การใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากไซยาโนแบคทีเรียเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช

UTILIZATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM CYANOBACTERIA FOR THE CONTROL OF INSECT PEST

T032866

จิราภรณ์ พลชัย

JIRAPORN POLCHAI

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2542

ISBN 974-662-019-3

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....32866
วัน, เดือน, ปี.....14 มิ.ย. 2542

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

UTILIZATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM CYANOBACTERIA FOR THE CONTROL OF INSECT PEST

JIRAPORN POLCHAI

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

1999

ISBN 974-662-019-3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 1999

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากไซยาโนแบคทีเรียเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช
นักศึกษา	นางสาวจิราภรณ์ พลชัย
รหัสประจำตัว	38064202
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
พ.ศ.	2542
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ดร. อาภารัตน์ มหาขันธ์
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์อรไท สุขเจริญ

บทคัดย่อ

นำสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียจำนวน 11 สกุล 318 สายพันธุ์มาศึกษาหาสายพันธุ์ที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติในการควบคุมแมลง โดยการทดสอบเบื้องต้นกับไรทะเล พบว่ามีไซยาโนแบคทีเรีย 7 สกุล 34 สายพันธุ์ ที่ผลิตสารออกฤทธิ์ที่เป็นพิษกับไรทะเล และเมื่อนำสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำหรือเมทานอลของสายพันธุ์ไซยาโนแบคทีเรียเหล่านี้ ไปทดสอบกับหนอนกระทู้หอมวัยหนึ่งและวัยสอง พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลมีประสิทธิภาพดีกว่าสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำ และเมื่อนำมาทดสอบกับหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่ง พบว่ามีเพียงสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 เท่านั้นที่แสดงผลในการควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้าย

สูตรอาหาร BGA ที่ดัดแปลงโดยเติมโซเดียมไนเตรต 1.5 กรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 โดยมีการเจริญเติบโตคิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 0.23 กรัมต่อลิตร และสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเทียบเท่า gentamicin ได้สูงสุดระหว่างวันที่ 20 และ 21 ของการเพาะเลี้ยง คือ 0.47 มิลลิกรัมต่อลิตรอาหารเหลว และ 2.03 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และพบว่าสารออกฤทธิ์ที่ผลิตในวันที่ 21 จะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่งได้ดีที่สุด โดยหนอนมีน้ำหนักน้อยกว่าหนอนควบคุม 6.5 เท่า

สารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการกินอาหาร ตลอดจนยับยั้งการเจริญเติบโตและการพัฒนาของหนอนเจาะสมอฝ้าย และการเป็นสารฆ่าหนอน โดยประสิทธิภาพจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารสกัด สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 1,400 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร (แผ่นใบผักคะน้า) สามารถยับยั้งการกินของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยสามได้ 90 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ในการศึกษาผลของสารสกัดต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย ในระยะสั้น โดยทาสารสกัดบนใบผักคะน้าแล้วนำไปให้หนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่งกิน พบว่าที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้น ตั้งแต่ 1.0 – 5.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล มีผลยับยั้งการเจริญเติบโต โดยหนอนมีน้ำหนักเฉลี่ยน้อยกว่าหนอนควบคุม 11.81-79.11 เท่า และสามารถฆ่าหนอนได้ 30-62 เปอร์เซ็นต์ และจากการศึกษาผลระยะยาวของสารสกัดต่อการเจริญเติบโตของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยสอง พบว่า สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล ทำให้การเจริญเติบโตและการพัฒนาของหนอนช้าลงและมีความผิดปกติเกิดขึ้น โดยหนอนมีระยะเวลาในการเป็นหนอนยาวนานขึ้น การเข้าดักแด้ผิดปกติ และเปอร์เซ็นต์เป็นตัวเต็มวัยลดลง

ผลจากการแยกสารสกัดหยาบให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีทินแลเยอร์โครมาโตกราฟฟี พบว่าตำแหน่งที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญเติบโตและเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่ง ได้แก่ สารที่ตำแหน่ง Rf_6 (0.94) และ Rf_4 (0.79) โดยทำให้หนอนจะมีน้ำหนักน้อยกว่าตัวควบคุม 6 และ 4 เท่า และมีเปอร์เซ็นต์การตายแท้จริง 53 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติทางเคมี พบว่าให้ผลลบกับปฏิกิริยานินไฮดริน ไบยูเรต โมลิสช์ แอนโทรน และความไม่อิ่มตัวของไขมัน

การศึกษาความคงตัวของสารสกัดหยาบพบว่า สารสกัดมีความคงตัวต่อความเป็นกรดเป็นด่าง และอุณหภูมิอยู่ในช่วงกว้าง แต่ทนทานต่อแสงแดดและรังสีอัลตราไวโอเลตต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Utilization of bioactive compounds from cyanobacteria for the control of insect pest
Student	Miss Jiraporn Polchai
Student ID.	38064202
Degree	Master of Science
Programme	Biotechnology
Year	1999
Thesis Advisor	Dr. Aparat Mahakhant
Thesis Co-advisor	Assistant Professor Oratai Sukcharoen

Abstract

The insecticidal property of samples extracted from 11 genera 318 strains of cyanobacteria was tested by brine shrimp (*Artemia salina*) bioassay. The toxicities of cyanobacteria extracts on brine shrimp was shown in 7 genera 34 strains. Insecticidal activity of cyanobacteria extracted was subsequently tested via bioassay using insect pests, beet armyworm (*Spodoptera exigua* Hubner) and cotton bollworm (*Helicoverpa armigera* Hubner). Cyanobacteria-methanol extract showed better lethal effect on insect larva than cyanobacteria-water extracted. However, only one strains, *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 could inhibit of 1st instar of cotton bollworm

Modified BGA medium with addition of $NaNO_3$ 1.5 g/l was optimal medium which gave the cyanobacteria dried weight of 0.23 g/l and bioactive compound production (as standard gentamicin equivalent) of 0.47 mg/l or 2.03 mg/g (dry weight) during the 20–21 days of cultivation. Bioactive compound produced on day 21 showed the highest inhibition on the growth of 1st instar larvae of cotton bollworm with the average larval weight being 6.5 times lower than the control.

Extract from *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 showed feeding inhibition, growth inhibition and insecticide activity on cotton bollworm. The efficacy of cyanobacteria extract depened on the concentration of extract. The feeding of 3rd instar larvae was decreased 90% when the host plants were treated with 1,400 $\mu g/cm^2$ of crude extract. For short-term test, the average larval weight of 1st instar larvae fed with young chinese kale leafs applied with extract at the concentration 1.0-5.0 % (w/v) was 11.81-79.11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

times lower than control, and produced 30-62 % mortality. For long-term test, the crude extract at the concentration 1.0 % (w/v) showed growth and development inhibition, conspicuous delay of metamorphosis, undergoing ecdysis to malformed pupae and reduced adult emergency.

The partial purification of the bioactive compounds by TLC in the band at Rf_6 and Rf_4 showed the inhibition on the growth of 1^{st} instar larvae and average larval weight loss was 6 and 4 times lower than control and on its death of 53 and 30 % respectively. The result was negative for chemical test of partial purification of bioactive compound (ninhydrin reaction, biuret reaction, Molisch's test, anthron test and unsaturation test)

The crude extract was stable at a wide range of pH and temperature but its stability decreased under sunlight and UV irradiation.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จได้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ดร. อาภารัตน์ มหาขันธ์ อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตรจารย์ อรไท สุขเจริญ อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม ซึ่งกรุณาให้ความรู้ คำปรึกษา และคำแนะนำอันเป็นประโยชน์ ตลอดจนความช่วยเหลือในทุกๆ ด้านต่องานชิ้นด้วยดี และ ผู้ช่วยศาสตรจารย์ เนาวรัตน์ ปานแย้ม ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำแก้ไขเพื่อความสมบูรณ์ของวิทยานิพธ์ ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์ อีกทั้งอาจารย์ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ และแนะนำในการศึกษาตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์อุทัย เกตุนุติ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร ที่ได้ให้คำแนะนำ ปรึกษา และช่วยเหลือเกี่ยวกับงานวิจัยในครั้งนี้ และเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง ที่ได้เอื้อเฟื้อหนอน อุปกรณ์ต่างๆ ในการเลี้ยงหนอน ในการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณศูนย์จุลินทรีย์ และธนาคารเชื้อพันธุ์พืชแห่งชาติ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณ คุณจิราภรณ์ วัฒนะกุล ที่ได้ให้คำแนะนำ ปรึกษา และช่วยเหลือในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทางสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย และ เจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ ทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือในงานวิจัยครั้งนี้ อีกทั้งขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ทุกคนที่ได้ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอกราบของพระคุณ และรำลึกถึงพระคุณ บิดา มารดา ที่ได้ช่วยเหลือ สนับสนุน และเป็นกำลังใจในการศึกษามาโดยตลอด

จิราภรณ์ พลชัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....III

กิตติกรรมประกาศ.....V

สารบัญ.....VI

สารบัญตาราง.....VIII

สารบัญภาพ.....IX

บทที่ 1. บทนำ.....1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....4

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....7

1.3 สมมุติฐานการวิจัย.....7

1.4 ทฤษฎีหรือแนวความคิดที่ใช้ในการวิจัย.....8

1.5 ขอบเขตการวิจัย.....9

1.6 ขั้นตอนของการศึกษา.....10

1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....10

บทที่ 2. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....12

2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับไซยาโนแบคทีเรีย.....12

2.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตโดยไซยาโนแบคทีเรีย.....25

2.3 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับแมลงศัตรูพืชบางชนิดที่สำคัญทางเศรษฐกิจ.....31

บทที่ 3. วิธีดำเนินการวิจัย.....41

3.1 การคัดเลือกไซยาโนแบคทีเรียที่มีศักยภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืช.....43

3.2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต และผลิตสาร ออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไซยาโนแบคทีเรีย.....46

3.3 การศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ของไซยาโนแบคทีเรียที่มีต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย.....49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4 การศึกษาผลของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย.....50

3.5 ขั้นตอนการศึกษาเบื้องต้นในการแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่มีคุณสมบัติในการควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้ายโดยวิธีทินแลยอร์โครมาโตกราฟฟี.....51

3.6 การศึกษาคุณสมบัติบางประการของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252.....53

3.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....56

บทที่ 4. ผลการทดลองและวิจารณ์.....57

บทที่ 5. สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....121

5.1 สรุปผลการวิจัย.....121

5.2 ข้อเสนอแนะ.....123

บรรณานุกรม.....124

ภาคผนวก.....140

ภาคผนวก ก.....141

ภาคผนวก ข.....143

ภาคผนวก ค.....145

ภาคผนวก ง.....149

ภาคผนวก จ.....150

ประวัติผู้เขียน.....165

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 รายชื่อสารเคมีที่ใช้ในการป้องกันและกำจัดหนอนเจาะสมอฝ้าย.....34

2.2 แมลงศัตรูธรรมชาติชนิดต่างๆ ของหนอนเจาะสมอฝ้าย.....36

2.3 รายชื่อสารเคมีที่ใช้ในการป้องกันและกำจัดหนอนกระทู้หอม.....40

4.1 ไซยาโนแบคทีเรียที่ผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ในการฆ่าไรทะเล.....58

4.2 ผลของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆ ในการควบคุมหนอนกระทู้หอมวัยหนึ่ง.....59

4.3 ผลของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆ ในการควบคุมหนอนกระทู้หอมวัยสอง.....62

4.4 ผลของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆ ต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่ง.....63

4.5 ผลของน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่งในวันที่ 4 และเปอร์เซ็นต์การตายแท้จริงหลังจากได้รับสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ผลิตขึ้นในช่วงเวลาต่างๆ ของการเพาะเลี้ยง.....79

4.6 ผลของน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่งในวันที่ 4 และเปอร์เซ็นต์การตายแท้จริงหลังจากได้รับสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ความเข้มข้นในระดับต่างๆ.....89

4.7 ผลของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ต่อค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ สำหรับวัดการเจริญเติบโตของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยสอง.....96

4.8 แสดงผลของน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่งในวันที่ 4 และเปอร์เซ็นต์การตายแท้จริงหลังจากได้รับสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีทินแลยอร์โครมาโตกราฟฟี.....107

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

1.1 แสดงบริเวณภูมิภาคต่างๆ ที่พบการระบาดของหนอนเจาะสมอฝ้าย (*H. armigera*) โดยพื้นที่ที่แรเงาคือ บริเวณที่พบการระบาดของหนอนเจาะสมอฝ้าย.....2

1.2 แสดงผลผลิตและพื้นที่เพาะปลูกฝ้าย และปริมาณการนำเข้าฝ้ายจากต่างประเทศของประเทศไทย ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2523/24 ถึง ปี พ.ศ. 2533/34.....3

1.3 แสดงขั้นตอนการศึกษาวิจัยการใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากไซยาโนแบคทีเรีย ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช.....11

3.1 แสดงขั้นตอนการคัดเลือกหาสายพันธุ์ไซยาโนแบคทีเรียที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติในการควบคุมแมลงศัตรูพืช.....44

3.2 แสดงการศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไซยาโนแบคทีเรียในอาหารสูตรต่างๆ.....47

3.3 แสดงรูปแบบของการทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 โดยวิธี paper disc plate บน algal lawn ของ *A. siamensis* TISTR 8012.....48

4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252.....64

4.2 การผลิตเซลล์ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ในถัง carboy ขนาดบรรจุอาหาร 10 ลิตร.....66

4.3 การเจริญเติบโตของ*Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ในอาหารสูตร BGA+N BGA และ BG-11.....67

4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 โดยวิธี paper disc plate บน algal lawn ของ *A. siamensis* TISTR 8012.....68

4.5 การผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดย *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ในอาหารสูตร BGA+N, BGA และ BG-11.....69

4.6 การเจริญเติบโตและการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ในอาหารสูตร BGA+N.....71

4.7 การเจริญเติบโตและการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ในอาหารสูตร BGA.....72

4.8 การเจริญเติบโตและการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ในอาหารสูตร BG-11.....73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.9 ผลของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ผลิตขึ้นในช่วงเวลาต่างๆ ของการเพาะเลี้ยงที่มีต่อน้ำหนักหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่ง.....77

4.10 ผลของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ผลิตขึ้นในช่วงเวลาต่างๆ ของการเพาะเลี้ยงต่อเปอร์เซ็นต์การตายแท้จริงทั้งหมดของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่ง.....78

4.11 ผลการยับยั้งการกินของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ความเข้มข้น 150 และ 300 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร โดยวิธี choice feeding test ในหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยสาม.....82

4.12 ผลการยับยั้งการกินของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ความเข้มข้น 700 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร โดยวิธี choice feeding test ในหนอน เจาะสมอฝ้ายวัยสาม.....83

4.13 ผลการยับยั้งการกินของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ความเข้มข้น 1,400 และ 1,500 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร โดยวิธี choice feeding test ในหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยสาม.....84

4.14 ประสิทธิภาพของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการยับยั้งการกินของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยสาม.....85

4.15 ผลของน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่งในวันที่ 4 และเปอร์เซ็นต์การตายแท้จริงทั้งหมด ภายหลังจากได้รับสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ.....87

4.16 ผลของน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่งที่เพิ่มขึ้นในแต่ละวัน หลังจากได้รับสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ.....88

4.17 พื้นที่ความเสียหายของใบผักคะน้า เนื่องจากหนอนเจาะสมอฝ้ายทำลายในวันที่ 3 หลังจากทาด้วยสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ.....91

4.18 เปอร์เซ็นต์การตายในแต่ละวันของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่ง หลังจากได้รับสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ.....92

4.19 ผลของน้ำหนักเฉลี่ยในวันที่ 7 ของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยสอง หลังจากได้รับสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ.....95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.20 ช่วงเวลาของการเป็นหนอนในหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยสอง หลังจากได้รับสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ.....95

4.21 ผลของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ ต่อการตายของหนอนเจาะสมอฝ้าย.....98

4.22 ผลของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ ต่อการตายของดักแด้ในหนอนเจาะสมอฝ้าย.....99

4.23 ลักษณะผิดปกติของดักแด้ที่เกิดขึ้นเมื่อได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ.....101

4.24 ลักษณะผิดปกติของตัวเต็มวัยของหนอนเจาะสมอฝ้าย คือการพัฒนาของปีกไม่สมบูรณ์.....103

4.25 ผลของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์บางส่วนต่อเปอร์เซ็นต์การตายแท้จริง และน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่ง.....106

4.26 พื้นที่ความเสียหายของใบผักคะน้า เนื่องจากหนอนเจาะสมอฝ้ายทำลายในวันที่ 3 หลังจากทาด้วยสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ในแต่ละตำแหน่งที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีทินแลเยอร์โครมาโตกราฟฟี.....109

4.27 เปอร์เซ็นต์การตายในแต่ละวันของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่ง หลังจากได้รับสารสกัด จาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ในแต่ละตำแหน่งที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีทินแลยอร์โครมาโตกราฟฟี.....110

4.28 ความคงตัวของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ระดับความเป็นกรดเป็นด่างต่างๆ.....114

4.29 ความคงตัวของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ.....116

4.30 ความคงตัวของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ต่อสภาพลมฟ้าอากาศธรรมชาติ.....118

4.31 ความคงตัวของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ต่อสภาพลมฟ้าอากาศในเครื่องเร่งสภาวะ.....119

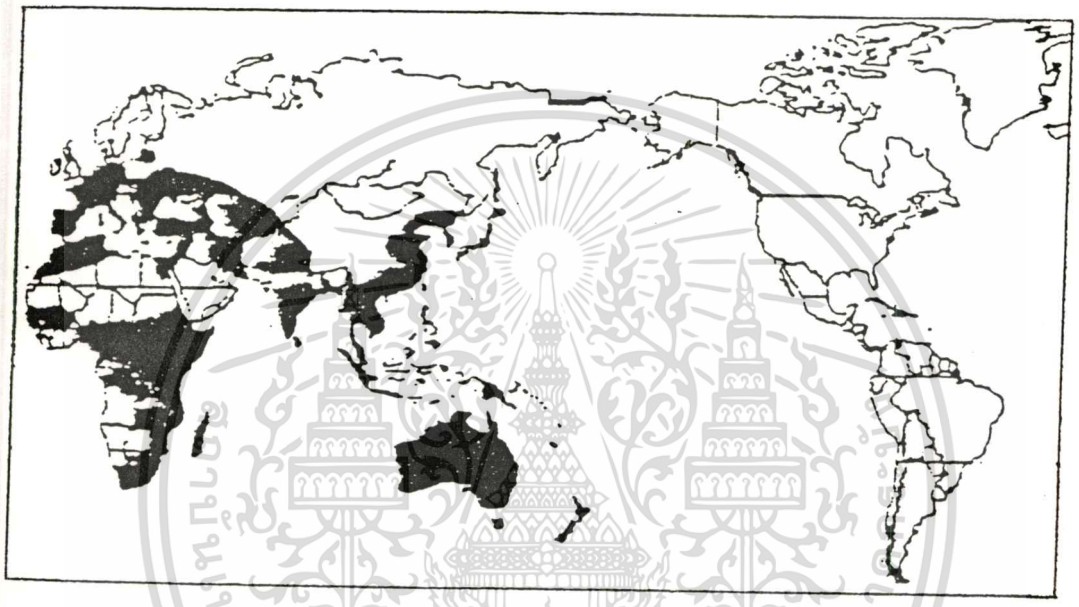
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

หนอนเจาะสมอฝ้าย (*Helicoverpa armigera* Hubner) เป็นแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญ เนื่องจากธรรมชาติของหนอนชนิดนี้มักอาศัยอยู่ในพืชหลายชนิด (polyphagous) และพบระบาดในหลายภูมิภาคของโลก Reed และ Pawar (1981) รายงานว่าหนอนเจาะสมอฝ้ายทำความเสียหายให้กับพืชที่เพาะปลูกได้ในหลายๆ ภูมิภาค ได้แก่ เกาะในแอตแลนติก ทวีปแอฟริกา เอเชีย ออสเตรเลีย ประเทศทางตอนใต้ของมหาสมุทรแปซิฟิก และตอนเหนือของเยอรมันไปถึงตอนใต้ของนิวซีแลนด์ ซึ่งพบว่าแหล่งที่พบการระบาดส่วนใหญ่จะเป็นภูมิภาคในเขตร้อนและกึ่งร้อน (semi-arid tropics) ดังแสดงไว้ในภาพที่ 1.1

หนอนเจาะสมอฝ้ายสามารถเข้าทำลายพืชเศรษฐกิจหลายชนิดในประเทศ แต่ระบาดและทำความเสียหายมากที่สุดในฝ้าย หนอนเจาะสมอฝ้ายเริ่มพบระบาดและทำความเสียหายแก่ฝ้ายในเมืองไทยประมาณปี พ.ศ. 2508 เนื่องจากหนอนชนิดนี้ป้องกันและกำจัดค่อนข้างยาก รวมทั้งมีปัญหาในการต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลง จึงทำให้สารเคมีกำจัดแมลงที่เคยใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพกลับใช้ไม่ได้ผล Cox และ Forrester (1992) ได้รายงานเกี่ยวกับสถานการณ์การปลูกฝ้ายและการต้านทานสารเคมีกำจัดแมลงในหนอนเจาะสมอฝ้าย ในอดีตตั้งแต่ปี พ.ศ. 2523/24 ถึง 2533/34 ดังภาพที่ 1.2 พบว่า พื้นที่เพาะปลูกและผลผลิตฝ้ายในประเทศไทยเริ่มลดลงตั้งแต่ปี พ.ศ. 2525/26 เรื่อยมา เนื่องจากช่วงเวลาดังกล่าวหนอนชนิดนี้สามารถต้านทานต่อสารไพรีทรอยด์ (Collins, 1986) ทำให้การป้องกันและกำจัดยากขึ้น จึงทำให้หนอนเจาะสมอฝ้ายระบาดและทำให้ฝ้ายเสียหายเป็นอย่างมาก จากผลดังกล่าวจึงทำให้เกษตรกรส่วนใหญ่เลิกเพาะปลูกฝ้าย และมีผลทำให้ผลผลิตฝ้ายในประเทศลดลง ทำให้ต้องมีการนำเข้าฝ้ายจากต่างประเทศเพื่อให้เพียงพอแก่ความต้องการใช้ภายในประเทศ จากรายงานของสำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร (2541) รายงานว่าในปี พ.ศ. 2539 ถึง 2540 ประเทศไทยมีการนำเข้าฝ้ายจากต่างประเทศเป็นจำนวนทั้งสิ้น 306,961 ตัน และสามารถผลิตฝ้ายใช้ในประเทศเป็นจำนวน 75,142 ตัน และนอกจากหนอนเจาะสมอฝ้ายจะต้านทานต่อสารไพรีทรอยด์แล้ว ยังมีรายงานความต้านทานสารเคมีกำจัดแมลงของหนอนเจาะสมอฝ้ายเรื่อยมา (กนกพร อุ่นใจชน และคณะ, 2532 ; Ahmad and McCaffery, 1988) ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นจะเห็นได้ว่าหนอนเจาะสมอฝ้ายเป็นแมลงศัตรูพืชทางเศรษฐกิจที่ร้ายแรงชนิดหนึ่งไม่เพียงแต่ในประเทศไทยเท่านั้น แต่ยังเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทั่วโลกอีกด้วย

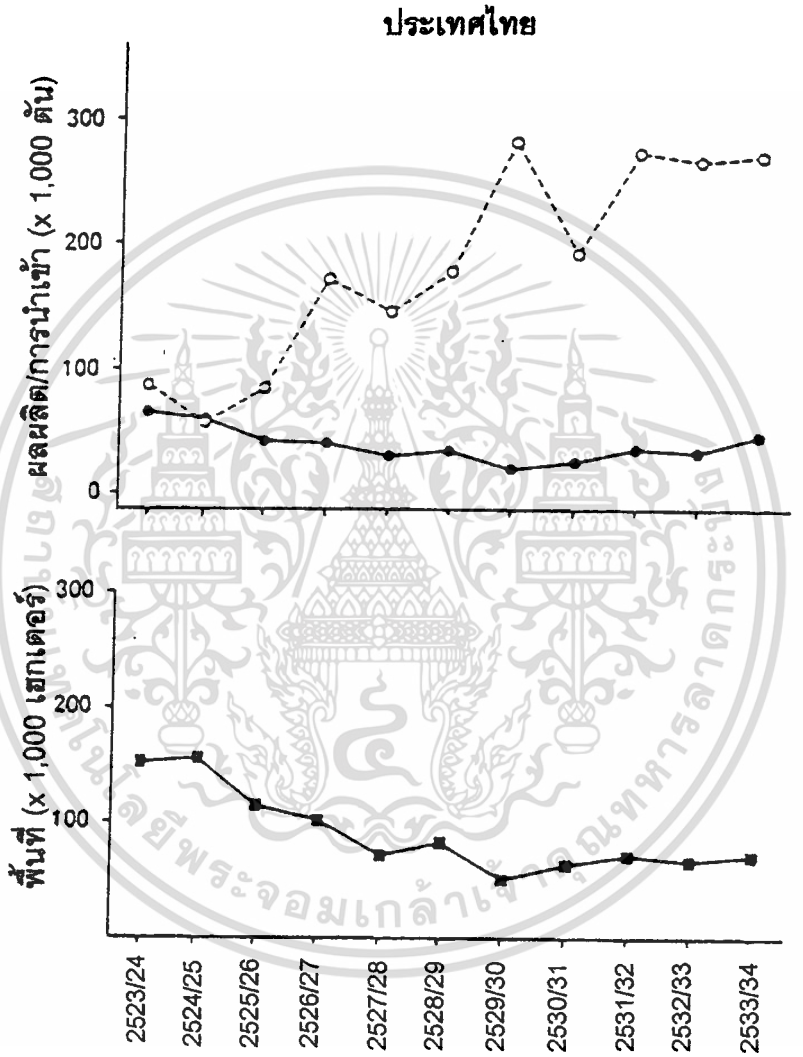
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1.1 แสดงบริเวณภูมิภาคต่างๆ ที่พบการระบาดของหนอนเจาะสมอฝ้าย (*H. armigera*) โดยพื้นที่ที่แรเงา คือบริเวณที่พบการระบาดของหนอนเจาะสมอฝ้าย

ที่มา : Hill (1983)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1.2 แสดงผลผลิตและพื้นที่เพาะปลูกฝ้าย และปริมาณการนำเข้าฝ้ายจากต่างประเทศของประเทศไทย ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2523/24 ถึง ปี พ.ศ. 2533/34

■ หมายถึง พื้นที่เพาะปลูกฝ้าย (x1,000 เฮกเตอร์)

○ หมายถึง ปริมาณการนำเข้าฝ้าย (x1,000 ตัน)

● หมายถึง ผลผลิตฝ้ายที่เพาะปลูกได้ (x1,000 ตัน)

ที่มา : Cox and Forrester (1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันการเกษตรยังคงเป็นอาชีพหลักของประชากรภายในประเทศไทย เนื่องจากประชากรส่วนใหญ่กว่าครึ่งหนึ่งของประเทศ ยังคงประกอบอาชีพที่เกี่ยวพันกับการเกษตรอยู่ตลอดเวลา และถึงแม้ว่ารายได้จากภาคเกษตรกรรมในปัจจุบันจะลดน้อยลงไปเมื่อเปรียบเทียบกับรายได้จากภาคอุตสาหกรรมและภาคบริการ จากสถิติ ปีพ.ศ. 2536 พบว่า ประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกคิดเป็นร้อยละ 39 ของพื้นที่ทั้งหมด แบ่งเป็นพื้นที่สำหรับปลูกข้าว ร้อยละ 22, พืชไร่ ร้อยละ 10 ไม้ผลและไม้ยืนต้น ร้อยละ 6.5, ไม้ดอกไม้ประดับและ พืชผัก ร้อยละ 0.3 (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร, 2539) ผลผลิตที่ผลิตได้นอกจากจะเพียงพอต่อประชากรภายในประเทศแล้ว ยังสามารถส่งเป็นสินค้าส่งออกซึ่งทำรายได้เข้าประเทศเป็นอย่างมาก โดยรายได้จากการส่งออกพืชและผลิตภัณฑ์ ในปี พ.ศ. 2537 คิดเป็นมูลค่า ประมาณ 18,264 ล้านบาท และปี พ.ศ. 2538 คิดเป็นมูลค่า 23,634 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2539)

ในระยะ 3-4 ทศวรรษที่ผ่านมาวิทยาการและเทคโนโลยีทางการเกษตรก้าวหน้าขึ้นอย่างต่อเนื่อง เพื่อสนับสนุนและส่งเสริมให้มีการเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรให้เพียงพอกับความต้องการของประชากรที่เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ การใช้สารพิษในการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชเป็นแนวทางในการแก้ปัญหาการสูญเสียผลผลิตทางการเกษตร โดยเฉพาะประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อน สามารถพบการระบาดของแมลงศัตรูพืชอย่างมากมาย เนื่องจากสภาพภูมิอากาศเหมาะสมสามารถปลูกพืชได้ตลอดปี Surin (1993) กล่าวว่า ในแต่ละปีประเทศไทยสูญเสียผลผลิตทางการเกษตรเนื่องมาจากศัตรูพืชประมาณร้อยละ 20-30 ของการผลิตทั้งหมด ดังนั้นสารเคมีทางการเกษตรจึงเข้ามามีบทบาทสำคัญในการเพิ่มผลผลิตให้มากขึ้น เนื่องจากสารเคมีทางการเกษตรเหล่านี้สามารถยับยั้งแมลงศัตรูพืชได้ผลรวดเร็วตามความต้องการ ประกอบกับวิธีการใช้ง่าย สะดวก และนำไปใช้ได้เกือบทุกโอกาส ทุกสถานที่ ทำให้มีการใช้สารเคมีทางการเกษตรทั้งชนิดและปริมาณเพิ่มขึ้นทุก ๆปี กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร (2531 และ 2537) รายงานว่า วัตถุอันตรายทางการเกษตรประเภทสารฆ่าแมลง ที่ได้รับการขึ้นทะเบียนแล้วภายในประเทศไทยในปี 2537 มีจำนวนทั้งสิ้น 234 ชนิด เพิ่มจากปี 2531 ซึ่งได้รับการจดทะเบียนทั้งสิ้น 195 ชนิด

สารกำจัดศัตรูพืชเป็นสินค้าอย่างหนึ่งที่ประเทศไทยต้องสั่งหรือนำเข้าจากต่างประเทศทั้งหมด เนื่องจากประเทศไทยยังไม่มีการผลิตขึ้นมาใช้เอง ทั้งนี้เป็นเพราะการผลิตสารกำจัดศัตรูพืชก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม หรือไม่คุ้มค่าต่อการลงทุน ทำให้ในแต่ละปีต้องเสียดุลการค้าในการนำเข้าสารกำจัดศัตรูพืชให้กับต่างประเทศปีละหลายล้านบาท จากรายงานกรมวิชาการเกษตร พบว่าการนำเข้าสารกำจัดศัตรูพืชมีแนวโน้มสูงขึ้นเรื่อย ๆ โดยปี พ.ศ. 2530 ประเทศไทยนำเข้าสารกำจัดศัตรูพืช 20,270 ตัน คิดเป็นมูลค่า 1,752 ล้านบาท โดยเป็นสารกำจัดแมลง 6,670 ตัน มูลค่า 765 ล้านบาท ปี พ.ศ. 2533 นำเข้า 29,463 ตัน มูลค่า 3,460 ล้านบาท เป็นสารกำจัดแมลง 9,356 ตัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัญหาอีกประการหนึ่งที่เกิดตามมาคือ ปัญหาการต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงหรือปัญหาการดื้อยาของแมลงศัตรูพืช ซึ่งหมายถึงการที่แมลงสามารถทนทานต่อสารพิษในอัตราที่สามารถฆ่าประชากรส่วนใหญ่ของแมลงชนิดเดียวกันได้ ซึ่งการต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงนี้จัดว่าเป็นการคัดเลือกตามธรรมชาติอย่างหนึ่ง ซึ่งเกิดขึ้นหลังจากที่แมลงบางตัวที่มีชีวิตรอดมาจากการถูกสารเคมีกำจัดแมลง จะสามารถถ่ายทอดความสามารถในการต้านทานสู่ลูกหลานได้ (Metcalf, 1983) ดังนั้นเมื่อเกษตรกรใช้สารเคมีกำจัดแมลงแล้วพบว่า ไม่สามารถลดปริมาณของแมลงลงได้ จึงเพิ่มปริมาณการใช้หรือพ่นสารซ้ำอีก เป็นผลทำให้มีการคัดเลือกขึ้นอีก โดยแมลงที่รอดพ้นจากการถูกสารเคมีกำจัดแมลง สามารถพัฒนาและต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงในอัตราที่เพิ่มขึ้น จึงพบเห็นการดื้อยาของแมลงเป็นประจำอย่างต่อเนื่อง

ในปัจจุบันได้มีการค้นคว้าวิจัยเพื่อหาแนวทางในการลดปริมาณการใช้สารเคมีกำจัดแมลงลงตามนโยบายลดการใช้สารเคมีทางการเกษตร เพราะได้เล็งเห็นถึงผลกระทบต่างๆ ที่เกิดจากการใช้สารเคมีกำจัดแมลงที่มากเกินความจำเป็น การควบคุมแมลงโดยชีววิธีเป็นแนวทางหนึ่งในการลดปริมาณการใช้สารเคมีกำจัดแมลงลง การควบคุมโดยชีววิธีเป็นการใช้สิ่งมีชีวิตในการกำจัดแมลงศัตรูพืช เช่น ใช้แมลงห้ำ แมลงเบียน ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดใหญ่ รวมทั้งแบคทีเรีย รา ไวรัส และไส้เดือนฝอย ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กมาใช้ในการควบคุม ต่อมา Zechendrof (1995) ได้ขยายคำจำกัดความของการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีให้กว้างขวางขึ้น โดยการนำเอาสารอินทรีย์ที่ได้มาจากธรรมชาติ หรือสังเคราะห์เลียนแบบขึ้นมา ที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันพืชจากแมลงศัตรูพืช มารวมเข้าไว้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีด้วย โดยรวมเรียกว่า "biopesticide" จากการทดลองคัดเลือกพืชที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลง ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2522 เป็นต้นมา โดยมีพืชที่ผ่านการทดลองในรูปแบบต่างๆ กัน 231 ชนิด ปรากฏผลดังนี้ คือ ได้พบพืชที่มีพิษต่อเพลี้ยอ่อน 18 ชนิด พืชที่มีพิษต่อหนอนกระทู้ 9 ชนิด พืชที่เป็นพิษต่อแมลงวัน 4 ชนิด พืชที่มีสารดึงดูดต่อแมลงวันทอง 18 ชนิด และพืชไล่แมลงวันทอง 14 ชนิด (อำนวย อิศรางกูร ณ อยุธยา และอรรณพ ตันสกุล, 2534)

นอกจากพืชชนิดต่างๆ ซึ่งเป็นแหล่งในการผลิตสารออกฤทธิ์ในการควบคุมแมลงที่มีคุณค่าแล้ว ยังพบว่าสาหร่ายเป็นแหล่งหนึ่งที่น่าสนใจในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ ๆ มีรายงานเกี่ยวกับสารสกัดจากสาหร่ายทะเลบางชนิดมีคุณสมบัติในการควบคุมแมลง เช่น สารสกัดจากสาหร่ายสีแดง *Plocamium cartilagineum* และ *P. violaceum* สามารถกำจัดลูกน้ำยุง หนอนแมลงวัน หนอนยาสูบ และ หนอนกัดยอด โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบเป็นสารในกลุ่มโมโนเทอร์ปีน (monoterpene) (Crew *et al.*, 1978; Crew *et al.*, 1984a; Crew *et al.*, 1984b) สารสกัดจากสาหร่ายสีแดง *Laurencia pinnata* มีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุง ซึ่งสารออกฤทธิ์ที่พบอยู่ในกลุ่มโพลีฮาโลจีเนต (Fukusawa and Masamune, 1981) และสารสกัดที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แยกได้จากสาหร่ายสีแดง *Chondria armata* คือ isodomoic acids A, B และ C มีฤทธิ์ในการฆ่าแมลงสาบอเมริกัน (Maeda *et al.*, 1986) ถึงแม้ว่าสาหร่ายทะเลจะสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการควบคุมแมลงได้หลายชนิด แต่ข้อจำกัดในการค้นคว้าหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายทะเลมีมากเช่นกัน คือปัญหาในการเก็บรวบรวมตัวอย่างในธรรมชาติค่อนข้างจะลำบาก และการเพาะเลี้ยงในระดับห้องปฏิบัติการทำได้ยาก ดังนั้นนอกจากสาหร่ายทะเลแล้วไซยาโนแบคทีเรียก็เป็นแหล่งใหม่ที่น่าสนใจ เช่นเดียวกัน ดังคำกล่าวของ Carmichael (1992) กล่าวไว้ว่าไซยาโนแบคทีเรียเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย คือเป็นแหล่งที่มีศักยภาพที่จะค้นพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ ๆ ที่มีโครงสร้างไม่ซ้ำกับที่เคยค้นพบมาก่อน ดังนั้นไซยาโนแบคทีเรียจึงน่าจะเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการที่จะสำรวจค้นคว้าเพื่อหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการควบคุมแมลงชนิดใหม่ๆ ต่อไป

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 คัดเลือกสายพันธุ์ไซยาโนแบคทีเรียที่มีศักยภาพสูง ในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถควบคุมแมลงศัตรูพืชได้

1.2.2 ศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไซยาโนแบคทีเรีย

1.2.3 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไซยาโนแบคทีเรีย

1.2.4 ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย ต่อการควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้ายในระดับห้องปฏิบัติการ

1.2.5 ศึกษาเบื้องต้นถึงการแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพออกจากสิ่งเจือปน โดยใช้วิธีทินแลเยอร์โครมาโตกราฟฟี

1.2.6 ศึกษาถึงคุณสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย และคุณสมบัติทางเคมีบางประการของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่แยกออกจากสิ่งเจือปน

1.3 สมมุติฐานการวิจัย

1.3.1 สารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน จะมีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืชแตกต่างกัน

1.3.2 ธาตุอาหารหลักไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโต และการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไซยาโนแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3.3 สารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน จะมีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้ายได้แตกต่างกัน โดยสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นสูงจะมีผลต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายได้มากกว่าสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่า

1.3.4 ผลของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย ต่อระยะการเจริญเติบโตของหนอนเจาะสมอฝ้ายในแต่ละระยะแตกต่างกัน โดยหนอนในวัยแรกจะอ่อนแอต่อสารสกัดมากกว่าหนอนในวัยต่อมา

1.4 ทฤษฎีหรือแนวความคิดที่ใช้ในการวิจัย

มีรายงานการค้นคว้าวิจัยมากมายที่พบว่า สารสกัดจากพืชหลายชนิดสามารถควบคุมแมลงศัตรูพืชต่างๆ ได้ (เสริม สีมา และสมบัติ แผนดี, 2537 ; อุดมลักษณ์ อุ่นจิตต์วรรธนะ และคณะ, 2540; Wada and Munakata, 1968 ; Gunasena *et al.*, 1990 ; Harwood *et* al., 1990 ; Benner, 1993 ; Daido *et al.*, 1995 ; Yano and Tanaka, 1995 ; Amaho *et al.*, 1997 ; Gonza'lez-Coloma *et al.*, 1998) ซึ่งในปัจจุบันพบว่าสารสกัดจากสะเดามีบทบาทเด่นชัดที่สุด และรู้จักกันอย่างกว้างขวางในแวดวงเกษตรกรรม จนได้มีการขยายงานวิจัยในการผลิตสารสกัดจากสะเดาสู่การผลิตเป็นการค้า (อัญชลี สงวนพงษ์, 2539) นอกจากนี้ยังมีบริษัทต่างชาติที่มีชื่อเสียงหลายบริษัทกำลังพยายามนำเข้าผลิตภัณฑ์สารสกัดสะเดาจากต่างประเทศอีกหลายผลิตภัณฑ์ เพราะมีรายงานเป็นที่ยอมรับแล้วว่าสารสกัดสะเดามีฤทธิ์ในการควบคุมแมลงได้หลายชนิด รวมทั้งไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม โดยมีคุณสมบัติเป็นสารไล่ (repellent) และยับยั้งการกินอาหารของแมลง (antifeedant) ยับยั้งการเจริญเติบโต (growth retardant) ยับยั้งการวางไข่ (oviposition deterrent) และมีคุณสมบัติเป็นสารฆ่าแมลง (insecticide) (เกรียงไกร จำเริญมา และ โอชา ประจวบเหมาะ, 2535) ถึงแม้สารสกัดสะเดาจะมีข้อดีหลายประการ แต่มีข้อเสียหลายอย่างเช่นกัน คือ สารออกฤทธิ์ที่มีผลต่อแมลงส่วนใหญ่อยู่ในเมล็ด และตามธรรมชาติสะเดาเป็นพืชยืนต้นที่ต้องใช้ระยะเวลา 3-5 ปีขึ้นไปจึงจะสามารถออกผลได้ และออกผลได้เพียงปีละหนึ่งครั้งเท่านั้น (ขวัญชัย สมบัติศิริ, 2540) ซึ่งอาจทำให้เมล็ดสะเดามีปริมาณไม่เพียงพอต่อความต้องการใช้ในการนำไปใช้ในการควบคุมแมลง อีกทั้งปริมาณสารออกฤทธิ์ที่มีอยู่ในเมล็ดขึ้นอยู่กับคุณภาพและคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของเมล็ดด้วย ซึ่งสัมพันธ์กับแหล่งปลูก ชนิด รวมทั้งระยะเวลาการเจริญเติบโตและการเก็บเกี่ยวเมล็ด เป็นผลให้ปริมาณสารออกฤทธิ์ในเมล็ดแตกต่างกันไป (Yakkundi *et al.*, 1995 ; Kuma and Parmar, 1996) เหตุผลดังกล่าวเป็นข้อจำกัดอย่างหนึ่งในการที่จะผลิตสารสกัดสะเดาให้มีคุณภาพคงที่สม่ำเสมอ และพบว่าสารสกัดสะเดาทำให้พืชบางชนิดมีสีใบผิดปกติหรือพืชแสดงอาการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหี่ยวไหม้ เช่น คะน้า ผักกาด กวางตุ้ง และผักกาดเขียวปลี นอกจากนี้ยังพบว่าสารออกฤทธิ์ในสารสกัดสะเดาไม่คงตัวและสลายตัวได้ง่ายต่อแสงแดดและรังสีอัลตราไวโอเลต กรดหรือด่าง และความร้อนไม่เกิน 60 องศาเซลเซียส (งามผ่อง คงคาทิพย์, 2540) จึงทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดกำจัดแมลงไม่ได้ผลตามที่ต้องการ

ดังนั้นหากมีการคิดค้นสารสกัดจากแหล่งอื่น เพื่อทดแทนผลเสียต่างๆ ของสารสกัดสะเดา ก็จะเป็นทางเลือกในการช่วยลดปัญหาการใช้สารเคมีกำจัดแมลงได้อีกทางหนึ่ง ดังนั้นการวิจัยในครั้งนี้จึงได้เลือกไซยาโนแบคทีเรีย เพื่อทดลองสกัดสารและนำสารสกัดไปทดสอบเพื่อศึกษาผลในการควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้าย เพราะไซยาโนแบคทีเรียมีศักยภาพในการผลิตสารออกฤทธิ์ได้อย่างกว้างขวาง และมีข้อดีคือเพาะเลี้ยงง่าย ใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงเพื่อใช้ในการผลิตสารสกัดน้อยกว่ามากเมื่อเทียบกับการผลิตสารสกัดจากพืช และสามารถควบคุมสภาวะต่างๆ ในการผลิตได้ง่าย ทำให้สามารถผลิตสารสกัดที่มีประสิทธิภาพสม่ำเสมอ และอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงราคาไม่แพง และยากแก่การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ เนื่องจากธาตุอาหารส่วนใหญ่เป็นสารอนินทรีย์

แนวคิดในการวิจัยครั้งนี้เพื่อจะได้สายพันธุ์ไซยาโนแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีศักยภาพในการควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้าย รวมทั้งในขั้นตอนการคัดเลือกสายพันธุ์ไซยาโนแบคทีเรียได้ศึกษาถึงการออกฤทธิ์อย่างกว้างขวางของสารสกัด (broad spectrum) ต่อหนอนแมลงศัตรูพืชชนิดอื่นควบคู่กันไปด้วย โดยในการทดลองนี้เลือกหนอนกระทู้หอมเพราะมีรายงานว่าในการระบาดทำลายของหนอนเจาะสมอฝ้ายมักเกิดขึ้นพร้อมๆ กับหนอนกระทู้หอม (พิสมัย ชวลิตวงษ์พร, 2538) ซึ่งการวิจัยในครั้งนี้จะทำให้ทราบถึงประสิทธิภาพและผลของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่คัดเลือกมาต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย และคุณสมบัติบางประการของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย

1.5 ขอบเขตการวิจัย

1.5.1. สายพันธุ์ไซยาโนแบคทีเรียที่นำมาทดสอบได้มาจาก ศูนย์จุลินทรีย์ (ศจล.) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วท.)

