ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ตัวอย่างต้นหนอนตายหยาก และราเอนโดไฟท์จากต้นหนอนตายหยาก

ต้นหนอนตายหยากจากพื้นที่ต่าง ๆ ในภาคเหนือ (ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดลำพูน) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ได้แก่จังหวัดนครราชสีมา และจังหวัดเลย) ภาคตะวันออก (ได้แก่ จังหวัด ระยอง และ ชลบุรี) จำนวนตัวอย่างและชนิดของต้นหนอนตายหยากที่เก็บจากพื้นที่ต่าง ๆได้สรุปไว้ใน ตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สถานที่เก็บตัวอย่าง ชนิด (species) และจำนวนของตัวอย่างต้นหนอนตายหยาก

สถานที่เก็บตัวอย่าง	ชนิด (species) และ จำนวนต้นหนอนตายหยาก			
	S. burkilii	*S. colinsae*	*S. kerii*	*S. tuberosa*
อ. แม่แตง และ อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่	49	-	61	-
อ. ลี้ จ. ลำพูน	49	-	-	2
อ. ปักธงชัย จ. นครราชสีมา	-	66	-	-
อ. นาแห้ว จ. เลย	8	-	-	-
อ. ศรีราชา จ. ชลบุรี	-	12	-	-
อ. วังจันทร์ จ. ระยอง	-	6	-	-
รวม	106	84	61	2

จากการเก็บตัวอย่างต้นหนอนตายหยากพบว่าในแต่ละพื้นที่จะมีต้นหนอนตายหยากเพียง1 หรือ 2 ชนิด (species) ในบริเวณเดียวกัน โดยต้นหนอนตายหยากเหล่านี้จะอยู่รวมกันเป็นกลุ่มในป่าไผ่หรือป่าที่มีต้นไม้ไม่หนาทึบมาก

เมื่อนำตัวอย่างพืชกว่า 250 ตัวอย่างมาแยกราเอนโดไฟท์จาก ใบ ลำต้น และราก พบว่าราเอนโดไฟท์ที่แยกจากส่วนใบและต้นของพืชมีจำนวนมากกว่าราที่แยกจากรากมาก ดังแสดงในตารางที่ 2 อาจเนื่องจากที่ใบและก้านของพืชมีสารอาหารที่เกิดจากการสังเคราะห์แสงมากกว่าในราก เช่นที่พบในพืชกลุ่มกล้วยไม้ (Bayman และคณะ, 1997) นอกจากนั้น มีรายงานที่พบว่าในรากของต้นหนอนตายหยากมีสารอัลคาลอยด์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราบางชนิดได้ ที่อาจส่งผลต่อการอาศัยของราเอนโดไฟท์ในพืชเจ้าบ้านได้ด้วย

ตารางที่ 2 จำนวนราเอนโดไฟท์แยกได้จากใบ ต้น และ ราก

สถานที่เก็บ/รหัสขึ้นต้น	ชนิดของต้นหนอนตายหยาก	จำนวนราเอนโดไฟท์	
		จากใบและกิ่ง	จากราก
อ. นาแห้ว จ. เลย/ NHL	*S. burkilii*	66	-
อ. แม่แตง จ. เชียงใหม่/ MR, MP, ML	*S. burkilii,* *S. kerri*	20	5
อ. ลี้ จ. ลำพูน / LL, LP	*S. tuberosa ,* *S. burkiliic*	11	-
อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่ / CM	*S. kerii,* *S. burkilii*	11	-
อ. ปักธงชัย จ. นครราชสีมา/ SERS	*S. colinsae*	27	7
อ. ศรีราชา จ. ชลบุรี/SR	*S. colinsae*	12	-
อ. วังจันทร์ จ. ระยอง / RY	*S. colinsae*	14	1
	รวม	161	13

2. ผลการทดสอบสารชีวภาพที่สามารถควบคุมหนอนกระทู้หอมในน้ำหมักของราเอนโดไฟท์

เมื่อได้ราเอนโดไฟท์ที่ไม่มีการปนเปื้อน (pure culture) แล้ว จึงนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว modified MID นาน 14 วัน ที่ 28 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที หลังจากแยกเอาเส้นใยของราออกจากน้ำหมักแล้ว จึงนำน้ำหมักปริมาตร 500 ไมโครลิตรมาทดสอบความสามารถในการสร้างสารควบคุมหนอนกระทู้หอมโดยผสมในอาหารที่เลี้ยงหนอนกระทู้หอม และใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อและอาหารเลี้ยงเชื้อ modified MID เป็นชุดควบคุม (control) ซึ่งจากการทดสอบพบว่า ไม่มีหนอนตายภายในเวลา 14 วันในชุดควบคุม

