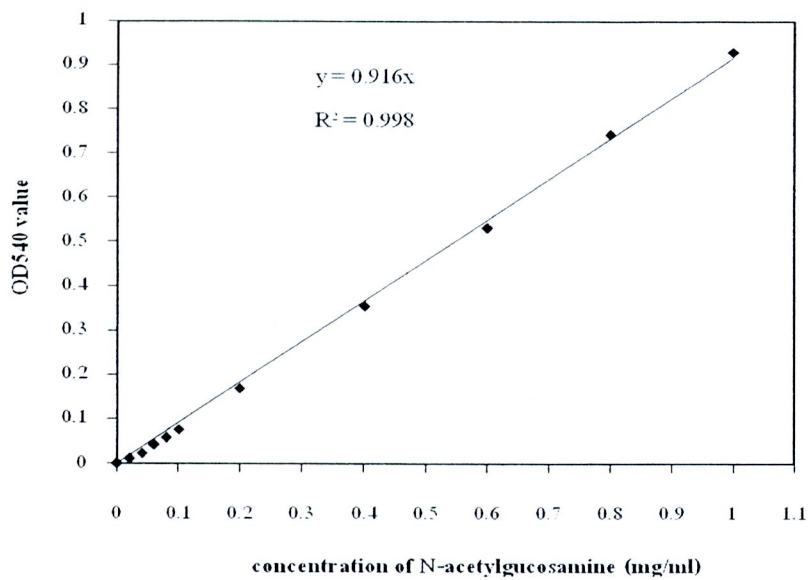
4. การทำเส้นกราฟมาตรฐานของสารละลาย N-acetylglucosamine (NAG)

4.1 เตรียมสารละลาย Stock solution ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยชั่ง NAG 0.01 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร แล้วนำมาเตรียมเป็นสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ดังตารางผนวก 40

ตารางผนวก 2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน N-acetylglucosamine ความเข้มข้น 0-1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	Stock solution (ไมโครลิตร)	ปริมาณน้ำกลั่น (ไมโครลิตร)
0	-	250
0.02	5	245
0.04	10	240
0.06	15	235
0.08	20	230
0.1	25	225
0.2	50	200
0.4	100	150
0.6	150	100
0.8	200	50
1	250	0

- 4.2 เติมสารละลาย DNS ปริมาตร 250 ไมโครลิตร
- 4.3 ต้มในน้ำเดือดนาน 10 นาที และทำให้เย็นโดยทันที
- 4.4 เติมน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร และนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร



ภาพผนวก 3 กราฟมาตรฐาน N-acetylglucodamine

ตารางผนวก 3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน N-acetylglucosamineความเข้มข้น 0-1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 540 นาโนเมตร
0	0
0.02	0.011
0.04	0.023
0.06	0.042
0.08	0.058
0.1	0.077
0.2	0.169
0.4	0.355
0.6	0.532
0.8	0.744
1	0.930

5. การคำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์โคติเนส

สารตั้งต้น (substrate) 125 ไมโครลิตร + เอนไซม์ (enzyme) 125 ไมโครลิตร



ปริมาตรรวม 250 ไมโครลิตร



บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที



วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร

$$\begin{aligned}
 \text{ปริมาณน้ำตาล} &= \frac{A_{540}}{\text{Slope}} \times \frac{250}{125} \text{ มิลลิลิตร} \times 1,000 \frac{\text{ไมโครกรัม}}{\text{มิลลิลิตร}} \\
 &= \frac{A_{540}}{\text{Slope}} \times 2 \times 1,000 \text{ ไมโครกรัม} \\
 &= \frac{A_{540}}{\text{Slope}} \times 2 \times 1,000 \times \frac{1}{221.2} \text{ ไมโครโมล} \\
 &= \frac{A_{540}}{\text{Slope}} \times 2 \times 1,000 \times \frac{1}{221.2} \times \frac{1}{20 \text{ นาที}} \times \frac{1}{125 \text{ ไมโครลิตร}} \times 1,000 \frac{\text{ไมโครลิตร}}{\text{มิลลิลิตร}} \\
 &= \frac{A_{540}}{\text{Slope}} \times 2 \times 1,000 \times \frac{1}{221.2} \times \frac{1}{20 \text{ นาที}} \times \frac{1,000}{125} \text{ มิลลิลิตร} \\
 &= \frac{A_{540}}{\text{Slope}} \times 3.6166 \text{ หน่วย/มิลลิลิตร}
 \end{aligned}$$

*มวลโมเลกุลของ N-acetylglucosamine เท่ากับ 221.2 กรัม/โมล

ภาคผนวก ง

วิธีการเตรียมขั้วสเตรท การวัดกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส และวิธีการทำเส้นมาตรฐาน

1. วิธีการเตรียมเคซีนความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์

ซึ่งผงเคซีน 2 กรัม ละลายใน 0.1 M acetate buffer pH 5.0 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และนำไปให้ต้มด้วยเครื่องไมโครเวฟ ที่ 600 วัตต์ ประมาณ 3-4 ครั้ง ครั้งละ 10 วินาที หลังจากเคซีนจับตัวกันเป็นก้อนแล้วนำไปปั่นพร้อมทั้งให้ความร้อน เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำน้ำที่กรองได้ไปใช้เป็นสารตั้งต้น

2. การวัดกิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส

การวัดกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสเป็นวิธีการวัดปริมาณของโปรตีนที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์โคติเนสกับสารตั้งต้นที่เป็นเคซีน

สารเคมีที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา

2% casein from bovine milk

0.1 M acetate buffer pH 5.0

10% Trochloroacetic acid (TCA)

0.5 N Folin Ciocalteu's phenol reagent

ตารางผนวก 4 ปฏิกริยาของสารผสมที่ใช้ในการวัดกิจกรรมของเอนไซม์โพรติเอส

Reaction	Enzyme (μl)	2% casein (μl)	0.1 M Acetate buffer (μl)
Enzyme substrate	100	400	-
Enzyme blank	100	-	400
Substrate blank	-	400	100
Blank	-	-	500

ปฏิกิริยาของสารผสมถูกนำไปป่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติม Trichloroacetic acid (TCA) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร และผสมให้เข้า

กัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิห้อง ความเร็ว 12,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วดูดเอาเฉพาะส่วนในสปีริมาตร 700 ไมโครลิตรใส่ลงไปในหลอดใหม่พร้อมทั้งเติม 0.4 M NaCO₃ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และ 0.5 N Folin Ciocalteu's phenol reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นผสมสารให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ด้วยอ่างควบคุมความร้อน และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีฟ้า หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer และนำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อคำนวณหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์

โดยเอนไซม์ 1 ยูนิต (IU) หมายถึงปริมาณของเอนไซม์ที่สามารถย่อยเคซีนไปเป็นไทโรซีน 1 ไมโครโมล ภายในเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

3. การทำเส้นกราฟมาตรฐานของสารละลาย Tyrosine

3.1 เตรียมสารละลาย Stock solution ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยชั่ง Tyrosine 0.01 กรัม ละลายใน 0.1 N HCl 10 มิลลิลิตร แล้วนำมาเตรียมเป็นสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 0.003, 0.003, 0.004, 0.005, 0.006, 0.007, 0.008, 0.009, 0.01, 0.02 และ 0.03 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ดังตารางผนวก 43

ตารางผนวก 5 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Tyrosine ความเข้มข้น 0-0.03 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

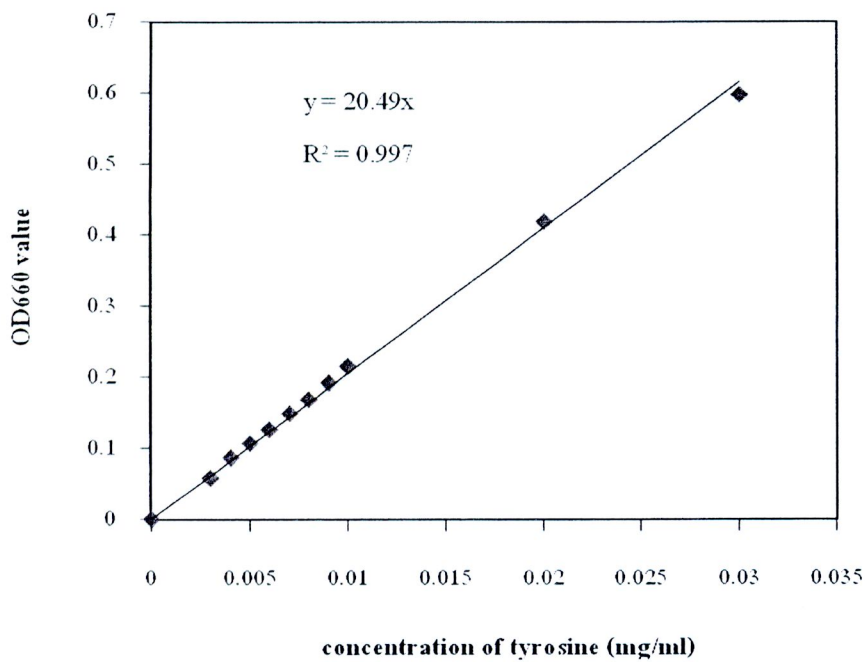
ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	Stock solution (ไมโครลิตร)	ปริมาณ 0.1 N HCl (ไมโครลิตร)
0	-	2,000
0.003	60	1,940
0.004	80	1,920
0.005	100	1,900
0.006	120	1,880
0.007	140	1,860
0.008	160	1,840
0.009	180	1,820
0.01	200	1,800
0.02	400	1,600
0.03	600	1,400

3.2 เติม TCA ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

3.3 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง

3.4 เติมเติม 0.4 M NaCO_3 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และ 0.5 N Folin Ciocalteu's phenol reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร

3.5 นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร



ภาพผนวก 4 กราฟมาตรฐาน Tyrosine

ตารางผนวก 6 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน Tyrosine ความเข้มข้น 0-0.03 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 540 นาโนเมตร
0	0
0.003	0.060
0.004	0.087
0.005	0.108
0.006	0.127
0.007	0.149
0.008	0.170
0.009	0.192
0.01	0.215
0.02	0.418
0.03	0.598

4. การคำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส

สารตั้งต้น (substrate) 400 ไมโครลิตร + เอนไซม์ (enzyme) 100 ไมโครลิตร



ปริมาตรรวม 500 ไมโครลิตร



บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที



วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร

$$\begin{aligned}
 \text{ปริมาณโปรตีน} &= \frac{A_{660}}{\text{Slope}} \times \frac{500}{100} \text{ มิลลิกรัม} \times 1,000 \frac{\text{ไมโครกรัม}}{\text{มิลลิกรัม}} \\
 &= \frac{A_{660}}{\text{Slope}} \times 5 \times 1,000 \text{ ไมโครกรัม} \\
 &= \frac{A_{660}}{\text{Slope}} \times 5 \times 1,000 \times \frac{1}{181.19} \text{ ไมโครโมล} \\
 &= \frac{A_{660}}{\text{Slope}} \times 5 \times 1,000 \times \frac{1}{181.19} \times \frac{1}{30 \text{ นาที}} \times \frac{1}{100 \text{ ไมโครลิตร}} \times 1,000 \frac{\text{ไมโครลิตร}}{\text{มิลลิลิตร}} \\
 &= \frac{A_{660}}{\text{Slope}} \times 5 \times 1,000 \times \frac{1}{181.19} \times \frac{1}{30 \text{ นาที}} \times \frac{1,000}{100} \text{ มิลลิลิตร} \\
 &= \frac{A_{660}}{\text{Slope}} \times 9.20 \text{ หน่วย/มิลลิลิตร}
 \end{aligned}$$

*มวลโมเลกุลของ Tyrosine เท่ากับ 181.19 กรัม/โมล

ภาคผนวก จ

การคำนวณหาค่า LT_{50} และ LC_{50}

ตารางผนวก 7 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไ้โซไ้เลข BCC1399 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	2	17.24	21.30
	2			6	58.62	54.51
	3			2	17.24	16.59
48.00	1	1.6812	10	6	58.62	53.19
	2			7	68.97	71.40
	3			4	37.93	41.59
72.00	1	1.8573	10	7	68.97	72.45
	2			8	79.31	79.32
	3			7	68.97	60.02
96.00	1	1.9823	10	9	89.66	82.67
	2			8	79.31	83.87
	3			7	68.97	71.82
120.00	1	2.0792	10	9	89.66	88.33
	2			8	79.31	86.82
	3			7	68.97	79.35
144.00	1	2.1584	10	9	89.66	91.69
	2			9	89.66	88.88
	3			9	89.66	84.31
168.00	1	2.2253	10	9	89.66	93.82
	2			10	100.00	90.39
	3			9	89.66	87.71