1.5.2. แมลงศัตรูพืชที่นำมาทดลอง ได้แก่ หนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้าย รวมทั้งอาหารเทียมและอุปกรณ์ต่างๆ ในการเลี้ยงหนอนสำหรับการทดลอง ได้รับความอนุเคราะห์จากกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.6 ขั้นตอนของการศึกษา

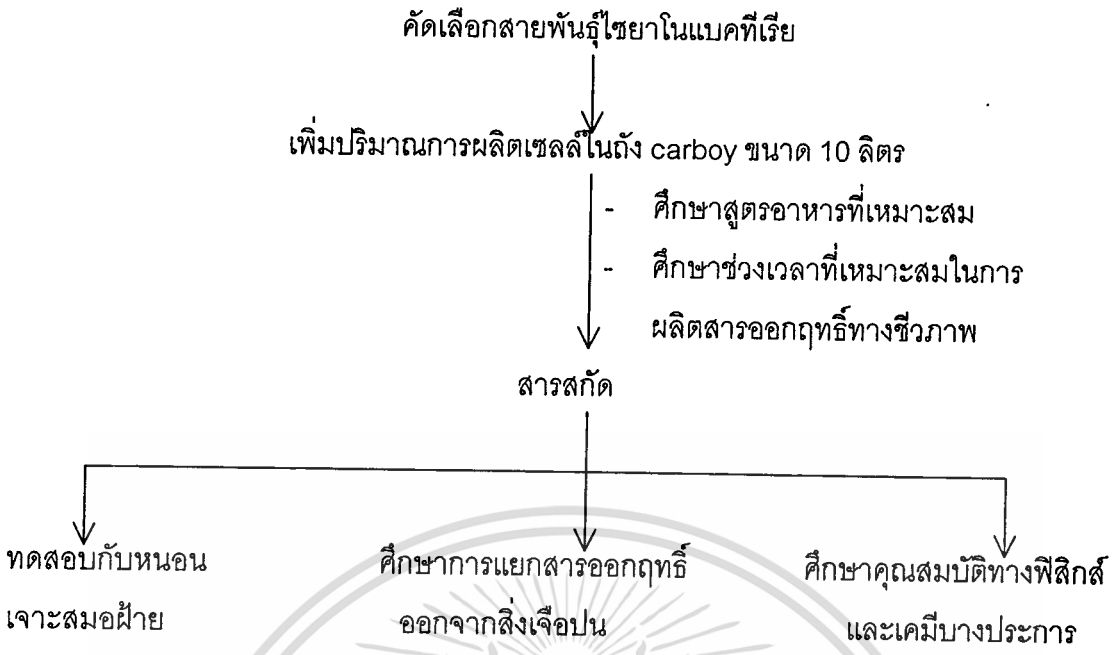
การศึกษาวิจัยการใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากไซยาโนแบคทีเรียในการควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้าย ขั้นแรกเป็นการคัดเลือกหาสายพันธุ์ไซยาโนแบคทีเรียที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารออกฤทธิ์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช โดยทดสอบกับไรทะเล หนอนกระทู้หอม และ หนอนเจาะสมอฝ้าย และศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ จากนั้นนำไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกแล้วว่ามีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้ายมาขยายปริมาณการผลิตเซลล์ในถัง carboy ขนาด 10 ลิตร เพื่อศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไซยาโนแบคทีเรีย รวมทั้งช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวไซยาโนแบคทีเรียเพื่อนำไปสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ได้ไปทดสอบผลของสารสกัดต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย และในขณะเดียวกันได้นำสารสกัดไปศึกษาเบื้องต้นเพื่อแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพออกจากสิ่งเจือปน และขั้นตอนสุดท้ายเป็นการศึกษาถึงคุณสมบัติทางฟิสิกส์และเคมีบางประการของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย ดังแสดงในภาพที่ 1.3

1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.7.1. ทำให้ทราบถึงประสิทธิภาพของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียในการควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้าย เพื่อเป็นแนวทางเบื้องต้นสู่การขยายปริมาณการผลิตในระดับใหญ่ขึ้นเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปทางด้านเกษตรกรรม ซึ่งจะช่วยลดปริมาณการใช้สารเคมีสังเคราะห์ที่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อม รวมทั้งทดแทนการนำเข้าสารเคมีกำจัดแมลงจากต่างประเทศ

1.7.2 เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการที่จะศึกษาถึงสูตรโครงสร้างของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในระดับชีวโมเลกุลเพื่อศึกษาถึงกลไกการออกฤทธิ์ของสาร รวมทั้งอาจใช้เป็นต้นแบบในการพัฒนาสารสังเคราะห์ชนิดใหม่ที่มีประโยชน์ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1.3 แสดงขั้นตอนการศึกษาวิจัยการใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากไซยาโนแบคทีเรียในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับไซยาโนแบคทีเรีย

ไซยาโนแบคทีเรียหรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจัดอยู่ในดิวิชัน Cyanophyta หรืออาจมีชื่อเรียกอย่างอื่นว่าดิวิชัน Myxophyta (Morris, 1968), Schizophyta (Smith, 1951) หรือ Cyanochloronta (Bold *et. al.*, 1978)

ไซยาโนแบคทีเรียพบได้ในสภาพแวดล้อมทั่วไปเช่น ตามชั้นของดิน หิน ไม้ น้ำ ทะเล รวมทั้งมหาสมุทร และชายฝั่งทะเล ไซยาโนแบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำที่มีขนาดเล็ก และมีความแตกต่างจากสาหร่ายอื่นๆ ตรงที่มีลักษณะหลายอย่างคล้ายคลึงกับแบคทีเรีย แต่มีความแตกต่างจากแบคทีเรียซึ่งจัดอยู่ในอาณาจักรเดียวกันกับไซยาโนแบคทีเรียตรงที่ไซยาโนแบคทีเรีย มีคลอโรฟิลล์ เอ จึงสามารถสังเคราะห์แสงและมีออกซิเจนเกิดขึ้นจากกระบวนการสังเคราะห์แสง

ไซยาโนแบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำจำพวกโปรคาริโอต (prokaryote) จึงมีลักษณะและคุณสมบัติหลายประการที่แตกต่างไปจากสาหร่ายพวกอื่นๆ เช่น ไม่มีนิวเคลียสที่แท้จริง ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส ไม่มีไมโตคอนเดรีย (mitocondria) เซลล์ไม่มีโครงสร้างที่ใช้ในการเคลื่อนที่ ไม่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ในบางสกุลมีโครงสร้างพิเศษที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ เป็นต้น คุณสมบัติอีกอย่างหนึ่งที่ทำให้ไซยาโนแบคทีเรียต่างจากสาหร่ายอื่นที่เป็นพวกยูคาริโอต (eukaryote) คือ ไซยาโนแบคทีเรียมีโครงสร้างของเซลล์ไม่สลับซับซ้อน แต่กลับมีกระบวนการเมแทบอลิซึมต่างๆ เกิดขึ้นมากมายภายในเซลล์ แต่ในขณะที่สาหร่ายมีโครงสร้างซับซ้อนกว่ากลับมีกระบวนการเมแทบอลิซึมเกิดขึ้นไม่มากมายภายในเซลล์ (Kumar, 1990)

2.1.1 ลักษณะทั่วไปของไซยาโนแบคทีเรีย

2.1.1.1 รงควัตถุ (pigment) ของไซยาโนแบคทีเรียประกอบด้วย

2.1.1.1.1 คลอโรฟิลล์ เอ (chlorophyll a) เป็นแหล่งสำคัญในการดูดซับพลังงานแสงที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร (สีแดง) และ 662 นาโนเมตร (สีน้ำเงิน)

2.1.1.1.2 แคโรทีนอยด์ (carotenoid) สามารถดูดซับพลังงานแสงในช่วงคลื่นที่คลอโรฟิลล์ เอ ไม่สามารถดูดซับได้ แล้วจะถ่ายทอดพลังงานแสงที่รับไว้ให้แก่คลอโรฟิลล์ เอ (Harold, 1980) แคโรทีนอยด์ประกอบด้วย 2 กลุ่มคือ

- แคโรทีน (carotene) เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ปราศจากออกซิเจน แคโรทีนที่พบมากที่สุดในไซยาโนแบคทีเรีย ได้แก่ เบต้าแคโรทีน (β- carotene)

- แซนโทฟิลล์ (xanthophyll) ได้มาจากปฏิกริยาออกซิเดชันของแคโรทีน มีสีเหลือง ส้ม หรือแดง แซนโทฟิลล์ที่พบมากที่สุด ได้แก่ มิกโซแซนทิน (myxoxanthin)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1. 1.3 ไฟโคบิลิโปรตีน (phybiliprotein) เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ประกอบด้วยรงควัตถุอยู่ร่วมกับโปรตีน ในเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรีย ประกอบด้วย

- ซี-ไฟโคไซยานิน (c-phycocyanin)
- ซี-อัลโลไฟโคไซยานิน (c- allophycocyanin)
- ซี-ไฟโคอิริทริน (c-phycoerythrin)

รงควัตถุของไซยาโนแบคทีเรียเหล่านี้ไม่พบอยู่ในพลาสติดแต่พบอยู่ในไทลาคอยด์ (thylakoid) ไทลาคอยด์ของไซยาโนแบคทีเรียต่างไปจากไทลาคอยด์ของสาหร่ายอื่นๆ ตรงที่ไม่มีเยื่อบางๆ หุ้ม เพื่อให้เกิดเป็นคลอโรพลาสต์ และไม่มีการจัดเรียงตัวเป็นชั้นๆ พบเป็นอิสระในไซโตพลาสซึม คลอโรฟิลล์ เอ จะอยู่ในไทลาคอยด์ ส่วนรงควัตถุอื่น ๆ จะเกาะอยู่บนผิวของไทลาคอยด์ในลักษณะเป็นเม็ดเล็กๆ เรียกว่า ไฟโคบิลิโซม (phycobilisome) (Glazer, 1987)

คุณภาพของแสงมีผลต่อการสร้างรงควัตถุของไซยาโนแบคทีเรีย ในระหว่างการเจริญเติบโต (Bogorad, 1975) เช่น ใน *Oscillatoria* บางชนิดจะสร้างรงควัตถุสีเขียวเมื่อเจริญอยู่ในสภาพแสงสีแดง หรือรงควัตถุสีเขียวแกมน้ำเงินเมื่อเจริญอยู่ในสภาพแสงสีเหลือง เป็นต้น การเปลี่ยนสีของไซยาโนแบคทีเรียเหล่านี้มีประโยชน์ ทำให้ไซยาโนแบคทีเรียสามารถดูดซับพลังงานแสงสำหรับใช้ในการสังเคราะห์แสงได้อย่างมีประสิทธิภาพที่สุด

ไซยาโนแบคทีเรียสามารถเปลี่ยนโพลีเพบไทด์ที่เป็นองค์ประกอบของไฟโคบิลิโซม โดยได้รับอิทธิพลจากคุณภาพของแสงที่ได้รับ ซึ่งสามารถจำแนกไซยาโนแบคทีเรียได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ ขึ้นอยู่กับการตอบสนองของไฟโคบิลิโซมต่อแสงที่ได้รับ กลุ่มแรก การสังเคราะห์ไฟโคอิริทริน และไฟโคไซยานินจะคงที่ไม่ขึ้นอยู่กับสีของแสงที่ได้รับ กลุ่มสอง ไฟโคอิริทรินถูกควบคุมโดยคุณภาพของแสงหรือสีของแสง โดยในแสงสีเขียวจะสังเคราะห์ไฟโคอิริทรินได้สูงกว่าในแสงสีแดง แต่ไม่มีผลต่อการสังเคราะห์ไฟโคไซยานิน นั่นคือระดับไฟโคไซยานินไม่มีการเปลี่ยนแปลง สำหรับกลุ่มสุดท้ายคุณภาพของแสงมีผลทั้งไฟโคไซยานินและไฟโคอิริทริน คือระดับของไฟโคไซยานินจะสูงขึ้นและไฟโคอิริทรินจะลดต่ำลงเมื่อได้รับแสงสีแดง แต่จะเปลี่ยนไปในทางตรงกันข้ามเมื่อได้รับแสงสีเขียว

2.1.1.2 ส่วนประกอบของเซลล์

2.1.1.2.1 ผนังเซลล์ (cell wall)

Desikachary (1959) พบว่า ไซยาโนแบคทีเรียมีผนังเซลล์ 2 ชั้น ผนังชั้นในบางเรียกว่าอินเวสเมนท์ (investment) ประกอบด้วยสารพวกเซลลูโลส และผนังชั้นนอกหนาประกอบด้วยเจลาติน หรือเรียกว่าชีท (sheath)

Kumar (1990) พบว่า ไซยาโนแบคทีเรียมีผนังเซลล์ 2 ชั้น ผนังชั้นในประกอบด้วยมิวโคเปปไทด์ (mucopeptide) และกรดมิวรามิค (muramic acid) ผนังชั้นในมีลักษณะเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ในการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โฮโมจีเนียส (homogenous) ในขณะที่ชั้นนอกมีลักษณะเป็น fine structure ถัดจากผนังเซลล์ออกไปมีลักษณะเป็นเจลาตินหรือที่เรียกกันว่าชีท มีลักษณะเป็นไมโครไฟบริล (microfibril) 3 ชั้น สำหรับองค์ประกอบทางเคมีของไมโครไฟบริลเหล่านี้ ยังไม่เป็นที่ทราบแน่นอน แต่ต่อมาได้มีการศึกษา พบว่าไมโครไฟบริลเหล่านี้ไม่มีเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบ

ชีทที่หุ้มเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียเหล่านี้บางชนิดบาง บางชนิดหนาซึ่งทำให้เห็นชีทได้อย่างเด่นชัด ได้แก่ *Synechococcus*, *Oscillatoria*, *Arthrospira* และ *Spirulina* บางชนิดพบสารประกอบพวกเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) เป็นองค์ประกอบภายในชีทด้วย ได้แก่ไซยาโนแบคทีเรียในตระกูล Scytonemataceae, Rivulariaceae และ Oscillatoriaceae ชีทอาจใสไม่มีสี ทำให้มองเห็นไม่ชัดเจน หรืออาจปรากฏมีสีน้ำตาล น้ำเงิน แดง และเหลืองขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่ไซยาโนแบคทีเรียอาศัยอยู่ ไซยาโนแบคทีเรียจะสร้างรงควัตถุขึ้นมาภายในชีทภายใต้ความเข้มแสงสูง และจะไม่มีรงควัตถุภายใต้ความเข้มแสงต่ำ (Fogg *et.al.*, 1974)

Smith (1951) พบว่า ไซยาโนแบคทีเรียบางสกุลที่ได้รับแสงอาทิตย์โดยตรงเป็นเวลานานๆ หรือได้รับคลื่นความถี่สูง รงควัตถุที่อยู่ภายในเซลล์จะเคลื่อนย้ายเข้ามาอยู่ภายในชีท และการที่ชีทปรากฏมีสีเหลืองน้ำตาล โดยทั่วๆ ไปแล้วเป็นผลมาจากหลายๆ กรณี และสาเหตุหนึ่งมาจากเชื้อราเข้ามาเป็นปรสิต

การที่ไซยาโนแบคทีเรียมีชีทหุ้มอยู่ภายนอกผนังเซลล์เช่นนี้ ทำให้ไซยาโนแบคทีเรียสามารถเจริญอยู่ในสภาพที่แห้งแล้งได้ เพราะชีทสามารถดูดซึมน้ำและอุ้มน้ำได้ดี (กาญจนภาชน์ ลิ่วมโนมนต์, 2527)

2.1.1.2.2 ไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ไซโตพลาสซึมอยู่ถัดจากผนังเซลล์เข้าไปข้างในเป็นเยื่อบางๆ เรียก พลาสมาเมมเบรน (plasma membrane) หุ้มไซโตพลาสซึมไว้ ไซโตพลาสซึมแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ บริเวณรอบนอกเป็นบริเวณที่มีรงควัตถุสะสมอยู่ เรียกว่า โครโมพลาซึม (chromoplasm) ส่วนบริเวณส่วนในซึ่งไม่มีรงควัตถุจึงไม่มีสีเรียก เซนโตรพลาสซึม (centroplasm) ส่วนนี้ไม่มีผนังหุ้มจึงไม่ใช่นิวเคลียสที่แท้จริง แต่มีสารที่ทำหน้าที่คล้ายนิวเคลียสอยู่ภายใน

ไซยาโนแบคทีเรียไม่มีนิวเคลียสชัดเจนเหมือนสาหร่ายอื่น แต่มีสารที่ทำหน้าที่คล้ายนิวเคลียสอยู่ภายในเซนโตรพลาสซึมเพียงแต่ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (nuclear membrane) สารที่ทำหน้าที่คล้ายนิวเคลียสนี้ คือ ดีเอ็นเอ (deoxyribonucleic acid; DNA) ซึ่งอาจจะรวมตัวกันเป็นร่างแหหลวม ๆ หรือเป็นท่อนสั้น ๆ หรืออาจจะจับตัวกันแน่นมากมีรูปร่างต่าง ๆ ก็ได้ (ยุวดี พีรพรพิศาล, 2538)

2.1.1.2.3 แวคิวโอล (vacuole) ไม่พบว่าไซยาโนแบคทีเรียมีแวคิวโอลขนาดใหญ่เหมือนสาหร่ายชนิดอื่นๆ โดยเฉพาะพวกที่เป็นแพลงก์ตอนพืช เช่น *Anacystis*, *Anabaena*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nostoc และ *Coelosphaerium* จะพบแก๊สแวคิวโอล (gas vacuole) หรือ ซูโดแวคิวโอล (pseudovacuole) ซึ่งมีลักษณะเป็นเม็ดเล็กๆ กระจายอยู่ทั่วไป

แก๊สแวคิวโอลช่วยในการลอยตัวของไซยาโนแบคทีเรีย แก๊สแวคิวโอลถูกสร้างขึ้นมาเมื่อได้รับความเข้มแสงต่ำๆ และจะหายไปเมื่อความเข้มแสงสูง เมื่อไซยาโนแบคทีเรียได้รับแสงจะสังเคราะห์แสงและผลิตน้ำตาลขึ้นมา เป็นผลทำให้แรงดันออสโมติกภายในเซลล์สูงขึ้น ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้แก๊สแวคิวโอลหายไป ทำให้แรงลอยตัวลดลงเป็นผลทำให้ไซยาโนแบคทีเรียจมลงจากผิวน้ำลงสู่ใต้น้ำ

2.1.1.2.4 อาหารที่สะสม (storage product) อาหารที่เก็บสะสมของไซยาโนแบคทีเรีย เป็นพวกคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ แป้งไซยาโนไฟเซียน (cyanophycean starch) เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะปรากฏเห็นเป็นเม็ด (granule) ขนาดเล็ก และเมื่อย้อมด้วยไอโอดีนจะติดสีแดง นอกจากนี้ยังมีไกลโคเจนแกรนูล (glycogen granule) และหยดน้ำมันด้วย

2.1.1.3 รูปร่าง ไซยาโนแบคทีเรียมีรูปร่าง 2 แบบ คือ

2.1.1.3.1 รูปร่างเป็นเซลล์เดี่ยวหรือโคโลนีไม่เป็นเส้นสาย (non-filamentous form)

รูปร่างเป็นเซลล์เดี่ยว เช่น *Chroococcus* หรือรวมกันเป็นโคโลนีแบบพาล์เมลลา (palmellate form) เช่น *Merismopedia*, *Eucapsis*, *Anacystis* เป็นต้น เซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียพวกนี้มีรูปร่างต่างๆ กัน เช่น กลม รูปไข่ ทรงกระบอก สำหรับพวกที่อยู่เป็นโคโลนีแบบพาล์เมลลาอาจมีลักษณะของโคโลนีกลม แบน สี่เหลี่ยม หรือรูปร่างที่แน่นอน

2.1.1.3.2 รูปร่างเป็นเส้นสาย (filamentous form)

รูปร่างเป็นเส้นสายเกิดจากเซลล์หลายเซลล์มาต่อกันจนเป็นเส้นยาว ในพวกที่เป็นเส้นสายส่วนของเซลล์ที่เรียงกันเป็นแถว เรียกว่า ทรัยโคม (trichome) ดังนั้นในแต่ละเส้นสายจึงประกอบไปด้วยทรัยโคมและซีทรวมกัน เส้นสายนี้อาจตรงและเรียบไม่มีการแตกแขนง เช่น *Oscillatoria*, *Lyngbya* เป็นต้น บางชนิดอาจมีปลายโค้งงอ หรือบิดเป็นเกลียว เช่น *Arthrospira* เป็นต้น สำหรับเส้นสายที่มีการแตกแขนงมี 2 ประเภท ได้แก่ การแตกแขนงแท้ และการแตกแขนงเทียม ซึ่งจะกล่าวถึงต่อไป

2.1.1.4 เฮเทอโรซีสต์ (heterocyst)

เฮเทอโรซีสต์ คือ เซลล์พิเศษซึ่งแตกต่างจากเซลล์ปกติ (vegetative cell) ทั่วไป เกิดขึ้นในระหว่างการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว (active growth) (Fogg, 1944) โดยปกติเฮเทอโรซีสต์จะมีขนาดใหญ่และมีผนังหนากว่าเซลล์ปกติ พบในไซยาโนแบคทีเรียที่เป็นเส้นสายบางตระกูลเท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นั้น ได้แก่ Nostocaceae, Rivulariaceae, Scytonemataceae และ Stigonemataceae ซึ่งสามารถพบได้ในเส้นสายทั้งที่แตกแขนงจริง และแตกแขนงเทียม

เฮเทอโรซีสต์อาจปรากฏอยู่ที่ตำแหน่งปลายสุดของเส้นสาย เช่น *Gloeotrichia* ซึ่งเรียกว่า เบซัลเฮเทอโรซีสต์ (basal heterocyst) หรือปรากฏอยู่ที่ปลายทั้ง 2 ข้างของเส้นสาย เช่น *Anabaenopsis* หรืออาจปรากฏอยู่ที่ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งในระหว่างเส้นสาย เช่น *Anabaena* หรือ *Nostoc* sp.

ระหว่างเฮเทอโรซีสต์กับเซลล์ปกติเชื่อมต่อกันโดยผ่านทางรูเล็กๆ ที่เรียกว่าโพลาร์โนดุล (polar nodule) เฮเทอโรซีสต์ที่อยู่ที่ปลายจะมีหนึ่งโพลาร์โนดุล ในขณะที่เฮเทอโรซีสต์ที่อยู่ระหว่างเส้นสายจะมี 2 โพลาร์โนดุล และในชนิดที่มีการแตกแขนงจะปรากฏมี 3 โพลาร์โนดุล เมื่อเฮเทอโรซีสต์ปรากฏอยู่ตรงฐานที่แตกแขนง เช่น *Mastigocladus laminosus* (Venkataraman, 1957) ซึ่งทำให้เฮเทอโรซีสต์สามารถเชื่อมต่อกับเซลล์ปกติได้ทั้ง 3 เซลล์

ถึงแม้ว่าการเกิดเฮเทอโรซีสต์จะแตกต่างกันไปตามแต่ละชนิด แต่ Fay (1973) สรุปการเกิดเฮเทอโรซีสต์ไว้โดยรวมดังนี้ คือ ขั้นแรกเซลล์ปกติเซลล์ใดเซลล์หนึ่งในเส้นสายจะขยายขนาดใหญ่ขึ้นเนื่องจากมีอาหารมาสะสมมากขึ้น ทำให้จากเดิมเซลล์ที่เป็นรูปเหลี่ยมจะเปลี่ยนเป็นกลมขึ้น ขั้นต่อไปเกิดการคอดกิ่วระหว่างเซลล์ที่กำลังพัฒนาไปเป็นเฮเทอโรซีสต์กับเซลล์ปกติมากขึ้น และขั้นสุดท้ายผนังเซลล์จะสร้างไฟบรัสเป็นชั้นขึ้นมา ทำให้ผนังเซลล์มีลักษณะหนากว่าเดิม โดยเฉพาะบริเวณโพลาร์โนดุล และเซลล์จะเปลี่ยนสีเหลืองอ่อน

เฮเทอโรซีสต์ มีหน้าที่หลักในการตรึงไนโตรเจน และนอกจากนี้ยังมีทฤษฎีเกี่ยวกับหน้าที่ของเฮเทอโรซีสต์อีกมากมายหลายทฤษฎีด้วยกัน Morris (1968) ได้สรุปว่ามี 3 ทฤษฎีและเป็นที่ยอมรับกันอย่างกว้างขวางคือ ข้อแรกเฮเทอโรซีสต์เป็นจุดอ่อนที่ทำให้เกิดการขาดท่อนของทรัยโคม ซึ่งแต่ละท่อนที่ขาดออกมานี้เรียกว่า ฮอร์โมโกเนีย (hormogonia) หรือ ฮอร์โมโกน (hormogone) ซึ่งอาจเป็นเส้นสายยาวหรือสั้น ซึ่งฮอร์โมโกเนียดังกล่าวเหล่านี้สามารถแบ่งตัวเป็นเส้นสายที่ยาวต่อไปได้ ข้อที่สองเฮเทอโรซีสต์จะไปกระตุ้นการสร้างอะคีนีต ซึ่งทฤษฎีข้อนี้มาจากการที่ได้สังเกตและศึกษาในหลายๆ ชนิด พบว่า การสร้างอะคีนีตถูกจำกัดให้อยู่ใกล้ๆ กับบริเวณเฮเทอโรซีสต์ ซึ่ง Fritsch (1945) ได้ขยายความของทฤษฎีข้อนี้คือ เฮเทอโรซีสต์จะปลดปล่อยสารบางอย่างซึ่งจะไปกระตุ้นการเจริญเติบโตและการแบ่งเซลล์ และทฤษฎีข้อสุดท้ายสันนิษฐานว่าในอดีตเฮเทอโรซีสต์คือเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งในปัจจุบันสูญเสียหน้าที่ดังกล่าวไปแล้ว ทฤษฎีข้อนี้ได้มาจากการสังเกตเห็นได้จากในบางครั้งเฮเทอโรซีสต์สามารถงอกเป็นเส้นสายใหม่ได้ แต่อย่างไรก็ตามการที่เฮเทอโรซีสต์จะงอกเป็นเส้นสายใหม่ขึ้นอยู่กับอาหารที่ต้องมีความจำเพาะเจาะจงแต่เพียงเท่านั้น ซึ่งเฮเทอโรซีสต์ไม่งอกเป็นเส้นสายใหม่ในอาหารพื้นฐานทั่วไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไซยาโนแบคทีเรียถูกกระตุ้นให้สร้างเฮเทอโรซีสต์ขึ้นมาเมื่อนำไปเลี้ยงในอาหารที่ขาดไนโตรเจน และจากการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่าเมื่อใช้แก๊สไนโตรเจนเป็นแหล่งไนโตรเจน ไซยาโนแบคทีเรียจะสร้างเฮเทอโรซีสต์ขึ้นมามากกว่าใช้แอมโมเนียเป็นแหล่งไนโตรเจน (Trainor, 1978) นอกจากนี้ Stewart (1974) ได้กล่าวว่าคลอไรด์ยังมีบทบาทในการสร้างเฮเทอโรซีสต์ของไซยาโนแบคทีเรีย เช่น *Anabaena* จะพัฒนาสร้างเฮเทอโรซีสต์ขึ้นมาเมื่อนำไปเลี้ยงในอาหารที่มีการเติมคลอไรด์ลงไป

2.1.1.5 อะคีนีต (akinete)

อะคีนีตเป็นเซลล์พิเศษมีผนังหนา โดยปกติจะมีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ปกติและสามารถทนอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้มากกว่า อะคีนีตอาจมีรูปร่างเป็นทรงกลม เช่น *Anabaena* ทรงแบน เช่น *Nodularia* หรือยาวเรียว เช่น *Gloeotrichia*, *Cylindrospermum* ซึ่งใน 2 สกุลหลังนี้อะคีนีตจะเกิดอยู่ชิดกับเฮเทอโรซีสต์ *Anabaena* บางชนิด เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาพที่ขาดไนโตรเจนอะคีนีตจะถูกสร้างขึ้นมาอยู่ตรงกลางระหว่างเฮเทอโรซีสต์ ไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญในสภาพที่มีไนโตรเจนจะมีการสร้างอะคีนิตแต่ไม่มีการสร้างเฮเทอโรซีสต์ มีความเชื่อกันว่าการขาดฟอสเฟตจะทำให้อะคีนีตถูกสร้างขึ้นมา แต่ไม่พบในไซยาโนแบคทีเรียทุกชนิด (Rai *et al.*, 1985) นอกจากนี้แสงยังเป็นปัจจัยสำคัญเช่นเดียวกันในการสร้างอะคีนีต โดยปกติอะคีนีตจะถูกสร้างมากขึ้นเมื่อความเข้มแสงลดลง

2.1.1.6 การแตกแขนง (branching)

การแตกแขนงที่พบในไซยาโนแบคทีเรียมี 2 ประเภท ได้แก่ การแตกแขนงแท้ (true branching) และการแตกแขนงเทียม (false branching)

2.1.1.6.1 การแตกแขนงแท้เป็นการแตกแขนงที่พบได้ทั่วไปในสาหร่ายหลายชนิด รวมทั้งไซยาโนแบคทีเรีย การแตกแขนงแท้มี 3 แบบ คือ

- การแตกแขนงข้าง (lateral branching) เกิดจากเซลล์หนึ่งทำการแบ่งตัวในแนวตั้งฉากกับแนวการแบ่งเซลล์ปกติ หลังจากนั้นเซลล์ที่เกิดใหม่จะแบ่งตัวต่อไปอีก ทำให้เกิดแขนงงอกยาวออกไปทางด้านใดด้านหนึ่งหรือทั้ง 2 ด้าน

- การแตกแขนงคู่ (dichotomous branching) เกิดจากการแบ่งเซลล์ยอด (apical cell) ของเส้นสาย โดยทำการแบ่งตามแนวขนานกับแนวแกนได้เซลล์ใหม่ 2 เซลล์ หลังจากนั้นทั้ง 2 เซลล์จะแบ่งตัวต่อไปอีกได้เป็นแขนงใหม่อยู่ตรงปลายเป็นคู่

- การแตกแขนงแบบตัว V คว่ำ (mastigocladaceous หรือ reverse V shaped branching) เกิดจากการแบ่งเซลล์ตามปกติ หลังจากนั้นเซลล์ที่เกิดใหม่ทั้ง 2 เซลล์ จะยืดตัวแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

32866

ดันออกไปในทางเดียวกัน แล้วจึงทำการแบ่งเซลล์ต่อไปอีกให้แขนงสั้นๆ ชนกันและชะงักการเจริญเติบโต ทำให้มีลักษณะเป็นรูปตัว V คว่ำ

2.1.1.6.2 การแตกแขนงเทียม การแตกแขนงแบบนี้พบเฉพาะในไซยาโนแบคทีเรียเท่านั้น เกิดขึ้นเนื่องจากเซลล์ในเส้นสายแบ่งตัวตามปกติให้เซลล์ใหม่ 2 เซลล์ ผนังเซลล์ส่วนที่ชนกันจะโค้งมน หลังจากนั้นเซลล์ใหม่ทั้ง 2 เซลล์หรือเพียงเซลล์เดียวจะทำการแบ่งตัวเกิดเป็นแขนงเทียมคู่ (false branch in pair)

การเกิดแขนงเทียมนี้แขนงที่เกิดใหม่อาจดันชีทที่หุ้มติดไปด้วย หรืออาจแทงทะลุชีทออกไปทำให้เกิดมีรอยขาดของชีทเดิม เรียกรอยนี้ว่า โอเครีย (ocrea)

2.1.1.7 การสืบพันธุ์ (reproduction)

ไซยาโนแบคทีเรียมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเท่านั้น การสืบพันธุ์ที่พบได้แก่

2.1.1.7.1 การแบ่งเซลล์เป็นการเพิ่มจำนวนเซลล์แบบทวีคูณ

- ไซยาโนแบคทีเรียเซลล์เดียวที่มีชีทหุ้ม เมื่อมีการแบ่งเซลล์หลายๆ ครั้ง จะทำให้เห็นเป็นกลุ่มเซลล์อยู่รวมภายในชีทเดียวกัน หลังจากนั้นจึงจะหลุดออกจากกันเป็นเซลล์เดี่ยวๆ

- ไซยาโนแบคทีเรียที่เป็นกลุ่มเซลล์หรือโคโลนี เมื่อมีการแบ่งเซลล์จะทำให้ขนาดของกลุ่มเซลล์ใหญ่ขึ้น ต่อมาจึงหลุดออกเป็นกลุ่มเซลล์ย่อยๆ (fragmentation)

- ไซยาโนแบคทีเรียที่เป็นเส้นสาย การแบ่งเซลล์จะทำให้ทรัยโคมยืดยาวออก และเมื่อถูกกระทบกระเทือนจะขาดเป็นท่อน แต่ละท่อนสามารถเจริญเป็นทรัยโคมใหม่ต่อไป ถ้าเป็นพวกที่มีเฮเทอโรซีสต์ การขาดท่อนมักเกิดตรงรอยต่อระหว่างเฮเทอโรซีสต์กับเซลล์ที่อยู่ติดกัน สำหรับพวกที่ไม่มีเฮเทอโรซีสต์อาจมีเซลล์ตาย ซึ่งเป็นจุดอ่อนทำให้เกิดการขาดท่อนตรงเซลล์ตายนี้ ในกรณีที่มีชีทหนาและเหนียวหุ้มอยู่ เมื่อเกิดมีเซลล์ตายมากๆ จะเห็นกลุ่มเซลล์ท่อนสั้นๆ หรือฮอโมโกนเกิดอยู่ภายในชีทมีจำนวนมากมาย ฮอโมโกนเหล่านี้จะถูกผลักดันให้หลุดออกจากชีท แล้วจึงสร้างชีทใหม่และเจริญเติบโตเป็นเส้นสายใหม่ต่อไป

2.1.1.7.2 การสร้างสปอร์ สปอร์ของไซยาโนแบคทีเรียมีดังนี้

- เอนโดสปอร์ (endospore) หมายถึงสปอร์ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ โดยการแบ่งโปรโตพลาสต์ออกเป็น 2 ส่วน หรือหลายๆ ส่วน แต่ละส่วนเมื่อหลุดออกจากผนังเซลล์เดิมจะงอกเป็นต้นใหม่ต่อไป

- เอกโซสปอร์ (exospore) หมายถึงสปอร์ที่เกิดขึ้นโดยการตัดแบ่งส่วนปลายของเซลล์ออกมา อาจมีจำนวนเพียง 1 หรือหลายๆ สปอร์เรียงต่อกัน พบเฉพาะสกุล *Chamaesiphon*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสงในช่วงแคบกว่า scytonemin คือระหว่าง 310 ถึง 334 นาโนเมตร (Garcia and Castenhoz, 1991,1993)

- อุณหภูมิ (temperature)

อุณหภูมิมีผลต่อการเจริญเติบโตและกิจกรรมต่างๆ ของไซยาโนแบคทีเรีย โดยอุณหภูมิมีผลต่อโครงสร้างขององค์ประกอบภายในเซลล์โดยเฉพาะโปรตีนและไขมัน นอกจากนั้นอุณหภูมิยังมีอิทธิพลร่วมกับอัตราการเกิดปฏิกิริยาต่างๆ ซึ่งอุณหภูมิไปมีผลต่อพลังงานกระตุ้นของปฏิกริยาเหล่านี้ (Richmond, 1986)

Sato และ Murata (1980) กล่าวว่าอุณหภูมิเป็นหนึ่งในปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่สำคัญที่สุดที่มีผลต่อองค์ประกอบของกรดไขมัน จากการทดลองย้าย *Anabaena variabilis* จากอุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียสไปเลี้ยงที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส พบว่าเพียง 10 ชั่วโมงแรกการสังเคราะห์กรดไขมันของ *A. variabilus* ลดลง และเมื่อย้ายจากอุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียสไปเลี้ยงที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียสเช่นเดิม พบว่าภายใน 5 ชั่วโมงหลังจากย้ายมีการสังเคราะห์กรดไขมันเพิ่มขึ้น

- ความเป็นกรดเป็นด่าง (hydrogen ion concentration).

ความเป็นกรดเป็นด่างมีผลต่อกระบวนการทางชีววิทยา ผลต่อประจุไฟฟ้าที่ผนังเซลล์ การถ่ายเทไอออนที่พลาสมาเมมเบรน และเกี่ยวข้องกับศักย์ไฟฟ้าที่เซลล์เมมเบรน ในการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียหลายๆ ชนิด ความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารเพาะเลี้ยงระหว่าง 7.0 ถึง 10.0 มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสังเคราะห์แสง เนื่องจากไบคาร์บอเนตไอออนละลายได้มากที่สุดที่ช่วงระดับความเป็นกรดเป็นด่างนี้จึงสามารถใช้ HCO_3^- เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการสังเคราะห์แสง ทำให้ไซยาโนแบคทีเรียส่วนใหญ่เจริญเติบโตได้สูงที่สุดในช่วงความเป็นกรดเป็นด่างนี้ (Coleman and Colman, 1981)

ความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงมีผลต่อการละลายของเกลือและสารประกอบต่างๆ (Cook, 1965) ซึ่งการละลายของเกลือและสารประกอบต่างๆ อาจเป็นพิษหรือไปยับยั้งปฏิกิริยาต่างๆ ได้ นอกจากนี้ความเป็นกรดเป็นด่างยังมีผลต่อการละลายของโลหะหลายชนิด ถ้าความเป็นกรดเป็นด่างเพิ่มขึ้นอาจทำให้จุลธาตุบางตัวไม่ละลายได้

- ความเค็มและแรงดันออสโมติก (salinity and osmotic effect)

การสังเคราะห์แสงของไซยาโนแบคทีเรียที่อาศัยในน้ำจืดจะถูกยับยั้งถ้าย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่มีความเค็มสูงหรือมีค่าแรงดันออสโมติกสูง (Batterton and van Baalen, 1971) ผลของความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่เพิ่มขึ้นมีอิทธิพลต่ออัตราการสังเคราะห์แสงของไซยาโนแบคทีเรียมากกว่าตัวเพิ่มแรงดันออสโมติกตัวอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2.2 ปัจจัยทางเคมี

การเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียขึ้นอยู่กับธาตุอาหารที่ใช้เลี้ยงซึ่งแตกต่างกันไปตามชนิดของไซยาโนแบคทีเรีย ธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มธาตุอาหารหลัก (macronutrient) และกลุ่มธาตุอาหารรอง (micronutrient) ธาตุอาหารหลักเป็นธาตุอาหารที่ใช้สำหรับสร้างโมเลกุลซึ่งเป็นโครงสร้างหลักของไซยาโนแบคทีเรีย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้ในปริมาณมาก ธาตุอาหารหลักโดยทั่วไปประกอบด้วย คาร์บอน ไนโตรเจน ออกซิเจน ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมกนีเซียม ซัลเฟอร์ และโพแทสเซียม ส่วนธาตุอาหารรองเป็นธาตุอาหารที่ไซยาโนแบคทีเรียต้องการใช้ปริมาณน้อย มักมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร ธาตุอาหารรองเป็นส่วนประกอบของโมเลกุลที่จำเป็น เช่น เอนไซม์ซึ่งเป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตหรือเป็นส่วนประกอบของโมเลกุลของเอนไซม์ที่สำคัญบางชนิด หรือจำเป็นสำหรับเป็นตัวเร่งของเอนไซม์

2.1.2.2.1 ธาตุอาหารหลัก ประกอบด้วยธาตุต่อไปนี้

- ออกซิเจน (oxygen)

ถึงแม้ว่าออกซิเจนไม่ได้ถูกพิจารณาว่าเป็นธาตุอาหาร แต่ออกซิเจนเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับโครงสร้างและกระบวนการเมแทบอลิซึม ธาตุนี้เป็นองค์ประกอบของสารประกอบอินทรีย์เกือบทั้งหมดในเซลล์ และโดยปกติออกซิเจนจะทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายในปฏิกิริยาออกซิเดชัน ไซยาโนแบคทีเรียสามารถใช้โมเลกุลของออกซิเจนได้โดยตรงจากบรรยากาศหรือที่ละลายอยู่ในน้ำ ในไซยาโนแบคทีเรียบางชนิดพบว่า ออกซิเจนมีผลต่อการสังเคราะห์แสงและการตรึงไนโตรเจน โดยการยับยั้งจะเริ่มปรากฏขึ้นเมื่อปริมาณออกซิเจนในบรรยากาศลดต่ำลง (Fay, 1992)

- คาร์บอน (carbon)

คาร์บอนเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย จากการวิเคราะห์ทางเคมีพบว่าประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ขององค์ประกอบของไซยาโนแบคทีเรีย คือ คาร์บอน (Kaplan *et al.*, 1986) ไซยาโนแบคทีเรียต้องการอนินทรีย์คาร์บอนในการสังเคราะห์แสง เช่นเดียวกับพืช แต่ปริมาณคาร์บอนในอากาศบางครั้งไม่เพียงพอกับความต้องการ เนื่องจากปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีอยู่ในอากาศมีค่าต่ำเกินไปคือมีเพียง 0.03 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น (Becker, 1994) สำหรับแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียนั้นมักใช้ในรูปของอากาศผสมกับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์หรือให้ในรูปคาร์บอเนตหรือไบคาร์บอเนตโดยอยู่ในรูปของเกลือ การที่คาร์บอนจะอยู่ในรูปใดขึ้นกับระดับความเป็นกรดเป็นด่าง เช่นในรูปของเกลือไบคาร์บอเนตเมื่อความเป็นกรดเป็นด่างมีค่าระหว่าง 7 ถึง 9 หรืออยู่ในรูปของเกลือคาร์บอเนตเมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเป็นกรดเป็นด่างมีค่าสูงกว่า 9.5 ขึ้นไป และคาร์บอนจะอยู่ในรูปของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เมื่อน้ำมีความเป็นกรดเป็นด่างประมาณ 5

ในการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงที่มีระบบบัฟเฟอร์ไม่เหมาะสม เมื่อไซยาโนแบคทีเรียใช้คาร์บอนไดออกไซด์หรือไบคาร์บอเนตอย่างรวดเร็วในการเจริญเติบโต จะทำให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างในอาหารมีค่าสูงขึ้น เนื่องมาจากมีการปลดปล่อยไฮดรอกไซด์ไอออนลงในอาหาร

- ไนโตรเจน (nitrogen)

ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่สำคัญสำหรับการสร้างชีวมวลสัดส่วนของไนโตรเจนอยู่ระหว่าง 7-10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ดังนั้นในการผลิต 1 กรัมเซลล์ในอาหาร 1 ลิตรปริมาณโซเดียมไนเตรต (KNO_3) ต่ำสุดที่ไซยาโนแบคทีเรียต้องการคือ 500-600 มิลลิกรัมต่อลิตร (Vonshak, 1986)

สารประกอบไนโตรเจนทั้งที่เป็นสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์สามารถใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนได้ในจุลสาหร่ายหลายชนิดรวมทั้งไซยาโนแบคทีเรียด้วย และนอกจากนี้ไซยาโนแบคทีเรียยังสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศมาใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน โดยสามารถเปลี่ยนจากแก๊สไนโตรเจนไปเป็นแอมโมเนียในกระบวนการรีดักชันโดยใช้เอนไซม์ไนโตรจีเนสเป็นตัวช่วย

ไซยาโนแบคทีเรียสามารถใช้แอมโมเนียและไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจนได้โดยแอมโมเนียถูกนำไปใช้ได้เร็วกว่าไนเตรต เนื่องจากแอมโมเนียเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากกระบวนการรีดักชันของไนเตรต ในบางครั้งแอมโมเนียอาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดการยับยั้งแบบย้อนกลับซึ่งทำให้ไซยาโนแบคทีเรียใช้ไนเตรตได้ลดลง ส่วนไนไตรต์ไซยาโนแบคทีเรียสามารถใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนได้เหมือนกัน แต่มีข้อเสียคือที่ความเข้มข้นของไนไตรต์ที่สูงจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตทำให้ไม่นิยมใช้

การใช้ไนเตรตและแอมโมเนียสัมพันธ์กับความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารเป็นอย่างมากเมื่อใช้แอมโมเนียเป็นแหล่งไนโตรเจน ความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารจะลดลงอย่างรวดเร็ว ดังนั้นการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียสามารถถูกยับยั้งได้ที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียประมาณ 1 มิลลิโมล (Morris, 1978)

สำหรับแหล่งของสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ได้แก่ ยูเรีย (urea), เอไมด์ (amide) , กลูตามีน (glutamine), แอสพาราจีน (asparagine) และ กรดอะมิโนต่างๆ เช่น ไกลซีน (glycine) เป็นต้น

ถ้าไซยาโนแบคทีเรียและสาหร่ายอื่นๆ ขาดธาตุไนโตรเจนจะมีผลทำให้รงควัตถุในการสังเคราะห์แสงลดลง ซึ่งทำให้การสังเคราะห์แสงลดลงไปด้วย (Allen, 1969) แต่สำหรับไซยาโนแบคทีเรีย Canto de loura (1994) กล่าวว่าไซยาโนแบคทีเรียสามารถนำสารประกอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไนโตรเจนที่เก็บสะสมไว้มาใช้ได้ จากการทดลองนำ *Oscillatoria splendida* ไปเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีไนโตรเจน พบว่ารงควัตถุไฟโคไซยานินถูกสลายไปเป็นไนโตรเจนที่ไซยาโนแบคทีเรียสามารถใช้ได้ ทำให้ปริมาณไฟโคไซยานินลดลงอย่างเห็นได้ชัด และปริมาณไฟโคไซยานินจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วอีกเมื่อเติมไนโตรเจนลงในอาหาร และนอกจากนี้ยังมีการสะสมของแป้งและไขมันเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน

- ฟอสฟอรัส (phosphorus)

ฟอสฟอรัสเป็นหนึ่งในธาตุอาหารหลักที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย เพราะมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการต่างๆ ของเซลล์ โดยเฉพาะกระบวนการถ่ายเทพลังงานและกระบวนการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก (Talling, 1962)

ชนิดของฟอสฟอรัสที่ไซยาโนแบคทีเรียต้องการส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปสารอนินทรีย์มากกว่า เช่น $H_2PO_4^-$ หรือ HPO_4^{2-} อย่างไรก็ตามการดูดซึมสารประกอบฟอสเฟตของไซยาโนแบคทีเรียและสาหร่ายอื่นๆ มีปัจจัยหลายปัจจัยเข้ามาเกี่ยวข้องเช่น ความเป็นกรดเป็นด่าง ความเข้มข้นของโซเดียมไอออน โปแตสเซียมไอออน และแมกนีเซียมไอออน หรือโลหะหนักบางชนิดในอาหาร และความแตกต่างของไซยาโนแบคทีเรียแต่ละชนิด

เมื่อไซยาโนแบคทีเรียหรือสาหร่ายอื่นๆ ขาดธาตุฟอสฟอรัสลักษณะอาการจะคล้ายคลึงกับการขาดธาตุไนโตรเจนคือ ปริมาณโปรตีน คลอโรฟิลล์ เอ อาร์เอ็นเอ (RNA) และดีเอ็นเอ (DNA) มีแนวโน้มลดลง แต่ปริมาณคาร์โบไฮเดรตกลับมีปริมาณเพิ่มขึ้น และมีการสะสมของไซยาโนไฟซีนในเซลล์ที่ขาดฟอสเฟตมากขึ้นด้วย นอกจากนี้รูปร่างภายนอกของเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย เช่น รูปร่างและขนาดของเซลล์ หรือทรัยโคมมีการเปลี่ยนแปลงด้วย และจากการศึกษาของ Prieto (1997) พบว่าเซลล์ที่ขาดฟอสเฟตเมื่อนำไปเลี้ยงในอาหารที่มีฟอสเฟตจะสามารถดูดซึมฟอสเฟตได้ในปริมาณที่สูงและเร็วกว่าเซลล์ที่ไม่ขาดฟอสเฟตทั้งในสภาพที่มีแสงและไม่มีแสงภายใต้สภาพมีออกซิเจน แต่ในสภาพที่ขาดออกซิเจนแสงจำเป็นต่อการดูดซึมฟอสเฟต

-ซัลเฟอร์ (sulfur)

ซัลเฟอร์เป็นธาตุที่จำเป็นสำหรับไซยาโนแบคทีเรียเพราะซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็นได้แก่ เมไทโอนีน (methionine), ซีสตีน (cystine) และซีสเตอีน (cysteine) วิตามินต่างๆ และซัลโฟลิปิด (sulfolipid) เป็นต้น โดยปกติซัลเฟอร์ที่ไซยาโนแบคทีเรียและสาหร่ายใช้จะอยู่ในรูปของสารอนินทรีย์ แต่มีสาหร่ายบางชนิดสามารถใช้ซัลเฟอร์ในรูปอินทรีย์สาร เช่น กรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบเป็นแหล่งของซัลเฟอร์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- แคลเซียม (calcium)

บทบาทของแคลเซียมต่อสรีรวิทยาและการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่อย่างไรก็ตามมีการยอมรับกันว่าแคลเซียมเป็นแร่ธาตุที่จำเป็น แต่ต้องการในปริมาณน้อยกว่าธาตุอาหารหลักอื่นๆ ซึ่งแคลเซียมอาจใช้ในรูปสารประกอบรวมกับแร่ธาตุตัวอื่นๆ

- โซเดียมและโพแทสเซียม (sodium and potassium)

โซเดียมเป็นแร่ธาตุที่จำเป็นสำหรับไซยาโนแบคทีเรียและสาหร่ายบางชนิดเท่านั้น แต่ถ้ามีปริมาณสูงอาจเป็นพิษต่อไซยาโนแบคทีเรียได้ นอกจากนี้โซเดียมยังช่วยในการเปลี่ยนโมเลกุลไนโตรเจนไปเป็นแอมโมเนียในการตรึงไนโตรเจนของไซยาโนแบคทีเรียด้วย

โซเดียมและโพแทสเซียมมีองค์ประกอบทางเคมีที่คล้ายคลึงกันจึงสามารถใช้แทนกันได้ สำหรับโพแทสเซียมจำเป็นสำหรับไซยาโนแบคทีเรียและสาหร่ายทุกชนิด เนื่องจากโพแทสเซียมเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์หลายชนิด ภายใต้สภาพการขาดโพแทสเซียมการเจริญเติบโตและการสังเคราะห์แสงลดลง แต่การหายใจจะสูงขึ้น

- แมกนีเซียม (magnesium) แมกนีเซียมจำเป็นสำหรับไซยาโนแบคทีเรียและสาหร่ายทุกชนิด เพราะเป็นองค์ประกอบของรงควัตถุที่ใช้สังเคราะห์แสงคือ คลอโรฟิลล์ และมีบทบาทต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมต่างๆ ของเซลล์

2.1.2.2.1 ธาตุอาหารรอง ประกอบด้วยธาตุดังต่อไปนี้

- เหล็ก (iron)

เหล็กเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมเพราะเป็นองค์ประกอบของไซโตโครมต่างๆ และนอกจากนี้เหล็กยังมีบทบาทสำคัญต่อการดูดซึมไนโตรเจนและกระบวนการสังเคราะห์แสง เนื่องจากมีผลต่อการสังเคราะห์รงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสงได้แก่ ซี–ไฟโคไซยานิน และคลอโรฟิลล์ เอ (Oquist, 1971) และ ferredoxin ซึ่งเป็นตัวรับอิเล็กตรอนใน photosystem I (PSI)

เหล็กเป็นธาตุที่มักจะตกตะกอนในสารละลาย ฉะนั้นจึงต้องใส่สารที่ป้องกันการตกตะกอนเรียกว่า คีเลเตอร์ หรือ chelating agent เหล็กที่ใช้อาจอยู่ในรูปของสารประกอบ เช่น $FeSO_4 7H_2O$ แต่สารประกอบเหล็กนี้จะดูดน้ำทำให้อาหารเสื่อมคุณภาพ ฉะนั้นจึงนิยมใช้สารประกอบพวกเหล็กอีดีทีเอ (FeEDTA) แทนเพราะมีคุณสมบัติคงรูปดีกว่า (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2539)

- โบรอน (Boron)

โบรอนเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับสาหร่ายบางชนิด เช่น ไซยาโนแบคทีเรีย และไดอะตอม โดยเฉพาะไดอะตอมที่อาศัยอยู่ในน้ำเค็ม แต่ธาตุนี้ไม่จำเป็นสำหรับสาหร่ายสีเขียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- แมงกานีส ทองแดง และสังกะสี (manganese, copper and zinc)

แมงกานีส ทองแดง และสังกะสีเป็นธาตุที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในระบบการถ่ายทอดอิเล็กตรอนในกระบวนการสังเคราะห์แสง รวมทั้งเป็นองค์ประกอบที่จำเป็นของเอนไซม์อีกหลายชนิด ถ้าขาดธาตุเหล่านี้จะทำให้กระบวนการสังเคราะห์แสงลดลง แต่ถ้ามีมากเกินไปจะเป็นพิษต่อไซยาโนแบคทีเรียและสาหร่าย

- โมลิบดินัม วาเนเดียม โคบอลท์และนิกเกิล (molybdenum, vanadium, cobalt and nickel)

โมลิบดินัมมีบทบาทสำคัญต่อการตรึงไนโตรเจนในไซยาโนแบคทีเรีย และยังเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ที่ช่วยในการสังเคราะห์แสง วาเนเดียมเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียบางชนิด วาเนเดียมสามารถใช้ทดแทนโมลิบดินัม ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) ในการตรึงไนโตรเจน โคบอลท์เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของวิตามินบี 12 ซึ่งสำคัญต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียหลายชนิด ถ้าไซยาโนแบคทีเรียขาดโคบอลท์จะทำให้การเจริญเติบโตลดลง 20 ถึง 75 เปอร์เซ็นต์ การมีปริมาณนิกเกิลถึงแม้ความเข้มข้นเพียงเล็กน้อยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายบางชนิดได้ แต่ van Baalen และ O ' Donnel (1978) พบว่านิกเกิลเป็นธาตุที่จำเป็นต่อไซยาโนแบคทีเรียบางชนิด ได้แก่ *Oscillatoria* sp. ไดอะตอม และสาหร่ายสีเขียว

- เซเลเนียม (selenium)

บทบาทของเซเลเนียมต่อสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่พบว่าในแหล่งน้ำปริมาณของไซยาโนแบคทีเรียมีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกับปริมาณของเซเลเนียม แต่ในสาหร่ายชนิดอื่นๆ ไม่พบความสัมพันธ์นี้

2.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตโดยไซยาโนแบคทีเรีย

จุลสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตที่ต้องการพลังงานแสง คาร์บอนไดออกไซด์และแร่ธาตุต่างๆ สำหรับการเจริญเติบโต และสามารถผลิตสารเมแทบอไลต์ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้มากมายหลายชนิด (Moore, 1981; Chetsumon, 1998) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในไซยาโนแบคทีเรียได้แก่ สารปฏิชีวนะ (antibiotic), สารที่มีประโยชน์ทางเภสัชวิทยา (pharmaceutical), สารพิษ (toxin), สารฆ่าสาหร่าย (algicide), สารฆ่าแมลง (insecticide) และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulator)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1 **สารปฏิชีวนะ** (antibiotic)

ไซยาโนแบคทีเรียสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติต่อต้านจุลินทรีย์ ได้ทั้งแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส

Carmeli *et al.* (1990) ได้แยกสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย *Scytonema burmanicum* สายพันธุ์ DO-4-1 และ *S. ocellatum* สายพันธุ์ DD-8-1, FF-65-1 และ FF-66-3 โดยแยกได้ tolytoxin ซึ่งมีสูตรโครงสร้างเป็น 6-hydroxy-7-*0*-methyl-scytophycin B ซึ่งเป็นสารหลักที่พบในไซยาโนแบคทีเรียเหล่านี้ และนอกจากนี้ยังพบสารใหม่อีก 3 ชนิด คือ scytophycin 2, scytophycin 3 และ scytophycin 4 มีสูตรโครงสร้างเป็น 6-hydroxyscytophycin E, 19-0-demethylscytophycin C และ 6-hydroxy-7-*0*-methylscytophycin E ตามลำดับ สารที่แยกได้เหล่านี้พบว่ามีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราและยีสต์ *Aspergillus oryzae*, *Candida albicans*, *Penicillium notatum*, *Saccharomyces cerevisiae* และ *Trichophyton mentagrophytes*

Park *et al.* (1992) ได้รายงานว่า พบสารชนิดใหม่ที่แยกได้จากสารสกัดจาก *Fischerella muscicola* (Thuret) Gomont (UTEX 1829) คือ fischerindole L ซึ่งเป็น Octahydroindeno [2,1-b] indoleisonitrile ตัวแรกที่สามารถแยกได้จากไซยาโนแบคทีเรีย และมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและยีสต์ *Aspergillus oryzae*, *Penicillium notatum*, *Saccharomyces cerevisiae* และ *Trichophyton mentagrophytes*

Falch *et al.* (1993) รายงานว่าสามารถแยกสารประกอบอะโรมาติกฮาโลเจน (halogenated aromatic compound) ได้แก่ ambigol A คือ 3-(2,4-dichlorophenoxy)-3',4,5',6-tetrachloro-2,2'-biphenyldiol และ ambigol B คือ 2,6-bis(2,4-dichlorophenoxy)-3,5-dichlorophenol ได้จาก *Fischerella ambigua* พบว่าทั้ง ambigol A และ B สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ได้เป็นอย่างดี และสามารถแสดงความเป็นพิษกับหอยทาก *Biomphalaria glabrata* นอกจากนี้พบว่า ambigol A สามารถยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase และ HIV reverse transcriptase ด้วย

Fish *et al.* (1994) ได้รายงานว่าเมื่อแยกสารสกัดที่ได้จาก *Phormidium* sp. ด้วย C_{18} Sep-Paks และสารที่อยู่ในส่วนที่ชะด้วยเมทานอลระหว่าง 50-80 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* NCIMB 3251 และนอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งเซลล์มะเร็งด้วย

Chetsumon *et al.* (1998) ได้ค้นพบสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ซึ่งผลิตโดยไซยาโนแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นเส้นสาย *Scytonema* sp. TISTR 8208 จากการเพาะเลี้ยงโดยการตรึงเซลล์ใน seaweed-type photobioreactor และจากการวิเคราะห์โดย NMR และ FAB-MS เพื่อศึกษาโครงสร้างพบว่าสารชนิดนี้มีโครงสร้างเป็น cyclic dodecapeptide ซึ่งมีศักยภาพสูงในการยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียแกรมบวกแต่มีศักยภาพต่ำต่อแบคทีเรียแกรมลบ นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งยีสต์ที่ก่อให้เกิดโรคในหลายๆ สายพันธุ์ และเชื้อราที่เป็นเส้นสาย โดยกลไกการออกฤทธิ์ของสารนี้จะมีผลต่อเซลล์เมมเบรน ทำให้การนำสารผ่านเข้าสู่เซลล์และออกจากเซลล์ผิดปกติเป็นสาเหตุให้จุลินทรีย์ตาย

Mahakhant *et al.* (1998) ได้รายงานว่าสารสกัดที่สกัดได้จากไซยาโนแบคทีเรีย *Calothrix* sp. TISTR 8906 สามารถยับยั้งเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* ที่เป็นสาเหตุของโรคเน่าดำในถั่วเขียว โดยทดลองเคลือบสารสกัดจาก *Calothrix* sp. TISTR 8906 ที่ผสมสารลดแรงตึงผิวไปบนผิวเมล็ดถั่วเขียวที่ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัมต่อเมล็ด พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราเท่ากับการใช้สารเคมี mancozeb ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อเมล็ด

2.2.2 สารที่มีประโยชน์ในทางเภสัชวิทยา

Barchi *et al.* (1984) ได้ค้นพบสารชนิดใหม่ที่แยกได้จากไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria acutissima* คือ acutiphycin และ 20,21-didehydroacutiphycin ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอก murine Lewis lung carcinoma

Gustafson *et al.* (1989) รายงานว่าสารสกัดที่แยกได้จาก *Lyngbya lagerheimii* และ *Phormidium tenue* มีคุณสมบัติในการปกป้อง lymphoblastoid T cell ของมนุษย์ จากการเข้าทำลายของ human immunodeficiency virus (HIV-1) ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเอดส์ และจากการวิเคราะห์โครงสร้างของสารประกอบนี้พบว่าเป็นสารประกอบประเภท sulfonic acid-containing glycolipids

Okino *et al.* (1993) รายงานว่าสามารถแยกสาร microginin จาก *Microcystis aeruginosa* ซึ่งมีโครงสร้างประกอบด้วยเพบไทด์ 5 ตัวต่อกันเป็นเส้นตรง (linear pentapeptide) และให้ผลบวกกับปฏิกิริยานินไฮดริน และมีคุณสมบัติเป็น angiotensin-converting enzyme inhibitor โดยความเข้มข้นที่ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะสามารถยับยั้งได้ 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งคุณสมบัตินี้สามารถพัฒนาไปเป็นยาลดความดันโลหิตต่อไปได้

Larsen *et al.* (1994) รายงานว่าสารสกัดที่แยกได้จาก *Dichothrix baueriana* โดยใช้ gel filtration แยกได้เป็น 2 ส่วน คือส่วนที่เคลื่อนที่เร็วและส่วนที่เคลื่อนที่ช้า ซึ่งเมื่อนำไปผ่านเครื่อง HPLC สำหรับส่วนเคลื่อนที่เร็วแยกได้ 2 สารประกอบ คือ 7-chloro-9-methyl-β-carboline (bauerine A) และ 7,8-dichloro-9-methyl-β-carboline (bauerine B) และส่วนที่เคลื่อนที่ช้าแยกได้สารประกอบ 1 ตัวคือ 7,8-dichloro-1-hydroxy-9-methyl-β-carboline (bauerine C) สารประกอบทั้ง 3 ตัวเป็นสารประกอบประเภทอัลคาลอยด์ ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้ง เชื้อไวรัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

herpes simplex virus type 2 และสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็ง LoVo โดยปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งได้คือ 33 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Yoo *et al.* (1995) ได้แยกสารสกัดจาก *Lyngbya majuscula* ซึ่งเป็นไซยาโนแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในทะเล พบว่าสารที่แยกได้คือ curacin A ซึ่งมีศักยภาพสูงในการยับยั้งการแบ่งเซลล์แบบไมโตซีส (mitosis; antimitotic) ภายใต้การทดสอบในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง และนอกจากนี้สามารถแยกสารชนิดใหม่ได้อีก 2 ชนิดคือ curacin B และ C ซึ่งสารทั้ง 2 ชนิดนี้พบว่าเป็นพิษต่อเซลล์เป็นอย่างมาก โดยสามารถยับยั้ง murine L-1210 leukemia และ human CA46 Burkitt lymphoma cell lines และแสดงผลในการยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งอีกหลายชนิด

Prinsep และ Thomson (1996) สามารถแยกสาร diterpenoid ชนิดใหม่จาก *Tolypothrix nodusa* คือ tolypodiol พบว่ามีคุณสมบัติในการต้านการอักเสบในหูหนู ในการทดสอบโดยวิธี mouse ear edema assay โดยมีค่าปริมาณของสารทดสอบซึ่งสัตว์ทดลองแสดงการตอบสนอง 50 เปอร์เซ็นต์ (median effective dose; ED_{50}) คือ 30 ไมโครกรัมต่อหู ซึ่งเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานคือ hydrocortisone มีค่าปริมาณของสารทดสอบซึ่งสัตว์ทดลอง แสดงการตอบสนอง 50 เปอร์เซ็นต์ คือ 20 ไมโครกรัมต่อหู และ manoalide 100 ไมโครกรัมต่อหู

Rho *et al.* (1996) สามารถแยกสารประเภท monogalactosylacylglycerol คือ (2s)-1-*O*-palmitoyl-3-*O*-β-D-galactopyransoylglycerol จาก *Oscillatoria rosea* (NIES-208) ซึ่งสามารถยับยั้งการตกตะกอนของเกล็ดเลือดได้

2.2.3 **สารพิษ** (toxin)

สารพิษที่ไซยาโนแบคทีเรียผลิตขึ้นเป็นสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ ซึ่งเป็นสารที่เป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อ เซลล์ และสิ่งมีชีวิตต่างๆ และยังไม่เป็นที่ทราบแน่นอนว่าเหตุใดไซยาโนแบคทีเรียจึงผลิตสารพิษขึ้น แต่มีการคาดว่าสารพิษเหล่านี้อาจเป็นสารประกอบที่มีหน้าที่ในการปกป้องไซยาโนแบคทีเรียจากสิ่งแวดล้อมต่างๆ ดังเช่น สารประกอบประเภท antiherbivore ซึ่งเป็นสารที่ยับยั้งการกินของสัตว์กินพืชเป็นอาหาร ที่พบในท่อน้ำท่ออาหารของพืช (Carmichael, 1986)

สารพิษของไซยาโนแบคทีเรียแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ กลุ่มแรกคือกลุ่มที่เป็นสารพิษต่อเซลล์ (cytotoxin) พบในลำดับ Nostocales และ Stigonematales และยังไม่มีรายงานใดเกี่ยวกับการตายของสัตว์ต่างๆ ในบริเวณที่ไซยาโนแบคทีเรียที่ผลิตสารพิษกลุ่มนี้อาศัยอยู่ Admi *et al.* (1996) รายงานว่าพบสารใหม่ 2 ชนิดที่มีโครงสร้างประกอบด้วยเพบไทด์ 6 ตัวเรียงกันเป็นวงกลม (cyclic hexapeptide) ที่แยกมาจาก *Oscillatoria raoi* (TAU strain IL-76-1-2) คือ raocyclamides A และ B จากการทดสอบทางชีววิทยาพบว่า raocyclamide A สามารถยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การแบ่งตัวของตัวอ่อนของเม่นทะเล โดยมีค่าปริมาณของสารทดสอบซึ่งสัตว์ทดลองแสดงการตอบสนอง 50 เปอร์เซ็นต์ คือ 30 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ในขณะที่ raocyclamide B ไม่สามารถยับยั้งได้ ถึงแม้ที่ความเข้มข้นสูงกว่า raocyclamide A หลายเท่า คือที่ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สารพิษในกลุ่มที่ 2 คือ กลุ่มที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต (biotoxin) มีรายงานว่าสารพิษในกลุ่มนี้ เช่น ไมโครซีสติน (microcystin) เป็นสาเหตุทำให้สัตว์ต่างๆ ไม่ว่าเป็นสัตว์เลี้ยงหรือสัตว์ป่าป่วยและตาย ภายหลังจากที่มีการปนเปื้อนของไซยาโนแบคทีเรียในแหล่งน้ำที่สัตว์เหล่านี้ดื่มกินเข้าไป พบไซยาโนแบคทีเรียที่ผลิตสารพิษกลุ่มนี้ในสกุล *Anabaena*, *Microcystis*, *Aphanizomenon*, *Nodularia*, *Nostoc* และ *Oscillatoria* เป็นต้น (อาภารัตน์ มหาขันธ์, 2539)

2.2.4 **สารฆ่าสาหร่าย** (algicide)

การเพิ่มปริมาณอย่างมากของไซยาโนแบคทีเรียที่ผลิตสารพิษ (water bloom) ในแหล่งน้ำ ซึ่งก่อให้เกิดปัญหากับสัตว์ป่า ปศุสัตว์ และมนุษย์ โดยสารพิษเหล่านี้จะถูกปลดปล่อยลงในแหล่งน้ำในระหว่างที่เกิดการเพิ่มปริมาณและการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย (Christofferson, 1996) ด้วยสาเหตุเหล่านี้จึงมีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านพยายามที่จะหาวิธีควบคุมการเพิ่มปริมาณของไซยาโนแบคทีเรียที่ผลิตสารพิษ มีรายงานว่าไซยาโนแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนบางชนิด สามารถผลิตสารที่มีผลในการควบคุมไซยาโนแบคทีเรียที่ผลิตสารพิษ

Bagchi *et al.* (1993) ได้ศึกษาเกี่ยวกับผลของสารสกัดจาก *Oscillatoria laete-virens* ต่อการเจริญเติบโต การสังเคราะห์แสง และความเป็นพิษของไซยาโนแบคทีเรีย *Microcystis aeruginosa* พบว่า สารสกัดดังกล่าวมีผลทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ และโปรตีนของ *M. aeruginosa* ลดลงอย่างรวดเร็วภายหลังจากได้รับสารสกัด ซึ่งมีผลทำให้ปริมาณเซลล์ และความเป็นพิษของสารพิษลดลง เช่นกัน สำหรับความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่มีผลในการยับยั้ง *M. aeruginosa* อยู่ระหว่าง 16-20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.2.5 **สารฆ่าแมลง** (insecticide)

มีรายงานเกี่ยวกับการนำสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชอยู่ไม่มากนัก แต่เมื่อไม่นานมานี้ Delancy และ Wilkins (1995) ได้ทดลองนำสารพิษไมโครซีสตินที่แยกได้จาก *Microcystis aeruginosa* CCAP 1450/4 มาทดสอบกับไรทะเล (*Artemia salina*) และหนอนแมลง 4 ชนิด ได้แก่ หนอนใยผัก (diamond-backed moth; *Plutella xylostella*), หนอนกินใบ (cotton leafworm; *Spodoptera littoralis*), หนอนผีเสื้อกะหล่ำปลี (cabbage white

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การแบ่งตัวของตัวอ่อนของเม่นทะเล โดยมีค่าปริมาณของสารทดสอบซึ่งสัตว์ทดลองแสดงการตอบสนอง 50 เปอร์เซ็นต์ คือ 30 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ในขณะที่ raocyclamide B ไม่สามารถยับยั้งได้ ถึงแม้ที่ความเข้มข้นสูงกว่า raocyclamide A หลายเท่า คือที่ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สารพิษในกลุ่มที่ 2 คือ กลุ่มที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต (biotoxin) มีรายงานว่าสารพิษในกลุ่มนี้ เช่น ไมโครซีสติน (microcystin) เป็นสาเหตุทำให้สัตว์ต่างๆ ไม่ว่าเป็นสัตว์เลี้ยงหรือสัตว์ป่าป่วยและตาย ภายหลังจากที่มีการปนเปื้อนของไซยาโนแบคทีเรียในแหล่งน้ำที่สัตว์เหล่านี้ดื่มกินเข้าไป พบไซยาโนแบคทีเรียที่ผลิตสารพิษกลุ่มนี้ในสกุล *Anabaena*, *Microcystis*, *Aphanizomenon*, *Nodularia, Nostoc* และ *Oscillatoria* เป็นต้น (อาภารัตน์ มหาขันธ์, 2539)

2.2.4 **สารฆ่าสาหร่าย** (algicide)

การเพิ่มปริมาณอย่างมากของไซยาโนแบคทีเรียที่ผลิตสารพิษ (water bloom) ในแหล่งน้ำ ซึ่งก่อให้เกิดปัญหากับสัตว์ป่า ปศุสัตว์ และมนุษย์ โดยสารพิษเหล่านี้จะถูกปลดปล่อยลงในแหล่งน้ำในระหว่างที่เกิดการเพิ่มปริมาณและการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย (Christofferson, 1996) ด้วยสาเหตุเหล่านี้จึงมีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านพยายามที่จะหาวิธีควบคุมการเพิ่มปริมาณของไซยาโนแบคทีเรียที่ผลิตสารพิษ มีรายงานว่าไซยาโนแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนบางชนิด สามารถผลิตสารที่มีผลในการควบคุมไซยาโนแบคทีเรียที่ผลิตสารพิษ

Bagchi *et al.* (1993) ได้ศึกษาเกี่ยวกับผลของสารสกัดจาก *Oscillatoria laete-virens* ต่อการเจริญเติบโต การสังเคราะห์แสง และความเป็นพิษของไซยาโนแบคทีเรีย *Microcystis aeruginosa* พบว่า สารสกัดดังกล่าวมีผลทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ และโปรตีนของ *M. aeruginosa* ลดลงอย่างรวดเร็วภายหลังจากได้รับสารสกัด ซึ่งมีผลทำให้ปริมาณเซลล์ และความเป็นพิษของสารพิษลดลง เช่นกัน สำหรับความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่มีผลในการยับยั้ง *M. aeruginosa* อยู่ระหว่าง 16-20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.2.5 **สารฆ่าแมลง** (insecticide)

มีรายงานเกี่ยวกับการนำสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชอยู่ไม่มากนัก แต่เมื่อไม่นานมานี้ Delancy และ Wilkins (1995) ได้ทดลองนำสารพิษไมโครซีสตินที่แยกได้จาก *Microcystis aeruginosa* CCAP 1450/4 มาทดสอบกับไรทะเล (*Artemia salina*) และหนอนแมลง 4 ชนิด ได้แก่ หนอนใยผัก (diamond-backed moth; *Plutella xylostella*), หนอนกินใบ (cotton leafworm; *Spodoptera littoralis*), หนอนผีเสื้อกะหล่ำปลี (cabbage white

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

butterfly; *Pieris brassicae*) และแมลงวันบ้าน (house flies; *Musca domestica*) โดยเปรียบเทียบกับสารกำจัดแมลงต่างๆ พบว่าในไรทะเลปริมาณสารพิษไมโครซีสติน ที่ทำให้ไรทะเลตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (lethal dose; LD_{50}) ในเวลา 24 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 3.8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเปรียบเทียบกับสารเคมีคาร์โบฟูราน (carbofuran) มีค่าเท่ากับ 1.8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในหนอนใยผักเมื่อให้หนอนกินใบผักกะหล่ำที่ทาด้วยสารไมโครซีสติน พบว่าปริมาณสารพิษที่ทำให้หนอนใยผักวัย 3 ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 24 ชั่วโมง คือที่ความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตรของใบผักกะหล่ำ โดยเปรียบเทียบกับสารเคมีโรทีโนน (rotenone) ปริมาณสารพิษที่ทำให้หนอนใยผักวัยสามตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 72 ชั่วโมงคือ 2.0 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตรของใบผักกะหล่ำ ในหนอนกินใบปริมาณสารพิษไมโครซีสตินและมาลาไทออน (malathion) ที่ทำให้หนอนกินใบวัยสามตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังจากฉีดสารเข้าไปในหนอนในเวลา 24 ชั่วโมง คือ 4.7 และ 13.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ ส่วนหนอนผีเสื้อกะหล่ำปลี ปริมาณสารพิษไมโครซีสตินที่ทำให้หนอนผีเสื้อกะหล่ำปลีวัยสี่ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังจากฉีดสารเข้าไปในหนอนในเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง คือ 3.9 และ 1.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ เปรียบเทียบกับปริมาณคาร์โบฟูรานที่ทำให้หนอนผีเสื้อกะหล่ำปลีวัยสี่ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังจากฉีดสารเข้าไปในหนอนในเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง คือ 0.4 และ 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ สำหรับแมลงวันบ้านปริมาณสารพิษที่ทำให้แมลงวันบ้านตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังจากฉีดสารไมโครซีสตินและมาลาไทออนเข้าไปในแมลงวันในเวลา 24 ชั่วโมง คือ 0.5 และ 3.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ถึงแม้ว่าไมโครซีสตินมีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนหลายชนิดก็ตาม แต่พบว่าไมโครซิสตินน่าจะมีข้อจำกัดในการพัฒนาเพื่อนำไปใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชต่อไป เพราะมีรายงานว่าไมโครซีสตินเป็นพิษต่อพืช Toshihiko *et al.* (1996) ได้ทดสอบไมโครซีสตินกับใบถั่วแขก (*Phaseolus vulgaris*) และพบว่าเมื่อใบถั่วแขกได้รับไมโครซีสตินที่ความเข้มข้นมากกว่า 0.01 โมลต่อลูกบาศก์เมตร จะทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงลดลงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังจากได้รับสารพิษนี้ 8 ชั่วโมง และนอกจากนี้ไมโครซีสตินยังเป็นอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์เลี้ยงด้วยดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

นอกจากนี้ Kiviranta และ Abdel-Hameed (1994) ได้รายงานเกี่ยวกับการใช้เซลล์ที่มีชีวิตของไซยาโนแบคทีเรียมาควบคุมแมลง นอกเหนือจากการใช้สารที่สกัดได้จากไซยาโนแบคทีเรีย คือ ได้ทดลองนำ *Oscillatoria agardhii* 27 มาควบคุมลูกน้ำยุงลาย (*Aedes aegypti*) โดยปริมาณของ *O. agardhii* ที่ทำให้ลูกน้ำยุงลายวัยสี่และวัยสองตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 24 ชั่วโมง คือ 8.7 และ 6.1 ไมโครกรัมของเซลล์ *O. agardhii* ที่ยังมีชีวิตต่อปริมาตรอาหารที่ใช้เลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากว่าแหล่งที่อยู่อาศัยของไซยาโนแบคทีเรียและลูกน้ำยุงอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำเช่นเดียวกัน ดังนั้นจึงได้มีนักวิทยาศาสตร์พยายามถ่ายยีนที่ผลิตสารพิษต่อลูกน้ำยุงของแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* เข้าไปในไซยาโนแบคทีเรีย เพื่อให้ไซยาโนแบคทีเรียสามารถผลิตสารพิษในการควบคุมลูกน้ำยุง (Angsuthanasombut and Panyim, 1989 ; Sangthongpitag, 1996)

2.2.6 **สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช** (plant growth regulator)

มีรายงานว่าไซยาโนแบคทีเรียสามารถผลิตสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชได้ มีการทดลองนำสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่เป็นเส้นสายมาทดสอบกับพืชต่างๆ พบว่าการเจริญเติบโตของข้าว พริกไทย หัวไชเท้า และมะเขือเทศ เพิ่มขึ้นภายหลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย

นอกจากนี้สารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียบางชนิด สามารถกระตุ้นการพัฒนาของเอ็มบริโอที่เกิดจากเซลล์ทั่วไปที่ไม่ใช่เซลล์สืบพันธุ์ (somatic embryogenesis) ของพืชบางชนิดให้สามารถพัฒนาไปเป็นต้นพืชได้มากขึ้น ภายหลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย Wake *et al.* (1991, 1992) ได้รายงานว่าจากการคัดเลือกไซยาโนแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในทะเลพบว่ามี 25 สายพันธุ์ที่สามารถกระตุ้นการพัฒนาเอมบริโอที่เกิดจากเซลล์ทั่วไปของแครอทให้เป็นต้นพืชได้ และเมื่อนำสายพันธุ์ที่ดีที่สุดจากการคัดเลือกไปทดลองต่อคือ *Synechococcus* sp. NKBG 042902 พบว่าสารกระตุ้นการพัฒนาไปเป็นต้นพืชเหล่านี้น่าจะเป็นสารประกอบที่แสดงฤทธิ์คล้ายไซโตไคนิน (cytokinin-like activity)

2.3 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับแมลงศัตรูพืชบางชนิดที่สำคัญทางเศรษฐกิจ

2.3.1 หนอนเจาะสมอฝ้าย

ชื่อวิทยาศาสตร์	: *Helicoverpa armigera* Hubner
ชื่อสามัญ	: Cotton bollworm
วงศ์	: Noctuidae
อันดับ	: Lepidoptera

หนอนเจาะสมอฝ้าย หรือมีชื่อเรียกอีกว่าหนอนเจาะยอดยาสูบ หรือหนอนเจาะผลมะเขือเทศ หนอนเจาะสมอฝ้ายเป็นแมลงศัตรูพืชที่รู้จักกันดีทั่วไป และมีแนวโน้มว่าจะเป็นศัตรูร้ายแรงของประเทศในอนาคต เนื่องจากแมลงชนิดนี้มีพืชอาหารที่กว้างขวางมาก ประกอบกับวงจรชีวิตค่อนข้างสั้นคือประมาณ 1 เดือน แม่ผีเสื้อมีความสามารถในการวางไข่ปริมาณมาก ดังนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จึงพบว่ามีการระบาดอย่างรวดเร็วและกว้างขวาง Parihar และ Singh (1992) ได้รายงานว่าจากการที่สำรวจแปลงปลูกพืชบางชนิดในทุกๆ เดือนจะพบเห็นหนอนเจาะสมอฝ้ายทุกครั้งที่มีการสำรวจตลอดปี และในประเทศอินเดียมีรายงานว่าสามารถพบหนอนเจาะสมอฝ้าย 7-8 ชั่วอายุ (generation) ในระยะเวลา 1 ปี (Bhatnagar, 1980)

พืชอาหาร

หนอนเจาะสมอฝ้ายมีพืชอาหารกว้างขวางมากทั้งพืชไร่ ไม้ผล ผักและดอกไม้ พืชไร่ เช่น ฝ้าย ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ยาสูบ ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ถั่วลิสง ปอแก้ว ทานตะวัน ปอกระเจา กระเจี๊ยบแดง พืชผัก เช่น ถั่วฝักยาว ถั่วลันเตา พริก มะเขือ มะเขือเทศ กะหล่ำปลี หน่อไม้ฝรั่ง กะหล่ำดอก กระเจี๊ยบเขียว ไม้ผล ได้แก่ มะนาว ส้มเขียวหวาน องุ่น เป็นต้น ไม้ดอก ได้แก่ กุหลาบ ดาวเรือง คาร์เนชัน ลิ้นมังกร สแตติส ผีเสื้อ พิทูเนีย แอสเทอร์ โคมญี่ปุ่น กุหลาบดอย พริกประดับ เบญจมาศ เป็นต้น นอกจากนี้หนอนเจาะสมอฝ้ายยังสามารถใช้วัชพืชเป็นที่อาศัยดำรงชีวิตข้ามฤดูแล้งได้หลายชนิด เช่น ลำโพง สาบแร้งสาบกา โทงเทง หญ้าละออง ครอบจักรวาล หญ้าเขียวตลับนาค หญ้ากำมะหยี่ เป็นต้น (เกศรา จีระจรรยา, 2530)

รูปร่างและชีวประวัติ

ตัวเต็มวัยของหนอนเจาะสมอฝ้ายเป็นผีเสื้อกลางคืน บินได้ว่องไว และมีความสามารถที่จะบินได้เป็นระยะทางไกลๆ เมื่อเกาะอยู่กับที่ปีกจะหุบพับชนกันเหมือนหลังคาบ้าน เมื่อกางปีกเต็มที่กว้างประมาณ 3.5 เซนติเมตร ตัวเต็มวัยตัวผู้จะมีปีกคู่หน้าสีน้ำตาลปนเขียว ส่วนตัวเมียจะมีสีน้ำตาลปนแดง ส่วนขนที่ปกคลุมลำตัวจะมีสีน้ำตาลอ่อน บริเวณกึ่งกลางปีกคู่หน้าจะมีจุดสีน้ำตาลเข้มจุดเล็กๆ 1 จุด บนปีกแต่ละด้านจะมีลายสีน้ำตาลพาดขวางบริเวณส่วนปลายของปีกคู่หน้าทั้ง 2 ข้าง ปีกคู่หลังมีลักษณะบางสีเทาปนน้ำตาลอ่อน ส่วนปลายปีกมีลายพาดขวางสีน้ำตาลเหมือนปีกคู่หน้าทั้ง 2 ข้าง ปีกคู่หลังมีลักษณะบางสีเทาปนน้ำตาลอ่อน ส่วนปลายปีกมีลายพาดขวางสีน้ำตาลเหมือนปีกคู่หน้า ตัวเต็มวัยของหนอนเจาะสมอฝ้ายเริ่มออกหากินหลังจากเวลา 16.00 น. โดยพบปริมาณมากสุดในช่วง 20.00-22.00 น. (Singh and Singh, 1975) และจะไม่พบผีเสื้อชนิดนี้ในตอนกลางวัน ตัวเต็มวัยตัวเมียมีอายุเฉลี่ยประมาณ 7-12 วัน ตัวผู้มีอายุเฉลี่ยประมาณ 15-18 วัน ผีเสื้อตัวเมียจะวางไข่ได้ประมาณ 600-2,000 ฟอง ไข่มีรูปร่างค่อนข้างกลม (spherical) ฐานแบนจึงมีรูปร่างคล้ายโดม มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.4-0.55 มิลลิเมตร ในระยะแรกไข่จะมีสีขาวนวลเป็นมันจากนั้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำก่อนฟัก ไข่มีอายุประมาณ 60-72 ชั่วโมงจึงฟักออกเป็นตัวหนอน ตัวเมียจะวางไข่เป็นฟองเดี่ยวๆ ในตอนเย็นส่วนใหญ่เวลาประมาณ 21.00-24.00 น. มักวางไข่บริเวณส่วนอ่อนของพืช เช่น ตา ยอดอ่อน ดอก หรือผลอ่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 รายชื่อสารเคมีที่ใช้ในการป้องกันและกำจัดหนอนเจาะสมอฝ้าย

พืช	ชื่อสามัญ	ชื่อการค้า	%สารออกฤทธิ์และสูตรที่ใช้	อัตราการใช้
ฝ้าย	suprofos	Bolstar 720EC	36ULV	350-420 มิลลิลิตร/ไร่
	endosulfan	Thiodan	25ULV	500-1000 มิลลิลิตร/ไร่
	profenofos	Curacron	250ULV	350-650 มิลลิลิตร/ไร่
	deltamethrin	Decis	5ULV	200-400 มิลลิลิตร/ไร่
ข้าวโพด	methomyl	Lannate	40% SP	25 กรัม/ 20 ลิตร
	monocrotophos	Azodrin	60% WSC	15 มิลลิลิตร/ 20 ลิตร
ถั่วเหลือง	triazophos	Hostathion40EC	40% EC	50 มิลลิลิตร/ 20 ลิตร
	chlorpyrifos	Lorsban	20% EC	00 มิลลิลิตร/ 20 ลิตร
			40% EC	50 มิลลิลิตร/ 20 ลิตร
มะเขือเทศ	deltamethrin	Decis	3% EC	20 มิลลิลิตร/ 20 ลิตร
	cypermethrin	Cynoff	40% WP	15 กรัม /20 ลิตร
	bifenthrin	Talstar	2.5% EC	80 มิลลิลิตร/ 20 ลิตร
หน่อไม้ฝรั่ง	cyhalothrin	Karate	2.5% EC	20 มิลลิลิตร/ 20 ลิตร
	bifenthrin	Talstar	10 % EC	20 มิลลิลิตร/ 20 ลิตร
	cyfluthrin	Baythroid	10 % EC	10 มิลลิลิตร/ 20 ลิตร

หมายเหตุ : EC (Emulsifiable concentrate) เป็นสารละลายเข้มข้น สารออกฤทธิ์ละลายอยู่ในตัวทำละลาย ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน เนื่องจากตัวทำละลายที่ใช้ไม่ละลายน้ำจึงต้องผสม emulsifier เพื่อช่วยให้กระจายตัวอยู่ในน้ำได้ดี เมื่อผสมน้ำมีลักษณะขาวขุ่น

SP (water soluble powder) สารออกฤทธิ์ละลายน้ำได้ดี แต่การผลิตทำออกมาในรูปผงละละลายน้ำ

ULV (Ultra low volume liquid) เป็นของเหลวเนื้อเดียวกันพร้อมใช้ได้ทันที การใช้ต้องใช้กับเครื่องพ่นแบบ ULV สารเคมีพวกนี้ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์และตัวทำละลาย

WP (Wettable powder) เป็นสารผงละเอียด สารผสมกับ talc หรือ clay และสาร Wetting and dispersing agents จากนั้นผ่านกระบวนการ "micronizing process" ได้สารผงละเอียด เมื่อผสมน้ำจะได้สารละลายแขวนลอย ถ้าปล่อยทิ้งไว้จะตกตะกอน

WSC (water soluble concentrate) เป็นของเหลวผสมเนื้อเดียวกัน สารออกฤทธิ์ละลายน้ำหรือแอลกอฮอล์ได้ดี ในกระบวนการผลิตสารออกฤทธิ์จะถูกบดจนละเอียด จากนั้นจึงผสมสารเคลือบใบ จะได้สารละลายของเหลวเข้มข้น เมื่อผสมน้ำจะละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

ที่มา : กองกีฏและสัตววิทยา (2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 แมลงศัตรูธรรมชาติชนิดต่างๆ ของหนอนเจาะสมอฝ้าย

แมลงศัตรูพืช	อันดับ	วงศ์	ชื่อวิทยาศาสตร์
ตัวห้ำ	Coleoptera (ด้วง)	Carabidae	*Chlaenius octopunctata*
(predator)			*Ophionea indica* Thunberg
	Hemiptera (มวน)	Lygaeidae	*Geocoris* sp.
		Miridae	*Campiloma* sp.
		Nabidae	*Nabis* sp.
		Pentatomidae	*Eocanthecona furcellata* Wolff
		Reduvidae	*Harpactor tuisticolor* Reuter
			Sycanus collaris Fabricius
	Hymenoptera (มด)	Vespidae	*Eumenes* sp.
			Ropalidia sp.
	Neuroptera	Chrysopidae	*Ankylopteryx octopunnctata*
	(แมลงช้าง)		*Ankylopteryx* sp.
			Chrysopa basalis Walker
			Chrysopa sp.
	rthoptera (ตั๊กแตน)	Mantidae	*Hierodula bipapilla*
ตัวเบียน	Diptera (แมลงวัน)	Tachinidae	*Carcelia* sp.
(parasite)			*Phorcida* sp.
			Tachina sorbillans Wiedeman
	ymenoptera (แตน)	Ichneumonidae	*Eriborus argenteopillosus*
		richogrammatidae	*richogramma confusum*
			iggiani
			Trichogramma chiloris Ishii
			Trichogrammatoidea bactrac

ที่มา : พิมลพร นันทะ และคณะ (2534)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 หนอนกระทู้หอม

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Spodoptera exigua* Hubner
ชื่อสามัญ : Beet armyworm
วงศ์ : Noctuidae
อันดับ : Lepidoptera

หนอนกระทู้หอมเป็นผีเสื้อกลางคืนมีการระบาดทั่วโลก จึงมีชื่อเรียกแตกต่างกันออกไป ส่วนใหญ่จะเรียกตามชื่อพืชอาหาร เช่น small cotton worm, linseed carterpillar, lesser armyworm, pigweed carterpillar, false armyworm, asparagus caterpillar และ small willow moth เป็นต้น (อุทัย เกตุนุติ, 2534) ในประเทศไทยเกษตรกรรู้จักกันดีในชื่อ หนอนกระทู้หอม หนอนหนังเหนียว หรือหนอนหลอดหอม เนื่องจากทนทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงมาก

พืชอาหาร

หนอนกระทู้หอมมีพืชอาหารกว้างขวางมาก มีรายงานทำลายพืชกว่า 200 ชนิด พบทั้งในพืชไร่ ผัก ผลไม้ และไม้ดอก พืชที่ถูกทำลายโดยหนอนกระทู้หอมในประเทศไทย ได้แก่ พริก หอมแดง หอมหัวใหญ่ กระเทียม ถั่วฝักยาว ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ถั่วลิสง ถั่วลันเตา มะเขือ มะเขือเทศ ผักคะน้า ผักกวางตุ้ง ผักกาดเขียวปลี ผักกาดขาวปลี กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก มันเทศ ข้าวโพดอ่อน ข้าวโพดหวาน หน่อไม้ฝรั่ง องุ่น ฝ้าย กระเจี๊ยบเขียว แตงโม แตงกวา มะระ เผือก กุหลาบ เบญจมาศ และกล้วยไม้

รูปร่างและชีวประวัติ

หนอนกระทู้หอมมีผนังลำตัวเรียบ เมื่อหนอนโตเต็มที่มักจะมีสีของลำตัวหลายสี เช่น สีเขียวอ่อน สีน้ำตาลอ่อน สีเทาปนดำ หรือสีน้ำตาลดำ ด้านข้างของลำตัวจะมีแถบสีขาวพาดยาวตลอดจากส่วนอกจนปลายสุดของลำตัว แม่ผีเสื้อจะวางไข่ลักษณะเป็นกลุ่ม มีจำนวนไข่ต่อกลุ่มตั้งแต่ 16-90 ฟองขึ้นไป ในสภาพธรรมชาติไข่จะฟักภายในระยะเวลา 72 ชั่วโมง ในฤดูร้อนไข่จะฟักเร็วขึ้น แม่ผีเสื้อจะวางไข่ในตอนหัวค่ำตั้งแต่เวลา 18.00-20.00 น. ส่วนใหญ่มักวางไข่บริเวณใต้ใบพืชผักหรือบริเวณกลางใบหอม เมื่อหนอนออกจากไข่จะกัดกินผิวใบหรือใต้ใบ หรือบนใบหอมจะกัดใบเข้าไปอาศัยอยู่ในหลอดหอม ทำให้การพ่นสารเคมีกำจัดแมลงไม่ถูกตัวหนอน หนอนจะอาศัยอยู่ภายในหลอดหอมจนวัยที่ 3 จึงออกจากหลอดหอมและเคลื่อนย้ายออกไปทำลายต้นหอมข้างเคียงต่อไป หนอนมักออกทำลายพืชตอนกลางคืน หลบซ่อนตัวตอนกลางวัน หนอนวัย 4 และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5 มีการทำลายพืชรุนแรง มักพบว่าการใช้สารเคมีกำจัดหนอนในวัยนี้มักไม่ได้ผล หนอนมีขนาดตัวโตเต็มที่ยาวประมาณ 2.5 เซนติเมตร หนอนจะเข้าดักแด้ในดินลึกประมาณ 1-2 นิ้วจากผิวดิน โดยกัดทำโพรงในดินในระยะหดตัวก่อนลอกคราบและเข้าดักแด้ วงจรชีวิตของหนอนกระทู้หอมประมาณ 30-35 วัน มีระยะไข่ 2-3 วัน ระยะหนอน 12-15 วัน ระยะดักแด้ 7-9 วัน ตัวเต็มวัยอายุ 4-10 วัน ตัวเต็มวัยมีสีลำตัวสีน้ำตาลปนเทา กางปีกกว้าง 2.5 เซนติเมตร กลางปีกคู่หน้าจะมีจุดสีน้ำตาลปนเหลือง 1 คู่

การควบคุมและกำจัดหนอนกระทู้หอม

กรมวิชาการเกษตรได้แนะนำสารเคมีและวิธีการใช้สารเคมีในการควบคุมและกำจัดหนอนกระทู้หอม ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2.3

เกรียงไกร จำเริญมา และ คณะ (2540) ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารสกัดสะเดาต่อหนอนกระทู้หอม พบว่า สารสกัดสะเดามีประสิทธิภาพในการเป็นสารฆ่า สารไล่ และสารยับยั้งการกินอาหารของหนอนกระทู้หอมวัย 2 และ 3 โดยในรูปของสารฆ่าหนอน พบว่าสารสกัดสะเดาเข้มข้น 6.25 พีพีเอ็ม ทำให้หนอนกระทู้หอมวัย 2 และ 3 ตายร้อยเปอร์เซ็นต์ ภายใน 7 วัน ขณะที่สารสกัดสะเดาเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการไล่หนอนกระทู้หอมได้ 57.50 และ 5.00 เปอร์เซ็นต์ หลังจากการปล่อยหนอน 15 นาที และ 10 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนการทดสอบในรูปของสารยับยั้งการกินอาหารพบสารสกัดสะเดาเข้มข้น 12.50 พีพีเอ็ม สามารถลดปริมาณการกินพืชอาหารของหนอนกระทู้หอมที่ใช้ทดลองได้

นอกจากนี้ พบว่า ไวรัส SeNPV มีประสิทธิภาพสูงพอที่จะนำมาทดแทนสารเคมีในการควบคุมหนอนกระทู้หอมบนพืชหลายชนิด เช่น หอมแดง หอมหัวใหญ่ คะน้า ถั่วลันเตา พริก หน่อไม้ฝรั่ง องุ่น กระเจี๊ยบเขียว ดาวเรือง กุหลาบ และเบญจมาศ (อุทัย เกตุนุติ, 2538)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 รายชื่อสารเคมีที่ใช้ในการป้องกันและกำจัดหนอนกระทู้หอม

พืช	ชื่อสามัญ	ชื่อการค้า	%สารออกฤทธิ์และสูตรที่ใช้	อัตราการใช้
ข้าวโพด	betacyfluthrin	Bulldock	25% EC	40 มิลลิลิตร/20 ลิตร
	flufenoxuron	Cascade	5% EC	30 มิลลิลิตร/20 ลิตร
	chlorfluazuron	Atabron	5% EC	30 มิลลิลิตร/20 ลิตร
ฝ้าย	sulprofos	Bolstar 72-EC	72% EC	60 มิลลิลิตร/20 ลิตร
	profenofos	Selecron 500	50% EC	80 มิลลิลิตร/20 ลิตร
ถั่วเขียว	chlorfluazuron	Atabron	5% EC	30 มิลลิลิตร/20 ลิตร
	flufenoxuron	Cascade	5% EC	20 มิลลิลิตร/20 ลิตร
หอมแดง	diflubenzuron	Dimilin	25% EC	30-40 กรัม/20ลิตร
	triflumuron	Alsystin	25% WP	20-30 กรัม/20 ลิตร
พืชตระกูลกะหล่ำ	diflubenzuron	Dimilin	25% WP	30-40 กรัม/20 ลิตร
	triflumuron	Alsystin	25% WP	30-40 กรัม/20 ลิตร

หมายเหตุ : EC (Emulsifiable concentrate) เป็นสารละลายเข้มข้น สารออกฤทธิ์ละลายอยู่ในตัวทำละลาย ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน เนื่องจากตัวทำละลายที่ใช้ไม่ละลายน้ำจึงต้องผสม emulsifier เพื่อช่วยให้กระจายตัวอยู่ในน้ำได้ดี เมื่อผสมน้ำมีลักษณะขาวขุ่น

WP (Wettable powder) เป็นสารผงละเอียด สารผสมกับ talc หรือ clay และสาร Wetting and dispersing agents จากนั้นผ่านกระบวนการ "micronizing process" ได้สารผงละเอียด เมื่อผสมน้ำจะได้สารละลายแขวนลอย ถ้าปล่อยทิ้งไว้จะตกตะกอน

ที่มา : กองกีฏและสัตววิทยา (2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์

1. สารเคมี (analytical grade) สำหรับเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียของ Fluka และ Sigma
2. สารเคมี (analytical grade) สำหรับทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น น้ำยาแอนโทรน น้ำยาโมลิสซ์ น้ำยานินไฮดริน น้ำยาไบยูเรต ของ Merck และ Sigma
3. ยาปฏิชีวนะ gentamicin ของ Sigma
4. ตาข่ายกรองแพลงก์ตอน (plankton net) ขนาด 108 ไมครอน
5. โถระเหยแห้งสุญญากาศ (descicator)
6. ถาดหลุม (multi-well plate) ขนาด 96 หลุมต่อถาด ของ Nunclon
7. จานเพาะเชื้อพลาสติก (petri dish) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร
8. กระดาษกรองเบอร์ 3 ของ Whatman
9. กระดาษเพาะเมล็ด
10. ที่บดเนื้อเยื่อ (tissue grinder) ของ Thomas
11. แผ่นทดสอบ (blank paper disc ; BBL) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร ของ Becton Dickinson
12. เครื่องมือเจาะ cork borrer เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร และ เบอร์ 12 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.0 เซนติเมตร
13. หลอด eppendorf ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
14. vernier calipers ของ Kanon
15. เครื่องแก้ว เช่น ขวดรูปชมพู่ กระบอกตวง บีกเกอร์ ขวดเตรียมอาหาร แท่งแก้วคน กรวยแก้ว ฯลฯ
16. ถัง carboy สำหรับเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียขนาดความจุอาหาร 10 ลิตร ของ Nalgene
17. ถ้วยสำหรับเลี้ยงหนอนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางก้นถ้วย และ ปากถ้วย เป็น 4 และ 3.2 เซนติเมตร และสูง 2.5 เซนติเมตร จากกองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร
18. พู่กันเบอร์ 4
19. เครื่องเขย่า (shaker)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20. เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ของ Sorvall รุ่น ss-33
21. เครื่องปั่นละเอียดให้เซลล์เป็นเนื้อเดียวกัน (homogenizer) ของ Polytron รุ่น PT 20 S
22. เครื่องส่องรังสีอัลตราไวโอเลต (ultraviolet equipment) ของ Spectroline รุ่น EN-140 L/J
23. เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter) ของ Mettler Toledo รุ่น MP 225
24. เครื่องระเหยแห้งแบบลดความดัน (rotary evaporator) ของ Buchi รุ่น 461
25. เครื่องทำให้เซลล์แห้งแบบการระเหิด (lyophilizer) ของ Edward Britain รุ่น 501
26. ตู้อบเครื่องแก้ว (oven) ของ Memmert รุ่น Modell 600
27. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ของ Tomy Seiko Japan รุ่น ss-245
28. กล้องจุลทรรศน์ (microscope) ของ Olympus Tokyo รุ่น CH 30
29. กล้องสเตอริโอ (stereo microscope) ของ Olympus Tokyo รุ่น S2-PT
30. ตู้เขี่ยเชื้อ
31. เครื่องเร่งสภาวะ (accelerated weathering tester) ของ Q-Panel Lab รุ่น QUV/se
32. เชื้อไซยาโนแบคทีเรียจำนวน 318 สายพันธุ์ จากศูนย์จุลินทรีย์ (ศจล.) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วท.)
33. หนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้าย และอาหารเทียมสำหรับเลี้ยงหนอน จากกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการวิจัย

3.1 การคัดเลือกไซยาโนแบคทีเรียที่มีศักยภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

3.1.1 การเพาะเลี้ยงและเก็บเกี่ยวเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย

นำไซยาโนแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนที่ผ่านการกระตุ้นการเจริญเติบโตแล้ว มาเลี้ยงในอาหารเหลว BGA (ภาคผนวก ก ข้อ 1) ที่ดัดแปลงโดยเติมโซเดียมไนเตรต ($NaNO_3$) 1.5 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตรบรรจุอยู่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร มาเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงไฟ (cool-white fluorescent lamp) ความเข้มแสง 60 ไมโครไอสไตน์ต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 15 วัน

การเก็บเกี่ยวเซลล์ไซยาโนแบคทีเรียทำได้โดยกรองผ่านตาข่ายกรองแพลงก์ตอนขนาด 108 ไมครอน หรือในกรณีที่เซลล์ไซยาโนแบคทีเรียมีขนาดเล็กให้นำไปเหวี่ยงแยกเซลล์ที่ความเร็ว 4,000g เป็นเวลา 20 นาที ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง นำเซลล์ที่เก็บเกี่ยวได้ไปทำการสกัดสารต่อไป

3.1.2 การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพออกจากไซยาโนแบคทีเรีย (ภาพที่ 3.1)

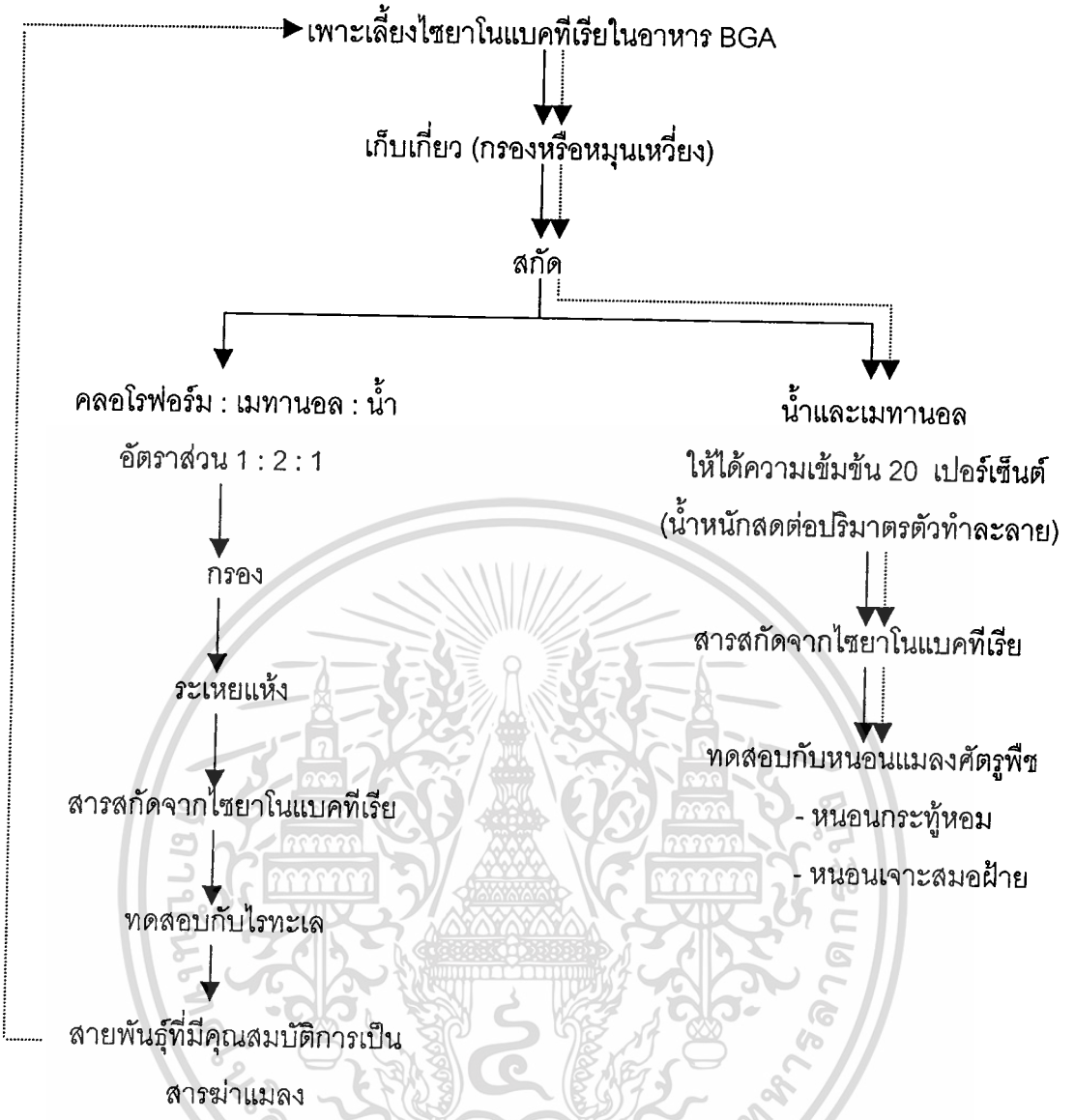
3.1.2.1 การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากไซยาโนแบคทีเรียเพื่อทดสอบกับไรทะเล (brine shrimp; *Artemia salina*)