จากผลการทดลองพบว่าราเอนโดไฟท์ทุกตัวที่แยกได้จากต้นหนอนตายหยากสามารถสร้างสารที่ควบคุมหนอนกระทู้หอมได้ มีเพียงราเอนโดไฟท์ 1 ไอโซเลทคือราเอนโดไฟท์รหัส RYL-SB 1-1ที่ไม่สามารถสร้างสารที่ฆ่าหนอนกระทู้หอมได้ภายใน 14 วัน ส่วนราอีก 173 ไอโซเลท สามารถฆ่าหนอน

กระทู้หอมได้ ด้วยประสิทธิภาพที่ต่างกัน ผู้วิจัยจึงแบ่งราเอนโดไฟท์เป็นกลุ่ม ตามประสิทธิภาพของสารชีวภาพในการควบคุมหนอนกระทู้หอมของราเอนโดไฟท์ ดังต่อไปนี้

1. กลุ่มที่สร้างสารที่ทำให้หนอนกระทู้หอมตายน้อยกว่า 50% ภายในเวลา 14 วัน (ตารางที่ 3)
2. กลุ่มที่สร้างสารที่ทำให้หนอนกระทู้หอมตายอย่างน้อย 50% ภายใน 14 วันซึ่งแบ่งย่อยเป็น

2.1 กลุ่มที่สร้างสารที่ทำให้หนอนกระทู้หอมตาย**น้อยกว่า 10%** ใน 7 วันแรกของการทดสอบและทำให้หนอนกระทู้หอมตายอย่างน้อย 50% ภายใน 14 วันของการทดสอบ (ตารางที่ 4)

2.2 กลุ่มที่สร้างสารที่ทำให้หนอนกระทู้หอมตาย**มากกว่า 25%** ใน 7 วันแรกของการทดสอบและทำให้หนอนกระทู้หอมตายอย่างน้อย 50% ภายใน 14 วันของการทดสอบ (ตารางที่ 5)

1. กลุ่มที่สร้างสารที่ทำให้หนอนกระทู้ตายน้อยกว่า 50% ภายในเวลา 14 วัน

ราเอนโดไฟท์ในกลุ่มที่ 1 นี้สร้างสารที่ฆ่าหนอนกระทู้หอมน้อยกว่า 50% ภายในเวลา 14 วันของการทดสอบ และเป็นรากลุ่มใหญ่ที่สุด ซึ่งมีทั้งสิ้นมากถึง 141 ไอโซเลท หรือประมาณ 81% ดังแสดงในตารางที่ 3 ราเอนโดไฟท์ในกลุ่มนี้เป็นราที่แยกได้จากต้นหนอนตายหยากจากทุกชนิด (species) และทุกพื้นที่ที่เก็บตัวอย่าง ได้แก่ จ. เลย (อ. นาแห้ว), จ. เชียงใหม่ (อ. แม่แตง, อ. แม่ริม), จ. ชลบุรี (อ. ศรีราชา), จ. ระยอง (อ. วังจันทร์) และ จ. นครราชสีมา (อ. ปักธงชัย) เนื่องจากราเหล่านี้สร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่มีฤทธิ์และ/หรือปริมาณสารไม่มากเพียงพอในการทำให้หนอนกระทู้หอมตายในเวลาอันสั้นอาจเนื่องจากอาหารและสภาวะที่ใช้เลี้ยงราในการทดลองนี้ไม่กระตุ้นให้ราสร้างสารชีวภาพที่มีฤทธิ์ในการฆ่าหนอนกระทู้ อย่างไรก็ตาม อาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะที่ใช้เลี้ยงเชื้อในการทดลองนี้ เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะที่ผู้วิจัยใช้ในการกระตุ้นให้ราสร้างสารทุติยภูมิได้ดี และผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการใช้อาหารและสภาวะการเลี้ยงเชื้อนี้ ในการทดสอบหาสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในพืช (ชัยวัฒน์และคณะ, 2550; นลินและคณะ, 2552)และคน (ข้อมูลยังไม่ได้เผยแพร่)