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.6544	0.0801	45.13	25.34	61.36
2	50	1.3061	0.2573	20.23	0.01	40.86
3	50	1.7614	0.0764	57.73	33.60	78.68

ตารางผนวก 8 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไ้โซเลท BCC1701 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	1	6.90	8.88
	2			4	37.93	30.46
	3			2	17.24	13.25
48.00	1	1.6812	10	3	27.59	36.16
	2			5	48.28	50.50
	3			5	48.28	48.78
72.00	1	1.8573	10	8	79.31	61.33
	2			5	48.28	62.59
	3			7	68.97	73.53
96.00	1	1.9823	10	8	79.31	76.70
	2			7	68.97	70.39
	3			8	79.31	85.59
120.00	1	2.0792	10	8	79.31	85.29
	2			8	79.31	75.73
	3			9	89.66	91.46
144.00	1	2.1584	10	9	89.66	90.21
	2			8	79.31	79.59
	3			10	100.00	94.54
168.00	1	2.2253	10	9	89.66	93.16
	2			10	89.66	82.47
	3			10	100.00	96.30

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.7785	0.0600	60.04	40.88	76.93
2	50	1.6741	0.1206	47.22	12.44	73.14
3	50	1.6893	0.0648	48.90	31.93	63.38

ตารางผนวก 9 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไ้โอโซเลท BCC1707 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	0	0.00	0.63
	2			2	17.24	16.67
	3			0	0.00	0.00
48.00	1	1.6812	10	0	0.00	10.18
	2			3	27.59	31.24
	3			0	0.00	0.01
72.00	1	1.8573	10	5	48.28	37.93
	2			5	48.28	42.34
	3			0	0.00	0.18
96.00	1	1.9823	10	8	79.31	66.88
	2			5	48.28	50.79
	3			0	0.00	1.64
120.00	1	2.0792	10	8	79.31	83.62
	2			6	58.62	57.34
	3			1	6.90	8.50
144.00	1	2.1584	10	9	89.66	91.59
	2			6	58.62	62.52
	3			4	37.93	27.44
168.00	1	2.2253	10	9	89.66	95.38
	2			7	68.97	66.69
	3			5	48.28	55.35

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.9088	0.0388	81.06	64.46	96.20
2	50	1.9706	0.0954	93.46	52.40	196.41
3	50	2.2132	0.0295	163.38	146.10	237.99

ตารางผนวก 10 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอลโซเลท BCC1858 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	0	0.00	0.01
	2			0	0.00	4.19
	3			1	6.90	0.27
48.00	1	1.6812	10	0	0.00	1.03
	2			0	0.00	4.19
	3			1	6.90	5.89
72.00	1	1.8573	10	2	26.11	14.87
	2			5	48.28	35.65
	3			2	17.24	28.26
96.00	1	1.9823	10	3	40.89	56.37
	2			7	68.97	77.05
	3			5	48.28	59.23
120.00	1	2.0792	10	6	85.22	85.91
	2			9	49.66	93.14
	3			8	79.31	80.00
144.00	1	2.1584	10	7	100.00	95.59
	2			10	100.00	97.70
	3			10	100.00	90.14
168.00	1	2.2253	10	7	100.00	98.44
	2			10	100.00	99.11
	3			10	100.00	94.85



*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.9663	0.0328	92.53	74.59	108.30
2	50	1.8983	0.0313	79.12	65.57	91.11
3	50	1.9465	0.0354	88.41	71.94	103.73

ตารางผนวก 11 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอลโซเลท BCC4810 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	3	27.59	26.51
	2			3	27.59	25.74
	3			4	37.93	33.40
48.00	1	1.6812	10	9	89.66	92.21
	2			8	79.31	80.18
	3			7	68.97	74.94
72.00	1	1.8573	10	10	100.00	98.92
	2			9	89.66	94.45
	3			9	89.66	89.48
96.00	1	1.9823	10	10	100.00	99.74
	2			10	100.00	79.93
	3			9	89.99	94.69
120.00	1	2.0792	10	10	100.00	99.92
	2			10	100.00	99.05
	3			10	100.00	96.94
144.00	1	2.1584	10	10	100.00	99.98
	2			10	100.00	99.50
	3			10	100.00	98.07
168.00	1	2.2253	10	10	100.00	99.98
	2			10	100.00	99.71
	3			10	100.00	98.69

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.4681	0.0525	29.39	21.16	38.92
2	50	1.5100	0.0644	32.36	20.98	42.38
3	50	1.4966	0.0833	31.37	16.82	42.98

ตารางผนวก 12 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอลิโอเลท BCC4849 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	-	-	-
	2			6	58.62	43.98
	3			6	58.62	50.01
48.00	1	1.6812	10	-	-	-
	2			6	58.62	67.33
	3			7	68.97	86.94
72.00	1	1.8573	10	-	-	-
	2			6	58.62	78.38
	3			10	100.00	95.28
96.00	1	1.9823	10	-	-	-
	2			8	79.31	84.40
	3			10	100.00	97.79
120.00	1	2.0792	10	-	-	-
	2			9	89.66	88.07
	3			10	100.00	98.79
144.00	1	2.1584	10	-	-	-
	2			10	100.00	90.49
	3			10	100.00	99.26
168.00	1	2.2253	10	-	-	-
	2			10	100.00	92.18
	3			10	100.00	99.51

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	-	-	-	-	-	
2	50	1.4557	0.1537	28.56	4.58	46.54
3	50	1.3802	0.0974	24.00	9.60	33.95

ตารางผนวก 13 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไ้โซเลท BCC5797 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	2	17.24	26.48
	2			0	0.00	11.12
	3			2	17.24	7.33
48.00	1	1.6812	10	6	58.62	49.80
	2			3	27.59	26.21
	3			4	37.93	57.25
72.00	1	1.8573	10	7	68.97	64.21
	2			6	58.62	39.54
	3			9	89.66	87.51
96.00	1	1.9823	10	8	79.31	73.21
	2			6	58.62	50.21
	3			10	100.00	95.78
120.00	1	2.0792	10	8	79.31	79.11
	2			6	58.62	58.53
	3			10	100.00	98.26
144.00	1	2.1584	10	8	79.31	83.17
	2			6	58.62	65.00
	3			10	100.00	99.16
168.00	1	2.2253	10	8	79.31	86.10
	2			6	58.62	70.08
	3			10	100.00	99.55