นำเซลล์ไซยาโนแบคทีเรียที่เก็บเกี่ยวได้มาเติมน้ำกลั่นโดยใช้อัตราส่วนระหว่างมวลต่อน้ำกลั่นเป็น 1 ต่อ 1 ปั่นเซลล์ให้กระจายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปเก็บที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเซลล์แช่แข็งมาตั้งทิ้งไว้ให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง แล้วจึงนำเซลล์มาบดให้แตกด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ เติมคลอโรฟอร์มและเมทานอลลงไปในตัวอย่างเซลล์ที่ปั่นละเอียดผสมให้เข้ากันเพื่อให้ได้สารผสมเนื้อเดียวของคลอโรฟอร์ม ต่อ เมทานอล ต่อ น้ำ ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 ต่อ 1 กรองสารสกัดออกจากเซลล์ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 3 ส่วนเซลล์ที่กรองได้นำสกัดอีกครั้งด้วยตัวทำละลายเดิม นำสารสกัดที่ได้ทั้งหมดมารวมกันและไประเหยให้แห้งในภายในโถระเหยสุญญากาศ เพื่อเก็บไว้ใช้ในการทดลองต่อไป

3.1.2.2 การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากไซยาโนแบคทีเรียเพื่อนำไปทดสอบกับหนอนแมลงศัตรูพืช

นำเซลล์ไซยาโนแบคทีเรียที่เก็บเกี่ยวได้มาทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ จากนั้นนำไปสกัดด้วยน้ำหรือเมทานอลที่มีความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสดไซยาโนแบคทีเรียต่อปริมาตรสารละลาย แล้วกรองสารสกัดด้วยกระดาษกรองเบอร์ 3 นำส่วนที่กรองได้ไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.1 แสดงขั้นตอนการคัดเลือกหาสายพันธุ์ไซยาโนแบคทีเรียที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดสอบกับหนอนกระทู้หอม และหนอนเจาะสมอฝ้าย โดยทาสารสกัดบนใบพืชเมื่อสกัดสารด้วยเมทานอล หรือจุ่มตัวหนอนลงในสารสกัดเมื่อสกัดสารด้วยน้ำ

3.1.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากไซยาโนแบคทีเรียต่อการควบคุมแมลงศัตรูพืช

3.1.3.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียต่อไรทะเล

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียต่อไรทะเลโดยดัดแปลงวิธีการของ Meyer *et al.* (1992)

เตรียมแผ่นทดสอบโดยหยดสารสกัดที่ละลายในเมทานอล ลงบนกระดาษกรองเบอร์ 3 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร ให้มีความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 500 ไมโครกรัมของน้ำหนักแห้งต่อแผ่น แล้วนำแผ่นทดสอบไประเหยตัวทำละลายออกภายในโถระเหยแห้งสุญญากาศ สำหรับตัวควบคุมใช้แผ่นทดสอบหยดด้วยเมทานอลและทำให้แห้งในสภาพเดียวกัน

นำแผ่นทดสอบที่หยดสารสกัดเรียบร้อยแล้วใส่ลงในถาดหลุม (multi-well plate) ขนาด 96 หลุมต่อถาด หยดน้ำทะเลปริมาตร 250 ไมโครลิตร ซึ่งมีไรทะเลอายุประมาณ 48 ชั่วโมง จำนวน 10 ตัว โดยขั้นตอนการเพาะฟักไข่ไรทะเลแสดงไว้ในภาคผนวก ข ลงในแต่ละหลุมที่บรรจุแผ่นทดสอบไว้เรียบร้อยแล้ว สำหรับหลุมที่อยู่แถวนอกสุดทั้ง 4 ด้านจะเป็นตัวควบคุม นำถาดหลุมไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 1 องศาเซลเซียส และตรวจสอบการตายของไรทะเล ภายใต้กล้องสเตอริโอภายหลังการบ่ม 18 ชั่วโมง

3.1.3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียต่อหนอนแมลงศัตรูพืช

นำไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ผ่านการทดสอบกับไรทะเลจากข้อ 3.1.3.1 แล้วพบว่าแสดงความเป็นพิษต่อไรทะเล มาทดสอบต่อกับหนอนแมลงศัตรูพืช โดยหนอนแมลงที่ใช้ทดสอบได้แก่ หนอนกระทู้หอมวัยหนึ่งและวัยสอง และหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่ง โดยความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ทดสอบคือ 20 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสดของไซยาโนแบคทีเรียต่อปริมาตรของสารละลาย วิธีการทดสอบสำหรับสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอล จะเป็นการทาสารสกัดลงบนใบอ่อนของผักคะน้าที่มีขนาดกว้างและยาวประมาณ 3 X 3.5 เซนติเมตรทั้ง 2 ด้านของใบด้วยพู่กันเบอร์ 4 ให้ทั่วทั้งแผ่นใบ วางทิ้งไว้จนเมทานอลระเหย ย้ายใบผักคะน้าไปไว้ในถ้วยเลี้ยงหนอนที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางปากและก้นถ้วย 4 และ 3.2 เซนติเมตร ตามลำดับ และสูง 2.5 เซนติเมตรจากนั้นใช้พู่กันเขี่ยหนอนมาวางบนใบผักคะน้า ปิดฝาถ้วยให้แน่น โดยที่ฝาถ้วยได้มีการเจาะรูสำหรับให้อากาศถ่ายเทไว้ด้วย ส่วนสารสกัดไซยาโนแบคทีเรียที่สกัดด้วยน้ำจะนำตัวหนอนจุ่มลงในสารสกัดแล้วนำหนอนขึ้นมาวางไว้บนใบผักคะน้าที่ไว้ในถ้วยเรียบร้อยแล้ว สำหรับหนอนกระทู้หอม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดสอบกับสารสกัดไซยาโนแบคทีเรียที่สกัดด้วยน้ำและเมทานอล ส่วนหนอนเจาะสมอฝ้าย ทดสอบกับสารสกัดไซยาโนแบคทีเรียที่สกัดด้วยเมทานอล แล้วบันทึกจำนวนหนอนที่ตายในแต่ละวัน โดยระยะเวลาในการติดตามผลการทดสอบเป็นเวลา 3 วัน การทดสอบนี้มีจำนวนซ้ำของการทดลองเป็น 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัว

3.2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต และการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไซยาโนแบคทีเรีย (แผนภาพที่ 3.2)

3.2.1 การวัดการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย

นำไซยาโนแบคทีเรีย *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ผ่านการคัดเลือกแล้วพบว่า มีศักยภาพในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดีที่สุดมาขยายปริมาณการผลิตในถัง carboy ขนาดปริมาตร 10 ลิตร ที่บรรจุด้วยอาหาร 3 สูตร คือ BGA, BGA+N และ BG-11 ตามภาคผนวก ก ข้อ 1 และ 2 โดยความเข้มข้นเริ่มต้นของไซยาโนแบคทีเรีย คือ 0.02 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งของไซยาโนแบคทีเรียต่อปริมาตรอาหาร ระหว่างการเพาะเลี้ยงให้พ่นด้วยอากาศผสมกับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร ด้วยอัตราการไหล 1,000 มิลลิลิตรต่อนาที บ่มที่อุณหภูมิ 28 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงไฟ (cool-white fluorescent lamp) ที่ความเข้มแสง 60 ไมโครไอสไตน์ต่อตารางเมตรต่อวินาที

การวัดการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย โดยการเก็บเกี่ยวเซลล์แขวนลอยของไซยาโนแบคทีเรีย ด้วยกระบอกตวงที่ฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ทุกๆ วันเป็นเวลา 25 วัน นำไปเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,000g เป็นเวลา 20 นาที ล้างตะกอนเซลล์ด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง นำเซลล์ที่เก็บเกี่ยวได้ไปทำแห้งแบบการระเหิดที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส ชั่งและจดบันทึกผลของน้ำหนักแห้งของเซลล์ที่ได้ในแต่ละวัน

นำเซลล์แห้งของไซยาโนแบคทีเรียที่เก็บเกี่ยวแล้ว มาบดให้เซลล์แตกด้วยที่บดเนื้อเยื่อ (tissue grinder) จากนั้นสกัดด้วยเมทานอลและกรองแยกเซลล์ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 3 ส่วนเซลล์ที่กรองได้นำมาสกัดอีกครั้งด้วยตัวทำละลายเดิม นำส่วนใสที่กรองได้มาระเหยแห้งในโถระเหยแห้งสุญญากาศ จนสารสกัดหยาบ (crude extract) ของไซยาโนแบคทีเรียแห้ง

3.2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไซยาโนแบคทีเรีย

การทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไซยาโนแบคทีเรีย ทดสอบโดยวิธี paper disc plate (Chmel *et al.*, 1980)

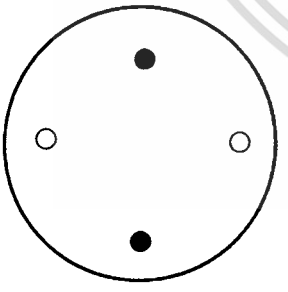
นำสารสกัดหยาบมาละลายในเมทานอลให้ได้ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อแผ่น หยดลงบนแผ่นทดสอบ BBL disc ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตรต่อแผ่น ตั้งทิ้งไว้ให้ตัวทำละลายระเหย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เตรียม algal lawn ของ *Anabaena siamensis* TISTR 8012 โดยนำอาหารวุ้น BGA ที่นึ่งฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว ตั้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิเย็นลงประมาณ 42 องศาเซลเซียส เติมสารแขวนลอยของ *A. siamensis* TISTR 8012 ที่มีค่าความหนาแน่นของเซลล์ ที่ความยาวคลื่น 900 นาโนเมตร เป็น 0.5 ลงไปให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของ *A. siamensis* TISTR 8012 เป็น 15 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรสารแขวนลอยของไซยาโนแบคทีเรียต่อปริมาตรอาหาร ผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว เทลงบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อ วางทิ้งไว้ให้อาหารวุ้นแข็งตัว

การทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากไซยาโนแบคทีเรียบน algal lawn ของ *A. siamensis* TISTR 8012 ทดสอบโดยการหาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ผลิตได้ โดยเปรียบเทียบปริมาณสารออกฤทธิ์กับสารมาตรฐาน gentamicin ดังภาคผนวก ค

วิธีการทดสอบนำแผ่นทดสอบที่หยดสารสกัดเรียบร้อยแล้ว มาวางลงบนผิวหน้าของ algal lawn ที่เตรียมไว้แล้ว โดยวางแผ่นทดสอบในแนวเส้นตรงเดียวกันในทิศทางตรงกันข้าม สำหรับในแนวตั้งฉากกับแผ่นทดสอบที่หยดสารสกัด นำแผ่นทดสอบที่หยด gentamicin มาตรฐานที่ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร มาวางในลักษณะเดียวกัน ดังภาพที่ 3.3 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงไฟ ที่ความเข้มแสง 60 ไมโครไอสไตน์ต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 7 วัน วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งซึ่งมีลักษณะเป็นโซนใส โดยวัดผ่านเส้นผ่าศูนย์กลางของแผ่นทดสอบ นำค่าที่วัดได้ไปเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน gentamicin ดังนั้นความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ที่ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ผลิตขึ้นจึงแสดงค่าความเข้มข้นเทียบเท่ากับ gentamicin (gentamicin equivalent)



● แผ่นทดสอบที่หยดสารสกัดความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อแผ่น ปริมาตร 20 ไมโครลิตร

○ แผ่นทดสอบที่หยด gentamicin ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อแผ่น ปริมาตร 20 ไมโครลิตร

ภาพที่ 3.3 แสดงรูปแบบของการทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 โดยวิธี paper disc plate บน algal lawn ของ *A. Siamensis* TISTR 8012

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไซยาโนแบคทีเรียที่มีผลต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย

นำไซยาโนแบคทีเรีย *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 มาขยายการผลิตในถัง carboy ขนาดปริมาตร 10 ลิตร โดยใช้สูตรอาหารที่ทดสอบแล้วพบว่ามีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ แล้วนำมาเพาะเลี้ยงไว้ในสภาพเช่นเดียวกับการทดลองข้อ 3.2.1

เก็บเกี่ยวเซลล์แขวนลอยของไซยาโนแบคทีเรียในวันที่ 15 ถึง 25 ด้วยกระบอกตวงที่ฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ไปเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000g เป็นเวลา 20 นาที ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง นำเซลล์ที่เก็บเกี่ยวได้ไปทำแห้งแบบการระเหิดที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส ทำการชั่งและจดบันทึกผลของน้ำหนักแห้งของเซลล์ที่ได้ในแต่ละวัน

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายเพื่อหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ศึกษาโดยการนำเซลล์ที่เก็บเกี่ยวได้ระหว่างวันที่ 15 ถึง 25 มาสกัดสารออกฤทธิ์ด้วยวิธีการเดียวกันกับข้อ 3.2.1 และนำสารสกัดมาละลายใหม่ในเมทานอล ให้ได้ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสดของไซยาโนแบคทีเรียต่อปริมาตรเมทานอล หยดสารสกัดลงบนใบอ่อนของผักคะน้าขนาดกว้างและยาวประมาณ 3 X 3.5 เซนติเมตร ทั้ง 2 ด้านของใบผักในปริมาตรด้านละ 50 ไมโครลิตร ใช้พู่กันเบอร์ 4 ทาให้ทั่วทั้งใบ สำหรับชุดควบคุมใช้เมทานอลหยดลงไปแทนสารสกัด ตั้งใบผักทิ้งไว้จนตัวทำละลายระเหยออกไปหมด นำผักคะน้าใส่ลงไปในถ้วยเลี้ยงหนอน ภายในถ้วยรองพื้นด้วยกระดาษเพาะเมล็ด 2 ชั้น ใช้พู่กันเบอร์ 4 เขี่ยหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่ง ที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 0.08 มิลลิกรัมต่อตัว) ซึ่งอดอาหารก่อนการทดลองเป็นเวลา 4-5 ชั่วโมง ลงไปบนผักคะน้าด้วยความระมัดระวังปิดฝาถ้วยให้แน่น นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 29 $\pm$ 1องศาเซลเซียส และมีแสง 12-14 ชั่วโมง ทำการบันทึกผลเป็นเวลา 4 วัน โดยชั่งหาน้ำหนักของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่มีชีวิตและตรวจนับจำนวนหนอนที่ตายในแต่ละวัน ปรับข้อมูลโดยใช้สูตรของ Abbott (Abbott, 1925)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง} = \frac{X-Y}{X} \times 100$$

; X คือเปอร์เซ็นต์อยู่รอดของแมลงในตัวควบคุม

Y คือเปอร์เซ็นต์อยู่รอดของแมลงในตัวทดสอบ

การทดลองนี้ใช้การวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) และมีจำนวนหน่วยการทดลอง 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 การศึกษาผลของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย

3.4.1 การศึกษาผลของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ต่อการยับยั้งการกินของหนอนเจาะสมอฝ้าย โดยวิธี choice feeding test

การทดลองนี้ดัดแปลงมาจากวิธีของ Huang *et al.* (1995) เตรียมสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่เหมาะสมและเก็บเกี่ยวในช่วงเวลาที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้สูงที่สุด ให้ได้ความเข้มข้น 150 320 700 1000 และ 1,500 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร

ใช้เครื่องมือเจาะเบอร์ 12 (cork borrer) เจาะใบผักคะน้าให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.0 เซนติเมตร ในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดเลือกสุ่มใบผักคะน้ามาความเข้มข้นละ 10 ใบ โดย 5 ใบหยดสารสกัดปริมาตร 40 ไมโครลิตรลงบนใบผักคะน้าด้านเดียวให้ทั่วทั้งแผ่น สำหรับ 5 ใบที่เหลือหยดเมทานอลปริมาตร 40 ไมโครลิตรเพื่อใช้เป็นตัวควบคุม นำทั้ง 10 แผ่นใบไปวางสลับกันเป็นวงกลมในจานเพาะเชื้อพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ที่เจาะรูให้อากาศไว้บนฝาแล้ว และรองพื้นด้วยกระดาษเพาะเมล็ดที่ชื้น ใส่หนอนเจาะสมอฝ้ายวัยสามที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 7.02 มิลลิกรัมต่อตัว ที่อดอาหารเป็นเวลา 5-7 ชั่วโมง ลงไปตรงกลางวงกลมที่ล้อมรอบด้วยแผ่นใบ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 29 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ถึง 26 ชั่วโมงในที่มืด บันทึกการกินโดยใช้กระดาษกราฟวัดพื้นที่การกินของหนอนตามวิธีของ Dethier (1947) และนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินโดยใช้สูตรของ Daido *et al.* (1995) การทดลองนี้ทำการทดลอง 5 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัว

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกิน} = 1 - \frac{\text{เปอร์เซ็นต์พื้นที่เสียหายจากหนอนกินในแผ่นทดสอบ}}{\text{เปอร์เซ็นต์พื้นที่เสียหายจากหนอนกินในแผ่นควบคุม}} \times 100$$

3.4.2 การศึกษาผลของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ต่อการเจริญเติบโตของหนอนเจาะสมอฝ้ายในระยะสั้น

เจือจางสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ให้ได้ความเข้มข้น 0.2 0.6 0.8 1.0 2.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล จากนั้นนำไปทดสอบกับหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่ง ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 0.42 มิลลิกรัมต่อตัว ตามวิธีการทดลองในข้อ 3.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองนี้ใช้การวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) และมีจำนวนหน่วยการทดลอง 5 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัว

3.4.3 การศึกษาผลของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ต่อการเจริญเติบโตของหนอนเจาะสมอฝ้ายในระยะยาว

ใช้เครื่องมือเจาะ (cork borrer) ขนาดเบอร์ 1 หรือขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะอาหารเทียมที่บรรจุอยู่ในกล่องพลาสติกสี่เหลี่ยม ขนาดกว้าง x ยาว x สูง เท่ากับ 7.8 x 14.0 x 5.0 เซนติเมตร ซึ่งภายในบรรจุอาหารเทียมหนา 0.3 เซนติเมตร หยดสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0.2 0.6 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล ที่เตรียมไว้ปริมาตร 10 ไมโครลิตรจนทั่วก้อนอาหารเทียม สำหรับตัวควบคุมใช้เมทานอลหยดแทนสารสกัด นำก้อนอาหารเทียมที่หยดสารสกัดเรียบร้อยแล้วไประเหยตัวทำละลายในโถระเหยแห้งสุญญากาศ และนำไปใส่ในหลอด eppendorf ที่เจาะรูบนฝาไว้เรียบร้อยแล้ว หลอดละ 1 ก้อน จากนั้นนำหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยสอง ที่มีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 1.67 มิลลิกรัมต่อตัว และได้อดอาหารเป็นเวลา 4-5 ชั่วโมง ใส่ลงไปหลอดละหนึ่งตัวปิดฝาให้สนิท เมื่อหนอนเจาะสมอฝ้ายกินก้อนอาหารเทียมที่เคลือบสารสกัดหมด จึงย้ายหนอนมาเลี้ยงต่อในอาหารเทียมปกติที่บรรจุอยู่ในถ้วยเลี้ยงหนอน ถ้วยละ 1 ตัว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 29 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75 เปอร์เซ็นต์ ให้แสง 12 – 14 ชั่วโมง บันทึก การตายของหนอน (เปอร์เซ็นต์) น้ำหนักหนอนในวันที่ 7 หลังจากเริ่มทดลอง (มิลลิกรัม) น้ำหนักสูงสุดของหนอน (มิลลิกรัม) ช่วงเวลาในการเป็นหนอน (วัน) การตายในช่วงเข้าดักแด้ (เปอร์เซ็นต์) น้ำหนักดักแด้ (มิลลิกรัม ชั่งหลังจากเข้าดักแด้เรียบร้อยแล้ว 36 ชั่วโมง) ระยะเวลาในการเข้าดักแด้ (วัน) เปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัย และเปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยพิการ

การทดลองนี้ใช้การวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) และมีจำนวนหน่วยการทดลอง 5 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัว

3.5 ขั้นตอนการศึกษาเบื้องต้นในการแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่มีคุณสมบัติในการควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้าย โดยวิธีทินแลเยอร์โครมาโตกราฟฟี (thin layer chromatography; TLC)

3.5.1 การศึกษาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพออกจากสิ่งเจือปนโดยวิธีทินแลเยอร์โครมาโตกราฟฟี

นำสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 มาทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยเครื่องระเหยแห้งแบบลดความดัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที หยดสารสกัดที่เข้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างสารสกัดทุกๆ 15 นาที นำมาทดสอบประสิทธิภาพโดยวิธี paper disc plate และวิเคราะห์ผลในลักษณะเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสัมพัทธ์

3.6.1.3 การศึกษาความคงตัวของสารสกัดต่อแสงแดดและสภาพลมฟ้าอากาศ

3.6.1.3.1 ความคงตัวของสารสกัดต่อแสงแดดและสภาพลมฟ้าอากาศในธรรมชาติ

เตรียมสารสกัดให้ได้ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อแผ่นทดสอบ (BBL disc) นำไปวางไว้ที่กลางแจ้ง เริ่มการทดลองในเวลา 16.00 น. (ความเข้มแสงเริ่มต้น 32,700 ลักซ์) ทำการทดลองเป็นเวลา 5 วัน (ระหว่างวันที่ 4-9 พฤษภาคม 2541) เก็บตัวอย่างๆ เป็นระยะๆ และทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดโดยวิธี paper disc plate และวิเคราะห์ผลในลักษณะเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสัมพัทธ์

3.6.1.3.2 ความคงตัวของสารสกัดต่อสภาพลมฟ้าอากาศในเครื่องเร่งสภาวะ

เตรียมสารสกัดให้ได้ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อแผ่นทดสอบ นำไปบ่มในเครื่องเร่งสภาวะ (รุ่น QUV/se) โดยมีวงจรคือ รับแสง (UVA-340, UVB-313, QFS-40 และ UVA-351 ที่ความเข้มแสง 0.77, 0.63, 0.47 และ 0.77 วัตต์ ต่อตารางเมตร ต่อนาโนเมตร ตามลำดับ) เป็นเวลา 4 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส สลับกับควบแน่นในสภาพมืด 4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วัน โดยเก็บตัวอย่างเป็นระยะๆ แล้วนำมาทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดโดยวิธี paper disc plate และวิเคราะห์ผลในลักษณะเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสัมพัทธ์

3.6.2 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีบางประการของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ทำให้บริสุทธิ์บางส่วน โดยใช้ทินแลเยอร์โครมาโตกราฟฟี

3.6.2.1 ปฏิกิริยานินไฮดริน (ninhydrin reaction)

ปฏิกิริยานินไฮดรินเป็นปฏิกิริยาการทดสอบกรดอะมิโนอิสระ และกรดอะมิโนเพบไทด์หรือโปรตีน โดยปิเปตต์สารละลายบัฟเฟอร์ ที่มีความเป็นกรดเป็นด่าง เท่ากับ 5 (ภาคผนวก ง ข้อ 1) ลงในหลอดทดลอง ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายตัวอย่างที่ต้องการทดสอบประมาณ 1 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำยานินไฮดริน (ภาคผนวก ง ข้อ 2) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปต้มในน้ำเดือดประมาณ 5 นาที สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินถึงม่วง ให้บันทึกผลการทดลองเป็นบวก ซึ่งแสดงว่าสารละลายตัวอย่างประกอบด้วยกรดอะมิโนอิสระหรือกรดอะมิโนในเพบไทด์หรือโปรตีน

3.6.2.2 ปฏิกิริยาไบยูเรต (biuret reaction)

ปฏิกิริยาไบยูเรตเป็นปฏิกิริยาการทดสอบสารที่ประกอบด้วยพันธะเพบไทด์ ตั้งแต่สองแห่งขึ้นไป ทดสอบโดยปิเปตต์สารละลายตัวอย่างใส่ในหลอดทดลองปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต 1 หยด สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสี บันทึกผลเป็นบวกถ้ามีสีชมพูเกิดขึ้น ซึ่งแสดงว่าสารตัวอย่างประกอบด้วยพันธะเพบไทด์

3.6.2.3 การทดสอบโมลิสช์ (Molisch's test)

การทดสอบโมลิสช์เป็นวิธีการทดสอบน้ำตาล โดยใช้กรดเข้มข้นดึงน้ำออกจากน้ำตาลเพนโทสและเฮกโซส ในกรณีของเฮกโซส จะกลายเป็นเฟอฟิวรัล และไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟิวรัล เฮกโซส ถ้าเป็นอัลโดเฮกโซส จะได้อนุพันธ์เฟอฟิวรัลประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ และ ถ้าเป็นคีโตเฮกโซส จะได้อนุพันธ์เฟอฟิวรัล 20-25 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการทดสอบน้ำตาลทำได้โดยใส่สารละลายตัวอย่างลงในหลอดทดลองปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมน้ำยาโมลิสช์ (ภาคผนวก ง ข้อ 3) ลงไปหลอดละ 2 หยด เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นค่อยๆ หยดกรดซัลฟิวริกเข้มข้นลงข้างๆ หลอดทดลองประมาณ 0.5 มิลลิลิตร สังเกตสีตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารละลาย ถ้าปรากฏเป็นสีชมพูถึงม่วงให้บันทึกผลเป็นบวก ซึ่งแสดงว่าสารตัวอย่างประกอบด้วยน้ำตาล

3.6.2.4 การทดสอบแอนโทรน (anthrone test)

การทดสอบแอนโทรน เป็นการทดสอบน้ำตาลทั่วๆ ไป โดยใช้กรดกำมะถันดึงน้ำออกจากน้ำตาล กลายเป็นเฟอฟิวรัล หรือ อนุพันธ์ของเฟอฟิวรัล ซึ่งจะรวมกับแอนทรานอล (ในน้ำยาแอนโทรน) ได้สารละลายสีเขียวจนถึงน้ำเงิน ซึ่งการทดสอบน้ำตาลทำได้โดยใส่สารละลายตัวอย่างลงในหลอดทดลองปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำยาแอนโทรน ปริมาตร 3 มิลลิลิตร นำไปต้มในน้ำเดือดประมาณ 10 นาที สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสี ถ้าเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินอมเขียวให้บันทึกผลเป็นบวก

3.6.2.5 การทดสอบความไม่อิ่มตัวของไขมัน (unsaturation test)

โครงสร้างของไขมันแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ ชนิดอิ่มตัว ไม่มีพันธะคู่อยู่ในโครงสร้าง และชนิดไม่อิ่มตัว มีพันธะคู่อยู่ในโครงสร้าง ซึ่งพันธะคู่สามารถทำปฏิกิริยากับสารพวกฮาโลเจน โดยจะฟอกสีฮาโลเจน จึงใช้คุณสมบัติในข้อนี้ทดสอบว่าไขมันที่นำมาทดสอบมีพันธะคู่อยู่ในโครงสร้างหรือไม่ ทดสอบโดยปิเปตต์คลอโรฟอร์มลงในหลอดทดลอง 1 มิลลิลิตร เติมสารละลายตัวอย่าง 2 หยด ลงในหลอดทดลองดังกล่าว จากนั้นค่อยๆ หยดสารละลายโบรมีนลงไปทีละหยด ผสมให้เข้ากันโดยเคาะหลอดทดลองดังกล่าวด้วยฝ่ามือ ถ้าสารละลายตัวอย่างมีพันธะคู่อยู่ในโครงสร้าง จะฟอกสีโบรมีนได้ ให้บันทึกผลเป็นบวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ในการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 จะใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (One way Analysis of Varience) ใช้ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของค่าพารามิเตอร์ต่างๆ สำหรับวัดการเจริญเติบโตของหนอนเจาะสมอฝ้าย ได้แก่ น้ำหนักของหนอนเจาะสมอฝ้าย ช่วงเวลาในการเป็นหนอน น้ำหนักดักแด้ และช่วงเวลาในการเข้าดักแด้ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (Gomez and Gomez, 1984)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การคัดเลือกสายพันธุ์ไซยาโนแบคทีเรียที่มีศักยภาพในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติในการควบคุมแมลง

4.1.1 ผลของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียต่อไรทะเล

นำไซยาโนแบคทีเรียที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนซึ่งแยกได้จากตัวอย่างดิน และเก็บรวบรวมอยู่ในศูนย์จุลินทรีย์ (ศจล.) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วท.) มาคัดเลือกหาสายพันธุ์ที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติในการควบคุมแมลง โดยในการคัดเลือกเบื้องต้นจะเป็นการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดต่อไรทะเล ได้ผลดังตารางที่ 4.1

ไซยาโนแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นพิษต่อไรทะเล โดยทำให้ไรทะเลตายหมดภายใน 18 ชั่วโมง มีจำนวนทั้งสิ้น 7 สกุล 34 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 10.69 ของไซยาโนแบคทีเรียทั้งหมดที่ใช้ในการคัดเลือก ได้แก่ *Anabaena* 1 สายพันธุ์, *Calothrix* 3 สายพันธุ์, *Fisherella* 12 สายพันธุ์, *Hapalosiphon* 8 สายพันธุ์, *Nostoc* 2 สายพันธุ์, *Scytonema* 1 สายพันธุ์ และ *Stigonema* 7 สายพันธุ์

4.1.2 ผลของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียต่อหนอนแมลงศัตรูพืช

จากการนำสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ทดสอบแล้วพบว่า เป็นพิษต่อไรทะเลมาคัดเลือกอีกครั้งโดยการทดสอบกับหนอนกระทู้หอมวัยหนึ่ง พบว่า การใช้สารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่สกัดด้วยเมทานอลแล้วทาลงบนใบผักคะน้าอ่อนแล้วนำไปให้หนอนกิน ให้ผลดีกว่าการจุ่มตัวหนอนลงในสารสกัดไซยาโนแบคทีเรียที่สกัดด้วยน้ำ ดังเห็นได้จากหนอนที่ได้รับสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลมีเปอร์เซ็นต์การตายสูงกว่าหนอนที่ได้รับสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำในทุกๆ ตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ ดังตารางที่ 4.2 ทั้งนี้เนื่องจากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพส่วนใหญ่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์มากกว่าในน้ำ (Kashiwagi *et al.*, 1980) และสอดคล้องกับรายงานของ Feuerhake และ Schmutterer (1982) ที่ว่าผลของสารสกัดจะแตกต่างกันไปตามตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

สารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลจากไซยาโนแบคทีเรีย จำนวน 4 สกุล 19 สายพันธุ์ ได้แก่ สกุล *Fischerella*, *Hapalosiphon*, *Nostoc* และ *Stigonema* สามารถฆ่าหนอนกระทู้หอมวัยหนึ่ง ได้ประมาณหรือมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป และมี 3 สกุล 7 สายพันธุ์ ที่สามารถฆ่าหนอนกระทู้หอมวัยหนึ่ง ได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ *Fischerella* sp. TISTR 8938, *Fischerella* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

สารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย [1]	เปอร์เซ็นต์การตายของหนอน [2]	
	ทาใบ [3]	จุ่มตัว [4]
Stigonema sp. TISTR 8253	73.07	0.00
Stigonema sp. TISTR 8254	57.69	40.74
Stigonema sp. TISTR 8255	71.61	3.33
Stigonema sp. TISTR 8293	100.00	30.00
Stigonema sp. TISTR 8964	100.00	0.00
Stigonema sp. TISTR 8967	17.24	0.00
Stigonema sp. TISTR 8984	33.33	10.34
เมทานอล/น้ำกลั่น (ตัวควบคุม)	0.00	0.00

หมายเหตุ [1] : สารสกัดที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักสดของไซยาโนแบคทีเรียต่อปริมาตรสารละลาย)

[2] : ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัว

[3] : ทาสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลลงบนใบผักคะน้าแล้วให้หนอนกิน

[4] : จุ่มตัวหนอนลงในสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

TISTR 8940, *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252, *Hapalosiphon* sp. TISTR 8921 *Hapalosiphon* sp. TISTR 8950, *Stigonema* sp. TISTR 8293 และ *Stigonema* sp. TISTR 8964

เมื่อนำไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ที่สามารถฆ่าหนอนกระทู้หอมวัยหนึ่ง ได้ประมาณ 70 หรือมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป มาทดสอบต่อกับหนอนกระทู้หอมวัยสอง พบว่า โดยรวมแล้วเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้หอมวัยสองลดลง ทั้งในสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลและสกัดด้วยน้ำ สารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลจากไซยาโนแบคทีเรียที่ฆ่าหนอนกระทู้หอมวัยสองได้ประมาณ หรือมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป มีจำนวน 3 สกุล 10 สายพันธุ์ ซึ่งลดจำนวนลงจากเมื่อครั้งทดสอบกับหนอนกระทู้หอมวัยหนึ่ง คิดเป็น 47.36 เปอร์เซ็นต์ และมีเพียง 4 สายพันธุ์ ที่ฆ่าหนอนกระทู้หอมวัยสองได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ได้แก่ *Fischerella* sp. TISTR 8944 *Fischerella* sp. TISTR 8975 , *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 , *Hapalosiphon* sp. TISTR 8950 ดังแสดงในตารางที่ 4.3

เมื่อนำสารสกัดของไซยาโนแบคทีเรียที่สกัดด้วยเมทานอล จำนวน 3 สกุล 12 สายพันธุ์ ที่สามารถฆ่าหนอนกระทู้หอมวัยสอง ได้มากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ หรือฆ่าหนอนกระทู้หอมวัยหนึ่งได้ 100 เปอร์เซ็นต์ มาทดสอบความเป็นพิษกับหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่ง พบว่า มีเพียง 5 สายพันธุ์ ที่มีผลทำให้หนอนเจาะสมอฝ้ายตาย คือ *Fischerella* sp. TISTR 8940, *Fischerella* sp. TISTR 8975,*Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 และ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8951 (ตารางที่ 4.4) และถึงแม้จะมีการตายของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่งเกิดขึ้นแต่พบว่า เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่งต่ำมาก คืออยู่ในระหว่าง 3 - 7 เปอร์เซ็นต์ แต่จากการสังเกตความเสียหายของใบที่เกิดจากการกัดกินของหนอน พบว่าใบผักคะน้าที่ทาด้วยสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 มีพื้นที่ความเสียหายของใบที่ถูกหนอนกินน้อยมากเมื่อเทียบกับตัวควบคุมและในตัวอย่างทดสอบอื่น

จากตารางที่ 4.1 ถึง 4.4 เป็นที่น่าสังเกตได้อย่างหนึ่งว่า ไซยาโนแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีศักยภาพในการควบคุมหนอนแมลงศัตรูพืช ได้แก่ ไซยาโนแบคทีเรียใน สกุล *Fischerella* และ *Hapalosiphon* ซึ่งทั้ง 2 สกุลนี้จัดอยู่ใน วงศ์ Stigonemataceae อันดับ Stigonematales ทั้งหมด

จากผลการทดลองเห็นได้ว่า *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 (ภาพที่ 4.1) มีศักยภาพในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการควบคุมหนอนกระทู้หอมและหนอนเจาะสมอฝ้าย โดยสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลจากไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์นี้มีฤทธิ์ในการฆ่าหนอนกระทู้หอมวัยหนึ่งและวัยสองได้มากถึง 100 และ 93.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับในหนอนเจาะสมอฝ้าย ถึงแม้ว่าฤทธิ์ในการฆ่าหนอนเจาะสมอฝ้ายจะมีค่าต่ำมาก ซึ่งอาจเป็นเพราะว่าความเข้มข้นของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ผลของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆ ในการควบคุมหนอนกระทู้หอมวัยสอง

สารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย [1]	เปอร์เซ็นต์การตายของหนอน [2]	
	ทาใบ [3]	จุ่มตัว [4]
Fischerella sp. TISTR 8215	13.33	40.07
Fischerella sp. TISTR 8938	62.06	0.00
Fischerella sp. TISTR 8940	58.62	36.67
Fischerella sp. TISTR 8943	73.33	0.00
Fischerella sp. TISTR 8944	90.00	6.67
Fischerella sp. TISTR 8958	57.14	0.00
Fischerella sp. TISTR 8975	92.59	31.03
Hapalosiphon sp. TISTR 8252	93.33	0.00
Hapalosiphon sp. TISTR 8921	37.93	7.14
Hapalosiphon sp. TISTR 8939	79.31	6.67
Hapalosiphon sp. TISTR 8945	56.00	6.45
Hapalosiphon sp. TISTR 8947	36.67	0.00
Hapalosiphon sp. TISTR 8950	90.00	6.89
Hapalosiphon sp. TISTR 8951	72.41	0.00
Nostoc sp. TISTR 8961	57.69	0.00
Stigonema sp. TISTR 8253	68.97	3.33
Stigonema sp. TISTR 8255	88.00	0.00
Stigonema sp. TISTR 8293	80.00	3.33
Stigonema sp. TISTR 8964	56.67	6.67
เมทานอล/น้ำกลั่น (ตัวควบคุม)	0.00	3.70

หมายเหตุ [1] : สารสกัดที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักสดของไซยาโนแบคทีเรียต่อปริมาตรสารละลาย)

[2] : ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัว

[3] : ทาสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลลงบนใบผักคะน้าแล้วให้หนอนกิน

[4] : จุ่มตัวหนอนลงในสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ผลของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่ง

สารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย [1]	เปอร์เซ็นต์การตายของหนอน [2]
Fischerella sp. TISTR 8938	0.00
Fischerella sp. TISTR 8940	6.66
Fischerella sp. TISTR 8943	3.22
Fischerella sp. TISTR 8944	0.00
Fischerella sp. TISTR 8975	3.33
Hapalosiphon sp. TISTR 8252	3.44 [3]
Hapalosiphon sp. TISTR 8921	0.00
Hapalosiphon sp. TISTR 8950	0.00
Hapalosiphon sp. TISTR 8951	7.40
Stigonema sp. TISTR 8253	0.00
Stigonema sp. TISTR 8293	0.00
Stigonema sp. TISTR 8964	0.00
เมทานอล (ตัวควบคุม)	0.00

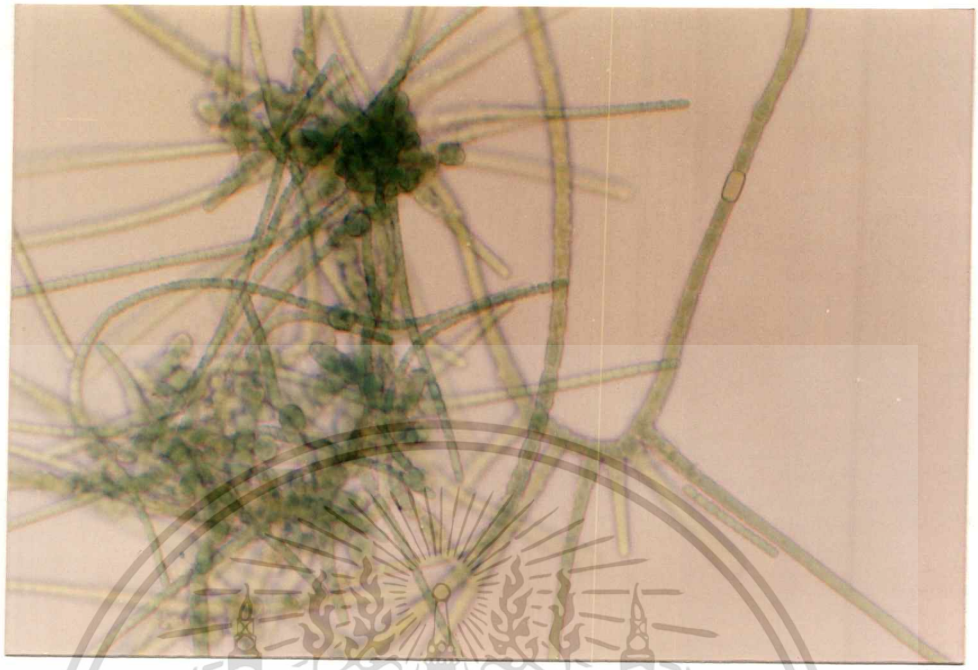
หมายเหตุ [1] : สารสกัดที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักสดของไซยาโนแบคทีเรียต่อปริมาตรสารละลาย)

[2] : ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัว

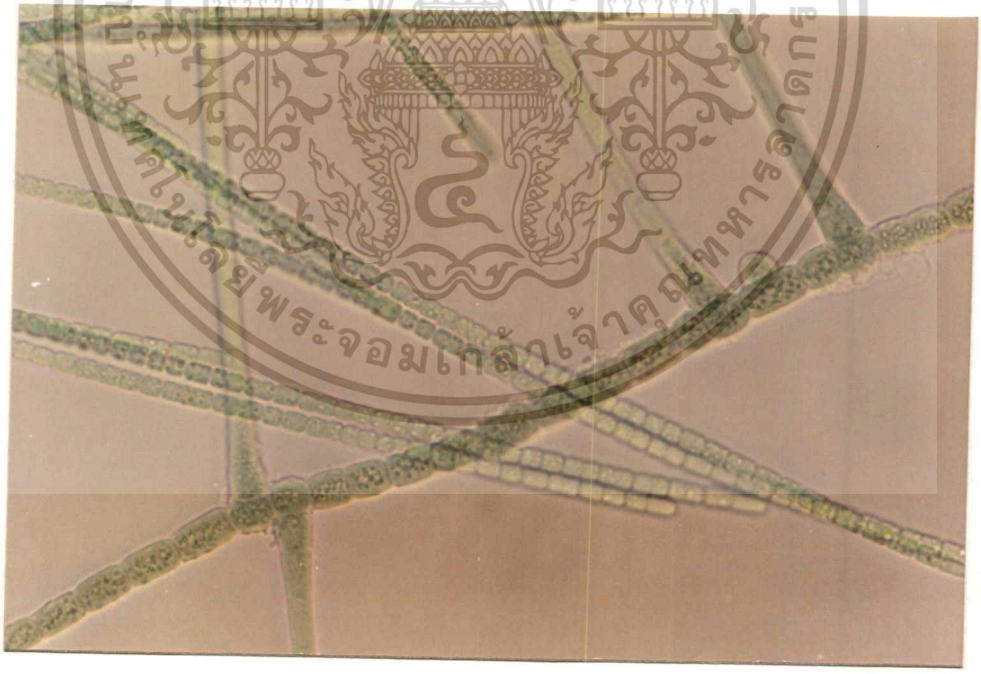
[3] : ความเสียหายของใบผักคะน้าเนื่องจากการการกัดกินของหนอนมีความเสียหายน้อยมากเมื่อเทียบกับสารสกัดอื่นๆ และตัวควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ก)



(ข)



ภาพที่ 4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252

ก. กำลังขยาย 100 เท่า

ข. กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ใช้อาจมีความเข้มข้นไม่สูงพอที่จะเกิดความเป็นพิษอย่างเฉียบพลัน คือทำให้หนอนเจาะสมอฝ้ายตายได้ไม่มากนัก แต่ถึงอย่างไรก็ตามพบว่า สารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 สามารถยับยั้งการกินของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่งได้ ดังนั้นจึงได้คัดเลือกไซยาโนแบคทีเรีย *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 เพื่อทำการศึกษาเกี่ยวกับการเจริญเติบโตและการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้ายของสายพันธุ์นี้ต่อไป

4.2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตและการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

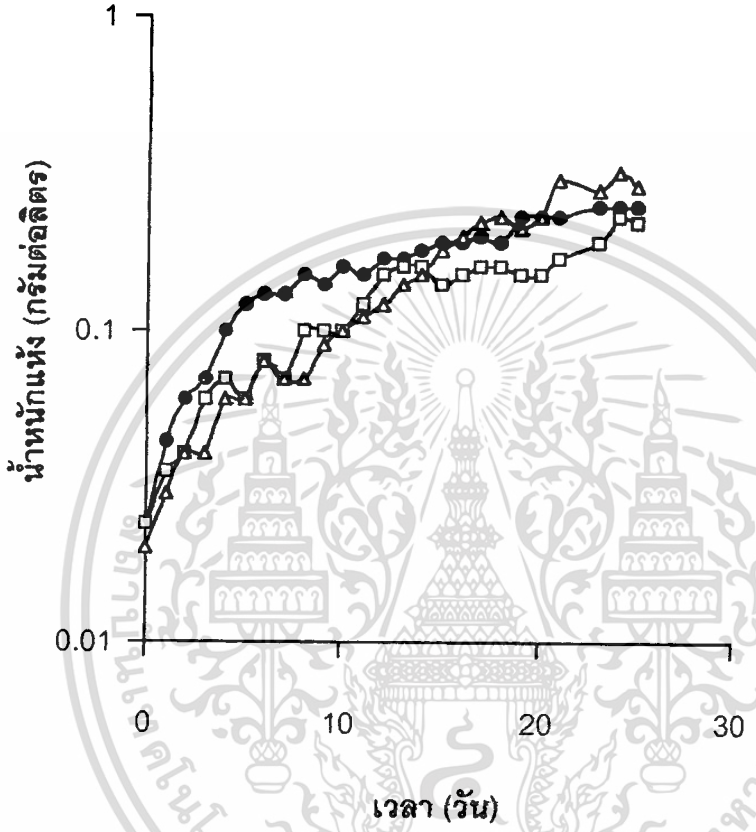
เมื่อนำไซยาโนแบคทีเรีย *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 มาเพิ่มปริมาณการผลิตเซลล์ในถัง carboy ขนาดบรรจุอาหาร 10 ลิตร (ภาพที่ 4.2) โดยใช้อาหารพื้นฐานในการเพาะเลี้ยง 3 สูตร คือ BGA , BGA+N และ BG-11 ซึ่งอาหารทั้ง 3 สูตรมีส่วนประกอบต่างๆ ของธาตุอาหารแตกต่างกันไปดังภาคผนวก ก ข้อ 1 และ 2 เมื่อเก็บเกี่ยวเซลล์ไซยาโนแบคทีเรียและนำไปทำให้แห้งแบบการระเหิด แล้วชั่งหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ทุกวัน เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย พบว่า การเจริญเติบโตของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 เป็นไปอย่างช้าๆ ซึ่งโดยปกติแล้วไซยาโนแบคทีเรียมีการเจริญเติบโตช้ากว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ เช่น แบคทีเรีย ยีสต์ และรา จากผลการทดลองในภาพที่ 4.3 เห็นได้ว่า ในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยงการเจริญเติบโตของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ในอาหารทั้ง 3 สูตร รูปแบบการเจริญเติบโตโดยรวมแล้วมีความคล้ายคลึงกัน แต่ในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยงในอาหาร BGA+N *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 มีการเจริญเติบโตสูงกว่าสูตรอาหารอื่นๆ และเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่เร็วกว่าสูตรอื่นๆ และจากการศึกษาการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 โดยนำเซลล์ที่เก็บเกี่ยวได้ในแต่ละวัน มาสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพออกด้วยเมทานอล แล้วนำไปทดสอบประสิทธิภาพกับ *Anabaena siamensis* TISTR 8012 โดยวิธี paper disc plate ดังแสดงในภาพที่ 4.4 และสามารถตรวจพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่เจริญเติบโตในสูตรอาหาร BGA+N ได้ตั้งแต่วันแรกที่เริ่มปลูกเชื้อลงในอาหาร สำหรับในสูตรอาหาร BGA และ BG-11 ตรวจพบสารออกฤทธิ์ภายหลังจากปลูกเชื้อลงในอาหารแล้ว 1 วัน ดังแสดงในภาพที่ 4.5

ในช่วงเวลาระหว่างที่ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 มีการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์ขึ้นอย่างรวดเร็ว (exponential phase) ในสูตรอาหาร BGA+N การผลิตสารออกฤทธิ์กลับเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ จนเมื่อเข้าสู่ปลายการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วประมาณวันที่ 17 ของการเพาะเลี้ยง การผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และสามารถผลิตได้สูงสุดในระหว่างวันที่ 20 และ 21 ของการเพาะเลี้ยง โดยในช่วงนี้ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 มีการเจริญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

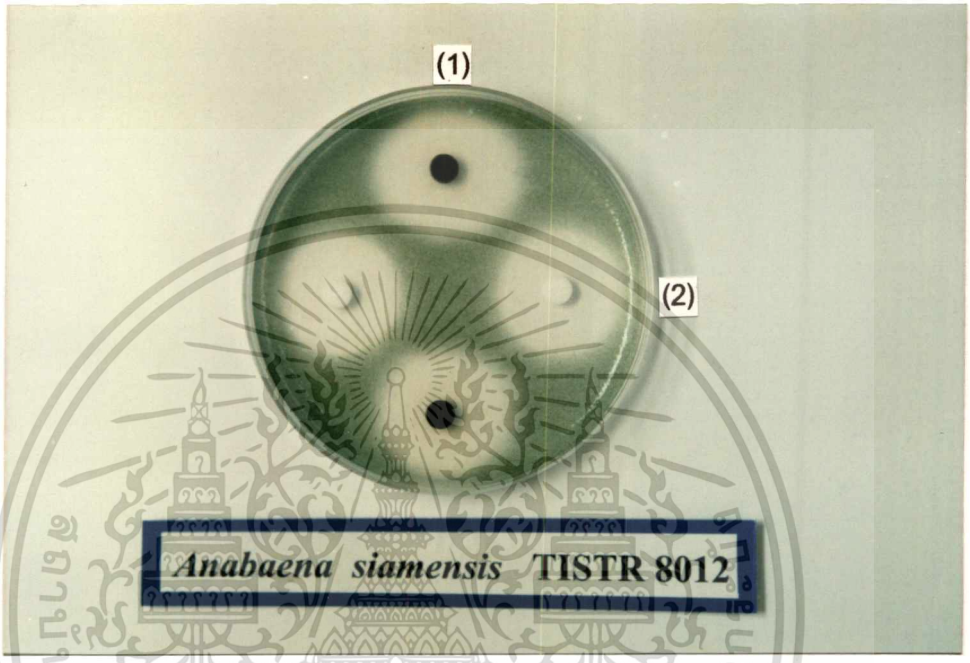
ภาพที่ 4.2 การผลิตเซลล์ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ในถัง carboy ขนาดบรรจุอาหาร 10 ลิตร พ่นด้วยอากาศผสมกับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร ด้วยอัตราการไหล 1,000 มิลลิลิตรต่อนาที บ่มที่อุณหภูมิ 28 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง (cool-white fluorescent lamp) ที่ความเข้มแสง 60 ไมโครไอสไตน์ต่อตารางเมตร ต่อวินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