เมื่อพิจารณาการสร้างสารยับยั้งหนอนกระทู้หอมของรากลุ่มนี้หลังจากเลี้ยงในอาหารเหลวพบว่าสารชีวภาพที่ผลิตโดยราเอนโดไฟท์บางไอโซเลทไม่สามารถยับยั้งหนอนกระทู้หอมได้เลยภายใน 7 วันของการทดสอบ อัตราการตาย (%mortality) ของหนอนกระทู้หอมที่กินอาหารที่มีสารชีวภาพของราเอนโดไฟท์ผสมอยู่จึงเป็นศูนย์ และราเอนโดไฟท์ที่สร้างสารยับยั้งหนอนกระทู้หอมได้ดีที่สุดในกลุ่มนี้สามารถทำให้อัตราการตายของหนอนสูงเพียง 17.5% ในวันที่ 7 เป็นที่น่าสังเกตว่าเมื่อเปรียบเทียบอัตราการตายของหนอนกระทู้หอมจากการกินสารชีวภาพที่ราเอนโดไฟท์สร้างขึ้นในวันที่ 7 และ 14 จะเห็นได้ว่า อัตราการตายสูงมากขึ้นหลายเท่าตัว ในวันที่ 14 ดังนั้นสารชีวภาพที่ออกฤทธิ์ที่ราเอนโดไฟท์กลุ่มนี้สร้างขึ้นนั้นอาจเป็นสารที่มีฤทธิ์ฆ่าหนอนไม่สูงมากนัก และ/หรือออกฤทธิ์ช้าในการฆ่าหนอนกระทู้หอม เมื่อหนอนกระทู้หอมกินอาหารที่มีสารเหล่านี้เข้าไปเป็นจำนวนมาก หรือต้องใช้ระยะเวลาในการออกฤทธิ์จึงทำให้มีอัตราการตายสูงขึ้นมากในวันที่ 14 ของการทดสอบ

ตารางที่ 3 แสดงผลการทดสอบสารชีวภาพจากราเอนโดไฟท์ที่มีผลทำให้หนอนกระทู้หอมตายน้อยกว่า 10 % ภายใน 7 วัน และน้อยกว่า 50 % ภายใน 14 วัน

ลำดับ	รหัส	ภายใน 7 วัน		ภายใน 14 วัน	
		จำนวนหนอนที่ตาย (ตัว) ±SE	% Mortality ±SE	จำนวนหนอนที่ตาย (ตัว) ±SE	% Mortality ±SE
1.	NHL2/11-P2	2.00±1.00	5.00±2.50	17.00±2.00	42.50±5.00
2.	NHL1/7-L1	1.50±0.50	3.75±1.25	9.00±0.00	22.5±0.00
3.	NHL1/ 7-L2	3.50±0.50	8.75±1.25	15.50±0.50	38.75±1.25
4.	NHL1/14-L1	2.00±1.50	5.00±2.50	8.50±0.50	21.25±1.25
5.	NHL1/17-P1	0.50±0.50	1.25±1.25	17.00±1.00	42.50±2.50
6.	NHL1/26-L1	3.50±1.50	8.75±3.75	11.50±1.50	28.75±3.75
7.	NHL1/26-P3	0.50±0.50	1.25±1.25	1.50±0.50	3.75±1.25
8.	NHL1/27-L1	2.00±1.00	5.00±2.50	16.50±0.50	41.25±1.25
9.	NHL1/9-P2	0.50±0.50	1.25±1.25	6.50±1.50	16.25±3.75
10.	NHL1/5-L2	1.00±1.00	2.50±2.50	15.50±0.50	38.78±1.25
11.	NHL1/10-L1	1.50±0.50	3.75±1.25	14.00±1.00	35.00±2.50
12.	NHL1/13-L2	1.00±1.00	2.50±2.50	4.00±1.00	10.00±2.50
13.	NHL1/28-P1	1.00±0.00	2.50±0.00	2.00±0.00	5.00±0.00
14.	NHL2/7-L2	3.00±0.00	7.50±0.00	14.00±2.00	35.00±5.00
15.	NHL1/22-L1	0.50±0.50	1.25±1.25	5.50±1.50	13.75±3.75
16.	NHL1/22-L2	0.50±0.50	1.25±1.25	15.50±1.50	38.75±3.75
17.	NHL1/22-P2	1.50±0.50	3.75±1.25	5.50±1.50	13.75±3.75
18.	NHL1/22-P3	1.50±0.50	3.75±1.25	13.50±1.50	33.75±3.75
19.	NHL1/23-L2	1.50±0.50	3.75±1.25	4.50±1.50	11.25±3.75
20.	NHL1/23-P1	1.00±0.00	2.50±0.00	3.50±0.50	8.75±1.25

ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ ใช้หนอนกระทู้หอมซ้ำละ 40 ตัว