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.6836	0.1016	48.26	19.73	70.55
2	50	1.9798	0.0770	95.45	62.39	156.34
3	50	1.6502	0.0529	44.69	31.67	55.73

ตารางผนวก 14 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไคโซเลท BCC12636 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	0	0.00	1.09
	2			0	0.00	7.25
	3			1	6.90	3.10
48.00	1	1.6812	10	0	0.00	9.00
	2			0	0.00	7.25
	3			2	17.24	13.64
72.00	1	1.8573	10	3	40.89	26.31
	2			3	27.59	16.57
	3			2	17.24	28.67
96.00	1	1.9823	10	4	55.67	47.03
	2			3	27.59	27.79
	3			4	37.93	43.82
120.00	1	2.0792	10	4	55.67	64.29
	2			5	48.28	39.14
	3			6	58.62	56.60
144.00	1	2.1584	10	5	70.44	76.23
	2			5	48.28	49.45
	3			7	68.97	66.50
168.00	1	2.2253	10	6	85.22	83.94
	2			5	48.28	58.24
	3			8	79.31	73.90

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.9986	0.0509	99.67	73.40	130.77
2	50	2.1625	0.0678	145.37	112.63	277.55
3	50	2.0291	0.0544	106.94	81.31	147.53

ตารางผนวก 15 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอลโซเลท BCC14532 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	2	17.24	3.87
	2			4	48.28	42.46
	3			1	6.90	3.45
48.00	1	1.6812	10	2	17.24	23.49
	2			6	74.14	74.42
	3			3	27.59	22.56
72.00	1	1.8573	10	4	37.93	50.20
	2			6	74.14	86.65
	3			5	48.28	49.84
96.00	1	1.9823	10	5	48.28	70.09
	2			7	87.07	91.98
	3			5	48.28	70.35
120.00	1	2.0792	10	9	89.66	81.84
	2			8	100.00	94.69
	3			8	100.00	89.00
144.00	1	2.1584	10	10	100.00	88.50
	2			8	100.00	96.24
	3			10	100.00	89.00
168.00	1	2.2253	10	10	100.00	92.36
	2			8	100.00	97.20
	3			10	100.00	92.81

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.8561	0.0504	71.80	52.82	89.22
2	50	1.4469	0.1270	27.99	7.39	43.03
3	50	1.8582	0.0494	72.15	53.46	89.25

ตารางผนวก 16 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอลโซเลท BCC14841 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	1	6.90	7.64
	2			2	17.24	5.13
	3			0	0.00	0.98
48.00	1	1.6812	10	5	48.28	41.84
	2			3	27.59	29.53
	3			2	27.59	24.76
72.00	1	1.8573	10	7	68.97	71.82
	2			4	37.93	58.12
	3			3	27.59	24.76
96.00	1	1.9823	10	8	79.31	86.22
	2			6	58.62	76.44
	3			4	37.93	45.18
120.00	1	2.0792	10	9	89.66	92.62
	2			10	100.00	86.25
	3			4	37.93	62.68
144.00	1	2.1584	10	10	100.00	95.68
	2			10	100.00	91.46
	3			8	79.31	75.03
168.00	1	2.2253	10	10	100.00	97.29
	2			10	100.00	94.43
	3			10	100.00	83.09

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.7271	0.0561	53.34	37.35	67.14
2	50	1.8092	0.0528	64.44	46.42	80.45
3	50	2.0086	0.0422	102.00	81.18	126.37

ตารางผนวก 17 แสดงค่า LT₅₀ ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอลโซเลท BCC16041 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	1	6.90	6.62
	2			1	6.90	2.67
	3			0	0.00	1.44
48.00	1	1.6812	10	5	48.28	33.30
	2			4	37.93	39.77
	3			4	37.93	30.31
72.00	1	1.8573	10	5	48.28	61.00
	2			7	68.97	80.94
	3			7	68.97	76.02
96.00	1	1.9823	10	6	58.62	77.86
	2			10	100.00	94.08
	3			9	89.66	92.85
120.00	1	2.0792	10	9	89.66	86.83
	2			10	100.00	97.79
	3			10	100.00	97.48
144.00	1	2.1584	10	10	100.00	91.68
	2			10	100.00	99.03
	3			10	100.00	98.95
168.00	1	2.2253	10	10	100.00	94.45
	2			10	100.00	99.03
	3			10	100.00	99.51

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.7884	0.0557	61.43	43.29	77.42
2	50	1.7205	0.0455	52.54	39.25	63.78
3	50	1.7550	0.0420	56.89	43.67	68.25

ตารางผนวก 18 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอลโซเลท BCC17599 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	3	35.35	28.52
	2			3	27.59	23.82
	3			4	37.93	36.25
48.00	1	1.6812	10	5	61.21	63.66
	2			7	68.97	65.19
	3			8	79.31	74.89
72.00	1	1.8573	10	6	74.14	80.62
	2			7	68.97	84.22
	3			8	79.31	88.72
96.00	1	1.9823	10	6	74.14	88.49
	2			9	89.66	91.81
	3			9	89.66	93.99
120.00	1	2.0792	10	8	100.00	92.52
	2			10	100.00	95.23
	3			10	100.00	96.38
144.00	1	2.1584	10	8	100.00	94.81
	2			10	100.00	96.96
	3			10	100.00	97.63
168.00	1	2.2253	10	8	100.00	96.21
	2			10	100.00	97.94
	3			10	100.00	98.35

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.5672	0.0983	36.91	16.15	53.01
2	50	1.5757	0.0751	37.65	22.30	50.37
3	50	1.4827	0.0906	30.39	14.96	42.42

ตารางผนวก 19 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอลโซเลท BCC18058 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	3	27.59	29.57
	2			3	27.59	30.83
	3			5	48.28	40.62
48.00	1	1.6812	10	4	37.93	45.91
	2			6	58.62	57.12
	3			7	68.97	85.29
72.00	1	1.8573	10	7	68.97	56.15
	2			8	79.31	71.66
	3			10	100.00	95.29
96.00	1	1.9823	10	7	68.97	63.17
	2			8	79.31	79.93
	3			10	100.00	98.00
120.00	1	2.0792	10	7	68.97	68.26
	2			8	79.31	85.00
	3			10	100.00	98.99
144.00	1	2.1584	10	7	68.97	68.26
	2			9	89.66	88.31
	3			10	100.00	99.42
168.00	1	2.2253	10	7	68.97	75.16
	2			9	89.66	90.60
	3			10	100.00	99.64