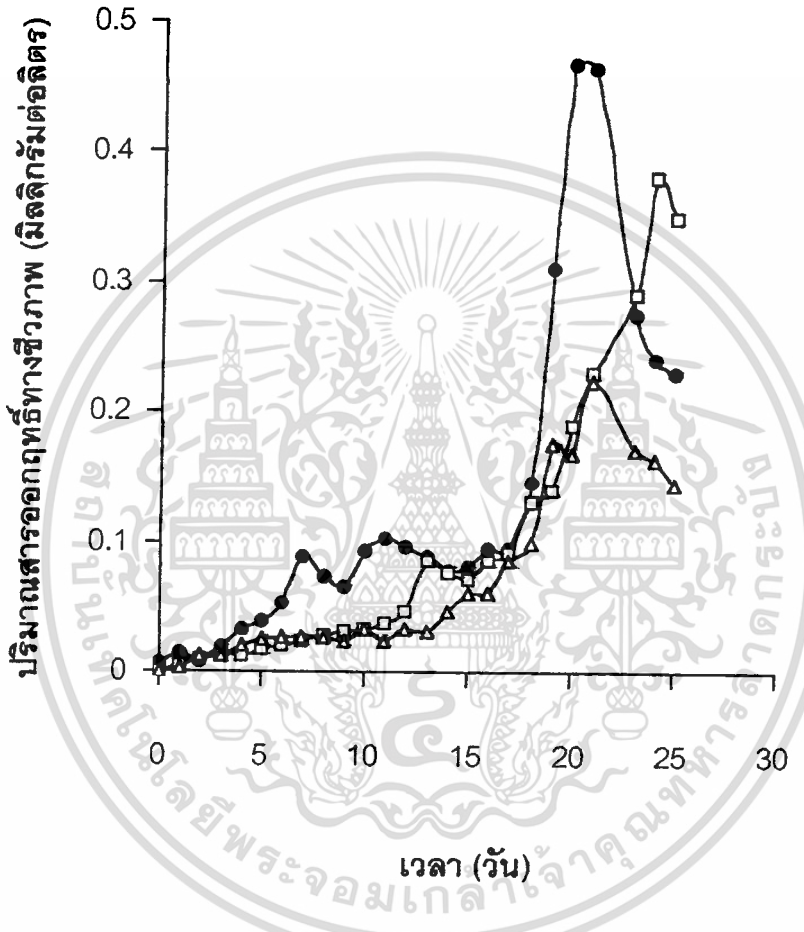
ภาพที่ 4.3 การเจริญเติบโตของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ในอาหาร BGA+N (●) BGA (□) และ BG-11 (Δ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 โดยวิธี paper disc plate บน algal lawn ของ *A. siamensis* TISTR 8012 ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ (1) โดยเปรียบเทียบกับ gentamicin มาตรฐาน (2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.5 การผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดย *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ในอาหารสูตร BGA+N (●), BGA (□) และ BG-11 (△)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เติบโตคิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 0.23 กรัมต่อลิตร และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตได้ (คิดเทียบเป็นความเข้มข้นของ gentamicin) คือ 0.47 มิลลิกรัมต่อลิตรของอาหารเหลวที่ใช้เพาะเลี้ยง หรือ 2.03 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของไซยาโนแบคทีเรีย (ภาพที่ 4.6) และหลังจากวันที่ 21 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 จะลดลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่ไซยาโนแบคทีเรียเจริญเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ (stationary phase)

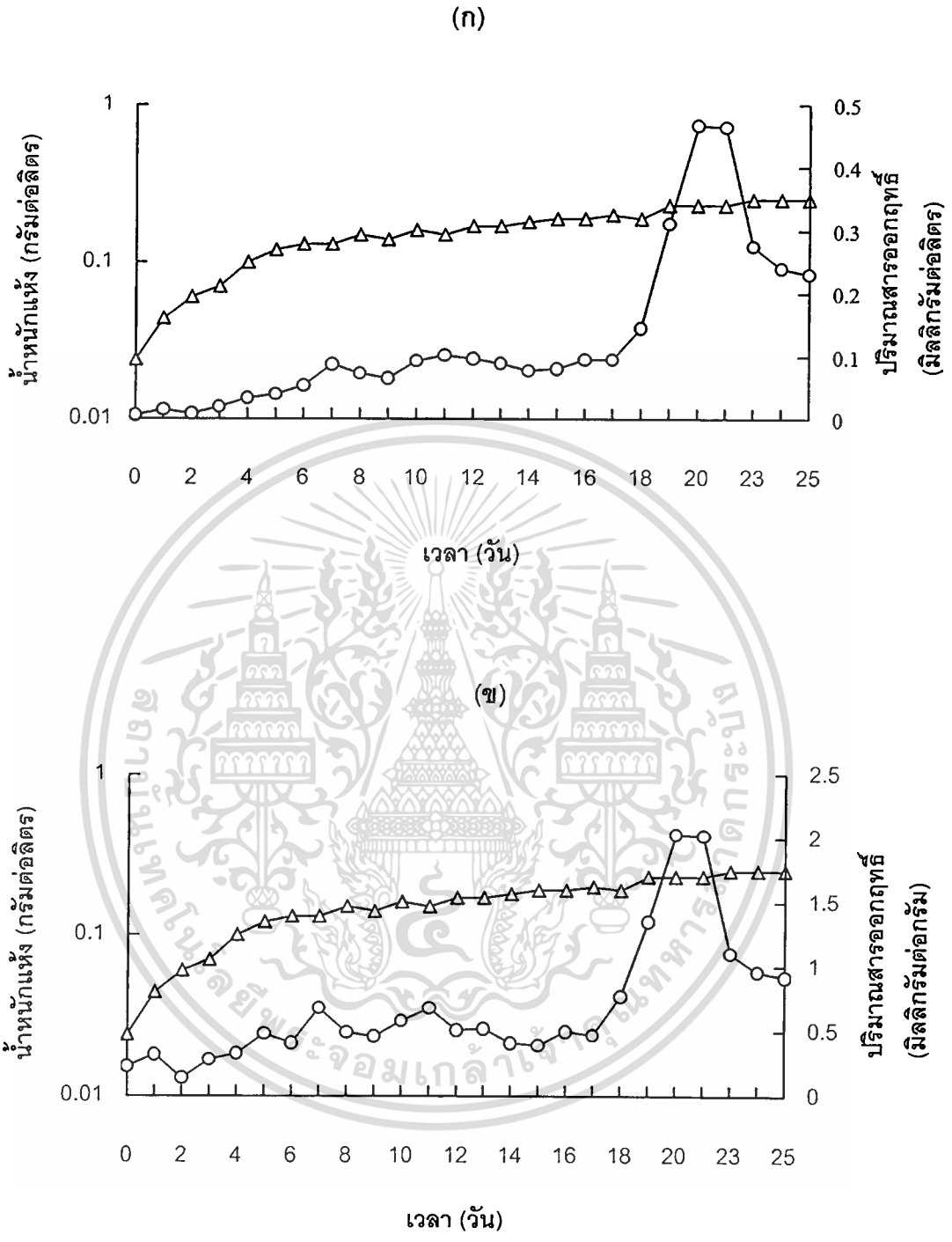
สำหรับสูตรอาหาร BGA และ BG-11 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโต และการผลิตสารออกฤทธิ์ของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 เป็นในทางเดียวกันกับในสูตรอาหาร BGA+N โดยในสูตรอาหาร BGA และ BG-11 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ภายหลังวันที่ 16-17 และสามารถผลิตได้สูงสุดในวันที่ 24 และ 21 ของการเพาะเลี้ยง ในสูตรอาหาร BGA และ BG-11 ตามลำดับ โดยในช่วงนี้ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่เจริญเติบโตในอาหาร BGA และ BG-11 มีการเจริญเติบโตคิดเป็นน้ำหนักแห้ง 0.23 และ 0.3 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (คิดเทียบเป็นความเข้มข้นของ gentamicin) คือ 0.38 และ 0.22 มิลลิกรัมต่อลิตรของอาหารเหลวที่ใช้เพาะเลี้ยง หรือ 1.65 และ 0.75 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของไซยาโนแบคทีเรีย ตามลำดับ (ภาพที่ 4.7 และ 4.8)

จากผลการทดลองข้างต้นเห็นได้ว่า สูตรอาหาร BGA+N หรือสูตรอาหาร BGA ที่มีการดัดแปลงโดยเพิ่มโซเดียมไนเตรท 1.5 กรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 มากที่สุด โดยสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ปริมาณสูงกว่าในสูตรอาหาร BGA และ BG-11 1.24 และ 2.14 เท่า ตามลำดับ เมื่อคิดต่อปริมาตรอาหารเหลวที่ใช้เพาะเลี้ยง และสูงกว่า 1.23 และ 2.71 เท่า เมื่อคิดต่อน้ำหนักแห้งของเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย

Tanaka (1992) กล่าวว่าในการผลิตสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิของจุลินทรีย์ อาจสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตในอาหารชนิดหนึ่ง แต่อาจไม่สัมพันธ์กับการเจริญเติบโตในอาหารอีกสูตรหนึ่ง แต่สำหรับอาหารทั้ง 3 สูตร พบว่า การผลิตสารออกฤทธิ์ไม่สัมพันธ์กับการเจริญเติบโตเช่นเดียวกันทั้งหมด ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าองค์ประกอบส่วนใหญ่ของอาหารทั้ง 3 สูตรมีความคล้ายคลึงกันนั่นเอง จึงทำให้แบบแผนการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นไปในแนวทางเดียวกัน แต่ต่างกันตรงปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตได้

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่าแบบแผนการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ไม่สัมพันธ์กับการเจริญเติบโต ซึ่งเป็นไปตาม Bu'Lock (1961) กล่าวไว้ว่า ในสภาวะการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบแบช (batch) การผลิตสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิจะไม่เกี่ยวข้องหรือจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และการผลิตสารดังกล่าวจะเริ่มต้นขึ้นในช่วงสุดท้ายของระยะการเจริญเติบโตที่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



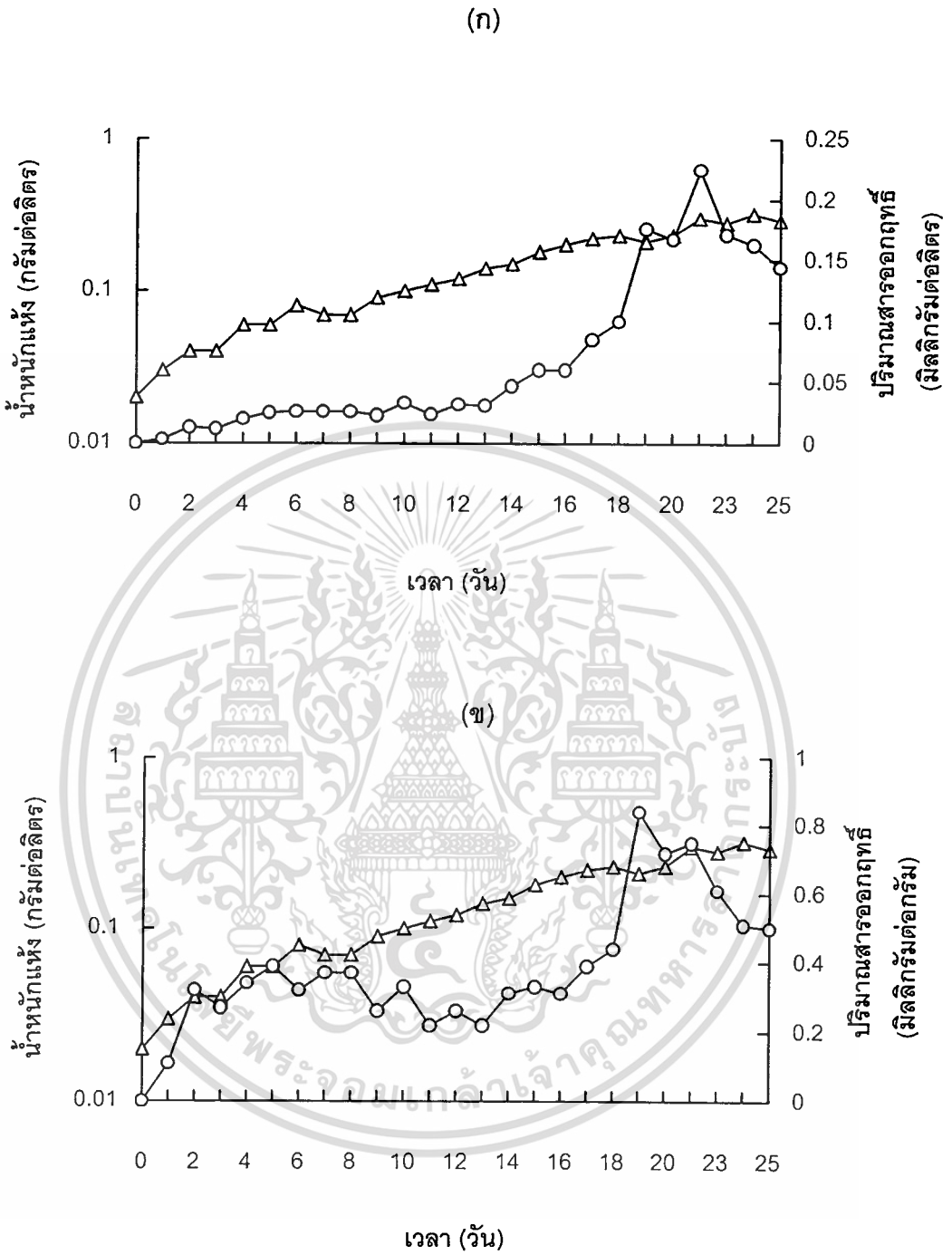
ภาพที่ 4.6 การเจริญเติบโตและการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ในอาหารสูตร BGA+N

ก. น้ำหนักแห้งและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเทียบเท่ากับ gentamicin ที่ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ผลิตได้ในอาหาร 1 ลิตร

ข. น้ำหนักแห้งและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเทียบเท่ากับ gentamicin ที่ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ผลิตได้ต่อน้ำหนักแห้งของเซลล์

△ น้ำหนักแห้ง ○ ปริมาณสารออกฤทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.8 การเจริญเติบโตและการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ในอาหารสูตร BG-11

ก. น้ำหนักแห้งและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเทียบเท่ากับ gentamicin ที่ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ผลิตได้ในอาหาร 1 ลิตร

ข. น้ำหนักแห้งและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเทียบเท่ากับ gentamicin ที่ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ผลิตได้ต่อน้ำหนักแห้งของเซลล์

△ น้ำหนักแห้ง ○ ปริมาณสารออกฤทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rehm และ Reed (1986) กล่าวว่า เมื่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ถูกจำกัดด้วยปริมาณสารอาหารที่จำเป็นได้แก่ คาร์บอน ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส การผลิตสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิจะเกิดขึ้น ดังเห็นได้จากผลการทดลองข้างต้น ถึงแม้ว่าสามารถตรวจพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ในช่วงที่มีการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็ว แต่พบว่าปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ผลิตขึ้นในช่วงนี้ค่อนข้างคงที่และมีปริมาณเพียงเล็กน้อยเท่านั้น แต่เมื่อการเจริญเติบโตเข้าสู่ช่วงการเจริญเติบโตคงที่ เนื่องจากปริมาณสารอาหารที่มีอยู่ในอาหารน้อยลง การผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจึงปรากฏเด่นชัดขึ้น เช่นเดียวกับการทดลองของ Schwartz *et al.* (1990) ในการทดลองเพาะเลี้ยง *Nostoc* sp. ATCC 53789 เพื่อผลิตสารออกฤทธิ์ cryptophytin พบว่า การผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Nostoc* sp. ATCC 53789 ไม่สัมพันธ์กับการเจริญเติบโต การผลิตสารออกฤทธิ์ส่วนใหญ่เกิดขึ้นในช่วงที่การเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียอยู่ในระยะการเจริญเติบโตคงที่ ซึ่งสัมพันธ์กับการที่ปริมาณฟอสเฟตไนเตรท และ ซัลเฟตในอาหารเริ่มลดน้อยลง

ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารหลักที่จำเป็นสำหรับไซยาโนแบคทีเรีย ถึงแม้ว่าไซยาโนแบคทีเรียสามารถตรึงไนโตรเจนได้ แต่ในสภาพการเพาะเลี้ยงที่ปราศจากไนโตรเจนหรือสภาพตรึงไนโตรเจน เช่นในกรณี สูตรอาหาร BGA ไซยาโนแบคทีเรียจำเป็นต้องใช้พลังงานภายในเซลล์หรือ ATP (adenosine triphosphate) ส่วนหนึ่งมาใช้ในการตรึงไนโตรเจน (Becker, 1994) ซึ่งพลังงานภายในเซลล์นี้อาจเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมของสารตั้งต้น (precursor) หรือเอนไซม์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพทำให้ความสามารถในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพลดน้อยกว่าเมื่อเทียบกับที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มีการเติมไนโตรเจนหรือ BGA+N

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียเช่นเดียวกับธาตุไนโตรเจน Rose (1979) กล่าวว่า อนินทรีย์ฟอสเฟตเกี่ยวข้องกับการควบคุมการผลิตสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิในจุลินทรีย์หลายชนิด และการควบคุมของฟอสเฟตในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (phosphate regulation) เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เอนไซม์ในกระบวนการผลิตสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (Rehm and Reed, 1986)

กระบวนการสร้างสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ เป็นกระบวนการที่เกิดอยู่ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ และโดยปกติสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิจะคงอยู่ภายในเซลล์เป็นส่วนใหญ่ (Vanek *et al.*, 1981) ทั้งนี้เนื่องจากสารเหล่านี้มีโครงสร้างที่ซับซ้อน ดังนั้นจึงเป็นการยากที่จะแพร่ (diffuse) ผ่านเซลล์เมมเบรนออกมา และจากการได้ทดลองนำเอาอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการกรองเอาเซลล์ของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ในแต่ละช่วงของการเพาะเลี้ยงในอาหาร BGA+N มาทดสอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตกับ *A. siamensis* TISTR 8012 จากการศึกษาพบว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจะถูกผลิตออกมาในอาหาร ในวันที่ 20 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งสอดคล้องกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rehm และ Reed (1986) กล่าวไว้ว่าการที่จุลินทรีย์ขับสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิออกมานอกเซลล์ สาเหตุหนึ่งอาจมาจากการที่สารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้น เป็นพิษต่อเซลล์ภายในของจุลินทรีย์ซึ่งเป็นบริเวณที่อ่อนแอ (sensitive target site) ต่อสารเหล่านี้ และเมื่อถูกผลิตมากขึ้นจึงต้องมีกลไกปลดปล่อยสารที่เป็นพิษนี้ออกมา

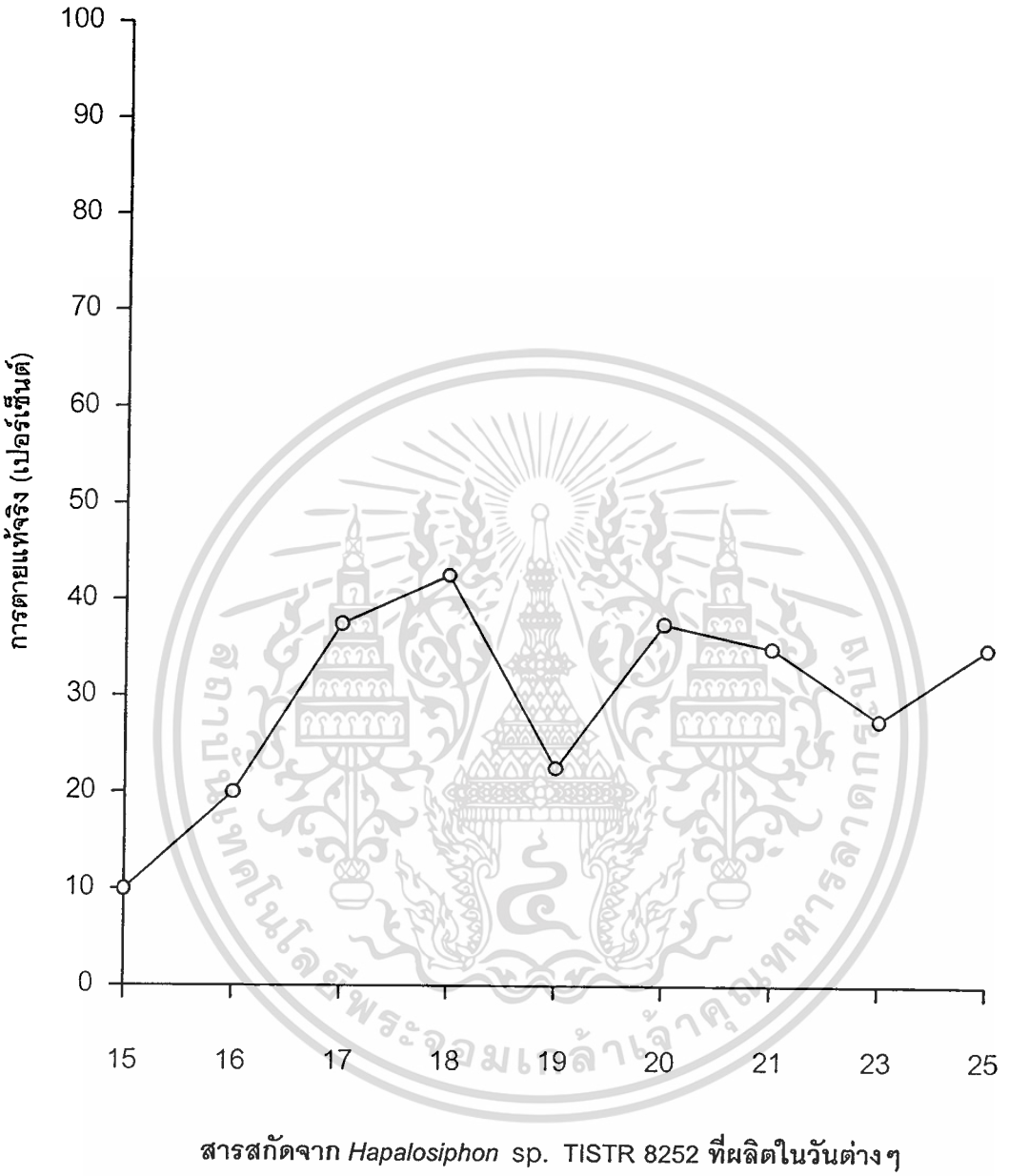
จากผลการทดลอง พบว่า วันที่ 20 และ 21 เป็นวันที่ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้สูงที่สุด และอาจเป็นไปได้ว่าสารออกฤทธิ์นี้เป็นพิษต่อเซลล์ของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ด้วยเหมือนกัน ดังนั้นจึงต้องปลดปล่อยสารออกฤทธิ์นี้ออกมาภายนอกเซลล์เพื่อลดปริมาณสารออกฤทธิ์ภายในเซลล์ลง แต่อาจเป็นไปได้ที่ว่า เซลล์ไม่ได้ขับสารเหล่านี้ออกมา แต่สารเหล่านี้ถูกปลดปล่อยออกมานอกเซลล์เนื่องจากเซลล์ไซยาโนแบคทีเรียตาย เพราะสังเกตได้จากเริ่มพบสารออกฤทธิ์ในอาหารในวันที่ 20 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งเป็นช่วงที่ไซยาโนแบคทีเรียนี้ เริ่มเข้าสู่การเจริญเติบโตคงที่ และอาจมีเซลล์ตายเกิดขึ้น และภายหลังจากวันที่ 20 ของการเพาะเลี้ยงสามารถตรวจพบปริมาณสารออกฤทธิ์ที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อมีปริมาณมากขึ้น แต่ถึงอย่างไรก็ตามพบว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสารสกัดมีปริมาณมากกว่าในอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่มาก นั่นคือสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพยังคงอยู่ภายในเซลล์ไซยาโนแบคทีเรียมากกว่าที่จะถูกขับหรือปลดปล่อยออกมาภายนอกเซลล์

4.3 การศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสม ในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไซยาโนแบคทีเรียที่มีผลต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย

หลังจากเก็บเกี่ยวเซลล์ของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ในระหว่างวันที่ 15–25 ของการเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร BGA+N ซึ่งเป็นสูตรที่ทดสอบแล้วพบว่า เป็นสูตรอาหารที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ มาสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยเมทานอล แล้วนำสารสกัดที่สกัดได้ในแต่ละวันมาทาบนใบผักคะน้า และนำไปให้หนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่งที่มีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 0.08 มิลลิกรัมต่อตัวกิน เพื่อศึกษาหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีผลในการควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้าย โดยศึกษาจากผลของสารสกัดต่อน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายภายหลังจากได้รับสารสกัด ดังแสดงในภาพที่ 4.9 และผลของสารสกัดต่อเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงของหนอนเจาะสมอฝ้าย ดังแสดงในภาพที่ 4.10

จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดที่เก็บเกี่ยวในช่วงเวลาดังกล่าว มีผลต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่ง ทั้งต่อน้ำหนักเฉลี่ยภายหลังจากได้รับสารสกัด และการตายของหนอน ซึ่งผลของสารสกัดมีความรุนแรงแตกต่างกันไปในแต่ละวันที่ได้เก็บเกี่ยวไซยาโนแบคทีเรีย สารสกัดที่เก็บเกี่ยวใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.10 ผลของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ผลิตขึ้นในช่วงเวลาต่างๆ ของการเพาะเลี้ยง ต่อเปอร์เซ็นต์การตายทั้งหมดที่แท้จริงของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ผลของน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่งในวันที่ 4 และ เปอร์เซ็นต์การตายแท้จริงหลังจากได้รับสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ผลิตขึ้นในช่วงเวลาต่างๆ ของการเพาะเลี้ยง [1]

เวลาเก็บเกี่ยวเซลล์ [2]	น้ำหนักในวันที่ 4 (มิลลิกรัมต่อตัว)	เปอร์เซ็นต์การตายแท้จริง
ตัวควบคุม	4.25 d [3]	-
วันที่ 15	2.50 c	10.0
วันที่ 16	2.03 bc	20.0
วันที่ 17	1.37 ab	37.5
วันที่ 18	0.87 a	42.5
วันที่ 19	1.88 bc	22.5
วันที่ 20	1.53 ab	37.5
วันที่ 21	0.66 a	35.0
วันที่ 23	1.49 ab	27.5
วันที่ 25	0.87 a	35.0

หมายเหตุ : [1] ความเข้มข้นสารสกัด 0.2 กรัมน้ำหนักสดไซยาโนแบคทีเรียต่อปริมาตรเมทานอล

[2] ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัว

[3] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ โดยค่าเฉลี่ยที่มีอักษรตามหลังเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (ตารางผนวก จ-1 และ จ-2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

TISTR 8252 ผลิตได้ต่อน้ำหนักแห้งของไซยาโนแบคทีเรีย ดังนั้นช่วงเวลาในวันที่ 21 ของการเพาะเลี้ยงจึงเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่มีผลต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย ซึ่งจะได้เก็บเกี่ยวเซลล์ไซยาโนแบคทีเรียนี้ในวันที่ 21 สำหรับการทดลองอื่นต่อไป

ผลการทดลองจากภาพที่ 4.4 - 4.10 และตารางที่ 4.5 แสดงให้เห็นว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตโดย *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *A. siamensis* TISTR 8012 และในขณะเดียวกันแสดงฤทธิ์ยับยั้งการกินและเป็นสารฆ่าหนอน (larvicide) ของหนอนเจาะสมอฝ้าย แต่ยังไม่สามารถบอกความสัมพันธ์กันได้อย่างชัดเจน กล่าวคือ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *A. siamensis* TISTR 8012 ได้ดีในวันที่ 20 และ 21 ของการเพาะเลี้ยง และในขณะที่ยับยั้งการกินอาหารของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่งได้ดีในวันที่ 18, 21 และ 25 ของการเพาะเลี้ยง และสามารถฆ่าหนอนโดยแสดงเป็นเปอร์เซนต์การตายที่แท้จริงได้ใกล้เคียงกัน ตั้งแต่วันที่ 17-25 ของการเพาะเลี้ยง ผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า สารออกฤทธิ์ที่ผลิตขึ้นมีหลายตัว แต่การแสดงออกของการยับยั้งเป็นผลรวมของทั้งหมดที่มี ซึ่งชนิดและปริมาณของสารออกฤทธิ์สามารถเปลี่ยนไปตามระยะเวลาที่เพาะเลี้ยง และการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนี้มีผลทำให้การแสดงออกของฤทธิ์ต่างๆ ไม่เป็นไปในทางเดียวกัน

4.4 การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย

ไซยาโนแบคทีเรีย *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่เจริญเติบโตอยู่ในอาหารสูตร BGA ที่มีการดัดแปลงโดยเติมโซเดียมไนเตรต 1.5 กรัมต่อลิตร ในถัง carboy ขนาดปริมาตร 10 ลิตร ระหว่างการเพาะเลี้ยงและมีการพ่นอากาศผสมกับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร อัตราการไหล 1,000 มิลลิลิตรต่อนาที ภายใต้แสงไฟ (cool-white fluorescent lamp) ที่ความเข้มแสง 60 ไมโครไอสไตน์ต่อตารางเมตรต่อวินาที บ่มที่อุณหภูมิ 28±1 องศาเซลเซียส เก็บเกี่ยวเซลล์ในวันที่ 21 ของการเพาะเลี้ยงได้น้ำหนักแห้งของเซลล์ประมาณ 3.68 กรัมโดยเฉลี่ย และเมื่อนำไปสกัดด้วยเมทานอล ได้ปริมาณสารสกัดหยาบเท่ากับ 465.28 มิลลิกรัมโดยเฉลี่ย โดยน้ำหนักแห้ง 1 กรัม ได้ปริมาณสารสกัดหยาบประมาณ 126 มิลลิกรัม

4.4.1 การศึกษาผลของสารสกัดต่อการยับยั้งการกินของหนอนเจาะสมอฝ้าย

การศึกษาการยับยั้งการกินของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยสามตอนปลาย ที่มีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 7.02 มิลลิกรัมต่อตัว ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 150 300 700 1,000 1,400

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ 1,500 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร (ภาพที่ 4.11-4.13) และประสิทธิภาพของสารสกัดต่อการยับยั้งการกินของหนอนเจาะสมอฝ้ายแสดงผลไว้ดังภาพที่ 4.14 โดยที่ความเข้มข้นดังกล่าวสามารถยับยั้งการกินของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยสามได้ 46.63 57.45 76.52 79.68 90.02 และ 95.64 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และไม่ปรากฏว่ามีการตายของหนอนเกิดขึ้นในทุกๆ ความเข้มข้นที่ใช้ทดลอง

Schoonhven (1988) กล่าวว่า คุณสมบัติในการยับยั้งการกินอาหารของแมลงของสารประกอบต่างๆ ที่พบในพืช คือการมีผลต่อ chemoreceptor ที่อยู่บริเวณในปากของแมลง ทำให้แมลงไม่กินอาหารที่มีสารประกอบนั้น ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากการไม่ชอบกลิ่นหรือรสชาติ และแมลงแต่ละชนิดมีระบบ chemoreceptor แตกต่างกัน ซึ่งผลที่ตามคือ สารประกอบที่มีฤทธิ์ยับยั้งเหล่านั้นมีผลต่อพฤติกรรมการกินของแมลงแตกต่างกันออกไป แม้แต่แมลงชนิดที่ใกล้ชิดกันก็ตาม

ประสิทธิภาพในการยับยั้งการกินเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัด สารสกัดที่ความเข้มข้น 1,400 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร สามารถยับยั้งการกินของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยสามได้ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ Isman (1993) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารอะซาดิแรคตินบริสุทธิ์ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ที่แยกมาได้จากสะเดา ต่อการยับยั้งการกินของหนอนวัยสี่หลายชนิดที่อยู่ในวงศ์ Noctuidae ได้แก่ *Peridroma saucia*, *Manestra configurata*, *Actebia fennica* *Spodoptera litura*, *Melanchra picta* และ *Trichoplusia ni* ค่าความเข้มข้นเฉลี่ยของอะซาดิแรคตินที่มีผลต่อการยับยั้งการกินของหนอนเหล่านี้ได้ครึ่งหนึ่ง (effective concentration ; EC_{50}) คือ 13.0 17.6 40.7 1.25 21.2 และ 16.2 นาโนกรัมต่อตารางเซนติเมตร ตามลำดับ

จากผลการทดลองเห็นได้ว่าปริมาณของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ในการยับยั้งการกินของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยสามค่อนข้างสูง ทั้งนี้เพราะปริมาณที่ใช้เป็นปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากไซยาโนแบคทีเรีย Higgins และ Pedigo (1979) ได้แนะนำว่าพื้นฐานในการศึกษาความเข้มข้นสูงสุดที่ยอมรับได้ของสารยับยั้งการกินในการนำไปใช้ในการควบคุมแมลงต่อไป ต้องคำนึงถึงผลกระทบหรือความเป็นพิษต่อพืชด้วย

4.4.2 การศึกษาผลของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ต่อการเจริญเติบของหนอนเจาะสมอฝ้ายในระยะสั้น

เมื่อนำสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 มาเจือจางด้วยเมทานอลให้ได้ความเข้มข้นเป็น 0.2 0.6 0.8 1.0 2.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล แล้วนำมาทาบนใบผักคะน้า เพื่อนำไปให้หนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่ง ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 0.42 มิลลิกรัมต่อตัว

จากผลการทดลองในภาพที่ 4.15-4.16 และตารางที่ 4.6 พบว่า สารสกัดยิ่งมีความเข้มข้นสูงยิ่งมีผลต่อน้ำหนักของหนอนเจาะสมอฝ้ายมากขึ้น โดยพบว่าน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ก)

(ข)

ภาพที่ 4.11 ผลการยับยั้งการกินของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 โดยวิธี choice feeding test ในหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยสาม

(ก) สารสกัดที่ความเข้มข้น 150 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร

(ข) สารสกัดที่ความเข้มข้น 300 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร

สารสกัด 100 มิลลิกรัม มีประสิทธิภาพยับยั้ง *A. siamensis* TISTR 8012 เทียบเท่า gentamicin 1.55 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ก)

(ข)

ภาพที่ 4.12 ผลการยับยั้งการกินของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 โดยวิธี choice feeding test ในหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยสาม

(ก) สารสกัดที่ความเข้มข้น 700 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร

(ข) สารสกัดที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร

สารสกัด 100 มิลลิกรัม มีประสิทธิภาพยับยั้ง *A. siamensis* TISTR 8012 เทียบเท่า gentamicin 1.55 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ก)

(ข)

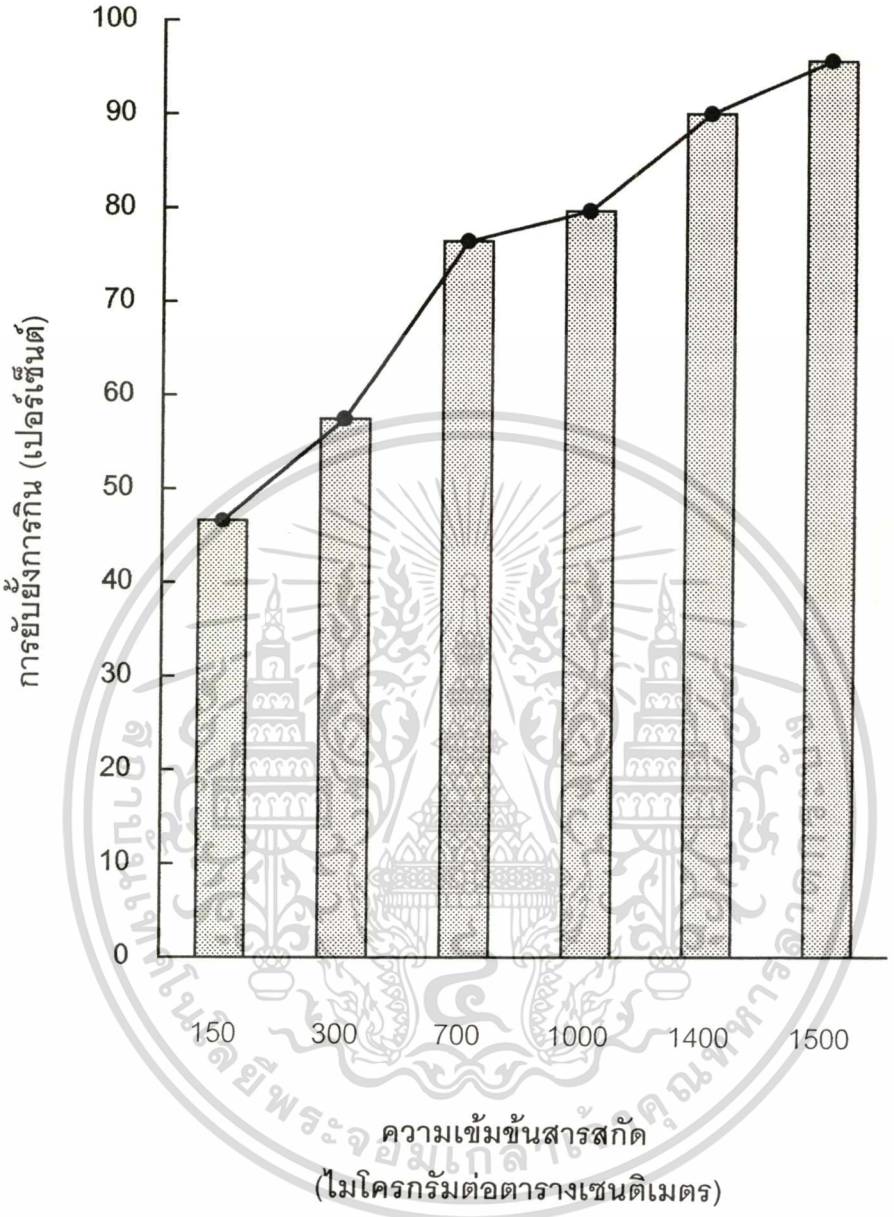
ภาพที่ 4.13 ผลการยับยั้งการกินของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 โดยวิธี choice feeding test ในหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยสาม

(ก) สารสกัดที่ความเข้มข้น 1,400 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร

(ข) สารสกัดที่ความเข้มข้น 1,500 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร

สารสกัด 100 มิลลิกรัม มีประสิทธิภาพยับยั้ง *A. siamensis* TISTR 8012 เทียบเท่า gentamicin 1.55 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.14 ประสิทธิภาพของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการกินของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยสาม

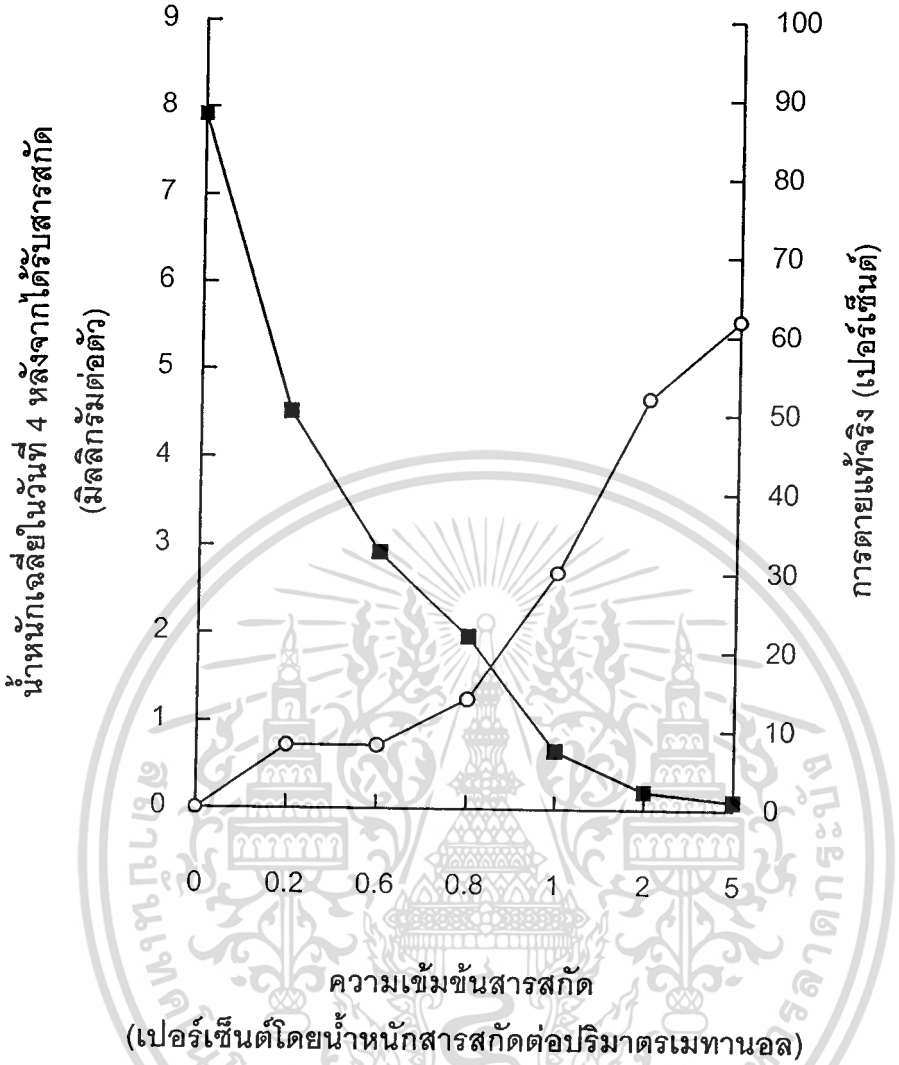
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมอฝ้ายในวันที่ 4 หลังจากได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.2 0.6 0.8 1.0 2.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล มีน้ำหนักน้อยกว่าหนอนควบคุม ซึ่งใช้แต่เมทานอล เท่ากับ 1.75 2.71 4.02 11.81 39.55 และ 79.11 เท่า ตามลำดับ อีกทั้งน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่เพิ่มขึ้นในแต่ละวันที่ได้รับสารสกัดทุก ๆ ความเข้มข้น มีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในแต่ละวันน้อยกว่าตัวควบคุม (ภาพที่ 4.16) และสารสกัดที่ความเข้มข้นสูงมีผลต่อน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นในแต่ละวันมากกว่าที่ความเข้มข้นต่ำ โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล น้ำหนักเฉลี่ยของหนอนที่ชั่งได้ในแต่ละวันค่อนข้างจะคงที่ นั่นคือ น้ำหนักหนอนเพิ่มขึ้นน้อยมากเพราะสารสกัดที่ความเข้มข้นดังกล่าวนี้สามารถยับยั้งการกินของหนอนเจาะสมอฝ้ายได้อย่างสูงถึงสูงมาก โดยสังเกตได้จากพื้นที่ความเสียหายของใบผักที่ทาด้วยสารสกัดที่ความเข้มข้นสูงจะถูกหนอนกินเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ดังแสดงในภาพที่ 4.17 ใบผักที่ทาด้วยสารสกัดที่ความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล พื้นที่ความเสียหายของใบผักมีเพียงเล็กน้อย โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอลแทบไม่เห็นร่องรอยการกินของหนอนเลย

เมื่อศึกษาผลของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการตายของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่ง พบว่า การตายของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่งสูงขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดขึ้น เช่นเดียวกับผลของสารสกัดต่อน้ำหนักของหนอน โดยเปอร์เซ็นต์การตายแท้จริงทั้งหมดของหนอนเจาะสมอฝ้ายในตัวควบคุม สารสกัดที่ความเข้มข้น 0.2 0.6 0.8 1.0 2.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล คือ 0 8 8 14 30 52 และ 62.5 (ภาพที่ 4.15) และเปอร์เซ็นต์การตายในแต่ละวันดังแสดงในภาพที่ 4.18

เมื่อทำการทดสอบโดยการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ของน้ำหนักเฉลี่ยหนอนเจาะสมอฝ้ายในวันที่ 4 หลังจากได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนในวันที่ 4 หลังจากได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของน้ำหนักหนอนในวันที่ 4 หลังจากได้รับสารสกัด โดยใช้ Duncan's Multiple Range Test พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายในวันที่ 4 หลังจากได้รับสารสกัดในทุกๆ ความเข้มข้น แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 2.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล มีน้ำหนักเฉลี่ยต่ำที่สุดคือ 0.27 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อตัว ตามลำดับ และน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้นทั้ง 2 นี้ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับน้ำหนักเฉลี่ยของหนอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

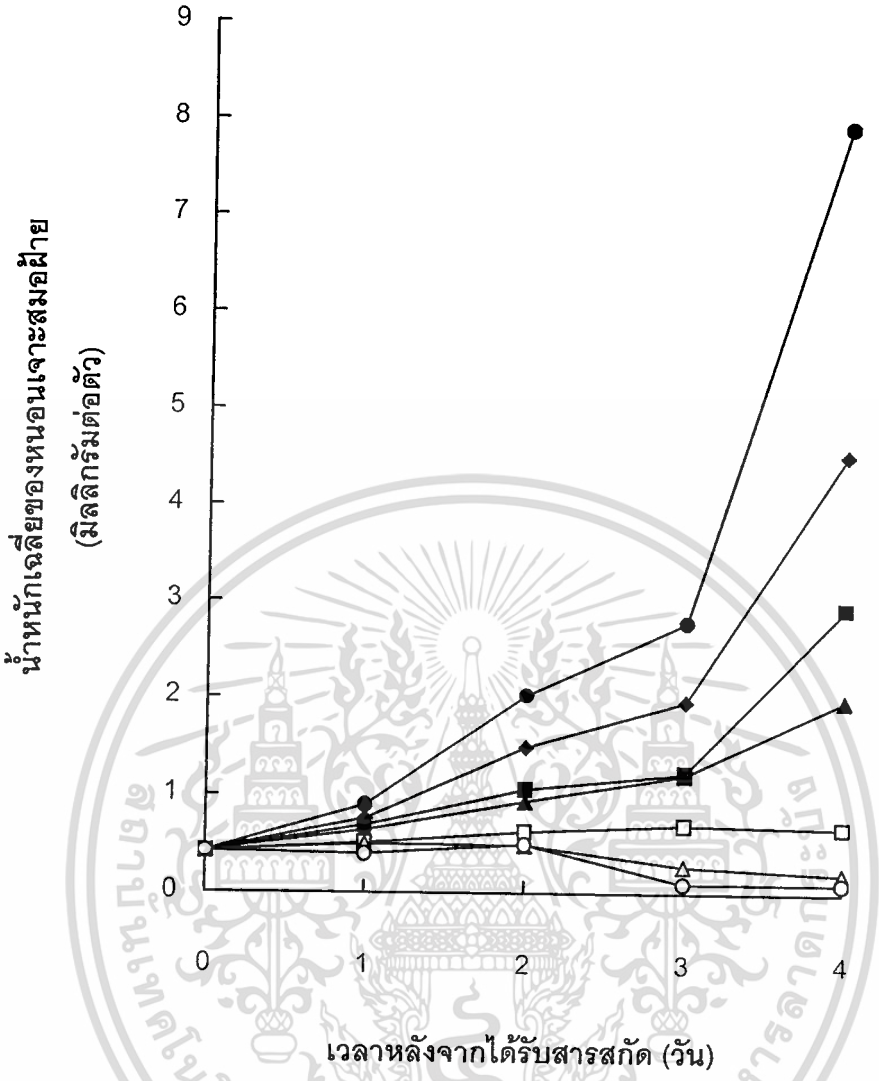


ภาพที่ 4.15 ผลของน้ำหนักเฉลี่ยหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่งในวันที่ 4 และเปอร์เซ็นต์การตายแท้จริงทั้งหมด ภายหลังจากได้รับสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

น้ำหนักเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อตัว)

การตายแท้จริง (เปอร์เซ็นต์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.16 ผลของน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่งที่เพิ่มขึ้นในแต่ละวัน หลังจากได้รับสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

- ตัวควบคุม (เมทานอล)
- ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล
- ความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล
- ความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล
- ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล
- ความเข้มข้น 2.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล
- ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล

หมายเหตุ : เปลี่ยนใบผักคะน้าที่ทาสารสกัดให้หนอนเจาะสมอฝ้ายใหม่ในวันที่ 3 หลังจากชั่งน้ำหนัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ผลของน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่งในวันที่ 4 และเปอร์เซ็นต์การตายแท้จริง หลังจากได้รับสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ [1]

ความเข้มข้นสารสกัด [2]	น้ำหนักเฉลี่ยในวันที่ 4 [3] (มิลลิกรัมต่อตัว)	เปอร์เซ็นต์การตายแท้จริง
ตัวควบคุม	7.91 ± 1.34 a [4]	-
0.2	4.52 ± 1.30 b	8
0.6	2.92 ± 0.89 bc	8
0.8	1.96 ± 0.37 cd	14
1.0	0.67 ± 0.13 cd	30
2.0	0.27 ± 0.73 d	52
5.0	0.10 ± 0.10 d	62

หมายเหตุ : [1] ความเข้มข้นสารสกัด หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัด ต่อปริมาตรเมทานอล

[2] ทำการทดลอง 5 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัว

[3] ค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

[4] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ โดยค่าเฉลี่ยที่มีอักษรตามหลังเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (ตารางผนวก จ-3 และ จ-4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 1.0 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร คือ 0.67 และ 1.97 มิลลิกรัมต่อตัว ตามลำดับ

ในการยับยั้งการกินสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการกินจะไปมีผลต่อส่วนที่ไวต่อฤทธิ์ยับยั้ง (target site) ซึ่งจะตั้งอยู่บริเวณภายในติดกับ chemosensilla ที่อยู่บริเวณส่วนปากของแมลง โดยการยับยั้งการกินลักษณะนี้เป็นลักษณะชั่วคราว และการที่แมลงไม่กินอาหารอาจเกี่ยวกับกลิ่นหรือรสชาติ แต่ไม่มีผลทำให้แมลงตาย (ชัยพัฒน์ จิระธรรมจารี, 2539)

จากผลการทดลองเห็นได้ชัดว่าที่ความเข้มข้นสูงๆ คือ 1.0 2.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สามารถยับยั้งการกินได้อย่างชัดเจน เพราะหนอนมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นน้อยมาก และมีพื้นที่ความเสียหายของใบที่ถูกหนอนกินน้อยมากเช่นกัน โดยการยับยั้งการกินอาจเนื่องจากกลิ่นหรือรสชาติของสารสกัดไปมีผลต่อการกินของหนอนเจาะสมอฝ้าย