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.7515	0.1265	56.43	9.02	95.13
2	50	1.6024	0.1074	40.03	15.46	58.69
3	50	1.4337	0.0786	27.15	14.55	36.82

ตารางผนวก 20 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอลโซเลท BCC18059 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	3	27.59	21.30
	2			0	0.00	2.45
	3			2	17.24	14.79
48.00	1	1.6812	10	6	58.62	59.35
	2			5	48.28	33.87
	3			4	37.93	46.05
72.00	1	1.8573	10	7	68.97	79.65
	2			6	58.62	74.92
	3			8	79.31	68.42
96.00	1	1.9823	10	8	79.31	88.73
	2			9	89.66	91.26
	3			8	79.31	80.76
120.00	1	2.0792	10	10	100.00	93.13
	2			10	100.00	96.50
	3			8	79.31	87.51
144.00	1	2.1584	10	10	100.00	95.48
	2			10	100.00	98.39
	3			9	89.66	91.42
168.00	1	2.2253	10	10	100.00	96.85
	2			10	100.00	99.17
	3			10	100.00	93.82

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.6136	0.0749	41.08	24.41	54.91
2	50	1.7481	0.0453	55.98	42.09	67.87
3	50	1.7112	0.0693	51.43	32.24	67.76

ตารางผนวก 21 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไ้โอโซเลท BCC19012 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	1	6.90	0.85
	2			-	-	-
	3			3	27.59	31.59
48.00	1	1.6812	10	2	17.24	16.40
	2			-	-	-
	3			9	89.66	78.81
72.00	1	1.8573	10	4	37.93	55.05
	2			-	-	-
	3			9	89.66	92.65
96.00	1	1.9823	10	8	79.31	81.79
	2			-	-	-
	3			9	89.66	96.77
120.00	1	2.0792	10	10	100.00	92.49
	2			-	-	-
	3			10	100.00	98.32
144.00	1	2.1584	10	10	100.00	96.56
	2			-	-	-
	3			10	100.00	99.03
168.00	1	2.2253	10	10	100.00	98.25
	2			-	-	-
	3			10	100.00	99.38

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.8378	0.0401	68.84	53.98	81.86
2	-	-	-	-	-	
3	50	1.4917	0.0740	31.03	18.25	41.55

ตารางผนวก 22 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอลโซเลท BCC22353 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	2	17.24	20.80
	2			0	0.00	3.77
	3			-	-	-
48.00	1	1.6812	10	3	27.59	30.97
	2			2	17.24	11.58
	3			-	-	-
72.00	1	1.8573	10	5	48.28	38.04
	2			3	27.59	20.98
	3			-	-	-
96.00	1	1.9823	10	5	48.28	43.40
	2			3	27.59	30.48
	3			-	-	-
120.00	1	2.0792	10	5	48.28	47.67
	2			3	27.59	39.28
	3			-	-	-
144.00	1	2.1584	10	5	48.28	51.19
	2			5	48.28	47.06
	3			-	-	-
168.00	1	2.2253	10	5	48.28	54.16
	2			6	58.62	53.76
	3			-	-	-

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	2.1316	0.1775	135.41	0.00	****
2	50	2.1877	0.0933	154.07	111.31	481.40
3	-	-	-	-	-	-

ตารางผนวก 23 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไ้โอโซเลท BCC22355 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	2	17.24	3.87
	2			2	26.11	52.59
	3			0	27.59	22.84
48.00	1	1.6812	10	2	17.24	23.49
	2			4	55.67	52.59
	3			3	27.59	22.84
72.00	1	1.8573	10	4	37.93	50.20
	2			4	55.67	73.81
	3			6	58.62	52.67
96.00	1	1.9823	10	5	48.28	70.09
	2			5	70.44	84.52
	3			7	68.97	74.02
120.00	1	2.0792	10	9	89.66	81.84
	2			7	100.00	90.12
	3			8	79.31	85.52
144.00	1	2.1584	10	10	100.00	88.50
	2			7	100.00	93.28
	3			9	89.66	91.46
168.00	1	2.2253	10	10	100.00	92.36
	2			7	100.00	95.19
	3			10	100.00	94.66

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.8561	0.0504	71.80	52.82	89.22
2	50	1.6617	0.0878	45.89	22.64	64.56
3	50	1.8431	0.0479	69.68	52.04	85.51

ตารางผนวก 24 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอลีโซเลท BCC25950 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	2	17.24	16.46
	2			2	17.24	16.82
	3			1	8.05	9.80
48.00	1	1.6812	10	9	89.66	91.55
	2			7	68.97	63.98
	3			6	65.52	60.65
72.00	1	1.8573	10	10	100.00	99.12
	2			8	79.31	86.36
	3			8	88.51	87.91
96.00	1	1.9823	10	10	100.00	99.83
	2			9	89.66	93.97
	3			8	88.51	95.62
120.00	1	2.0792	10	10	100.00	99.95
	2			10	100.00	96.91
	3			9	100.00	98.09
144.00	1	2.1584	10	10	100.00	99.98
	2			10	100.00	98.23
	3			9	100.00	99.04
168.00	1	2.2253	10	10	100.00	99.99
	2			10	100.00	98.90
	3			9	100.00	99.47

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.8561	0.0504	71.80	52.82	89.22
2	50	1.6617	0.0878	45.89	22.64	64.56
3	50	1.8431	0.0479	69.68	52.04	85.51

ตารางผนวก 25 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอลโซเลท Bb.2637 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	4	37.93	27.06
	2			5	48.28	57.28
	3			5	48.28	39.77
48.00	1	1.6812	10	4	37.93	48.88
	2			8	79.31	63.85
	3			7	68.97	72.39
72.00	1	1.8573	10	6	58.62	62.46
	2			8	79.31	90.53
	3			7	68.97	85.45
96.00	1	1.9823	10	7	68.97	71.14
	2			9	89.66	94.11
	3			9	89.66	91.23
120.00	1	2.0792	10	7	68.97	76.98
	2			10	100.00	95.97
	3			10	100.00	94.19
144.00	1	2.1584	10	8	79.31	81.09
	2			10	100.00	97.06
	3			10	100.00	95.89
168.00	1	2.2253	10	10	100.00	84.11
	2			10	100.00	97.75
	3			10	100.00	96.94