Monique และ blaney (1983) ได้ศึกษาผลของอะซาดิแรคตินต่อหนอนชนิดต่างๆ พบว่าในหนอนพวกที่เป็น oligophagous คือ *Spodoptera exempta* และ *Trichopusia ni* จะมีการตายสูงขึ้นถ้าเพิ่มความเข้มข้นของอะซาดิแรคติน และจะสูญเสียน้ำหนักตัวมากขึ้นเนื่องจากว่าหนอนกินอาหารลดลง แต่ในทางตรงกันข้าม ในพวกที่เป็น polyphagous ได้แก่ *S. littorlia*, *Heliothis armigera* และ *H. zea* พบว่า ที่ความเข้มข้นของอะซาดิแรคตินต่ำกว่าจะมีการตายเกิดขึ้นสูงกว่าและสูญเสียน้ำหนักตัวน้อยกว่าที่ความเข้มข้นสูง ที่เป็นเช่นนี้เพราะว่า ที่ความเข้มข้นต่ำหนอนสามารถรับเอาสารอะซาดิแรคตินเข้าไปได้มากกว่าเพราะสามารถกินอาหารที่มีสารออกฤทธิ์นี้เข้าไปได้มากกว่า จึงทำให้หนอนมีการตายมากกว่าที่ความเข้มข้นสูงเพราะที่ความเข้มข้นสูงจะยับยั้งการกินของหนอน ทำให้กินอาหารได้น้อยลง และทำให้ปริมาณอะซาดิแรคตินที่ได้รับเข้าไปจึงน้อยกว่าที่ความเข้มข้นต่ำ จึงทำให้มีเปอร์เซ็นต์การตายต่ำกว่านั่นเอง

แต่จากการทดลองในครั้งนี้ พบว่า ที่ความเข้มข้นสูงหนอนเจาะสมอฝ้ายมีการตายเพิ่มขึ้น ในขณะที่หนอนแทบไม่ได้กินอาหารที่มีสารออกฤทธิ์เข้าไปเลย สังเกตได้จากร่องรอยของใบถูกกัดกินมีน้อยมาก ซึ่งการตายของหนอนนอกจากจะเกิดจากการอดอาหารแล้วอาจมาจากฤทธิ์ทางด้านสัมผัสด้วย เช่นในกรณีของสะเดา ส่วนใหญ่สารสกัดสะเดาไม่ได้ออกฤทธิ์โดยการสัมผัส แต่จะออกฤทธิ์เมื่อแมลงกินพืชอาหารที่มีสารออกฤทธิ์นี้เข้าไป และจะค่อยแสดงอาการตามกลไกการออกฤทธิ์ ทำให้แมลงตายในที่สุด และฤทธิ์ทางด้านสัมผัสอาจเกิดขึ้นได้ ต่อเมื่อใช้ความเข้มข้นสูงๆ เท่านั้น (ชัยพัฒน์ จิระธรรมจารี, 2539)

จะเห็นได้ว่าสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 มีคุณสมบัติในการยับยั้งการกินและเป็นสารฆ่าหนอนเจาะสมอฝ้ายด้วยเช่นกัน ซึ่ง Frazier และ Chyb (1995) ได้กล่าวไว้ว่า ตัวยับยั้งการกิน (feeding inhibitor) ที่มีฤทธิ์ทั้งยับยั้งการกินและเป็นพิษต่อแมลงศัตรูพืช โดยมีการเชื่อมโยงกันระหว่างฤทธิ์ทั้งสองแบบนี้อยู่ใน 1 โมเลกุล มีข้อดีคือ แมลงศัตรูพืชมีแนวโน้มที่จะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.17 พื้นที่ความเสียหายของใบผักคะน้าเนื่องจากหนอนเจาะสมอฝ้ายทำลายในวันที่ 3 หลังจากทาด้วยสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

T1 ตัวควบคุม (เมทานอล)

T2 ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล

T3 ความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล

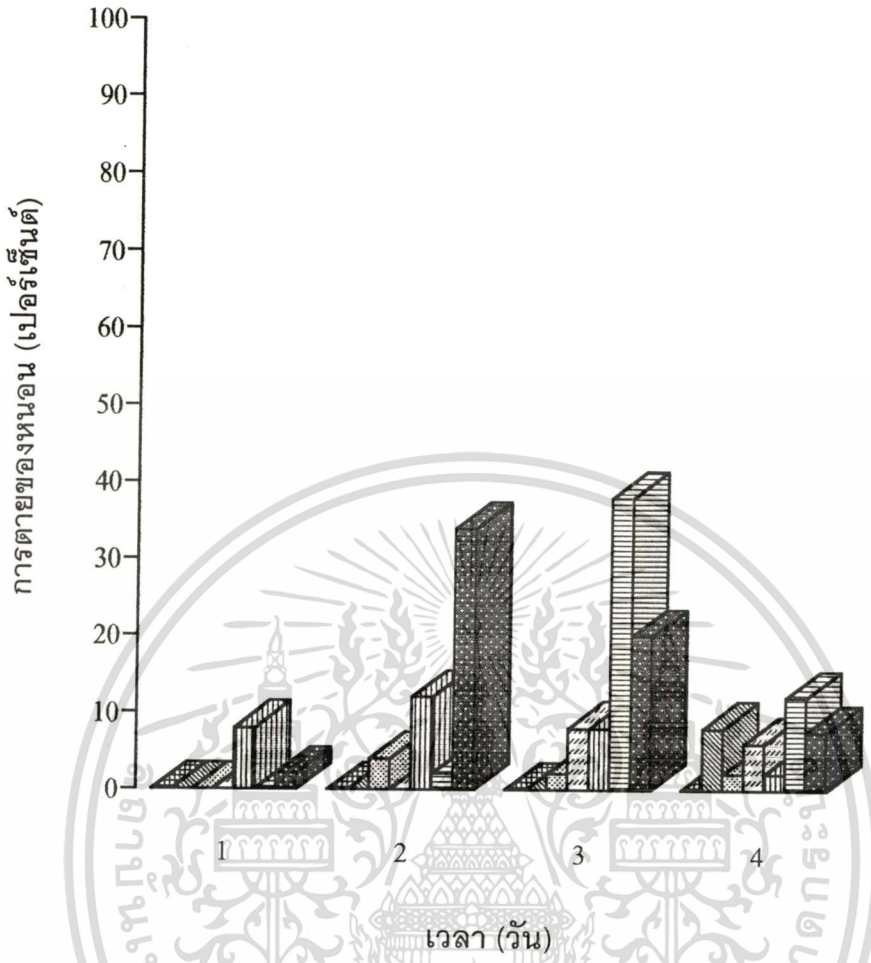
T4 ความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล

T5 ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล

T6 ความเข้มข้น 2.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล

T7 ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.18 เปอร์เซ็นต์การตายในแต่ละวันของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่งหลังจากได้รับสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

- ตัวควบคุม (เมทานอล)
- ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล
- ความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล
- ความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล
- ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล
- ความเข้มข้น 2.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล
- ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล

หมายเหตุ : เปลี่ยนใบผักคะน้าที่ทาสารสกัดให้หนอนเจาะสมอฝ้ายใหม่ในวันที่ 3 หลังจากชั่งน้ำหนัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พัฒนาความต้านทานได้ยาก เพราะว่า สารออกฤทธิ์มีกลไกการออกฤทธิ์ต่อเป้าหมายในแมลงมากกว่าหนึ่งเป้าหมาย

4.4.3 การศึกษาผลของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ต่อการเจริญเติบโตของหนอนในระยะยาว

จากการทดลองโดยปิเปตต์สารสกัดแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 10 ไมโครลิตร เคลือบไปบนก้อนอาหารเทียมแล้วนำไปให้หนอนเจาะสมอฝ้ายวัยสอง ที่มีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 1.67 มิลลิกรัมต่อตัว และเมื่อหนอนเจาะสมอฝ้ายกินก้อนอาหารเทียมที่เคลือบสารสกัดหมด จึงย้ายหนอนไปเลี้ยงในอาหารเทียมปกติที่ไม่มีสารสกัด และเมื่อชั่งน้ำหนักของหนอนเจาะสมอฝ้ายเมื่อเวลาผ่านไป 7 วันหลังจากเริ่มทดลอง พบว่า น้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียมีน้ำหนักเฉลี่ยในวันที่ 7 หลังจากเริ่มทดลองน้อยกว่าตัวควบคุมในทุกๆ ความเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้นของสารสกัดสูงจะมีน้ำหนักเฉลี่ยในวันที่ 7 หลังจากเริ่มการทดลองน้อยกว่าหนอนที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้นต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่ 4.19 น้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล มีน้ำหนักเฉลี่ยต่ำที่สุดคือ 34.80 มิลลิกรัมต่อตัว ตามลำดับ ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ยน้อยกว่าหนอนควบคุมอยู่ 5.72 เท่า ตามลำดับ รองลงมา ได้แก่ สารสกัดที่ความเข้มข้น 0.6 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล หนอนเจาะสมอฝ้ายมีน้ำหนักเฉลี่ยคือ 80.49 และ 141.10 มิลลิกรัมต่อตัว ตามลำดับ และมีน้ำหนักเฉลี่ยน้อยกว่าหนอนควบคุมอยู่ 2.47 และ 1.41 เท่า ตามลำดับ ในขณะที่หนอนควบคุมมีน้ำหนักเฉลี่ย 198.90 มิลลิกรัมต่อตัว

เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดลอง พบว่า น้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ ในวันที่ 7 หลังจากเริ่มทดลอง จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อหาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของน้ำหนักหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ ในวันที่ 7 หลังจากเริ่มทดลองโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test พบว่าในทุกๆ ความเข้มข้นของสารสกัดจะทำให้น้ำหนักเฉลี่ยในวันที่ 7 หลังจากเริ่มทดลองของหนอนเจาะสมอฝ้ายแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล มีน้ำหนักเฉลี่ยต่ำที่สุด รองลงมา ได้แก่ หนอนที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.6 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

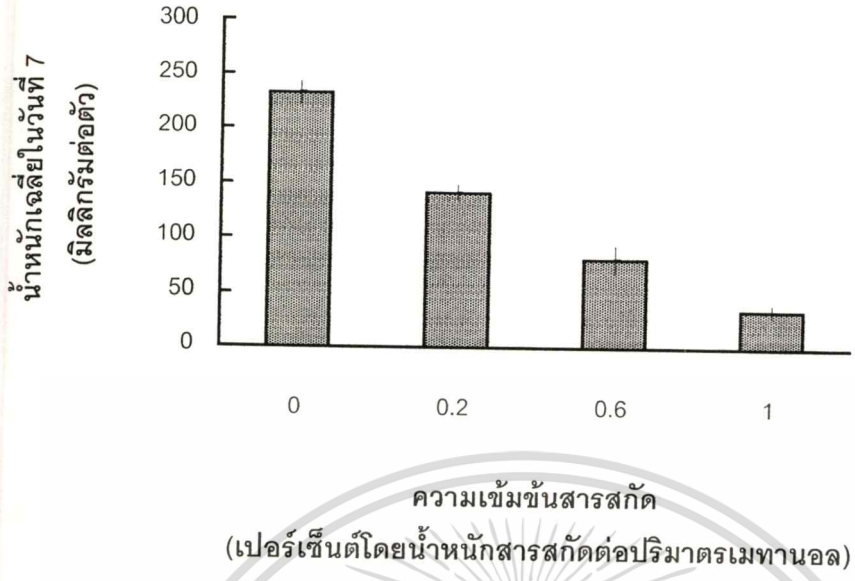
เมื่อศึกษาถึงน้ำหนักสูงสุดเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้าย (ตารางที่ 4.7) พบว่าน้ำหนักสูงสุดเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่เป็นหนอนควบคุม และสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.2 0.6 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล คือ 471.14 457.27 435.63 และ 434.73 มิลลิกรัมต่อตัว ตามลำดับ จากการทดลองพบว่า ทุกๆ ความเข้มข้นของสารสกัดมีผลทำให้น้ำหนักสูงสุดของหนอนเจาะสมอฝ้ายลดลง เมื่อเทียบกับหนอนควบคุม โดยที่ความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้นจะมีผลทำให้น้ำหนักสูงสุดเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายลดลงมากขึ้นด้วย และถึงแม้น้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ จะไม่แตกต่างจากน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดของหนอนควบคุมเท่าใดนัก แต่พบว่าระยะเวลาในการพัฒนาให้ถึงน้ำหนักสูงสุดของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารสกัดมีระยะเวลายาวนานขึ้นกว่าหนอนควบคุม (ตารางที่ 4.7)

เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดลอง พบว่า น้ำหนักสูงสุดเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และจากการหาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสูงสุดของหนอนเจาะสมอฝ้ายโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test พบว่า น้ำหนักสูงสุดเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร มีน้ำหนักสูงสุดเฉลี่ยน้อยกว่าชุดควบคุม แต่น้อยกว่าอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ในขณะที่น้ำหนักสูงสุดเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.6 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตร มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดน้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

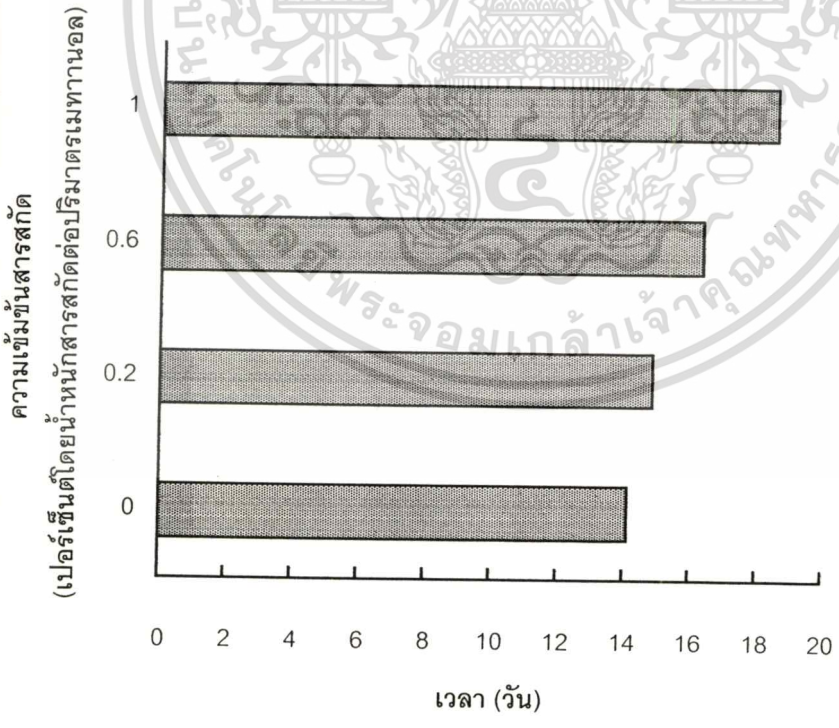
เมื่อศึกษาผลของสารต่อช่วงเวลาในการเป็นหนอน ดังแสดงใน ภาพที่ 4.20 และ ตารางที่ 4.7 พบว่าหนอนที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.6 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล มีช่วงระยะเวลาของหนอนยาวนานขึ้น และมากกว่าหนอนควบคุม 2.22 และ 4.42 วัน ตามลำดับ

เมื่อวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของการทดลอง พบว่า ช่วงระยะของการเป็นหนอนของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และจากการหาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของระยะเวลาของหนอนในหนอนเจาะสมอฝ้ายโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test พบว่า ระยะเวลาของหนอนที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.6 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยหนอนที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล มีช่วงเวลาของการเป็นหนอนยาวนานที่สุด คือ 18.53 วัน หลังจากเริ่มทดลอง รองลงมาได้แก่ สารสกัดที่ความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล มีช่วงเวลาของการเป็นหนอน 16.33 วัน ส่วนที่ความ

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.19 ผลของน้ำหนักเฉลี่ยในวันที่ 7 ของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยสองหลังจากได้รับสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ความเข้มข้น ระดับต่างๆ



ภาพที่ 4.20 ช่วงเวลาของการเป็นหนอนในหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยสอง หลังจากได้รับสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ผลของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ต่อค่าพารามิเตอร์ต่างๆ สำหรับวัดการเจริญเติบโตของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยสอง [1]

พารามิเตอร์	ตัวควบคุม	ความเข้มข้น (%โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล)		
		0.2	0.6	1.0
น้ำหนักวันที่ 7 [2] (มิลลิกรัม/ตัว)	232.50±10.70a[3]	141.10±7.89b	80.49±12.86c	34.80±6.10d
น้ำหนักสูงสุด [2] (มิลลิกรัม/ตัว)	471.14±7.85b (10.32)[4]	457.27±11.2ab (11.15)[4]	435.63±13.02a (12.52)[4]	434.73±10.39a (14.17)[4]
ระยะเวลาหนอน(วัน) [2]	14.11±0.10a	14.86±0.21a	16.33±0.32b	18.53±0.68c
การตายของหนอน (เปอร์เซ็นต์)	2.0	2.0	10.0	18.0
การตายแท้จริงของหนอน (เปอร์เซ็นต์)	-	0	8.16	16.33
น้ำหนักดักแด้ [2] (มิลลิกรัม/ตัว)	297.49±4.01b	281.04±7.67ab	274.12±9.76a	278.35±5.41ab
ระยะเวลาดักแด้ (วัน) [2]	9.97±0.08a	10.12±0.07a	10.02±0.11a	10.55±0.17b
การตายของดักแด้ (เปอร์เซ็นต์)	2.04	4.08	8.89	14.63
การตายแท้จริงของดักแด้ (เปอร์เซ็นต์)	-	2.08	6.99	12.85
ตัวเต็มวัย (เปอร์เซ็นต์)	83.33[80.00][5]	85.11[80.00][5]	80.49[66.00][5]	71.43[50.00][5]
ตัวเต็มวัยพิการ (เปอร์เซ็นต์)	7.5	15.0	6.07	4.0

หมายเหตุ : [1] ทำการทดลอง 5 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัว

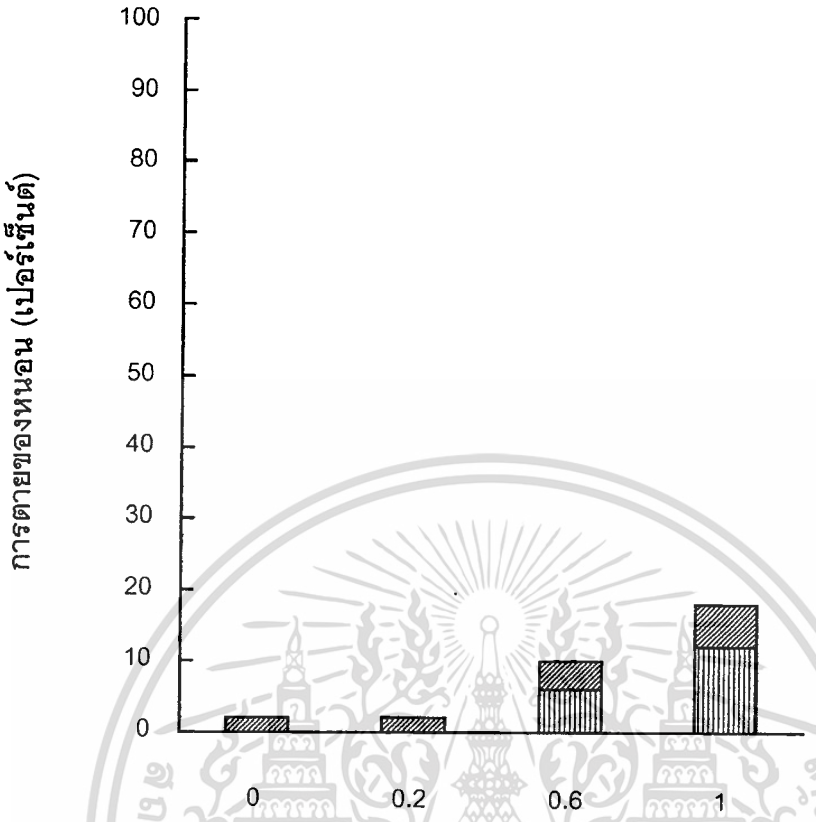
[2] ค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

[3] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ โดยค่าเฉลี่ยที่มีอักษรตามหลังเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (ตารางผนวก จ-5 ถึง จ-14)

[4] ค่าที่อยู่ใน ( ) แสดงระยะเวลาในการพัฒนาให้ได้น้ำหนักสูงสุดของหนอนเจาะสมอฝ้าย

[5] ค่าที่อยู่ใน [ ] แสดงเปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยโดยคิดจากจำนวนหนอนเจาะสมอฝ้ายทั้งหมดเมื่อเริ่มทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

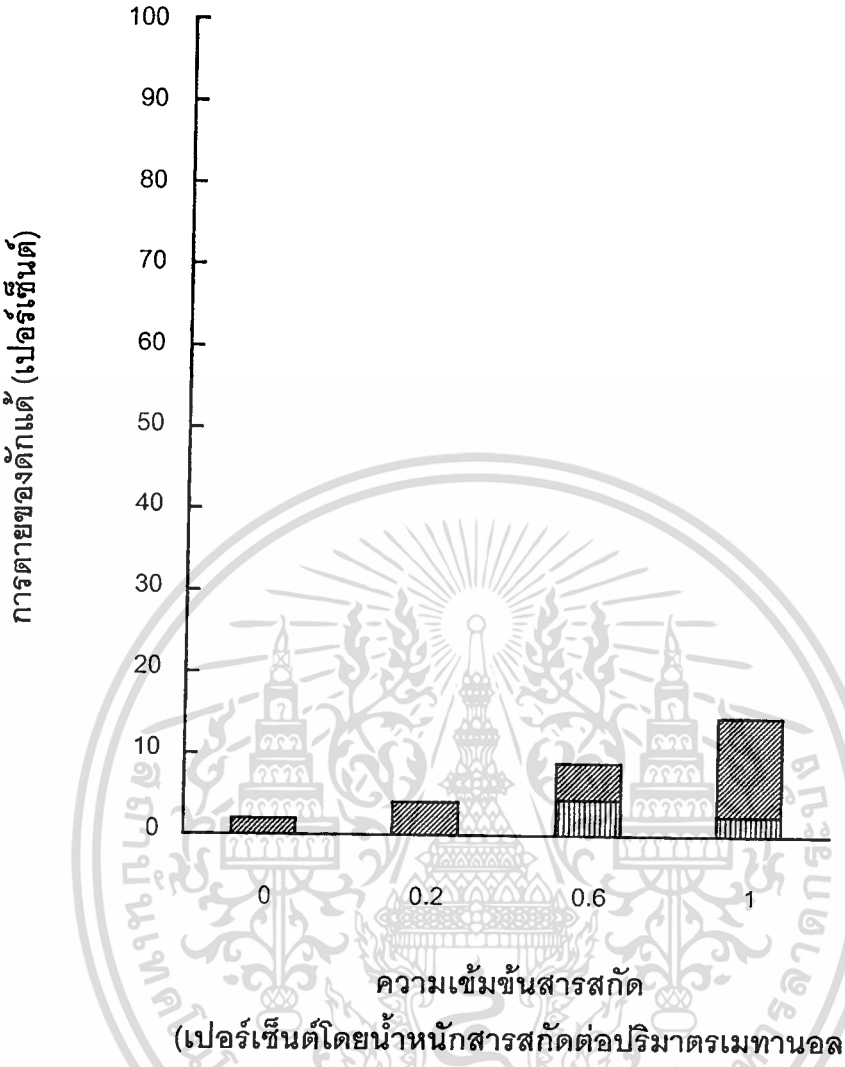


ภาพที่ 4.21 ผลของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ ต่อการตายของหนอนเจาะสมอฝ้าย

▥ การตายในระหว่างได้รับสารสกัด (เปอร์เซ็นต์)

▨ การตายในช่วงหลังจากได้รับสารสกัด (เปอร์เซ็นต์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.22 ผลของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการตายของดักแด้ในหนอนเจาะสมอฝ้าย

การตายของดักแด้ในลักษณะ larval-pupal monstorsity

การตายของดักแด้เนื่องจากมีรอยปริที่เปลือกของดักแด้ ทำให้ดักแด้แห้งเหี่ยวและตายในที่สุด (incomplete pupal)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หนึ่ง คือ หนอนสามาถเข้าดักแด้ได้ แต่การเข้าดักแด้ไม่สมบูรณ์ (incomplete pupal) คือมีรอยปริที่เปลือกหุ้มดักแด้ ซึ่งจะทำให้ดักแด้มีลักษณะเหี่ยวแห้งและตายในเวลาต่อมา ดังแสดงในภาพที่ 4.23 ข้อ ข การตายของดักแด้ในลักษณะนี้พบเป็นส่วนใหญ่ และพบทั้งในชุดควบคุม และสารสกัดทุกๆ ความเข้มข้น

สำหรับผลของสารสกัดต่อน้ำหนักดักแด้ พบว่าสารสกัดทุกความเข้มข้นมีผลทำให้น้ำหนักของดักแด้ลดลงเมื่อเทียบกับหนอนชุดควบคุม โดยน้ำหนักเฉลี่ยของดักแด้ในหนอนควบคุม หนอนที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.2 0.6 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารสกัด ต่อปริมาตรเมทานอล เป็น 297.49 281.04 274.12 และ 278.35 มิลลิกรัมต่อตัว ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.7

เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดลอง พบว่า น้ำหนักเฉลี่ยของดักแด้ที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และจากการหาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของน้ำหนักดักแด้โดยใช้ Duncan's Multiple Range Test พบว่า น้ำหนักเฉลี่ยของดักแด้ที่ความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารสกัด ต่อปริมาตรเมทานอล มีน้ำหนักเฉลี่ยน้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ที่ความเข้มข้น 0.2 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารสกัด ต่อปริมาตรเมทานอล มีน้ำหนักเฉลี่ยของดักแด้ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม

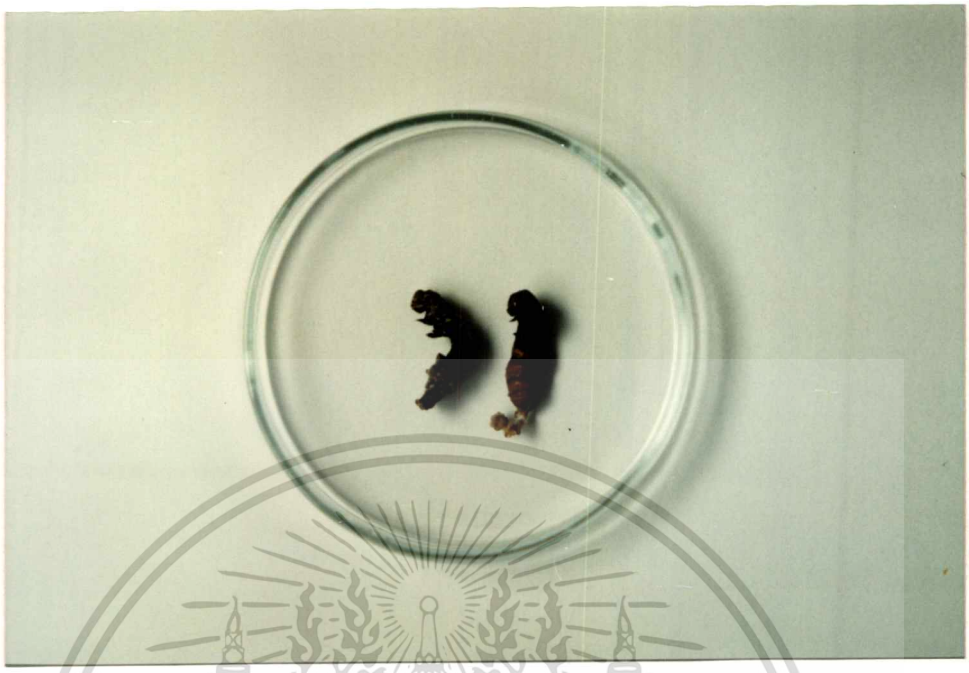
สำหรับช่วงระยะเวลาในการเข้าดักแด้ ระยะเวลาในการเข้าดักแด้ของหนอนควบคุม และหนอนที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.2 0.6 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารสกัด ต่อปริมาตรเมทานอล เป็น 9.97 10.12 10.02 และ 10.55 วัน ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.7

เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนจากการทดลอง พบว่า ระยะเวลาของดักแด้ในหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และจากการหาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของระยะเวลาในการเข้าดักแด้โดยใช้ Duncan's Multiple Range Test พบว่า ระยะเวลาในการเข้าดักแด้ของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้สารสกัดที่ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารสกัด ต่อปริมาตรเมทานอลยาวนานที่สุด และแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่สารสกัดที่ความเข้มข้นที่เหลือ ระยะเวลาในการเข้าดักแด้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม

จากผลการพัฒนาไปเป็นตัวเต็มวัยของดักแด้ ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.7 พบว่า การเป็นตัวเต็มวัยของดักแด้ที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.6 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล โดยที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล เปอร์เซ็นต์ของการเป็นตัวเต็มวัยของดักแด้ต่ำที่สุดคือ 71.43 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือที่ความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล เปอร์เซ็นต์การเป็นตัวเต็มวัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ก)



(ข)

ภาพที่ 4.23 ลักษณะผิดปกติของดักแด้ที่เกิดขึ้นเมื่อได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

(ก) ลักษณะผิดปกติเนื่องจากหนอนไม่สามารถลอกคราบครั้งสุดท้ายเข้าดักแด้ได้ จึงมีลักษณะกึ่งหนอนกึ่งดักแด้

(ข) หนอนสามารถเข้าดักแด้ได้ แต่เปลือกดักแด้มีรอยปริทำให้ดักแด้แห้งเหี่ยวและตายในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

80.49 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ในหนอนควบคุม และ หนอนที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล มีเปอร์เซ็นต์เป็นตัวเต็มวัย 83.33 และ 85.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่เมื่อศึกษาเปอร์เซ็นต์การเป็นตัวเต็มวัย โดยคิดเทียบกับจำนวนหนอนเริ่มต้นทั้งหมด พบว่า เปอร์เซ็นต์การเป็นตัวเต็มวัยของหนอนที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล ลดลงเหลือครึ่งหนึ่งของจำนวนหนอนทั้งหมด รองลงมาได้แก่ หนอนที่ได้รับความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล สามารถพัฒนาไปเป็นตัวเต็มวัยได้ 66.06 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนหนอนทั้งหมด และสำหรับหนอนควบคุม และหนอนที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล มีเปอร์เซ็นต์ในการพัฒนาไปเป็นตัวเต็มวัยเท่ากันคือ 80.00 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนหนอนทั้งหมด และเมื่อศึกษาถึงความผิดปกติของตัวเต็มวัย พบว่า มีความผิดปกติของตัวเต็มวัย คือปีกผีเสื้อมีการพัฒนาไม่สมบูรณ์ (ภาพที่ 4.24) ในทุกๆ ความเข้มข้นของสารสกัด รวมทั้งตัวควบคุม โดยความผิดปกตินี้เกิดขึ้นในตัวควบคุม และสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.2, 0.6 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล คิดเป็น 7.5 15.0 6.07 และ 4.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากผลการทดลองในภาพที่ 4.19-4.24 และตารางที่ 4.7 จะพบว่า สารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 มีผลต่อค่าพารามิเตอร์ต่างๆสำหรับศึกษาการเจริญเติบโตของหนอนเจาะสมอฝ้าย ซึ่งผลกระทบจะแตกต่างกันไปตามระดับความเข้มข้นของสารสกัด สารสกัดที่มีความเข้มข้นสูงกว่าจะมีผลต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายมากกว่าที่ความเข้มข้นต่ำกว่า และจากการทดลองนี้สารสกัดที่ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล มีอิทธิพลต่อค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ของหนอนเจาะสมอฝ้ายมากที่สุด

จากผลของน้ำหนักในวันที่ 7 ของหนอนเจาะสมอฝ้ายหลังจากได้รับสารสกัดในแต่ละความเข้มข้นของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 พบว่ามีน้ำหนักน้อยกว่าหนอนควบคุมอยู่มาก แต่เมื่อศึกษาต่อไปถึงน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด พบว่า น้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดของหนอนที่ได้รับสารสกัดในแต่ละความเข้มข้นมีน้ำหนักน้อยกว่าหนอนควบคุมไม่มากเท่าใดนัก ทั้งนี้เพราะว่าเมื่อหนอนเจาะสมอฝ้ายกินก้อนอาหารเทียมที่เคลือบสารสกัดหมด ได้ย้ายหนอนเหล่านี้มาเลี้ยงในอาหารเทียมปกติที่ไม่มีสารสกัด ซึ่งทำให้ฤทธิ์ในการยับยั้งการกินของสารสกัดค่อยๆ ลดลงไป จึงทำให้หนอนเจาะสมอฝ้ายกินอาหารได้ตามปกติในระยะเวลาต่อมา ทำให้หนอนเจาะสมอฝ้ายมีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดไม่แตกต่างจากหนอนควบคุมเท่าใดนัก แต่เมื่อสังเกตถึงระยะเวลาในการที่จะพัฒนาถึงน้ำหนักสูงสุด หรือช่วงเวลาในการเป็นหนอนที่ยาวนานขึ้นกว่าหนอนควบคุม แสดงให้เห็นว่าหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารสกัดมีการเจริญเติบโตและการพัฒนาช้าลง ซึ่งเป็นผลมาจากสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่หนอนเจาะสมอฝ้ายได้รับในช่วงแรกของการทดลอง คือนอกจากสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.24 ลักษณะผิดปกติของตัวเต็มวัยของหนอนเจาะสมอฝ้ายคือ การพัฒนาของปีกไม่สมบูรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะมีผลในการยับยั้งการกินแล้ว ยังมีผลหรือส่งผลต่อการเจริญเติบโตของหนอนเจาะสมอฝ้ายด้วย กล่าวคือ สารสกัดจาก *Hapalosiphon sp.* TISTR 8252 จะไปยับยั้งการกินของหนอนเจาะสมอฝ้ายทำให้หนอนอดอาหาร และมีน้ำหนักตัวน้อยกว่าระดับปกติ ซึ่งมีผลต่อ metamorphosis ของหนอนเจาะสมอฝ้าย ทำให้การเจริญเติบโตและการพัฒนาของหนอนผิดปกติไป นอกจากนี้ยังเห็นได้จากการเข้าดักแด้ของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียมีความผิดปกติเกิดขึ้น คือไม่สามารถเข้าดักแด้ได้ หรือเข้าดักแด้ได้ไม่สมบูรณ์ ซึ่งจากผลดังกล่าวนี้ สารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียนี้น่าจะไปมีผลรบกวนการทำงานของระบบ neuroendrocrine ซึ่งเกี่ยวข้องกับระบบฮอร์โมน และระบบประสาทของหนอนเจาะสมอฝ้าย โดยอาจทำให้ฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ metamorphosis เช่น ecdysone และ juvenile hormone ลดลงหรือถูกปล่อยออกมาช้า (Haasler, 1983) เช่นเดียวกับที่พบในสารสกัดจากสะเดา ดังที่ Rembold *et al.* (1980) ได้กล่าวไว้ว่าการยับยั้งการกินของสารสกัดสะเดาหรือ อะซาดิแรคตินเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้หนอนมีการเจริญเติบโตและการพัฒนาที่ผิดปกติไป

สารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 นอกจากมีคุณสมบัติในการยับยั้งการกินอาหาร และยับยั้งการเจริญเติบโตแล้ว พบว่ายังมีฤทธิ์เป็นสารฆ่าหนอนด้วยเช่นกัน แต่ฤทธิ์ในการฆ่าไม่รุนแรงและเฉียบพลันพอที่จะทำให้หนอนตายในเวลาอันรวดเร็ว และจากผลการทดลองต่างๆ ในการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัด พบว่า หนอนวัยหนึ่งมีความอ่อนแอที่สุดต่อฤทธิ์ในการฆ่าหนอนของสารสกัด เพราะมีการตายของหนอนวัยหนึ่งสูงที่สุด ในขณะที่พบการตายเพียงเล็กน้อยหรือไม่พบเลยในหนอนวัยสอง และวัยสาม

การที่ผลกระทบต่างๆ ของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่เกิดจากสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียไม่เห็นผลรุนแรงนักน่าจะมาจากหลายสาเหตุด้วยกัน อาจเป็นเพราะความเข้มข้นที่ใช้น้อยเกินไป และหนอนได้รับสารสกัดเพียงช่วงแรกของการทดลองเพียงเท่านั้น ถ้ามีการเพิ่มช่วงเวลาในการให้สารสกัดแก่หนอนเจาะสมอฝ้ายน่าจะทำให้ผลกระทบต่างๆ ที่เกิดกับหนอนเจาะสมอฝ้ายเพิ่มขึ้นด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 การศึกษาเบื้องต้นในการแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่มีคุณสมบัติในการควบคุมแมลงศัตรูพืชออกจากสิ่งเจือปนโดยวิธีทินแลเยอร์โครมาโตกราฟฟี (thin layer chromatography ; TLC)

4.5.1 การศึกษาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพออกจากสิ่งเจือปนโดยวิธีทินแลเยอร์โครมาโตกราฟฟี

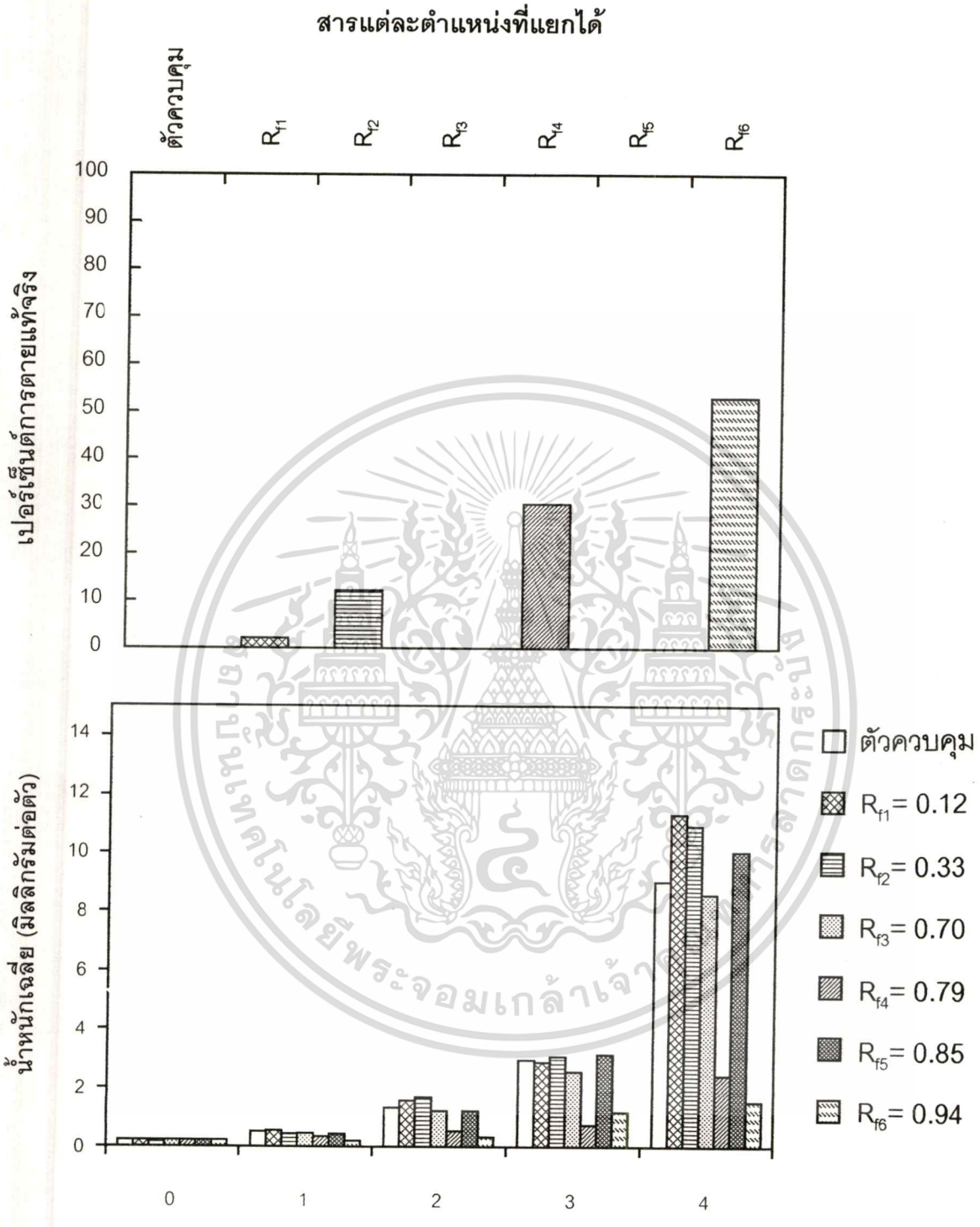
จากการทดสอบหาตำแหน่งของสารที่แยกออกมาโดยวิธีออโตไบโอกราฟ (autobiograph) พบว่า ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ออกจากสิ่งเจือปน คือ สารละลายผสมของ คลอโรฟอร์ม ต่อ เมทานอล ต่อ น้ำ ในอัตราส่วน 6 ต่อ 4 ต่อ 1 โดยจะใช้ระบบตัวทำละลายนี้ในการแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อนำไปทดสอบกับหนอนเจาะสมอฝ้ายต่อไป

4.5.2 การใช้ทินแลเยอร์โครมาโตกราฟฟีในการแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติในการควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ผลิตโดย *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ออกจากสิ่งเจือปนเพื่อทำให้บริสุทธิ์บางส่วน

จากการแยกสารสกัดออกจากสิ่งเจือปนโดยใช้ทินแลเยอร์โครมาโตกราฟฟี (preparative silicagel TLC) ในระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมคือ คลอโรฟอร์ม ต่อ เมทานอล ต่อ น้ำ ในอัตราส่วน 6 ต่อ 4 ต่อ 1 สามารถตรวจพบแถบเรืองแสงภายใต้รังสีอัลตราไวโอเลตจำนวน 6 แถบ (band) คือ R_{f1} = 0.1, R_{f2} = 0.33, R_{f3} = 0.7, R_{f4} = 0.79, R_{f5} = 0.85, R_{f6} = 0.94

เมื่อนำสารที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์บางส่วนในแต่ละแถบ ที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล มาทดสอบกับหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่ง ที่มีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 0.23 มิลลิกรัมต่อตัว ได้ผลดังตารางที่ 4.8 และ ภาพที่ 4.25 พบว่า ตำแหน่งที่แสดงผลในการยับยั้งการกินของหนอนเจาะสมอฝ้ายเรียงจากมากไปหาน้อย คือ ตำแหน่ง R_{f6} และ R_{f4} โดยพบว่าน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายในแต่ละวันเพิ่มขึ้นน้อยมาก และน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายในวันที่ 4 ภายหลังจากได้รับสารในตำแหน่ง R_{f6} และ R_{f4} มีน้ำหนักน้อยมากเมื่อเทียบกับตัวควบคุม คือ มีน้ำหนักเพียง 1.54 และ 2.42 มิลลิกรัมต่อตัว ตามลำดับ โดยที่น้ำหนักของหนอนเจาะสมอฝ้ายในหนอนควบคุมเท่ากับ 9.03 มิลลิกรัมต่อตัว สำหรับน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนในวันที่ 4 ภายหลังจากได้รับสารในตำแหน่ง R_{f1} R_{f2} R_{f3} และ R_{f5} คือ 11.33 10.92 8.59 และ 10.04 ตามลำดับ เมื่อสังเกตพื้นที่ความเสียหายของใบที่ถูกหนอนทำลายดังภาพที่ 4.26 พบว่าใบที่ทาด้วยสารในตำแหน่ง R_{f6} และ R_{f4} พื้นที่ความเสียหายของใบที่ถูกกัดกินโดยหนอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.25 ผลของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์บางส่วนต่อเปอร์เซ็นต์การตายแท้จริง และน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่ง

หมายเหตุ : เปลี่ยนใบผักที่ทาสารให้หนอนใหม่ในวันที่ 3 หลังจากชั่งน้ำหนัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงผลของน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่งในวันที่ 4 และเปอร์เซ็นต์การตายแท้จริงหลังจากได้รับสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีทินแลเยอร์โครมาโตกราฟฟี [1]

TLC [2]	น้ำหนักเฉลี่ยในวันที่ 4 [3] (มิลลิกรัมต่อตัว)	เปอร์เซ็นต์การตายแท้จริง
ตัวควบคุม	9.03 $\pm$ 1.46 b [4]	-
Rf1 = 0.12	11.34 $\pm$ 0.83 b	2.04
Rf2 = 0.33	10.92 $\pm$ 0.96 b	12.24
Rf3 = 0.70	8.59 $\pm$ 0.56 b	0
Rf4 = 0.79	2.42 $\pm$ 0.77 a	30.61
Rf5 = 0.85	10.04 $\pm$ 2.27 b	0
Rf6 = 0.94	1.56 $\pm$ 0.40 a	53.06

หมายเหตุ : [1] ความเข้มข้นของแต่ละสารที่แยกเท่ากับ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสารต่อปริมาตรเมทานอล

[2] ทำการทดลอง 5 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัว

[3] ค่าเฉลี่ย $\pm$ ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

[4] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ โดยค่าเฉลี่ยที่มีอักษรตามหลังเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (ตารางผนวก จ-15 และ จ-16)

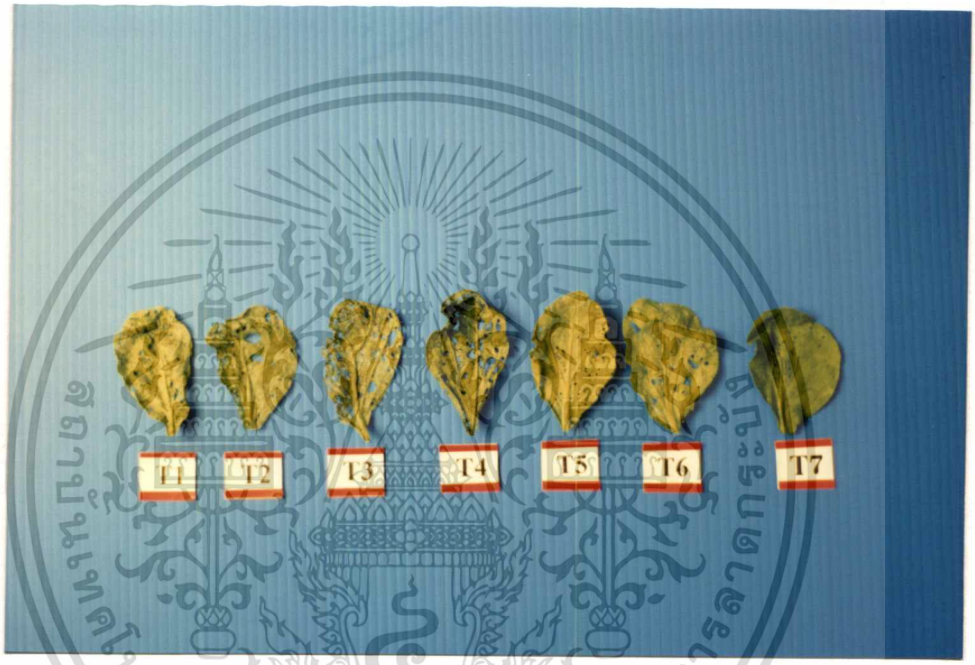
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจาะสมอฝ้ายมีเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้หนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารในตำแหน่ง R_{f6} และ R_{f4} มีน้ำหนักน้อยมากเพราะไม่ได้กินอาหาร

เมื่อทดสอบโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายในวันที่ 4 หลังจากได้รับสารในแต่ละแถบที่แยกออกมาโดยใช้ทินแลเยอร์โครมาโตกราฟฟี จะมีความแตกต่างกัน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และจากการหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของน้ำหนักหนอนเจาะสมอฝ้ายในวันที่ 4 หลังจากได้รับสารสกัด โดยใช้ Duncan's Multiple Range Test พบว่า น้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายในวันที่ 4 หลังจากได้รับสารที่ตำแหน่ง R_{f6} และ R_{f4} มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับตัวควบคุมและน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนที่ R_f ดังกล่าวนี้มีน้ำหนักเฉลี่ยน้อยที่สุด สำหรับน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารในตำแหน่ง R_{f1}, R_{f2} และ Rf_5 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม

เมื่อศึกษาผลของสารแต่ละแถบต่อการตายของหนอนเจาะสมอฝ้าย ดังแสดงในภาพที่ 4.25 และ ตารางที่ 4.8 . ตำแหน่งของสารแต่ละแถบต่อการตายของหนอนเจาะสมอฝ้าย เรียงจากประสิทธิภาพสูงไปหาต่ำได้แก่ R_{f6} R_{f4} R_{f2} และ R_{f1} โดยมีเปอร์เซ็นต์การตายแท้จริงทั้งหมดเท่ากับ 53.06 30.61 12.24 และ 2.04 และเมื่อศึกษาการตายของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่เกิดขึ้นในแต่ละวันของหนอนเจาะสมอฝ้าย ดังแสดงในภาพที่ 4.27 พบว่า หนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารที่ตำแหน่ง R_{f2} เปอร์เซ็นต์การตายที่เกิดขึ้นในวันที่ 1 2 3 และ 4 คือ 6 2 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ จะพบว่าประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนเจาะสมอฝ้ายของสารที่ตำแหน่ง R_{f2} ต่ำมาก และเปอร์เซ็นต์การตายจะลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นหลังจากได้รับสาร แต่ในวันที่ 4 เปอร์เซ็นต์การตายเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเป็นเพราะมีการเปลี่ยนใบที่ทาสารสกัดให้หนอนเจาะสมอฝ้ายใหม่ในวันที่ 3 ในวันที่ 4 จึงมีการตายเพิ่มขึ้น สำหรับหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารในตำแหน่ง R_{f4} พบว่าในวันที่ 1 และ 2 ไม่มีการตายเกิดขึ้น แต่จะมีการตายเกิดขึ้นในวันที่ 3 และ 4 คือ 6 และ 26 นั่นแสดงให้เห็นว่าสารในตำแหน่ง R_{f4} น่าจะแสดงฤทธิ์เป็นสารยับยั้งการกินของหนอนอย่างเดียว เพราะสังเกตได้จากน้ำหนักของหนอนเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ประกอบกับพื้นที่ความเสียหายของใบผักที่ถูกหนอนกินมีเพียงเล็กน้อยเช่นกัน ดังแสดงในภาพที่ 4.26 ดังนั้นจึงไม่มีการตายของหนอนเกิดขึ้นในวันที่ 1 และ 2 แต่จะมีการตายเกิดขึ้นในวันที่ 3 และ 4 เนื่องจากหนอนอดอาหารนั่นเอง ส่วนผลของหนอนที่ได้รับสารที่ตำแหน่ง R_{f6} พบว่าหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ได้รับสารที่ตำแหน่ง R_{f6} มีการตายเกิดขึ้นภายใน 1 วัน โดยมีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 8 เปอร์เซ็นต์ และเพิ่มขึ้นเป็น 18 และ 24 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 2 และ 3 สำหรับวันที่ 4 เปอร์เซ็นต์การตายลดลงเป็น 5 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองสารที่ตำแหน่ง R_{f6} นอกจากจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งการกินแล้ว ยังมีฤทธิ์เป็นสารฆ่าหนอนร่วมด้วย เพราะมีการตายเกิดขึ้นตั้งแต่วันแรกหลังจากได้รับสาร นอกจากนี้ยังพบว่า ในวันที่ 4 เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนเจาะสมอฝ้ายจะลดลงทั้งๆ ที่มีการเปลี่ยนใบที่ทาสารสกัดใหม่ อาจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.26 พื้นที่ความเสียหายของใบผักคะน้า เนื่องจากหนอนเจาะสมอฝ้ายทำลาย ในวันที่ 3 หลังจากทาด้วยสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ในแต่ละตำแหน่งที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์บางส่วน ด้วยวิธีทินแลเยอร์โครมาโตกราฟฟี