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.6954	0.1058	49.60	18.52	73.77
2	50	1.3090	0.1337	20.37	5.11	31.79
3	50	1.4708	0.1084	29.57	11.57	43.19

ตารางผนวก 26 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอลโซเลท Bb.4591 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	6	58.62	53.48
	2			0	0.00	1.72
	3			1	6.90	2.33
48.00	1	1.6812	10	8	79.31	90.22
	2			0	0.00	10.59
	3			3	27.59	23.91
72.00	1	1.8573	10	10	100.00	96.89
	2			1	31.04	26.61
	3			4	37.93	58.71
96.00	1	1.9823	10	10	100.00	98.67
	2			2	65.52	44.49
	3			8	88.51	80.58
120.00	1	2.0792	10	10	100.00	99.31
	2			2	65.52	59.72
	3			8	88.51	90.49
144.00	1	2.1584	10	10	100.00	99.60
	2			2	65.52	71.03
	3			9	100.00	94.94
168.00	1	2.2253	10	10	100.00	99.75
	2			2	65.52	78.95
	3			9	100.00	97.09

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.3600	0.0942	22.91	8.58	32.07
2	50	2.0171	0.0856	104.02	24.84	545.64
3	50	1.8163	0.0462	65.51	49.45	79.99

ตารางผนวก 27 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไ้โซเลท Bb.5335 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	3	27.59	18.56
	2			3	35.35	30.36
	3			6	58.62	54.60
48.00	1	1.6812	10	5	48.28	53.82
	2			6	74.14	85.17
	3			8	79.31	82.90
72.00	1	1.8573	10	7	68.97	75.17
	2			8	100.00	96.29
	3			9	89.66	91.63
96.00	1	1.9823	10	7	68.97	85.63
	2			8	100.00	98.70
	3			9	89.66	95.13
120.00	1	2.0792	10	10	100.00	90.97
	2			8	100.00	99.43
	3			10	100.00	96.83
144.00	1	2.1584	10	10	100.00	90.97
	2			8	100.00	99.71
	3			10	100.00	97.78
168.00	1	2.2253	10	10	100.00	95.70
	2			8	100.00	99.84
	3			10	100.00	98.37

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.6530	0.0731	44.97	27.21	59.82
2	50	1.4772	0.0714	30.00	17.37	40.94
3	50	1.3403	0.1389	21.89	4.71	34.29

ตารางผนวก 28 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอลโซเลท Bb.6241 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	4	37.93	36.56
	2			2	35.42	11.94
	3			2	17.24	16.97
48.00	1	1.6812	10	9	89.66	92.82
	2			3	35.35	48.43
	3			7	68.97	67.79
72.00	1	1.8573	10	10	100.00	98.76
	2			6	74.14	74.45
	3			9	89.66	89.17
96.00	1	1.9823	10	10	100.00	99.66
	2			6	74.14	86.68
	3			9	89.66	95.59
120.00	1	2.0792	10	10	100.00	99.87
	2			8	100.00	92.38
	3			10	100.00	97.87
144.00	1	2.1584	10	10	100.00	99.94
	2			8	100.00	95.28
	3			10	100.00	98.83
168.00	1	2.2253	10	10	100.00	99.97
	2			8	100.00	96.88
	3			10	100.00	99.30

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.4335	0.0570	27.14	17.77	35.86
2	50	1.6910	0.0699	49.09	30.08	65.03
3	50	1.5852	0.0625	38.48	25.56	49.69

ตารางผนวก 29 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไ้โซเลข M.6079 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	0	0.00	1.91
	2			0	0.00	1.01
	3			0	0.00	0.11
48.00	1	1.6812	10	2	19.54	18.69
	2			2	17.24	17.83
	3			1	6.90	7.18
72.00	1	1.8573	10	5	54.02	49.37
	2			7	68.97	56.51
	3			5	48.28	48.65
96.00	1	1.9823	10	7	77.01	73.11
	2			7	68.97	82.23
	3			9	89.66	84.85
120.00	1	2.0792	10	7	77.01	85.79
	2			9	89.66	92.53
	3			9	89.66	95.70
144.00	1	2.1584	10	8	88.51	92.02
	2			10	100.00	96.52
	3			10	100.00	98.56
168.00	1	2.2253	10	9	100.00	95.23
	2			10	100.00	98.20
	3			10	100.00	99.44

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.8604	0.0471	72.51	54.15	88.89
2	50	1.8316	0.0409	67.85	52.92	80.92
3	50	1.8611	0.0330	72.63	59.36	84.18

ตารางผนวก 30 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไ้โซเลข B.7683 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	3	27.59	22.81
	2			0	0.00	8.87
	3			6	58.62	56.63
48.00	1	1.6812	10	7	68.97	76.04
	2			1	11.33	8.87
	3			9	89.66	94.05
72.00	1	1.8573	10	9	89.66	92.71
	2			3	40.89	32.81
	3			10	100.00	98.55
96.00	1	1.9823	10	10	100.00	97.15
	2			4	55.67	60.52
	3			10	100.00	99.48
120.00	1	2.0792	10	10	100.00	98.65
	2			4	55.67	78.83
	3			10	100.00	99.77
144.00	1	2.1584	10	10	100.00	99.27
	2			7	100.00	88.49
	3			10	100.00	99.88
168.00	1	2.2253	10	10	100.00	99.57
	2			7	100.00	93.42
	3			10	100.00	99.93

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.5348	0.0646	34.26	22.28	44.73
2	50	1.9356	0.0462	86.22	63.99	106.80
3	50	1.3480	0.0837	22.29	7.19	30.31

ตารางผนวก 31 แสดงค่า LT_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอลโซเลท M.7965 ทั้ง 3 ซ้ำ

ACTUAL DOSE	Rep.	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
24.00	1	1.3802	10	2	17.24	14.91
	2			2	17.24	7.33
	3			2	19.54	7.28
48.00	1	1.6812	10	8	79.31	84.81
	2			3	27.59	43.85
	3			2	19.54	37.05
72.00	1	1.8573	10	10	100.00	97.69
	2			8	79.31	74.88
	3			6	65.52	65.66
96.00	1	1.9823	10	10	100.00	99.44
	2			8	79.31	88.52
	3			7	77.01	81.52
120.00	1	2.0792	10	10	100.00	99.82
	2			10	100.00	94.16
	3			8	88.51	89.41
144.00	1	2.1584	10	10	100.00	99.93
	2			10	100.00	96.72
	3			9	100.00	93.48
168.00	1	2.2253	10	10	100.00	99.97
	2			10	100.00	98.00
	3			9	100.00	95.73

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

Rep.	N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
1	50	1.5317	0.0535	34.02	24.37	43.74
2	50	1.7138	0.0551	51.73	36.45	64.88
3	50	1.7605	0.0594	57.61	39.10	73.59

ตารางผนวก 32 แสดงค่า LC_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอลโซเลท BCC4849 ที่ 96 ชั่วโมง

ACTUAL DOSE	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
100000	5.0000	30	11	36.00	34.22
1000000	6.0000	30	20	68.00	66.18
10000000	7.0000	30	24	80.00	88.04
100000000	8.0000	30	30	100.00	96.51
1000000000	9.0000	30	30	100.00	99.05

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
50	5.4933	0.1983	311415	99655	700290

ตารางผนวก 33 แสดงค่า LC_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอลโซเลท BCC14841 ที่ 96 ชั่วโมง

ACTUAL DOSE	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
100000	5.0000	30	6	20.00	15.43
1000000	6.0000	30	8	28.00	30.15
10000000	7.0000	30	13	44.00	50.54
100000000	8.0000	30	22	72.00	70.75
1000000000	9.0000	30	26	88.00	85.13

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS	
50	6.9749	0.2204	9438314	3257429	27130466

ตารางผนวก 34 แสดงค่า LC_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอลิโซเลท BCC22353 ที่ 96 ชั่วโมง

ACTUAL DOSE	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
100000	5.0000	30	6	20.00	15.36
1000000	6.0000	30	7	24.00	22.91
10000000	7.0000	30	7	24.00	32.74
100000000	8.0000	30	12	40.00	44.36
1000000000	9.0000	30	19	64.00	56.63

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS
50	8.4591	0.4850	287837105	51019365 10000000000

ตารางผนวก 35 แสดงค่า LC_{50} ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงไอลิโซเลท Bb.5335 ที่ 96 ชั่วโมง

ACTUAL DOSE	LOG DOSE	NUMBER TESTED	NUMBER DEAD	PERCENT RESPONSE	EXPECTED RESPONSE
100000	5.0000	30	8	28.00	22.22
1000000	6.0000	30	13	44.00	40.78
10000000	7.0000	30	13	44.00	62.40
100000000	8.0000	30	25	84.00	80.00
1000000000	9.0000	30	29	96.00	90.60

*** DATA ASSUMED TO BE BINOMIAL ***

N	L.D. (N)	S.E.	ANTILOG L.D.	95% CONF. LIMITS
50	6.4242	0.2254	2655907	815065 7199509

ภาคผนวก จ

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางผนวก 36 แสดงผลการเปรียบเทียบความแตกต่างค่า LT_{50} เฉลี่ยของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง
จำนวน 25 ไอโซเลท ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99 เปอร์เซ็นต์

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	24	53238.142	2218.256	5.446	.000
Within Groups	47	19144.606	407.332		
Total	71	72382.747			

ตารางผนวก 37 แสดงผลการเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ย (อัตราการเจริญเติบโตเป็นเชื้อรา
สาเหตุโรคแมลง (%)) ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงจำนวน 25 ไอโซเลท ที่ระดับ
ความเชื่อมั่นที่ 99 เปอร์เซ็นต์

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	24	31811.809	1325.492	3.240	.000
Within Groups	50	20456.467	409.129		
Total	74	52268.275			

ตารางผนวก 38 แสดงผลการเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ย (อัตราส่วนระหว่างขนาดของ
clear zone และขนาดของโคโลนี) ของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงจำนวน 10 ไอโซเลท ใน
วันที่ 1 ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99 เปอร์เซ็นต์

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9	14.151	1.572	21.485	.000
Within Groups	20	1.464	0.073		
Total	29	15.614			

ตารางผนวก 39 แสดงผลการเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ย (อัตราส่วนระหว่างขนาดของ clear zone และขนาดของโคโลนี) ของเชื้อราเห็ดโรคมะเร็งจำนวน 10 ไอโซเลต ในวันที่ 2 ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99 เปอร์เซ็นต์

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9	11.013	1.224	111.610	.000
Within Groups	20	0.219	0.011		
Total	29	11.232			

ตารางผนวก 40 แสดงผลการเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ย (อัตราส่วนระหว่างขนาดของ clear zone และขนาดของโคโลนี) ของเชื้อราเห็ดโรคมะเร็งจำนวน 10 ไอโซเลต ในวันที่ 3 ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99 เปอร์เซ็นต์

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9	11.432	1.270	1.083E3	.000
Within Groups	20	0.023	0.001		
Total	29	11.455			

ตารางผนวก 41 แสดงผลการเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ย (อัตราส่วนระหว่างขนาดของ clear zone และขนาดของโคโลนี) ของเชื้อราเห็ดโรคมะเร็งจำนวน 10 ไอโซเลต ในวันที่ 4 ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99 เปอร์เซ็นต์

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9	9.305	1.034	797.306	.000
Within Groups	20	0.026	0.001		
Total	29	9.330			

ตารางผนวก 42 แสดงผลการเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ย (อัตราส่วนระหว่างขนาดของ clear zone และขนาดของโคโลนี) ของเชื้อราเห็ดโรคมะเร็งจำนวน 10 ไอโซเลต ในวันที่ 5 ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99 เปอร์เซ็นต์

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9	9.528	1.059	1.736E3	.000
Within Groups	20	0.012	0.001		
Total	29	9.540			

ตารางผนวก 43 แสดงผลการเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ย (อัตราส่วนระหว่างขนาดของ clear zone และขนาดของโคโลนี) ของเชื้อราเห็ดโรคมะเร็งจำนวน 10 ไอโซเลต ในวันที่ 6 ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99 เปอร์เซ็นต์

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9	7.552	0.839	1.624E3	.000
Within Groups	20	0.010	0.001		
Total	29	7.562			