T1 ตัวควบคุม (เมทานอล)

T2 R_{f1} = 0.12

T3 R_{f2} = 0.33

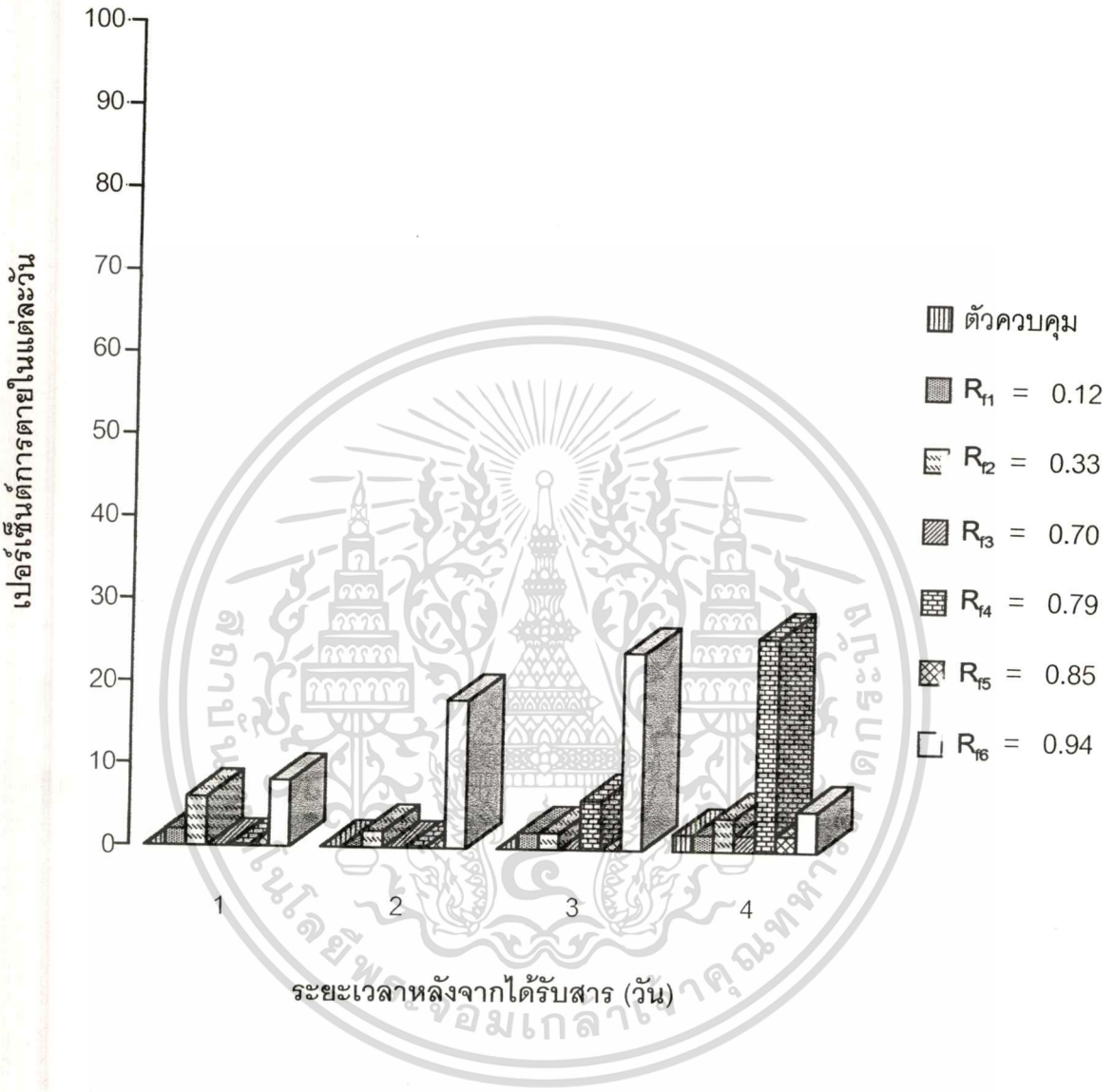
T4 R_{f3} = 0.70

T5 R_{f4} = 0.79

T6 R_{f5} = 0.85

T7 R_{f6} = 0.94

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.27 เปอร์เซ็นต์การตายในแต่ละวันของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่งหลังจากได้รับสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ในแต่ละตำแหน่งที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีทินแลเยอร์โครมาโตกราฟฟี

หมายเหตุ : เปลี่ยนใบผักที่ทาสารให้หนอนใหม่ในวันที่ 3 หลังจากชั่งน้ำหนัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นเพราะหนอนที่รอดชีวิตเหล่านี้ สามารถทนทานต่อฤทธิ์ในการฆ่าหนอนของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในตำแหน่ง R_{f6} ได้สูง เพราะถึงแม้สารที่ตำแหน่ง R_{f6} มีฤทธิ์ในการฆ่าหนอนแต่ฤทธิ์ไม่รุนแรงและเฉียบพลันเท่าใดนัก แต่ถึงอย่างไรก็ตามสารออกฤทธิ์ที่ตำแหน่งนี้ ยังคงแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการกินของหนอนเจาะสมอฝ้าย เพราะจากน้ำหนักหนอนที่ได้รับสารที่ตำแหน่งนี้มีน้ำหนักต่ำกว่าหนอนควบคุมมาก

จากผลการทดลองพบว่า สารในตำแหน่ง R_{f6} และ R_{f4} เป็นสารออกฤทธิ์หลักที่มีผลต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย ซึ่งค่า R_{f6} ค่อนข้างมีค่าสูง คือ มีค่าเท่ากับ 0.94 แสดงว่า สารออกฤทธิ์นี้ค่อนข้างไปทางไม่มีขั้ว เพราะเฟสคงที่หรือตัวดูดซับที่ใช้ในการแยกคือซิลิกาเจล ซึ่งมีสภาพมีขั้ว ส่วนเฟสเคลื่อนที่หรือตัวทำละลายที่ใช้คือ คลอโรฟอร์ม ต่อ เมทานอล ต่อ น้ำ ในอัตราส่วน 6 ต่อ 4 ต่อ 1 ค่อนข้างไปทางมีขั้วน้อย ดังนั้นการที่สารออกฤทธิ์ปรากฏอยู่ที่ตำแหน่ง R_f สูง แสดงว่าสารออกฤทธิ์นี้ถูกดูดซับอยู่ในเฟสคงที่ที่มีสภาพมีขั้วได้น้อย แต่สามารถละลายในเฟสเคลื่อนที่ซึ่งมีขั้วน้อยได้ดี จึงเคลื่อนที่ไปพร้อมๆ กับเฟสเคลื่อนที่ จึงทำให้มีค่า R_f สูง

จากผลการทดลองเห็นได้ว่า สารออกฤทธิ์ส่วนใหญ่ค่อนข้างไปทางไม่มีขั้ว ดังนั้นการใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายเพียงชนิดเดียว ในขั้นตอนการสกัดสารออกฤทธิ์ออกมาจากไซยาโนแบคทีเรีย อาจทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดลดน้อยลงไป เนื่องจากว่าเมทานอลค่อนข้างมีขั้ว (แต่น้อยกว่าน้ำ) จึงสามารถสกัดเอาสารอื่นๆ ซึ่งไม่ใช้สารออกฤทธิ์ออกมาด้วย และสารเหล่านี้จะไปเจือจาง สารออกฤทธิ์หลักทำให้มีความเข้มข้นต่ำลง ดังนั้นการเพิ่มตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วเข้าไปเป็นระบบตัวทำละลายผสมในการสกัด น่าจะทำให้การสกัดสารออกฤทธิ์จาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 มีประสิทธิภาพมากขึ้นกว่าการใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดเพียงตัวเดียว ดังเช่นในการทดลองของ Jaglan *et al.* (1997) ได้ศึกษาผลของสารสกัดจากสะเดาต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยต้นที่มีอายุ 4-5 วัน พบว่า สารสกัดจากสะเดาที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลมีประสิทธิภาพต่ำกว่าสารสกัดสะเดาที่ใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างคลอโรฟอร์ม ต่อ เมทานอล ในอัตราส่วน 9 ต่อ 1 เป็นตัวทำละลายในการสกัด โดยสารสกัดสะเดาที่สกัดด้วยเมทานอลต้องใช้ความเข้มข้นถึง 7.5 เปอร์เซ็นต์ แก่หนอนวัยต้น ถึงจะไม่มีหนอนเหลือรอดจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย ในขณะที่สารสกัดที่สกัดด้วย คลอโรฟอร์ม ต่อ เมทานอล อัตราส่วน 9 ต่อ 1 ใช้ความเข้มข้นเพียง 1.0 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ไม่มีหนอนเหลือรอดจนกระทั่งถึงดักแด้

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ ที่พบในพืชที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการกินและการเจริญเติบโตของแมลง ได้แก่ สารในกลุ่มของฟีนอล (phenol), ควิโนน (quinone), อัลคาลอยด์ (alkaloid) แลคโตน (lactone) และ เทอร์ปีน (terpene) (Jacobson, 1980)

เนื่องจากว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 แสดงฤทธิ์เป็นสารยับยั้งการกินในหนอนเจาะสมอฝ้าย ดังนั้นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ *Hapalosiphon* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

TISTR 8252 ผลิตขึ้นนี้อาจเป็นสารที่อยู่ในกลุ่มเดียวกันกับสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งการกินที่พบในพืช หรืออาจเป็นสารออกฤทธิ์ชนิดใหม่ที่ไม่ได้อยู่ในกลุ่มเดียวกันกับที่พบในพืชก็ได้ ซึ่งมีหลายรายงานที่รายงานเกี่ยวกับ การพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติต่าง ๆ มากมายจากไซยาโนแบคทีเรีย และเป็นสารออกฤทธิ์ที่มีโครงสร้างอยู่ในกลุ่มเดียวกันกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการกินที่พบในพืช

Smitak *et al.* (1992) ; Stratmann *et al.* (1994) และ Klein *et al.* (1995) สามารถแยกสาร hapalindoie, hapalindolinone และ ambiguine ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มอัลคาลอยด์ และมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา และพบว่า สารในกลุ่มอัลคาลอยด์ส่วนใหญ่ที่แยกได้จากไซยาโนแบคทีเรีย ได้มาจากไซยาโนแบคทีเรียที่อยู่ในวงศ์ Stigonemataceae อันดับ Stigonematales เป็นส่วนใหญ่

Prinsep และ Thomson (1996) สามารถแยกสาร tolypodiol ซึ่งเป็นสารในกลุ่มไดเทอร์ปีน มีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ

ถึงแม้ว่าจะมีรายงานเกี่ยวกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากไซยาโนแบคทีเรียอยู่น้อยมาก (Delaney and Wilkins, 1995 ; Sathiyamoorthy and Shanmugasundaram, 1996) แต่พบว่าสารออกฤทธิ์ที่ไซยาโนแบคทีเรียผลิตขึ้นและมีฤทธิ์ในการควบคุมแมลงที่รายงานเหล่านี้กล่าวถึงเป็นสารอยู่ในกลุ่มเพบไทด์ ซึ่งสารออกฤทธิ์เหล่านี้จะมีฤทธิ์เป็นพิษต่อแมลงและทำให้แมลงตายในเวลาไม่นานนัก ซึ่งตรงกับ Schwartz *et al.* (1990) กล่าวไว้ว่า สารออกฤทธิ์ในกลุ่มเปปไทด์ที่ได้จากไซยาโนแบคทีเรียส่วนใหญ่มีฤทธิ์เป็นพิษ (toxin)

4.6 การศึกษาคุณสมบัติบางประการของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252

4.6.1 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีเชิงฟิสิกส์ (physicochemical) บางประการของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252

4.6.1.1 ความคงตัวของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ระดับความเป็นกรดเป็นด่างต่างๆ

เมื่อนำสารสกัดหยาบมาละลายในเมทานอลแล้วนำไปวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง พบว่า ความเป็นกรดเป็นด่าง ของสารสกัดมีค่าประมาณ 7 และเมื่อมีการปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างของสารสกัดนี้ให้เท่ากับ 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 และ 13 กรดไฮโดรคลอริก 2 นอร์มัล หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 นอร์มัล เพื่อทดสอบความคงตัวของสารสกัดต่อความเป็นกรดเป็นด่าง โดยนำสารสกัดที่ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่าง แล้วไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพกับ *A. siamensis* TISTR 8012 โดยวิธี paper disc plate พบว่า ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สารสกัดมีความคงตัวในช่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

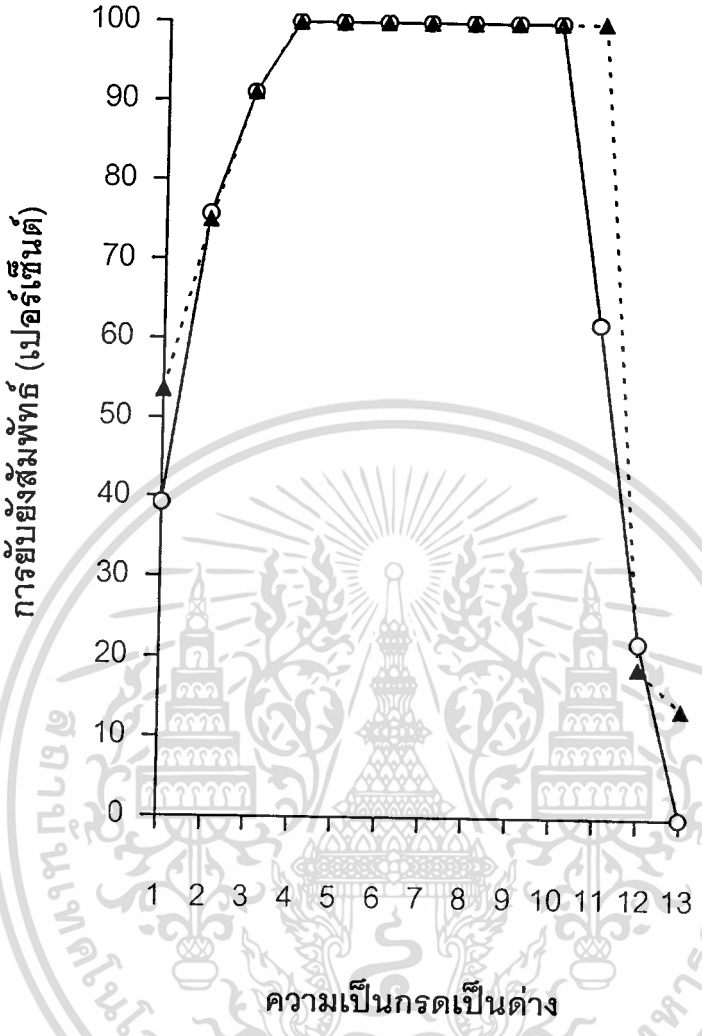
ความเป็นกรดเป็นด่าง 4-10 โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสัมพัทธ์เท่ากับ 100 ในขณะสารสกัดที่มีความเป็นกรดเป็นด่าง ต่ำกว่า 3 ลงไป ความคงตัวจะลดลงอย่างรวดเร็วตามความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้น ในขณะเดียวกันสารสกัดที่มีความเป็นกรดเป็นด่าง มากกว่า 10 ขึ้นไป เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสัมพัทธ์ลดลงอย่างรวดเร็วเช่นเดียวกัน และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสัมพัทธ์ลดลงเป็น 0 เมื่อสารสกัดมีความเป็นกรดเป็นด่าง เท่ากับ 13 ในขณะที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความคงตัวของสารสกัดอยู่ในช่วงกว้างกว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส คือในช่วงความเป็นกรดเป็นด่าง 4-11 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสัมพัทธ์เท่ากับ 100 สำหรับที่ความเป็นกรดเป็นด่าง ต่ำและสูงกว่าช่วงนี้มีแนวโน้มเช่นเดียวกันกับที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส คือเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสัมพัทธ์ลดลงอย่างรวดเร็วเช่นเดียวกัน แต่ในขณะที่สารสกัดที่มีความเป็นกรดเป็นด่าง เท่ากับ 13 สารสกัดยังคงมีฤทธิ์ยับยั้งอยู่โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสัมพัทธ์เท่ากับ 13.96 ดังแสดงในภาพที่ 4.28

จากผลการทดลองเห็นได้ว่า สารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 สามารถคงตัวอยู่ได้ในช่วงความเป็นกรดเป็นด่างที่กว้าง และอุณหภูมิมีอิทธิพลต่อความคงตัวต่อความเป็นกรดเป็นด่าง เช่นกัน โดยที่อุณหภูมิต่ำ สารสกัดสามารถคงตัวต่อความเป็นกรดเป็นด่าง ได้ดีกว่าที่อุณหภูมิสูงกว่า

สำหรับความคงตัวต่อความเป็นกรดเป็นด่างของสารอะซาดิแรคตินซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์หลักที่มีฤทธิ์ในการควบคุมแมลงในสารสกัดสะเดา พบว่าที่ความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 7 หรือเป็นกลาง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สารอะซาดิแรคตินมีค่าครึ่งชีวิต (half life) เมื่ออยู่ในน้ำมีค่าเท่ากับ 105 ชั่วโมง และจะลดลงอย่างรวดเร็วเหลือเพียง 21 ชั่วโมงเท่านั้น เมื่อความเป็นกรดเป็นด่าง เพิ่มขึ้นเป็น 8 (Isman, 1997) ถึงแม้ว่าในการทดลองความคงตัวต่อกรดเป็นด่างของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR ครั้งนี้ ไม่ได้ทดสอบเกี่ยวกับระยะเวลาความคงตัวต่อความเป็นกรดเป็นด่าง แต่จากผลการทดลองที่ได้ สารสกัดมีแนวโน้มคงตัวมากกว่า 24 ชั่วโมง สำหรับสารสกัดที่มีความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ในช่วง 4-10 เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และอยู่ในช่วงความเป็นกรดเป็นด่าง 4-11 เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยพบว่าประสิทธิภาพสารสกัดที่มีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง อยู่ในช่วง 4-10 สำหรับสารสกัดที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ ความเป็นกรดเป็นด่าง อยู่ในช่วง 4-11 สำหรับสารสกัดที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสยังไม่ลดลง โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสัมพัทธ์เท่ากับ 100

การที่สารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 สามารถคงตัวอยู่ได้ที่ระดับความเป็นกรดเป็นด่างที่สูงได้ อาจมีข้อดีคือ ในสภาพกระเพาะอาหารส่วนกลางของหนอนเจาะสมอฝ้ายมีสภาพเป็นด่าง คือ มีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ประมาณ 9.74 $\pm$ 0.16 (Xu and Qin, 1994) และเนื่องจากว่ายังไม่ทราบแน่ชัด เกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ในการยับยั้งการกินของหนอนเจาะสมอฝ้าย ซึ่งถ้ากลไกการออกฤทธิ์ของสารออกฤทธิ์นี้มีฤทธิ์ต่อระบบการย่อยอาหาร ดังเช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

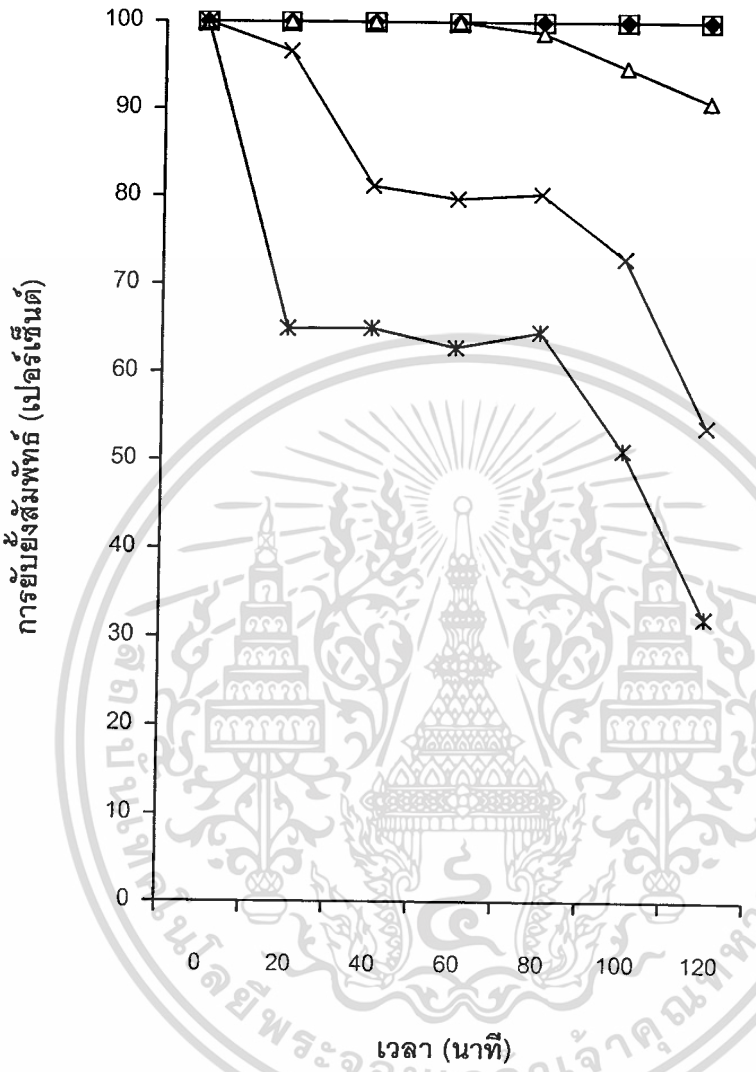


ภาพที่ 4.28 ความคงตัวของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ระดับความเป็นกรดเป็นด่างต่างๆ

---▲--- 4 องศาเซลเซียส

—○— 25 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.29 ความคงตัวของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

40-82 นาที จากนั้นสารออกฤทธิ์นี้คงถูกทำลายไปอีก เนื่องจากเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสัมพัทธ์เริ่มลดลงอีกอย่างรวดเร็ว

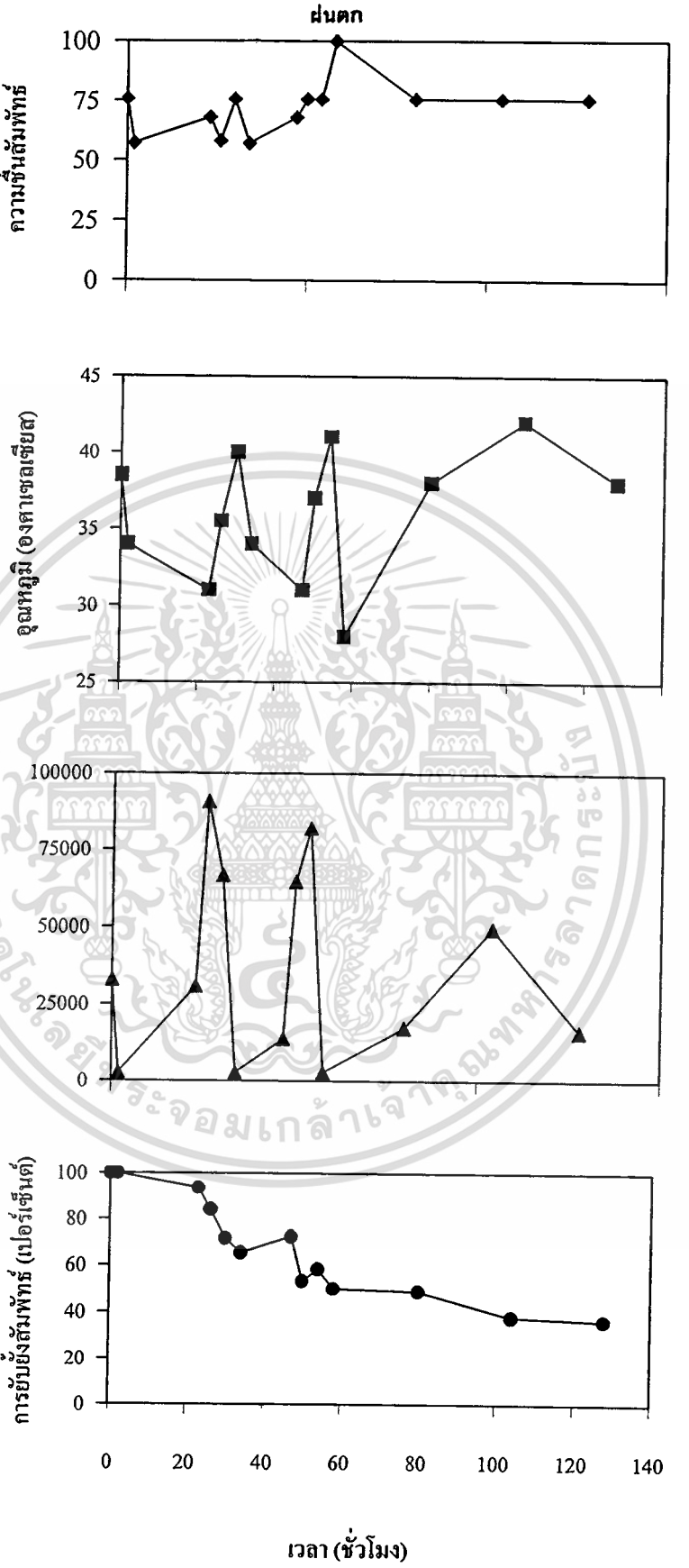
จากผลการทดลองเห็นได้ว่าสารสกัดนี้มีความคงตัวที่อุณหภูมิค่อนข้างสูง และจากการทดลองของ Kiviranta และ Abdel-Hameed (1994) ได้ศึกษาความคงตัวของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria agardhii* 27 ที่มีฤทธิ์ในการควบคุมลูกน้ำยุง พบว่าความคงตัวของสารสกัดนี้สามารถคงตัวอยู่ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ได้เป็นเวลานานกว่า 15 นาที และที่อุณหภูมิ 60 และ 80 องศาเซลเซียส ความคงตัวจะลดลงเล็กน้อยเมื่อเวลาผ่านไป 15 นาที และที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ความคงตัวจะค่อยๆ ลดลงมากขึ้นกว่าที่อุณหภูมิ 60 และ 80 องศาเซลเซียส และจะลดลงอย่างรวดเร็ว เมื่อเวลาผ่านไป 30 และ 60 นาที

4.6.1.3 ความคงตัวของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ต่อสภาพลมฟ้าอากาศ

การทดสอบความคงตัวต่อสภาพลมฟ้าอากาศในธรรมชาติเป็นเวลา 128 ชั่วโมง ระหว่างวันที่ 4-9 พฤษภาคม 2541 ซึ่งเวลาในช่วงดังกล่าวมีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำสุด 57 เปอร์เซ็นต์ สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิอากาศต่ำสุด 28 องศาเซลเซียส สูงสุด 42 องศาเซลเซียส และมีความเข้มแสงในช่วงเวลากลางคืนต่ำสุด 0 ลักซ์ ส่วนในช่วงกลางวันความเข้มแสงสูงสุด 90,700 ลักซ์ และในระหว่างการทดลองมีฝนตกในชั่วโมงที่ 58-60 พบว่า ความคงตัวของสารสกัดที่ทดสอบจะลดลงเรื่อย ๆ และ เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสัมพัทธ์จะลดลงเหลือครึ่งหนึ่งในชั่วโมงที่ 80 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองในชั่วโมงที่ 128 สารสกัดจะมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสัมพัทธ์เหลืออยู่เพียง 36 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่ 4.30 ส่วนความคงตัวของสารสกัดในเครื่องเร่งสภาวะ พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสัมพัทธ์ของสารสกัดจะลงลงอย่างรวดเร็วในช่วง 6 ชั่วโมงแรกของการทดลอง โดยลดเหลือ 64 เปอร์เซ็นต์ และจะลดลงเหลือครึ่งหนึ่งในชั่วโมงที่ 30 และลดลงเหลือเพียง 36 เปอร์เซ็นต์ ในชั่วโมงที่ 77 ดังแสดงในภาพที่ 4.31

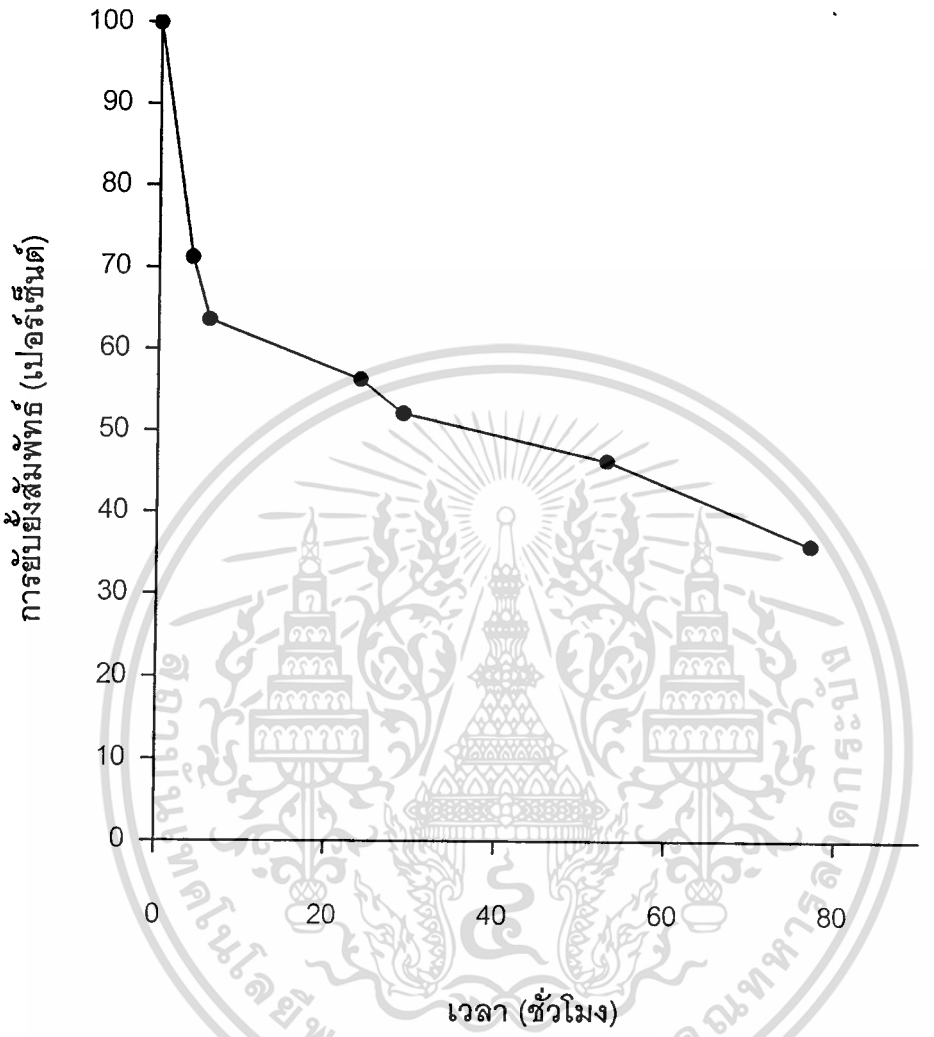
จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ค่อนข้างจะสลายตัวได้อย่างรวดเร็วในสภาพธรรมชาติเช่นเดียวกับสารสกัดสะเดา โดยสารอะซาดิแรคตินซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์หลักในสะเดามีความไวต่อรังสีอัลตราไวโอเลต ซึ่งมีค่าครึ่งชีวิต เพียง 20 ชั่วโมงเมื่อฉีดพ่นไปบนใบพืช (Isman, 1997) และมีค่าครึ่งชีวิต 5 วัน เมื่อเก็บอยู่ในจานเพาะเชื้อที่ทำจากแก้ว และได้รับแสงเพียงหนึ่งในสี่ของความเข้มแสงจากดวงอาทิตย์ (Sundaram and Curry, 1996) ซึ่งจะเห็นได้ว่าสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 มีความคงตัวต่อรังสีอัลตราไวโอเลตมากกว่าสารสกัดสะเดา โดยประสิทธิภาพของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 เมื่อทดสอบในเครื่องเร่งสภาวะจะลดลงเหลือครึ่งหนึ่ง เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 30 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.30 ความคงตัวของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ต่อสภาพลมฟ้าอากาศธรรมชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.31 ความคงตัวของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ต่อสภาพลมฟ้าอากาศในเครื่องเร่งสภาวะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6.2 **การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีบางประการของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีทินแลเยอร์โครมาโตกราฟฟี**

จากการนำสารสกัดที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีทินแลเยอร์โครมาโตกราฟฟี มาทดสอบปฏิกิริยาทางเคมี ได้แก่ นินไฮดริน ไบยูเรต โมลิสช์ แอนโทรน และ ความไม่อิ่มตัวของไขมัน พบว่า ให้ผลเป็นลบกับทุก ๆ ปฏิกิริยาที่ทดสอบ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสารออกฤทธิ์จากไซยาโนแบคทีเรียจะเป็นวงแหวนเพปไทด์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ (Glombitza and Koch, 1989) ซึ่งการทำวิธีทางเคมีไม่สามารถตัดพันธะได้ จึงไม่เกิดปฏิกิริยาทางเคมีเหล่านี้ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการนำตัวอย่างไซยาโนแบคทีเรีย ที่เก็บรวบรวมอยู่ในศูนย์จุลินทรีย์ (ศจล.) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วท.) จำนวน 318 สายพันธุ์ มาคัดเลือกหาสายพันธุ์ที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ที่มีคุณสมบัติในการควบคุมแมลง โดยในการคัดเลือกเบื้องต้นเป็นการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดต่อไรทะเล พบว่ามีไซยาโนแบคทีเรีย 7 สกุล 34 สายพันธุ์ ที่ผลิตสารออกฤทธิ์ที่มีฤทธิ์ต่อไรทะเล และเมื่อนำสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์เหล่านี้ไปทดสอบต่อกับหนอนกระทู้หอม พบว่าสารสกัดที่สกัดโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย มีประสิทธิภาพดีกว่าใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในขั้นตอนการสกัด และสายพันธุ์ที่สามารถฆ่าหนอนกระทู้หอมวัยหนึ่งได้ประมาณ 70 หรือมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป มี 4 สกุล 19 สายพันธุ์ และเมื่อนำไปทดสอบต่อกับหนอนกระทู้หอมวัยสอง พบว่ามีเพียง 3 สกุล 12 สายพันธุ์ ที่สามารถฆ่าหนอนกระทู้หอมวัยสองได้ประมาณ 70 หรือมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ที่สามารถฆ่าหนอนกระทู้หอมวัยสองได้มากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ หรือฆ่าหนอนกระทู้หอมวัยหนึ่งได้ 100 เปอร์เซ็นต์มาทดสอบกับหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่ง พบว่าฤทธิ์ของสารสกัดในแต่ละสายพันธุ์ที่นำมาทดสอบมีฤทธิ์ในการฆ่าหนอนเจาะสมอฝ้ายไม่รุนแรง แต่มีเพียง 1 สายพันธุ์ คือ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่มีแนวโน้มต่อการยับยั้งการกินของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่ง เพราะสังเกตจากพื้นที่ความเสียหายของใบผักคะน้าที่เกิดจากหนอนกัดกินเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

จากการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 พบว่าสูตรอาหาร BGA ที่ดัดแปลงโดยการเติมโซเดียมไนเตรต 1.5 กรัมต่อลิตร เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 โดยมีการเจริญเติบโตคิดเป็นน้ำหนักแห้งได้ 0.23 กรัมต่อลิตร และสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้สูงสุดในระหว่างวันที่ 20 และ 21 ของการเพาะเลี้ยง คือ 0.47 มิลลิกรัมต่อลิตรของอาหารเหลว หรือ 2.03 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของไซยาโนแบคทีเรีย เมื่อคิดเทียบเป็นความเข้มข้นของ gentamicin

จากการศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่มีผลต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย โดยศึกษาจากน้ำหนักเฉลี่ยและเปอร์เซ็นต์การตาย พบว่าสารสกัดที่เก็บเกี่ยวในวันที่ 21 ของการเพาะเลี้ยง มีผลต่อน้ำหนักเฉลี่ยภายหลังสิ้นสุดการทดลองและน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นในแต่ละวันของหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่งมากที่สุด โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจือปนแล้วไปทดสอบกับปฏิกิริยาทางเคมี ให้ผลลบกับปฏิกิริยานินไฮดริน ไบยูเรต โมลิสช์ แอนโทรน และความไม่อิ่มตัวของไขมัน

จากการศึกษาความคงตัวของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ต่อความเป็นกรดเป็นด่างที่ระดับต่างๆ พบว่าสารสกัดมีความคงตัวต่อระดับความเป็นกรดเป็นด่างในช่วง 4-11 และ 4-10 ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

สำหรับความคงตัวของสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ สารสกัดสามารถคงตัวอยู่ได้นานกว่า 120 นาทีที่อุณหภูมิ 25 และ 50 องศาเซลเซียส ส่วนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส สารสกัดมีความคงตัวเป็นเวลานาน 80 นาที สำหรับที่อุณหภูมิ 100 และ 120 องศาเซลเซียส สารสกัดสามารถคงตัวอยู่น้อยกว่า 20 นาที

เมื่อนำสารสกัดไปทดสอบความคงตัวต่อสภาพลมฟ้าอากาศในธรรมชาติ และในเครื่องเร่งสภาวะ พบว่าที่สภาพลมฟ้าอากาศในธรรมชาติ ประสิทธิภาพของสารสกัดจะลดลงเหลือครึ่งหนึ่งในชั่วโมงที่ 80 ส่วนในเครื่องเร่งสภาวะประสิทธิภาพของสารสกัดจะลดลงเหลือครึ่งหนึ่งในชั่วโมงที่ 30

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 การศึกษานี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นยังไม่ทราบถึง ปริมาณ ชนิด และสูตรโครงสร้างของสารออกฤทธิ์ที่แท้จริง จึงควรมีการศึกษาในลำดับต่อไปเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงวิธีการผลิตต่อไป

5.2.2 ควรมีการศึกษาถึงการขยายปริมาณการผลิตในระดับที่ใหญ่ขึ้นหรือระดับนำร่อง เช่น การเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียในอ่างขนาดใหญ่กลางแจ้ง เพื่อเป็นข้อมูลในการผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

5.2.3 เนื่องจากในการทดลองนี้เป็นการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ สภาวะต่างๆ ที่ใช้ในการทดลองจึงแตกต่างไปจากสภาพธรรมชาติจริง ดังนั้นจึงควรมีการนำสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ไปทดสอบกับแมลงศัตรูพืชในภาคสนาม รวมทั้งพัฒนารูปแบบของสารสกัดที่เหมาะสมในการนำไปใช้ด้วย เพื่อจะได้ทราบว่าสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 สามารถใช้ได้ผลจริงในสภาพธรรมชาติ และมีความคุ้มทุนในการที่เกษตรกรจะใช้หรือไม่ อย่างไร

5.2.4 ควรมีการนำสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 ไปทดสอบกับแมลงศัตรูพืชชนิดอื่นๆ เพื่อศึกษาถึงความกว้างขวางของสารสกัดต่อแมลงศัตรูพืช

5.2.5 ควรมีการศึกษาถึงความเป็นพิษต่อพืช สัตว์ รวมถึงมนุษย์ด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กนกพร อุ่นใจชน, พรทิพย์ เทพดิกาการ, เกศรา จีระจรรยา และ สว่าง วังบุญคง. 2532. "ระดับการต้านต่อสารฆ่าแมลงของหนอนเจาะสมอฝ้าย." **วารสารวิชาการเกษตร**. 7(1-3) : 59 - 64.

กองกีฏและสัตววิทยา. 2535. **เอกสารวิชาการคำแนะนำการใช้สารฆ่าแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี** 2537. กรุงเทพฯ : กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2531. **การขึ้นทะเบียนวัตถุมีพิษทางการเกษตรในประเทศไทย**. กรุงเทพ ฯ : กรมวิชาการเกษตร.

กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2531. **วัตถุอันตรายทางการเกษตรที่ได้รับการขึ้นทะเบียนแล้วในประเทศไทย**. กรุงเทพ ฯ : กรมวิชาการเกษตร.

กาญจนภาชน์ ลิ่วมโนมนต์. 2537. **สาหร่าย**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เกรียงไกร จำเริญมา และ โอชา ประจวบเหมาะ. 2535. "ป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืชด้วยสารสกัดจากสะเดา." **วารสารกีฏและสัตววิทยา**. 14(1) : 47-49.

เกศรา จีระจรรยา. 2530. "พืชอาหารที่พบใหม่ของหนอนเจาะสมอฝ้าย." **วารสารกีฏและสัตววิทยา**. 9(4) : 226.

เกศรา จีระจรรยา. 2539. "แนวทางการใช้สารฆ่าแมลงกำจัดหนอนเจาะสมอฝ้ายในมลรัฐมิสซิสซิปปี สหรัฐอเมริกา." **วารสารกีฏและสัตววิทยา**. 18(1) : 45-47.

ขวัญชัย สมบัติศิริ. 2540. "สะเดาและการใช้สารสกัดสะเดาป้องกันและกำจัดแมลง." ใน ขวัญชัย สมบัติศิริ. **สะเดาและสารสกัดสะเดาป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืช**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน.

งามผ่อง คงคงทิพย์. 2540. "เคมีของสะเดาและวิธีการสกัดสารจากสะเดา." ใน ขวัญชัย สมบัติศิริ. **สะเดาและสารสกัดสะเดาป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืช**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน.

จินตนา ภู่มงกุฎชัย. 2539. "สารก่อมะเร็งในวัตถุอันตรายทางการเกษตร." **ข่าวสารวัตถุมีพิษ**. 23(1) : 35-38.

เฉลิม สินธุเสก. 2538. "แนวคิดทิศทาง IPM และการถ่ายทอดความรู้." **วารสารกีฏและสัตววิทยา**. 17(4) : 254-262.

ชัยพัฒน์ จิระธรรมจารี. 2539. "ทำอย่างไรจึงจะใช้สารสกัดจากสะเดาให้ได้ผล." **วารสารกีฏและสัตววิทยา**. 18(1) : 55-60.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บุญสม เมฆสองสี และ เกรียงไกร จำเริญมา. 2529. "แมลงศัตรูข้าวโพดข้าวฟ่าง." **ข่าวสารศัตรูพืช**. 2(2) : 1-10.

พิทักษ์พงศ์ ป้อมปราณี. 2538. "ข้อคิดเห็นในการพยากรณ์การระบาดของหนอนเจาะสมอฝ้ายในไร่มะเขือเทศ." **วารสารกีฏและสัตววิทยา**. 17(2) : 122-125.

พิมลพร นันทะ, จุฬารัตน์ อรรถาจารุสิทธิ์, สถิต ปฐมรัตน์, รัตน นชะพงษ์ และ รุจ มรกต. 2534. รายชื่อแมลงศัตรูธรรมชาติของพืชเศรษฐกิจบางชนิดในประเทศไทย." หน้า 88-117. ใน **เอกสารวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี**. กรุงเทพฯ : กลุ่มงานวิจัยการปราบปรามศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

พิสมัย ชวลิตวงษ์พร. 2538. **แมลงศัตรูไม้ดอกไม้ประดับของประเทศไทย**. กรุงเทพฯ : กรมวิชาการเกษตร.

ไพฑูรย์ พิศุทธ์สินธุ์, บุญส่ง หุตังคบดี, นิยม รัตนพงษ์ และ ประยูร ศรีเจริญ. 2539. **การนำเข้าสารกำจัดศัตรูพืช พ.ศ. 2538**. กรุงเทพฯ : กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร.

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2538. **สาหร่าย**. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2539. **คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน**. กรุงเทพฯ : ภาควิชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วัชรา ชุณหวงศ์, อรนุช กองกาญจนะ และ มาลี ชวนะพงศ์. 2536. "ประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงบางชนิดกับหนอนกระทู้หอมและผลต่อแมลงศัตรูธรรมชาติ." **วารสารกีฏและสัตววิทยา**. 15(2) : 77-85.

ศูนย์สารสนเทศการเกษตร. 2539. **สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปีเพาะปลูก 2538/39**. กรุงเทพฯ : สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

โศรยา พันธุ์วิริยะพงษ์ และ นวลศรี ทยาพัชร. 2537. "ศึกษาผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษในกลุ่มออร์แกนโนคลอรีนต่อเลือดของมารดาและทารกแรกเกิด." หน้า 94-105. ใน **รายงานผลการค้นคว้าวิจัยปี 2537**. กรุงเทพฯ : กองวัตถุมีพิษการเกษตร กรมวิชาการเกษตร.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2539. **สถิติการค้าสินค้าเกษตรกรรมไทยกับต่างประเทศ ปี 2538**. กรุงเทพฯ : สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร. 2541. **ข้อมูลด้านการผลิตและการตลาดสินค้าเกษตรที่สำคัญ**. กรุงเทพฯ : สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สุภาณี พิมพ์สมาน. 2537. **สารฆ่าแมลง**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เสริม สีมา และ สมบัติ แผนดี. 2537. "วิจัยประสิทธิภาพจากผลิตภัณฑ์สะเดาและขมิ้นชันในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูผักคะน้า." หน้า 215-229. ใน **รายงานการค้นคว้าวิจัยปี** 2537. กรุงเทพฯ : กองวัตถุมีพิษ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

อนันต์ ตันสุตะพานิช, นพดล ภูวพานิช, ธนัญช์ สังกรธนกิจ และ ธงชัย เพิ่มงาม. 2536. **คู่มือการเพาะเลี้ยงและการใช้ประโยชน์จากอาร์ทีเมีย**. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

อัจฉรา ตันติโชดก. 2538. "การผลิตและการนำ Bacillus thuringiensis ไปใช้ในสภาพไร่." หน้า 200-202. ใน สมคิด ดิสถาพร. **เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช**. กรุงเทพฯ : สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย กรมวิชาการเกษตร.

อัญชลี สงวนพงษ์. 2539. "การผลิตสารสกัดสะเดาเพื่อการค้า (ตอน1)." **วารสารกีฏและสัตววิทยา**. 18(3) : 192-198.

อาภารัตน์ มหาขันธ์. 2539. "สารพิษจากสาหร่ายในแหล่งน้ำ." **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**. 10(1) : 39-53.

อาภารัตน์ มหาขันธ์ และ จิราภรณ์ วัฒนะกุล. 2539. "การทดสอบความเป็นพิษอย่างง่ายโดยใช้อาร์ทีเมีย." **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**. 11(3) : 79-83.

อำนวย อิศรางกูร ณ อยุธยา และ อรรณพ ตันสกุล. 2534. "การใช้สารสกัดจากพืชควบคุมแมลงศัตรูพืช." หน้า 125-142. ใน **เกษตรยั่งยืน**. กรุงเทพฯ : กรมวิชาการเกษตร.

อุดมลักษณ์ อุ่นจิตต์วรรธนะ, สุรพล วิเศษสรรค์, ถวิล จอมเมือง และ อารมณ์ แสงวนิชย์. 2540. "สารออกฤทธิ์ในพืชที่มีแนวโน้มเป็นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช." หน้า 75-82. ใน **การประชุมวิชาการกองวัตถุมีพิษการเกษตรประจำปี** 2540. กรุงเทพฯ : กองวัตถุมีพิษการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

อุทัย เกตุนุติ. 2534. "การควบคุมแมลงศัตรูพืชด้วยไวรัส." หน้า 118-147. ใน **เอกสารวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี**. กรุงเทพฯ : กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

อุทัย เกตุนุติ. 2538. "การผลิตและการนำไวรัสนิวเคลียร์โพลี่ฮีโดรซีส ไปใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช." หน้า 203-206. ใน สมคิด ดิสถาพร. **เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช**. กรุงเทพฯ : สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย กรมวิชาการเกษตร.

Abbott, W.S. 1925. "A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide." Journal of Economic Entomology. 18 : 265-267.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Admi, V., Afek, U. and Carmeli, S. 1996. "Raocyclamides A and B, Novel Cyclic Hexapeptides Isolated from the Cyanobacterium *Oscillatoria raoi*." **Journal of Natural Products.** 59 : 396-399.

Ahmad, M. and McCaffery, A.R. 1988. "Resistance to Insecticides in a Thailand Strain of *Heliothis armigera* (Hubner) (Lepidoptera : Noctuidae)." **Journal of Economic Entomology.** 81(1) : 45-48.

Allen, M.M. and Smith, A.J. 1969. "Nitrogen Chlorosis in Blue-Green algae." **Archive Microbiology.** 69(114) : 117-145.

Amano,T., Nishida, R. and Kuwahara, Y. 1997. "Ajugatakasin A and B, New Diterpenoids from *Ajuga decumbens*, and Feeding Stimulative Activity of Related Neoclerodance Analog Toward the Turnip Sawfly." **Bioscience Biotechnology Biochemistry.** 61 (9) : 1518-1522.

Angsuthanasombat, C. and Panyim, S. 1989. "Biosynthesis of 130 – Kilodalton Mosquito Larvicide in the Cyanobacterium *Agmenellum quadruplicatum* PR-6." **Applied and Enviromental Microbiology.** 55(9) : 2428-2430.

Antarikanonda, P., Berndt, H., Mayer, F. 1980. "Hydrogen : a New Inhibitor of Photosynthesis in the Blue- Green Alga (Cyanobacterium) *Anabaena* sp. TA.1." **Journal of Archive Microbiology.** 145 : 1-10.

Appel, H.M. 1994. "The Chewing Herbivore Gut Lumen Physicochemical Conditions and their Impact on Plant Nutrients, Allelochemicals, and Insect Pathogen." 209-222. in Bernays, E.A. **Insect-Plant Interactions. Volume 5.** Boca Raton : CRC Press.

Bachi, S.N., Chauhan, V.S. and Marwah, J.B. 1993. "Effect of an Antibiotic from *Oscillatoria laete-virens* on Growth, Photosynthesis, and Toxicity of *Microcystis aeruginosa*." **Current Microbiology.** 26 : 223-228.

Barchi, J.J., Moore, R.E. and Patterson, G.M.L. 1984. "Acutiphycin and 20 , 21-Didehydroacutiphycin , New Antineoplastic Agent from the Cyanophyte *Oscillatoria acutissima*." **Journal of American Chemical Society.** 106 : 8193-8197.

Batterton, J.C. Jr. and Van baalen, C. 1971. "Growth Responses of Blue- Green Algae to Sodium Chloride Concentration." **Archive Microbiology.** 76 : 151-165.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Becker, E.W. 1994. **Microalgae : Biotechnology and Microbiology.** 1 st. ed. Great Britain : Cambridge University Press.

Benner, J.R. 1993. "Pesticidal Compounds from Higher Plants." **Pesticide Science.** 39 : 95-102.

Bhatnagar, V.S. 1980. "A Report on Research on the *Heliothis* Complex at ICRISAT (India)." 1974-1979. in **The All India Workshop on Consolidation of Pest Management Recommendations and Guidelines of Research 24-26 April 1980.** Udaipur : ICRISAT.

Bogorad, L. 1975. "Phycobiliproteins and Complementary Chromatic Adaption." **Annual Review Plant Physiology.** 26 : 369-401.

Bold, H.C. and Michael, J.W. 1978. **Introduction to the Algae.** New Jersy : Prentice-Hall Inc.

Bu'Lock, J.D. 1961. "Intermediary Metabolism and Antibiotic Synthesis." **Journal Advance Applied Microbiology** 3 : 293-342.

Canto de Loura, I., Dubaco, J.P. and Thomas , J.C. 1987. "The Effect of Nitrogen Deficiency on Pigments and Lipids of Cyanobacteria." **Plant Physiology.** 83 : 838-843.

Carmeli, S., Moore, R.E. and Patterson, G.M.L. 1990. "Tolytoxin and New Scytophycins from the Terrestrial Blue-Green Alga *Fischerella muscicola*." **Tetrahedron Letters.** 33(23) : 3257- 3260.

Carmichale, W.W. 1986. "Algal Toxins." 47-101. in Callow, J.A. In **Advances in Botanical Research.** London : Academic Press.

Carmichale, W.W. 1992. "Cyanobacteria Secondary Metabolites - the Cyanotoxins." **Journal of Applied Bacteriology.** 72 : 445-459.

Chetsumon, A., Umeda, F., Maeda, I., Yagi, K., Mizoguchi, T. and Miura, Y. 1998. "Broad Sprectrum and Mode of Action of an Antibiotic Produced by *Scytonema* sp. TISTR 8208 In a Seaweed – Type Bioreactor." **Applied Biochemistry and Biotechnology.** 70-72 : 249-256.

Chmel, H. and Louria, D.B. 1980. Antifungal Antibiotic : Mechanism of Action, Resistance, Susceptibility Testing, and Assays of Activity in Biological Fluids. in Lorian, V. **Antibiotic in Laboratory Medicine.** New York : Academic Press.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Christofferson, K. 1996. "Ecological Implications of Cyanobacterial Toxin in Aquatic Food Webs." **Phycologia.** 35 : 42-50.

Coleman, J.R. and Colman, B. 1981. The Effect of pH on Photosynthesis and Inorganic Carbon Accumulation in Blue - Green Alga in Photosynthesis IV. in Akoyunoglou, G. **Regulation of Carbon Metabolism.** Philadelphia : Balabam International Science Services.

Collins, M.D. 1986. "Pyrethroid Resistance in the Cotton Bollworm, *Heliothis armigera* a Case History from Thailand." 583-590. in **Proceedings of the 1986 British Crop Protection Conference Pests and Disease.** Brighton : British Society of Chemical Industry.

Cook, J.R. 1965. "Influence of light on acetate utilization in green Euglena." **Plant Cell Physiology.** 71 : 177-184.

Cox, P.G. and Forrester, N.W. 1992. "Economics of Insecticide Resistance Management in *Heliothis armigera* (Lepidoptera : Noctuidae) in Australia." **Journal of Economic Entomology.** 85(5) : 1539-1550.

Crew, P., Hanke, F.J., Naylor, S., Hague, E.R., Kho, E. and Braslan, R. 1984a. "Halogen Regiochemistry and Substituent Stereochemistry Determination in Marine Monoterpene by ^{13}C NMR." **Journal of Organic Chemistry.** 49 : 1371-1379.

Crew, P., Kho-Wiseman, E., Montana, P. 1978. Halogenated Alicyclic Monoterpene from the Red Alga, *Plocamium*." **Journal of Organic Chemistry.** 43 : 116-120.

Crew,P., Myers, B.L., Naylor, S., Clasan, E.L., Jacobs R.S. and Staal, G.B. 1984b. "Bioactive Monoterpenes from Red Seaweeds." **Phytochemistry.** 23 : 1449-1451.

Crowe, A. and Crown, A. 1969. **Mathematic for Biologist.** New York : Academic Press.

Daido, M., Ohno, N., Imamura, K., Fukamiya, N., Hatakoshi, M., Yamazaki, H., Tagahara, K., Lee, K.H. and Okano, M. 1995. "Antifeedant and Insecticidal Activity of Quassinoids Against the Daimondback Moth (*Plutella xylostella*) and Structure-Activity Relationships." **Bioscience Biotechnology Biochemistry.** 59(66) : 974-979.

Delancy, J.M. and Wilkins, R.M. 1995. "Toxicity of Microcystin - LR, Isolated from *Microcystis aeruginosa*, Against Various Insect Species." **Toxicon.** 3(6) : 771-778.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Desikachary, T.V. 1959. **Cyanophyta.** New Delhi : Indian Council of Agricultural Research.

Dethier, V.G. 1947. **Chemical Insect Attractants and Repellents.** Philadelphia : Blakiston.

Falch, B.S., Konig, G.M., Sticher, O. and Wright, A.D. and Sticher, O. 1993. "Ambigol A and B : New Biologically Active Polychlorinnated Aromatic Compounds from the Terrestrial Blue - Green Alga *Fischerella ambigua*." **Journal of Organic Chemistry.** 58 : 6570-6575.

Fay, P. 1973. "The Heterocyst." 238-259. in Carr, N.G. and Whitton, B.A. The **Biology of Blue-Green Algae.** Berkeley : University California Press.

Fay, P. 1992. "Oxygen Relations of Nitrogen Fixation in Cyanobacteria." **Microbiology Reviews.** 50(2) : 340-373.

Feuerhake, K. and Schmutterer, H. 1992. "Simple Processes for the Extraction and Formulation of the Neem Seed Extracts and their Effect on Various Insect Pests." Z. Pflansenkrankh. Pflanzenschut.. 2(89) : 737-747.

Fish, S.A. and Codd, G.A. 1994. "Antimicrobial and Cytotoxic Activity Produced by an Isolated of the Thermotolerant Cyanobacterium (Blue - Green Alga) *Phormidium* sp." **Biotechnology Techniques** 8(5) : 351-356.

Fogg, G.E. 1994. "Growth and Heterocyst Production in *Anabaena cylindrica* Lemm." **New Phycology.** 43 : 164-175.

Fogg, G.E., Steward, W.D.P., Fay, P. and Walsby, A.E. 1974. **The Blue- Green Algae.** 2nd.ed. London : Academic Press.

Frazier, J.L. and Chyb, S. 1995. "Use of Feeding Inhibitors in Insect Control." 364-381. in Chapman, R.F. and Boer, G. **Regulatory Mechanisms in Insect Feeding.** New York : Chapman & Hall.

Fritsch, F.E. 1945. **The Structure and Reproduction of the Algae Volume II.** Cambridge : The University Press.

Fukusawa, A., Masamune, T. 1981. "Laurepinnacin and Isolaurepinnacin ; New Acetylenic Cyclic Ethers from the Marine Red Alga *Laurencia pinnata* Yamada." **Tetrahedron Letter.** 22 : 4081-4084.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Garcia-Pichel, F. and Castenholz, R.W. 1991. "Characterization and Biological Implication, of Scytonemin, a Cyanobacterial Sheath Pigment." **Journal of Phycology**. 27 : 395-409.

Garcia-Pichel, F. and Castenholz, R.W. 1993. "Occurrence of UV Absorbing, Mycosporine - Like Compounds Among Cyanobacterial Isolates and an Estimate of their Screening Capacity." **Applied and Enviromental Microbiology**. 59(1) : 163-169.

Glazer, A.N. 1987. "Phycobilisomes : Assembly and Attachment." 69-94. in Fay, P. and van Baalen, C. **The Cyanobacteria**. Amsterdam : Elsevier/Science Publishers.

Glombitza, K.W. and Koch, M. 1989. "Secondary Metabolites of Pharmaceutical Potential." 162-238. In Cresswell, R.C., Rees, T.A.V. and Shah, N. **Algal and Cyanobacterial Biotechnology**. Harlow : Longman Scientific & Technical.

Gomez, K.A. and Gomez, A.A. 1984. **Statistical Procedures for Agricultural Research**. Singapore : John Wiley & Sons.

Gonza'lez-Coloma, A., Guadano, A., Gutie'rrez, C., Cabrera, R., de la Pena, E., de la Fuente, G. and Reina, M. 1998. "Antifeedant Delphinium Diterpenoid Alkaloids. Structure-Activity Relationships." **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 46 : 286-293.

Gunasena, G.H., Vinson, S.B. and Williams, H.J. 1990. "Effects of Nicotine on Growth, Development, and Survival of the Tobacco Budworm (Lepidoptera : Noctuidae) and the Parasitoid *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera : Ichneumonidae)." **Journal of Economic Entomology**. 85(5) : 1761-1767.

Gustafson, K.R., Cardellina, J.H., Fuller, R.W., Weislow, O.S., Kiser, R.F., Snader, K.M., Patterson, G.M.L. and Boyd, M.R. 1989. "Aids - Antiviral Sulfolipids from Cyanobacteria (Blue–Green Algae)." **Journal of the National Cancer Institute**. 81(16) : 1254-1258.

Haasler,C. 1983. "Effect of Neem Seed Extract on the Post-Embryonic Development of the Tobacco Hornworm, *Manduca sexta*." 321-380. in Schmutterer, H. and Ascher, K.R.S. **Natural Pesticide from the Neem Tree (*Azadirachtin indica* A. Juss) and Other Tropical Plants**. Eschborn : GTZ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Harold, J.H. and Susanne, R.W. 1980. **Introduction and Guide to Marine Blue-Green Algae.** New York : John Wiley & Sons.

Harwood, S.H., Moldenke, A.F. and Berry, R.E. 1990. "Toxicity of Peppermint Monoterpenes to the Variegated Cutworm (Lepidoptera : Noctuidae)." **Journal of Economic Entomology.** 85(5) : 1761-1767.

Higgins, R.A. and Pedigo, L.P. 1979. "Evaluation of Guazatine Triacetate as an Antifeedant Feeding Deterrent for the Green Cloverworm on Soybeans." **Journal of Economic Entomology.** 72 : 680-686.

Hill, D.S. 1983. **Agricultural Insect Pests of the Tropics and their Control.** 2nd.ed. New York : Cambridge University Press.

Hongo, H., Karel, A.K. 1986. "Effect of Plant Extraction Insect Pests of Common Beans." **Zeitschrift-Fuer-Angewandte Entomologie.** 102(2) : 164-169.

Hoover, K., Herrman, R., Moskowitz, H., Bonning, B.G., Sduffery, S., McCutchen, B.F. and Hammock, B.D. 1996. "The Potential of Recombinant Baculoviruses as Enchanced Bioinsecticides." **Pesticide Outlook.** 7 : 21-27.

Huang, R.C., Zhou, J.B., Suenaga, H., Takazaki, K., Tadera, K. and Nakatani, M. 1995. "Insect Antifeedant Property of Limonoids from Okinawan and Chinese *Melia azedarach*. L., from Chinese *Melia toosedan* (Meliaceae)." **Bioscience Biotechnology Biochemistry.** 59(9) : 1755-1757.

Ishaaya, I. 1988. "Nutritional and Allelochemical Insect Plant Interactions Relationships Relating to Digestion and Food Intake : Some Examples." 191-223. in Miller, J.R. and Miller, T.A. 2nd. ed. **Insect - Plant Interaction.** New York : Springer-Verlag.

Isman, M.B. 1993. "Growth Inhibitory and Antifeedant Effects of Azadirachtin on Six Noctuids of Regional Economic Importance." **Pesticide Science.** 38 : 57-63.

Isman, M.B. 1997. "Neem Insecticides." **Pesticide Outlook.** 8 : 32-38.

Jacobson, M. 1980. "Isolation and Identification of Insect Antifeedants and Growth inhibitor from Plants. An Overview." 13-20. in Schmutterer, H., Ascher, K.R.S. and Rembold, H. **Natural Pesticides from the Neem Tree.** Eschborn : GTZ

Jaglan, M.S., Khokhar, K.S., Malik, M.S. and Singh, R. 1997. "Evaluation of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) Extracts Against American Bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner)." **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 45 : 3262-3268.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Jayarai, S. 1981. "Biological and Ecological Studies of *Heliothis*." 17-28. in Kumble, V. **Proceeding of the International Workshop on the *Heliothis* Management 15-20 November 1981.** Patacheru : ICRISAT.

Kaplan, D., Richmond, A.E., Dubinsky, Z. and Aaronson, S. 1986. "Algal Nutrition." 147-198. in Richmond, A. **CRC Handbook of Microalgal Mass Culture.** Florida : CRC Press.

Kashiwagi, K., Mynderse, J.S., Moore, R.E. and Norton, J.R. 1980. "Antineoplastic Evaluation of Pacific Basin Marine Algal." **Journal of Phamacology Science.** 69 : 735-738.

Kiviranta, J. and Abdel-Hameed, A. 1994. "Toxicity of the Blue - Green Alga *Oscillatoria agardhii* to the Mosquito *Aedes aegypti* and the Shrimp *Artemia salina*." **World Journal of Microbiology & Biotechnology.** 10 : 517-520.

Klein, D., Daloze, D. and Brackman, J.C. 1995. "New Hapalindoles from the Cyanophyte *Hapalosiphon laingii*." **Journal of Natural Products.** 58(11) : 1781-1785.

Kuma, J. and Parmar, B.S. 1996. "Physicochemical and Chemical Variation in Neem Oils and Some Bioactivity Leads Against *Spodoptera litura*." **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 44(8) : 2137-2143.

Kumar, K.D. 1990. **Introductory Phycology.** New Delhi : Affiliated East-West Press Private Limited.

Larsen, L.K., Moore, R.E. and Patterson, G.M.L. 1994. "β-Carbolines from the Blue-Green Alga *Dichothrix baueriana*." **Journal of Natural Products.** 57(3) : 419-421.

Maeda, M., Kodama, T., Tanaka,T., Yoshizumi, H., Takemeto,T., Nomoto, K. and Fujita, T. 1986. "Structures of Isodomonic Acids A, B and C, Novel Insecticidal Amino Acids from the Red Alga *Chondria armata*." **Chemical Pharmacology Bulletin.** 34 : 4892-4895.

Mahakhant, A., Padungwong, P., Arunpairojana, V. and Atthasampunna, P. 1998. "Control of the Plant Pathogenic Fungus *Marophomina phaseolina* in Mung Bean by A Microalgal Extract." **Phycological Research.** 46 : 3-7.

Metcalf, R.L. 1983. "Implications and Prognosis of Resistance to Insecticides." 703-733. in **Pest Resistance to Pesticides.** New York : Plenum Press.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sangthongpitag, K., Delancy, S.F. and Rogers, P.L. 1996. "Evaluation of Four Fresh-Water Unicellular Cyanobacteria as Potential Hosts for Mosquitocidal Toxins." **Biotechnology Letter.** 18(2) : 175-180.

Sarode, S.V., Jumde, Y.S., Deotale, R.O. and Thakare, H.S. 1996. "Bioefficacy of Neen Seed Kernel Extract (NSKE) and Heliothis Nuclear Polyhedrosis Virus (HNPV) Against *Helicoverpa* (*Heliothis*) *armigera* (Hb) on Cotton." **PKV Research Journal.** 20(1) : 96-97.

Sathiyamoorthy, P. and Shanmugasundaram, S. 1996. "Preparation of Cyanobacterial Peptide Toxin as a Biopesticide Against Cotton Pests." **Applied Microbiology Biotechnology.** 46 : 511-513.

Sato, N. and Murata, N. 1980. "Temperature Shift-Induce Responses in Lipids in the Blue- Green Alga, *Anabaena variabilis*." **Biochemical Biophysic Acta.** 619 : 353.

Schoonhoven, L.M. 1988. "Stereoselective Perception of Antifeedants in Insect." 289-302. in Ariens, E.J., van Rensen, J.J.J. and Willing, W. **Stereoselective Preception of Antifeedants in Insects.** Amsterdam : Elsevier.

Schwartz, R.E., Hirsch, C.F., Sesin, D.F., Flor, J.E., Chartrain, M., Fromtling, R.E., Harris, G.H., Salvatore, M.J., Liesch, J.M. and Yudin, K. 1990. "Pharmaceuticals from Cultured Algae." **Journal of Industrial Microbiology.** 5 : 113-124.

Singh, H. and Singh, G. 1975. "Biological Studies on *Heliothis armigera* (Hubner) in the Punjab." **Indian Journal of Entomology.** 37 : 154-164.

Smith, G.M. 1951. **Manual of Phycology (An Introduction to the Algae and their Biology).** New York : The Ronald Press Company.

Smitka, T.A., Bonjouklian, R., Doolin, L., Jones, N.D. and Deeter, J.B. 1992. "Ambiguine Isonitriles, Fungicidal Hapalindole Type Alkaloids from Three Genera of Blue - Green Algae Belonging to the Stigonemataceae." **Journal of Organic Chemistry.** 57 : 857-861.

Sokawa, Y. and Hase, E. 1968. "Suppressive Effect of Light on the Formation of DNA and on the Increase of Deoxythymidine Monophosphate Kinase in *Chlorella protothecoides*." **Journal of Plant Cell Physiology.** 9 : 461.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Stainer, R.Y. and Bazize, G. 1971. "Purification and Properties of Unicellular Blue-Green Algae (Order Chlorococcales)." **Journal of Bacterial Review.** 35 : 171-205.

Stewart, W. 1974. **Algal Physiology and Biochemistry.** Berkeley : University California Press.

Stratmann, K., Moore, R.E., Bonjouklian, R., Decter, J.B., Patterson, G.M.L., Shaffer, S., Smith, C.D. and Smitka, T.A. 1994. "Welwitindolinones, Unusual Alkaloids from the Blue - Green Algae *Hapalosiphon welwitschii* and *Westiella intricata* Relationship to Fischerindoles and Hapalolindoles." **Journal of American Chemical Society.** 116 : 9935-9942.

Sundaram, K.M.s. and Curry, J. 1996. "Effect of Some UV light Absorbers on the Photostabilization of Azadirachtin , a Neem - Based Biopesticide." **Chemosphere.** 32 : 649-659.

Surin, P. 1993. "Pest Control in Asia and the Pacific." 25-50. in **Report of and APO Seminar, 24th September – 4th October 1991.** Tokyo : Asian Productivity Organization.

Tahir, H.I., Otto, A.A., Hague, N.G.M. 1995. "The Susceptibility of *Helicoverpa* (*Heliothis*) *armigera* and *Erias vitella* to Entomopathogenic Nematodes." **Afro Asian Journal of Nematology.** 5(2) : 161-165.

Talling, J.F. 1962. "Freshwater Algae." in Lewin, A. **Physiology and Biochemistry of Algae.** New York : Academic Press.

Tanaka, S. 1992. "Fermentation Processes in Screening for New Bioactive Substance." 303-326. in Omura, S. **The Search for Bioactive Compounds from Microorganism.** New York : Springer-Verlag.

Tanaka, Y. and Okuda, S. 1992. "Insecticides, A Caricide, and Anticoccidial Agents." 237- 262. in Omura, S. **The Search for Bioactive Compounds from Microorganism.** New York : Springer-Verlag.

Toshihiko, A., Tracy, L., Jonathan, D.B.W. and Geoffrey, A.C. 1996. "Microcystin-LR Inhibits Photosynthesis of *Phaseolus vulgaris* Primary Leaves : Implications for Current Spray Irrigation Practice." **New Phytology** : 651-658.

Trainor, F.R. 1978: **Introductory Phycology.** New York : John Wiley & Sons.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

van Baalen, C. and O' Donnell, R. 1978. "Isolation of a Nickel-Dependent Blue-Green Alga." **Journal Genetic Microbiology.** 105 : 351.

Vanek, S., Cudlin, J., Blumauerova, M., Hostalek, Z., Podojil, M., Rehacek, Z. and Krumphanzl, V. 1981. **Physiology and Pathophysiology of the Production Excessive Metabolites.** Prague : Czechoslovakian Academy of Science.

Venkataraman, G.S. 1957. "A Note on the Occurrence of Three - Pored Heterocyst in *Mastigocladus laminosus*." **Current Science.** 26 : 254.

Vonshak, A. 1986. "Laboratory Techniques for the Cultivation of Microalgae." 117-145. in Richmond, A. **CRC Handbook of Microalgal Mass Culture.** Florida : CRC Press.

Wada, K. and Munakato,K. 1968. "Naturally Occurring Insect Control Chemicals Isoboldine, a Feeding Inhibitor, and Cocculolidine and Insecticide in the Leaves of *Cocculus trilobus* DC." **Journal Agricultural food and Chemistry.** 16(3) : 71-74.

Wake, H., Akasaka, A., Umetsu, H., Ozeki, Y., Shimomura, K. and Matsunaga, T. 1992. "Promotion of Plantlet Formation from Somatic Embyos of Carrot Treated with a High Molecular Weight Extract from a Marine Cyanobacterium." **Plant Cell Reports.** 11: 62-65.

Wake, H., Umetsu, H., Ozeki, Y., Shimomura, K. and Matsunaga, T. 1991. "Extracts of Marine Cyanobacteria Stimulated Somatic Embryogenesis of *Daucus carota* L.." **Plant Cell Reports.** 9 : 655-658.

Watt, W.D. 1969. "Extracellular Release of Organic Matter from Two Fresh Water Diatoms." **Annual Botanical.** 33 : 427-437.

Xu, G. and Qin, J. 1994. "Extraction and Characterization of Midgut Proteases from *Heliothis armigera* and *H. assulta* (Lepidoptera : Noctuidae) and their Inhibition by Tannic Acid." **Journal of Economic Entomology.** 87(2) : 334-338.

Yakkundi, S.R., Thejavathi, R., Ravin dranath, B. 1995. "Variation of Azadirachtin Content During Growth and Stronge of Neem (*Azadirachta indica*) Seeds." **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 43(9) : 2517-2519.

Yano, K. and Tanaka, N. 1995. "Antifeedant Activity Toward Larvae of *Pieris rapae crucivora* of Aromatic Carbonyl Compounds Related to Capillin Isolated from

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

1. สูตรอาหาร BGA (Antarikanonda, 1980) มีส่วนประกอบ ดังนี้

NaCl	0.070	กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.380	กรัม
$CaCl_2$	0.080	กรัม
K_2HPO_4	0.600	กรัม
$Fe_2(SO_4)_3 \cdot 6H_2O$	0.010	กรัม
Tritriplex III	0.027	กรัม
H_3BO_3	0.003	กรัม
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	0.002	กรัม
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.008	กรัม
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.0003	กรัม
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.00008	กรัม
$CoCl_2$	0.00002	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

pH 7.5

ละลายส่วนประกอบต่าง ๆ ผสมกับน้ำกลั่น นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

หมายเหตุ สูตรอาหาร BGA+N เตรียมโดยการเติมโซเดียมไนเตรต 1.5 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

อาร์ทีเมีย (*Artemia salina*) คือ ไรทะเลสีน้ำตาลหรือไรน้ำเค็ม เป็นสัตว์น้ำเค็มชนิดหนึ่ง ซึ่งถูกจัดอยู่ในพวกครัสเตเชีย (Crustacea) เช่นเดียวกับกุ้ง กั้ง และปู แต่แตกต่างกันตรงที่อาร์ทีเมียเป็นพวกที่ไม่มีเปลือกแข็งหุ้มตัว โดยทั่วไปเป็นที่รู้จักกันดีในวงการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทั่วโลก เพราะนิยมนำไปใช้เป็นอาหารในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน จำพวก กุ้ง ปู และ ปลาชนิดต่าง ๆ (อนันต์ ตันสุตะพานิช และ คณะ, 2536)

Tanaka และ Okuda (1992) กล่าวว่า ในขั้นตอนการคัดเลือก สามารถใช้อาร์ทีเมียในการตรวจวิเคราะห์หาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืช หรือจุลินทรีย์อื่น ที่มีคุณสมบัติเป็นสารกำจัดแมลงได้ ซึ่งการใช้อาร์ทีเมียมีข้อดี คือ 1) ไข่ของอาร์ทีเมียหาซื้อได้ง่าย ตามร้านที่จำหน่ายอุปกรณ์การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ 2) ไข่ของอาร์ทีเมียสามารถเก็บไว้ได้นานที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาหลายเดือน 3) ไข่ของอาร์ทีเมียมีอัตรการฟักสูง สามารถฟักได้ภายใน 1-2 วัน และ 4) สามารถใช้เซลล์ยีสต์แห้งซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่หาได้ง่าย เป็นอาหารแก่อาร์ทีเมียได้

ขั้นตอนการเพาะฟักไข่อาร์ทีเมียเพื่อใช้ในการทดสอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (อาภารัตน์ มหาขันธ์ และ จิราภรณ์ วัฒนะกุล, 2539)

ขั้นตอนที่ 1 เลือกซื้อไข่อาร์ทีเมียคุณภาพดี

ไข่ของอาร์ทีเมียหาซื้อได้ตามร้านจำหน่ายอุปกรณ์ที่เกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยผลิตภัณฑ์อาร์ทีเมียจะถูกบรรจุในกระป๋องหรือในซองอะลูมิเนียม ในระบบสุญญากาศ เพื่อรักษาไข่อาร์ทีเมียให้คงสภาพมีชีวิต

ขั้นตอนที่ 2 เพาะฟักไข่อาร์ทีเมีย

นำไข่อาร์ทีเมียมาเพาะฟักในภาชนะบรรจุน้ำทะเล โดยใช้อัตราส่วนไข่อาร์ทีเมีย 250 มิลลิกรัมต่อน้ำทะเล 250 มิลลิลิตร ให้อากาศด้วยการพ่นผ่านหัวทราย ซึ่งใช้ในการพ่นอากาศสำหรับการเลี้ยงปลาตู้ทั่วไป บ่มไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 28-30 องศาเซลเซียส ไข่ของอาร์ทีเมียจะถูกฟักเป็นตัวอ่อน ภายใน 24-48 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 3 แยกอาร์ทีเมียออกจากไข่

การแยกอาร์ทีเมียที่แข็งแรงออกจากไข่ที่ฝ่อหรือเปลือกไข่ต้องทำในห้องมืด เนื่องจากอาร์ทีเมียที่แข็งแรงจะเคลื่อนที่เข้าหาแสง โดยเทอาร์ทีเมียที่เพาะฟักลงในกล่องพลาสติกใสปากกว้าง นำไฟฉายมาส่องบริเวณมุมด้านใดด้านหนึ่งของกล่อง ให้มีบริเวณพื้นที่ที่แสงสว่างตกประมาณ 2 ตารางนิ้ว อาร์ทีเมียที่แข็งแรงจะว่ายเข้าหาแสงอย่างรวดเร็ว ใช้ปิเปตต์ดูดน้ำทะเลที่มีเฉพาะอาร์ทีเมียขึ้นมา ใส่ในกล่องพลาสติกใสที่บรรจุน้ำทะเลใบใหม่ เพื่อทำความสะอาดอาร์ทีเมีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และทำการแยกอาร์ทีเมีย ซ้ำอีกครั้งในลักษณะเดิม ก่อนนำไปใช้ในการทดสอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

วิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์ผล

1. กราฟมาตรฐานของ gentamicin (Standard curve of gentamicin)

1.1 เตรียม gentamicin มาตรฐาน ที่ความเข้มข้น 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 15 20 30 และ 50 ไมโครกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร

1.2 แผ่นทดสอบเปเปอร์ดิส ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร (BBL blank paper disc ของ Becton Dickinson)

1.3 สารแขวนลอยของ *Anabaena siamensis* TISTR 8012

1.4 ทดสอบประสิทธิภาพของ gentamicin มาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *A. siamensis* TISTR 8012 ตามวิธี paper disc plate

14.1 การหาความเจือจางของสารแขวนลอย *A. siamensis* TISTR 8012 ในอาหารวุ้น BGA (algal lawn) โดยเตรียมสารแขวนลอยของ *A. siamensis* TISTR 8012 ให้มีค่าความหนาแน่นของเซลล์ OD (optical density) ที่ 900 นาโนเมตร เท่ากับ 0.5 จากนั้นเทสารแขวนลอย *A. siamensis* TISTR 8012 นี้ ลงไปในอาหารวุ้น BGA ที่นึ่งฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว ทิ้งไว้ให้อุณหภูมิเย็นลงประมาณ 42 องศาเซลเซียส ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 5, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร ผสมให้เข้ากัน เทลงบนจานเพาะเชื้อรอจน algal lawn ของ *A. siamensis* TISTR 8012 แข็งตัว ใช้ปากคีบคีบแผ่นทดสอบที่ได้หยด gentamicin มาตรฐานเข้มข้นต่างๆ ที่ได้เตรียมไว้แล้วอย่างละ 2 แผ่น โดยวางในลักษณะแนวเส้นตรงเดียวกันแต่ทิศทางตรงกันข้าม (ทดสอบความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงไฟ (cool-white fluorescent lamp) ที่ความเข้มแสง 60 ไมโครไอสไตน์ต่อตารางเมตรต่อวินาที ตลอดเวลาเป็นเวลา 7 วัน วัดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญเติบโต (inhibition zone) ของ *A. siamensis* TISTR 8012 โดยวัดผ่านเส้นผ่าศูนย์กลางของแผ่นทดสอบ เลือกความเจือจางของสารแขวนลอย *A. siamensis* TISTR 8012 ที่ได้ทดลองแล้วให้ความกว้างของบริเวณยับยั้งการเจริญประมาณ 20 มิลลิลิตร คือให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 15 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร สำหรับใช้หากราฟมาตรฐานของ gentamicin แล้วนำไปใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพของสารต่อไป

1.4.2 วิธีการหากราฟมาตรฐานของ gentamicin โดยเตรียม algal lawn ของ *A. siamensis* TISTR 8012 จากนั้นใช้ไมโครปิเปตต์ปิเปตต์ gentamicin มาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ (ข้อ 1.1) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นทดสอบ ความเข้มข้นละ 2 แผ่นทดสอบ ใช้ปากคีบคีบแผ่นทดสอบที่หยด gentamicin ที่ความเข้มข้นต่างๆ เรียบร้อยแล้ว นำไปวางบนผิว algal

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

lawn ที่แข็งตัวแล้วในจานเพาะเชื้อ โดยวางในแนวเส้นตรงเดียวกัน แต่ทิศทางตรงกันข้าม สำหรับในแนวตั้งฉากกับแผ่นทดสอบที่หยด gentamicin ที่ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัม ต่อ 20 ไมโครลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร มาวางในลักษณะเดียวกัน ดังนั้น ในแต่ละจานเพาะเชื้อจะมีแผ่นทดสอบ 4 แผ่น ในตำแหน่งที่สมดุลกัน และทุกๆ จานเพาะเชื้อจะมีแผ่นทดสอบที่หยด gentamicin ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัม ต่อ 20 ไมโครลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน วัดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *A. siamensis* TISTR 8012 โดยวัดผ่านเส้นผ่าศูนย์กลางของแผ่นทดสอบ

1.4.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ เพื่อนำไปเขียนกราฟมาตรฐานของ gentamicin จากข้อ 1.4.2 หาค่าเฉลี่ยของความกว้างบริเวณยับยั้งที่เกิดจากการใช้ gentamicin มาตรฐาน ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัม ต่อ 20 ไมโครลิตร จากการทดลองทั้งหมด ดูความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทั้งหมดกับค่าเฉลี่ยที่ได้ในแต่ละจานเพาะเชื้อ ถ้าค่าเฉลี่ยทั้งหมดมีค่าน้อยกว่าให้นำค่าที่แตกต่างกันไปหักออกจากค่าเฉลี่ยของบริเวณยับยั้ง ที่เกิดสารที่มีความเข้มข้นอีกระดับหนึ่งในจานเพาะเชื้อเดียวกัน ในทางตรงกันข้าม ถ้าค่าเฉลี่ยทั้งหมดมีค่ามากกว่าให้นำค่าแตกต่างนั้นไปบวกเพิ่ม จากนั้นนำค่าความกว้างของบริเวณการยับยั้งซึ่งเกิดจาก gentamicin มาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ปรับค่าแล้วไปเขียนกราฟ semi-logarithmic graph paper และใช้วิธีเขียนกราฟตาม method of least squares (Crowe and Crowe, 1969) ตามสูตรและจากตารางผนวก ค-1

จาก $y = ab^x$

$\log y = \log a + X\log b$

$$\sum_{i=1}^{n} \log y_i = n(\log a) + (\log b)\sum_{i=1}^{n} x_i \qquad (1)$$

$$\sum_{i=1}^{n} x_i \log y_i = (\log a)\sum_{i=1}^{n} x_i + (\log b)\sum_{i=1}^{n} x_i^2 \qquad (2)$$

นำค่าจากตารางผนวก ค-1 แทนในสมการ (1) และ (2)

$$12.2127 = 14\log a + 335.23\log b \qquad (3)$$

$$347.9333 = 335.23\log a + 9225.6761\log b \qquad (4)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสมการ (3) และ (4) จะได้

	loga	=	- 0.2363
	logb	=	0.0463
จากความสัมพันธ์	logy	=	loga + xlogb
	logy	=	0.0463x – 0.2363
	x	=	$\frac{\text{logy + 0.2363}}{0.0463}$

แทนค่า y ตามค่าในตารางผนวกจะได้ค่า x เป็นค่าใหม่ ซึ่งเมื่อนำไปเขียนกราฟที่มีแกน Y เป็น log scale จะได้เส้นกราฟเป็นเส้นตรง ดังแสดงในภาพที่ ค-1

ตารางที่ ค-1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติสำหรับการเขียนกราฟมาตรฐานของ gentamicin ตาม method of least squares

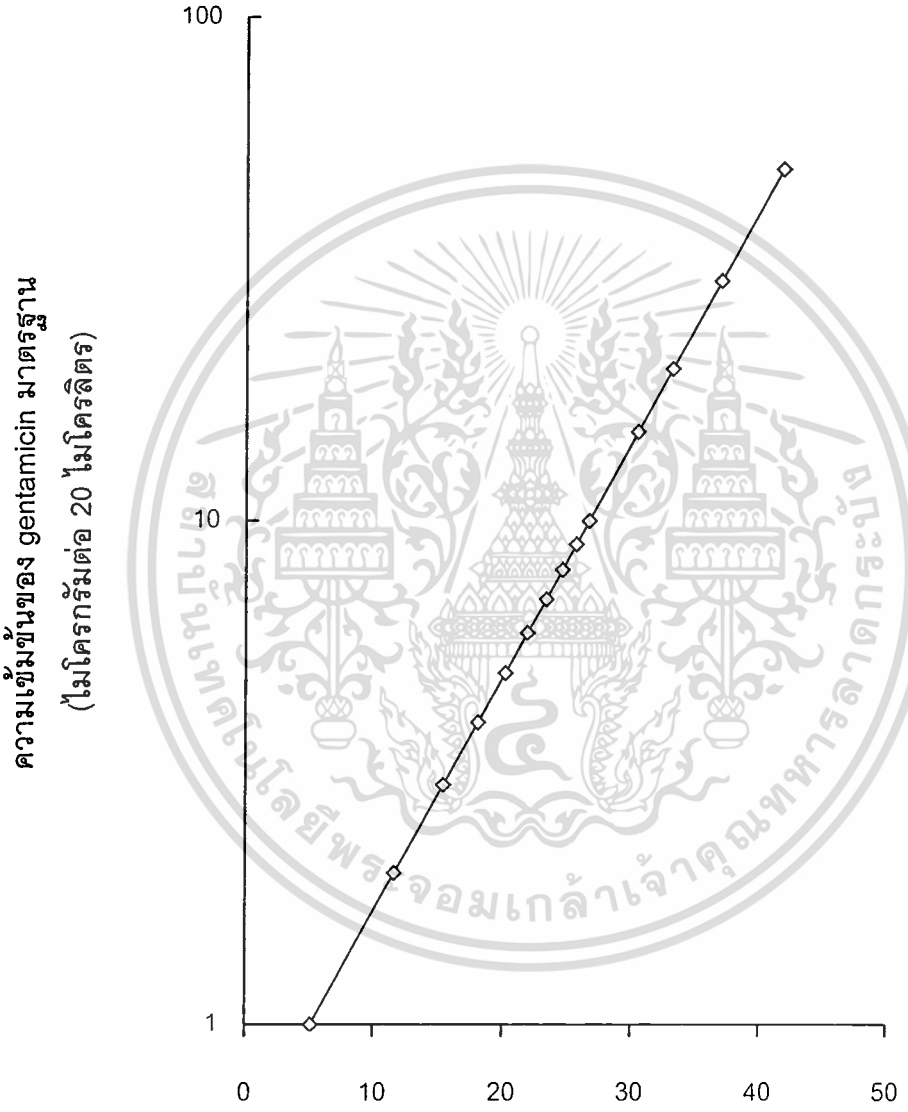
ลำดับข้อมูล	y_i	log y_i	x_i	x_i^2	x_i log y_i
1	1	0	8.07	65.1249	0
2	2	0.3010	15.07	227.1049	4.5361
3	3	0.4771	16.07	258.2449	7.6670
4	4	0.6020	17.57	308.7049	10.5771
5	5	0.6989	19.57	382.9849	13.6775
6	6	0.7782	19.82	392.8342	15.4239
7	7	0.8451	21.57	465.2649	18.2288
8	8	0.9.31	24.07	579.3649	21.7376
9	9	0.9542	25.07	628.5049	23.9218
10	10	1.0000	26.57	705.9649	26.5700
11	15	1.1761	28.57	816.2449	33.6012
12	20	1.0310	31.57	996.6649	41.0726
13	30	1.4771	35.07	1229.9049	51.8019
14	50	1.6989	46.57	2168.7649	79.1178
รวม		12.2127	335.23	9225.6761	347.9333

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

y = ความเข้มข้น gentamicin มาตรฐาน (ไมโครกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร)

x = ความกว้างของบริเวณยับยั้งการเจริญเติบโตของ *A. siamensis* TISTR 8012 (มิลลิเมตร)

ภาพที่ ค-1 กราฟมาตรฐานของ gentamicin



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

น้ำยาเคมีที่ใช้ในการทดสอบ

1. สารละลายบัฟเฟอร์ ความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 5

กรดแอซีติกเข้มข้น	5.6	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	900	มิลลิลิตร

ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างให้เท่ากับ 5

2. สารละลายนินไฮดริน

นินไฮดริน	0.2	กรัม
เอทิลแอลกอฮอล์	100	มิลลิลิตร

ละลายนินไฮดรินในเอทิลแอลกอฮอล์ 100 มิลลิลิตร ใส่ขวดเก็บไว้ในตู้เย็น

3. น้ำยาโมลิสช์

สารละลายแอลฟาแนพทอล 5 เปอร์เซ็นต์ ในเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ (ต้องเตรียมในวันทดลอง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

1. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักเฉลี่ยในวันที่ 4 ของหนอนเจาะสมอฝ้ายหลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่เก็บเกี่ยวได้ในช่วงเวลาต่างๆ ของการเพาะเลี้ยง

Group 1 น้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายในชุดควบคุม

Group 2 น้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้าย เมื่อได้รับสารสกัดที่เก็บเกี่ยวในวันที่ 15

Group 3 น้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้าย เมื่อได้รับสารสกัดที่เก็บเกี่ยวในวันที่ 16

Group 4 น้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้าย เมื่อได้รับสารสกัดที่เก็บเกี่ยวในวันที่ 17

Group 5 น้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้าย เมื่อได้รับสารสกัดที่เก็บเกี่ยวในวันที่ 18

Group 6 น้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้าย เมื่อได้รับสารสกัดที่เก็บเกี่ยวในวันที่ 19

Group 7 น้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้าย เมื่อได้รับสารสกัดที่เก็บเกี่ยวในวันที่ 20

Group 8 น้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้าย เมื่อได้รับสารสกัดที่เก็บเกี่ยวในวันที่ 21

Group 9 น้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้าย เมื่อได้รับสารสกัดที่เก็บเกี่ยวในวันที่ 23

Group 10 น้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้าย เมื่อได้รับสารสกัดที่เก็บเกี่ยวในวันที่ 25

ตารางที่ จ-1 การวิเคราะห์ความแปรปรวน สำหรับน้ำหนักเฉลี่ยในวันที่ 4 ของหนอนเจาะสมอฝ้าย หลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย ในการศึกษาหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไซยาโนแบคทีเรีย ที่มีต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย

Source of variation	Degree of Freedom	Sum of square	Mean of square	F - value
Treatment	9	39.6585	4.4065	
Experiment error	30	8.7894	0.2930	15.0403*
Total	39	48.4478		

Treatment น้ำหนักเฉลี่ยในวันที่ 4 ของหนอนเจาะสมอฝ้ายหลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่เก็บเกี่ยวได้ในช่วงเวลาต่างๆ ของการเพาะเลี้ยง

* แตกต่างกันอย่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-4 Duncan's Multiple Range Test สำหรับน้ำหนักเฉลี่ยในวันที่ 4 ของหนอนเจาะสมอฝ้าย หลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

The difference between two means is significant if

MEAN (J) – MEAN (I) >= 1.2596 * RANGE * SQRT (1/N(I) + 1/N(J))

with the following value(s) for RANGE :

Homogenous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1 :

Group	Group 7	Group 6	Group 5	Group 4
Mean	0.1000	0.2000	0.6680	1.9060

Subset 2 :

Group	Group 5	Group 4	Group 3
Mean	0.6680	1.9060	2.9160

Subset 3 :

Group	Group 3	Group 2
Mean	2.9160	4.5160

Subset 4 :

Group	Group 1
Mean	7.9140

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ค่าความแปรปรวนของค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ของหนอนเจาะสมอฝ้ายหลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ ในการศึกษาผลของสารสกัดต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายในระยะยาว

3.1 ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักเฉลี่ยในวันที่ 7 และน้ำหนักสูงสุดเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายหลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการศึกษาผลของสารสกัดต่อการเจริญเติบโตของหนอนเจาะสมอฝ้ายในระยะยาว

3.1.1 ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักเฉลี่ยในวันที่ 7 ของหนอนเจาะสมอฝ้ายหลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ ในการศึกษาผลของสารสกัดต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายในระยะยาว

3.1.2 ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดของหนอนเจาะสมอฝ้ายหลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ ในการศึกษาผลของสารสกัดต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายในระยะยาว

Group 1 น้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้ายในชุดควบคุม

Group 2 น้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้าย หลังจากได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล

Group 3 น้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้าย หลังจากได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล

Group 4 น้ำหนักเฉลี่ยของหนอนเจาะสมอฝ้าย หลังจากได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล

ตารางที่ จ-5 การวิเคราะห์ความแปรปรวน สำหรับน้ำหนักเฉลี่ยในวันที่ 7 ของหนอนเจาะสมอฝ้าย หลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ

Source of variation	Degree of Freedom	Sum of square	Mean of square	F - value
Treatment	3	109511.9503	36503.9834	
Experiment error	16	7584.0652	474.0041	77.0120*
Total	19	117096.0155		

Treatment น้ำหนักเฉลี่ยในวันที่ 7 ของหนอนเจาะสมอฝ้ายหลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

* แตกต่างกันอย่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-6 Duncan's Multiple Range Test สำหรับน้ำหนักเฉลี่ยในวันที่ 7 ของหนอนเจาะสมอฝ้าย หลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

The difference between two means is significant if

MEAN (J) – MEAN (I) >= 15.3949 * RANGE * SQRT (1/N(I) + 1/N(J))

with the following value(s) for RANGE :

Homogenous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1 :

Group Group 4

Mean 34.7980

Subset 2 :

Group Group 3

Mean 80.4940

Subset 3 :

Group Group 2

Mean 141.1040

Subset 4 :

Group Group 1

Mean 232.5020

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-7 การวิเคราะห์ความแปรปรวน สำหรับน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดของหนอนเจาะสมอฝ้าย หลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

Source of variation	Degree of Freedom	Sum of square	Mean of square	F - value
Treatment	3	4694.7839	1564.9280	
Experiment error	16	9293.7527	580.8595	2.6942*
Total	19	13988.5366		

Treatment น้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดของหนอนเจาะสมอฝ้ายหลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

* แตกต่างกันอย่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ จ-8 Duncan's Multiple Range Test สำหรับน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดของหนอนเจาะสมอฝ้าย หลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

The difference between two means is significant if

MEAN (J) – MEAN (I) >= 17.0420 * RANGE * SQRT (1/N(I) + 1/N(J))

with the following value(s) for RANGE :

Homogenous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1 :

Group	Group 4	Group 3	Group 2
Mean	434.7300	435.6340	457.2660

Subset 2 :

Group	Group 2	Group 1
Mean	457.2660	471.1420

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 ค่าความแปรปรวนของระยะเวลาในการเป็นหนอน ของหนอนเจาะสมอฝ้ายหลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ ในการศึกษาผลของสารสกัดต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายในระยะยาว

Group 1 ระยะเวลาในการเป็นหนอนของหนอนเจาะสมอฝ้ายในชุดควบคุม

Group 2 ระยะเวลาในการเป็นหนอนของหนอนเจาะสมอฝ้าย หลังจากได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล

Group 3 ระยะเวลาในการเป็นหนอนของหนอนเจาะสมอฝ้าย หลังจากได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล

Group 4 ระยะเวลาในการเป็นหนอนของหนอนเจาะสมอฝ้าย หลังจากได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล

ตารางที่ จ-9 การวิเคราะห์ความแปรปรวน สำหรับระยะเวลาในการเป็นหนอนของหนอนเจาะสมอฝ้าย หลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

Source of variation	Degree of Freedom	Sum of square	Mean of square	F - value
Treatment	3	56.7687	18.9229	
Experiment error	16	12.5289	0.7831	24.1655*
Total	19	69.2976		

Treatment ระยะเวลาในการเป็นหนอนของหนอนเจาะสมอฝ้ายหลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

* แตกต่างกันอย่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-10 Duncan's Multiple Range Test สำหรับระยะเวลาในการเป็นหนอน ของหนอนเจาะสมอฝ้าย หลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

The difference between two means is significant if

MEAN (J) – MEAN (I) >= .6257 * RANGE * SQRT (1/N(I) + 1/N(J))

with the following value(s) for RANGE :

Homogenous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1 :

Group	Group 1	Group 2
Mean	14.1100	14.8640

Subset 2 :

Group	Group 3
Mean	16.3280

Subset 3 :

Group	Group 4
Mean	18.5280

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-12 Duncan's Multiple Range Test สำหรับน้ำหนักเฉลี่ยของดักแด้ ของหนอนเจาะสมอฝ้าย หลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

The difference between two means is significant if

MEAN (J) – MEAN (I) >= 11.1654 * RANGE * SQRT (1/N(I) + 1/N(J))

with the following value(s) for RANGE :

Homogenous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1 :

Group	Group 3	Group 4	Group 2
Mean	274.1160	278.3460	281.0380

Subset 2 :

Group	Group 4	Group 2	Group 1
Mean	278.3460	281.0380	297.4900

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 ค่าความแปรปรวนของระยะเวลาในการเข้าดักแด้ของหนอนเจาะสมอฝ้าย หลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ ในการศึกษาผลของสารสกัดต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายในระยะยาว

Group 1 ระยะเวลาในการเข้าดักแด้ของหนอนเจาะสมอฝ้ายในชุดควบคุม

Group 2 ระยะเวลาในการเข้าดักแด้ของหนอนเจาะสมอฝ้าย หลังจากได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล

Group 3 ระยะเวลาในการเข้าดักแด้ของหนอนเจาะสมอฝ้าย หลังจากได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล

Group 4 ระยะเวลาในการเข้าดักแด้ของหนอนเจาะสมอฝ้าย หลังจากได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสารสกัดต่อปริมาตรเมทานอล

ตารางที่ จ-13 การวิเคราะห์ความแปรปรวน สำหรับระยะเวลาในการเข้าดักแด้ ของหนอนเจาะสมอฝ้าย หลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ

Source of variation	Degree of Freedom	Sum of square	Mean of square	F - value
Treatment	3	1.0456	0.3485	
Experiment error	16	1.0723	0.0670	5.2003
Total	19	2.1179		

Treatment ระยะเวลาในการเข้าดักแด้ของหนอนเจาะสมอฝ้ายหลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

* แตกต่างกันอย่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-14 Duncan's Multiple Range Test สำหรับระยะเวลาในการเข้าดักแด้ ของหนอนเจาะสมอฝ้าย หลังจากได้รับสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

The difference between two means is significant if

MEAN (J) – MEAN (I) >= .1831 * RANGE * SQRT (1/N(I) + 1/N(J))

with the following value(s) for RANGE :

Homogenous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1 :

Group	Group 1	Group 3	Group 2
Mean	9.9740	10.0160	10.1180

Subset 2 :

Group	Group 4
Mean	10.5500

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-16 Duncan's Multiple Range Test สำหรับน้ำหนักเฉลี่ยในวันที่ 4 ของหนอนเจาะสมอฝ้ายหลังจากได้รับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากไซยาโนแบคทีเรีย ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีทินแลเยอร์โครมาโตกราฟฟี

The difference between two means is significant if

MEAN (J) – MEAN (I) >= 1.8910 * RANGE * SQRT (1/N(I) + 1/N(J))

with the following value(s) for RANGE :

Homogenous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1 :

Group	Group 7	Group 5
Mean	1.5620	2.4200

Subset 2 :

Group	Group 4	Group 1	Group 6	Group 3	Group 2
Mean	8.5900	9.0300	10.0420	10.9180	11.3360

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวจิราภรณ์ พลชัย เกิดเมื่อวันที่ 15 มีนาคม พ.ศ. 2516 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีการเกษตร) จากมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ปีการศึกษา 2537

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้