ตารางผนวก 44 แสดงผลการเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ย (อัตราส่วนระหว่างขนาดของ clear zone และขนาดของโคโลนี) ของเชื้อราเห็ดโรคมะเร็งจำนวน 10 ไอโซเลต ในวันที่ 7 ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99 เปอร์เซ็นต์

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9	7.473	0.830	8.036E3	.000
Within Groups	20	0.002	0.000		
Total	29	7.475			

ตารางผนวก 45 แสดงผลการวิเคราะห์ด้วย linear regression ระหว่างค่า LT_{50} และการเจริญเติบโต เป็นเชื้อราแมลงของเชื้อราสาเหตุโรคมะเร็งจำนวน 25 ไอโซเลต ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99 เปอร์เซ็นต์

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1	3252.445	3252.445	4.314038	.0491
Within Groups	23	17340.19	753.9213		
Total	24	20592.63			

ตารางผนวก 46 แสดงผลการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่า LT_{50} ของเชื้อราเห็ดโรคมะเร็งสกุล *Metarhizium* spp. จำนวน 11 ไอโซเลต ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99 เปอร์เซ็นต์

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10	37629.746	3762.975	9.204	.000
Within Groups	20	8176.489	408.824		
Total	30	45806.235			

ภาคผนวก ข

สารเคมี และอุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์

สารเคมี

1. Acetic acid	Merck, Germany
2. Acrylamide	Amersham, Bioscience, Sweden
3. Agar	Union Sciences, Thailand
4. Ammonium citrate	Bio Basic Inc., Canada
5. Ammonium persulfate (APS)	USB corporation, USA
6. Bis-Acrylamide	Amersham Bioscience, Sweden
7. Boric acid	Merck, Germany
8. Casine from bovine milk	Sigma-aldrich, USA
9. Calcium carbonate	Merck, Germany
10. Cetyltrimethyl Ammonium Bromide (CTAB)	Bio Basic Inc., USA
11. Chitin from crab shell	Sigma-aldrich, USA
12. Chloroform	Lab Scan, Ireland
13. Dextros (D-glucose)	Union Sciences, Thailand
14. Dinitrosalicylic acid (DNS)	Fluka, USA
15. dNTPs	Fermentus, USA
16. EDTA	Bio Basic Inc., USA
17. Ethanol	Merck, Germany
18. Ethidium bromide	Bio Basic Inc., Canada
19. Folin Ciocalteu's plenol	Merck, Germany
20. Formaldehyde 37%	Merck, Germany
21. Glycerol 37%	Merck, Germany
22. Hydrochloric acid	Merck, Germany
23. Isoamyl alcohol	Merck, Germany
24. Isopropyl alcohol	Bio Basic Inc., Canada

25. Magnesium chloride	Merck, Germany
26. Magnesium sulfate	Bio Basic Inc., Canada
27. Malt extract	Merck, Germany
28. N-acetyl glucosamine	Fluka, USA
29. Nitric acid	Merck, Germany
30. N, N'-dimethylformamide	Bio Basic Inc., Canada
31. Ortho-phosphoric acid 85%	Merck, Germany
32. Peptone	Merck, Germany
33. Phenol: chloroform: isoamyl alcohol	Research Organics, USA
34. Potassium dihydrogen phosphate	Merck, Germany
35. Primers	Bio Basic Inc., Canada
36. Proteinase K	Invitrogen, USA
37. Silver nitrate	Merck, Germany
38. Sodium acetate	Merck, Germany
39. Sodium bicarbonate	Merck, Germany
40. Sodium chloride	Merck, Germany
41. Sodium dodecyl sulfate (SDS)	Bio Basic Inc., Canada
42. Sodium hydroxide	Merck, Germany
43. Sodium hypochlorite	Union Sciences, Thailand
44. Sodium potassium tartrate	Ajax Finechem, Australia
45. <i>Taq</i> DNA polymerase	Fermentus, USA
46. TEMED	Bio Basic Inc., Canada
47. Trichloroacetic acid (TCA)	Merck, Germany
48. Tris	USB corporation, USA
49. Tween 80	Merck, Germany
50. Tyrosine	Fluka, USA
51. Urea	Research Organics, USA

อุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์

1. Biological safety cabinet, Model HFsafe-1200, Heal Force Bio-Meditech, China
2. Cuvette, Germany
3. Electrophoresis Power Supply, Model EPS301, Amersham Biosciences, Sweden
4. Electrophoresis System, Model Mupid-exU, Takara Bio Inc., Japan
5. Gel Documentation, Model Gene Genium and Gene Tools, USA
6. Gel dryer, Model GD 2000, Amersham Biosciences, USA
7. Haemacytometer, Neubauer Precicolor HBG, Germany
8. Lamina Air Flow, Model HFsafe-1200, Heal Force Bio-Meditech Holding, China
9. Low temperature centrifuge, Model Hettich Universal 32R, DJB Labcare, Germany
10. Low temperature incubator, Model MIR 153, Sanyo, Japan
11. Low temperature shaking incubator, Model VS-8430SFN, Vision Scientific, Korea
12. Magnetic Stirrer, Model HS115, HL Instrument, Thailand
13. Microcentrifuge tube 1.5 ml, Hycon, USA
14. Microwave, Model NN-MX21WF, Panasonic, Thailand
15. PCR Tube, Neptune, USA
16. pH Meter, Model CG842, Schott-Gerate, Germany
17. Pipette 0.2 µl, CappAero, Denmark
18. Pipette 2, 20, 200 µl, Gilson S.A.S., France
19. Pipette 1,000 µl, Biohit Oyj, Finland
20. Shaking incubator, Model DK-SI001, Daiki Sciences, Korea
21. Spectrophotometer, Genesys 10 UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, USA
22. Spectrophotometer, NanoDrop 200c, Thermo Fisher Scientific, USA
23. TProfessional Basic, Models: with gradient, Biometra, Germany
24. Vortex mixer, Genie II Model G560E, Scientific Industries, USA
25. Water bath WB14, Memmert, Germany



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล

นายนราทร นุชฉาย

วัน เดือน ปี เกิด

19 ธันวาคม พ.ศ. 2527

ประวัติการศึกษา

สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนรังษีวิทยา อำเภอฝาง
จังหวัดเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2545

สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)
สาขากีฏวิทยา คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ปีการศึกษา
2549