SE = Standard Error

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ลำดับ	รหัส	ภายใน 7 วัน		ภายใน 14 วัน	
		จำนวนหนอนที่ตาย (ตัว) ±SE	% Mortality ±SE	จำนวนหนอนที่ตาย (ตัว) ±SE	% Mortality ±SE
21.	NHL1/23-P3	2.50±0.50	6.25±1.25	10.00±1.00	25.00±2.50
22.	NHL1/28-P2	1.00±1.00	2.50±2.50	1.50±0.50	3.75±1.25
23.	NHL1/28-L1	1.50±0.50	3.75±1.25	8.50±0.50	21.25±1.25
24.	NHL1/12-L1	0.50±0.50	1.25±1.25	3.50±0.50	8.75±1.25
25.	MR-SK 5	0.00±0.00	0.00±0.00	2.50±0.50	6.25±1.25
26.	MR-SB 9	0.50±0-50	1.25±1.25	13.50±0.50	33.75±1.25
27.	LP-SB 48-1	0.50±0.50	1.25±1.25	11.50±1.50	28.75±3.75
28.	ML-SB 41-3	1.00±0.00	2.50±0.00	4.50±0.50	11.25±1.25
29.	MP-SB 41-2	0.50±0.50	1.25±1.25	2.50±0.50	6.25±1.25
30.	ML-SB 31	1.50±0.50	3.75±1.25	6.50±1.50	16.25±1.25
31.	MP-SB 28	3.50±1.50	8.75±3.75	5.50±0.50	13.75±1.25
32.	ML-SB 26	2.00±0.00	5.00±0.00	14.00±2.00	35.00±5.00
33.	LL-SB 23-3	0.50±0.50	1.25±1.25	12.50±0.50	31.25±1.25
34.	MP-SB 16-2	2.50±1.50	6.25±3.75	18.50±3.50	46.25±8.75
35.	LL-SB 10-2	1.00±1.00	2.50±2.50	8.00±3.00	20.00±7.50
36.	LP-SB 9-2	0.50±0.50	1.25±1.25	0.50±0.50	1.25±1.25
37.	LL-SB 9-1	0.50±0.50	1.25±1.25	15.00±1.00	37.50±2.50
38.	ML-SB 5	1.00±1.00	2.50±2.50	7.00±0.00	17.50±0.00
39.	ML-SB 2-1	1.00±0.00	2.50±0.00	17.00±0.00	42.50±0.00
40.	MR-SB 36	1.50±0.50	3.75±1.25	12.00±0.00	30.00±0.00

ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ ใช้หนอนกระทู้หอมซ้ำละ 40 ตัว

SE = Standard Error

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ลำดับ	รหัส	ภายใน 7 วัน		ภายใน 14 วัน	
		จำนวนหนอนที่ตาย (ตัว) ±SE	% Mortality ±SE	จำนวนหนอนที่ตาย (ตัว) ±SE	% Mortality ±SE
41.	MP-SB 34-2	2.00±1.00	5.00±2.50	8.00±2.00	20.00±5.00
42.	LL-SB 30-2	2.50±0.50	6.25±1.25	16.00±0.00	40.00±0.00
43.	MP-SB 7-5	1.00±0.00	2.50±0.00	14.50±0.50	36.25±1.25
44.	LL-SB 18	2.50±0.50	6.25±1.25	4.50±1.50	1.25±3.75
45.	ML-SB 2-2	2.00±1.00	5.00±2.50	15.00±0.00	37.50±0.00
46.	MP-SK 40-1	2.50±0.50	6.25±1.25	11.50±0.50	28.75±1.25
47.	MP-SK 31	3.50±1.50	8.75±3.75	18.50±1.50	46.25±3.75
48.	MP-SK 5-3	3.50±0.50	8.75±1.25	19.00±0.00	47.50±0.00
49.	MP-SK 58	3.50±2.50	8.75±6.25	13.50±2.50	33.75±6.25
50.	CM 2	1.50±1.50	3.75±3.75	8.50±0.50	21.25±1.25
51.	CM 3	1.00±0.00	2.50±0.00	15.00±0.00	37.50±0.00
52.	CM 4	0.00±0.00	0.00±0.00	3.00±1.00	7.50±2.50
53.	CM 6	2.50±0.50	6.25±1.25	5.50±0.50	13.75±1.25
54.	CM 8	3.00±0.00	7.50±0.00	19.00±0.00	47.50±0.00
55.	CM 10	0.50±0.50	1.25±1.25	8.50±0.50	21.25±1.25
56.	CM 13	2.00±1.00	5.00±2.50	7.00±0.00	17.50±0.00
57.	CM 15	1.50±1.50	3.75±3.75	10.50±0.50	26.25±1.25
58.	CM 17	1.00±0.00	2.50±0.00	19.00±1.00	47.50±2.50
59.	CM 19	0.00±0.00	0.00±0.00	9.50±0.50	23.75±1.25
60.	NHL-L 3/1	0.00±0.00	0.00±0.00	9.50±0.50	23.75±1.25

ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ ใช้หนอนกระทู้หอมซ้ำละ 40 ตัว

SE = Standard Error

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ลำดับ	รหัส	ภายใน 7 วัน		ภายใน 14 วัน	
		จำนวนหนอนที่ตาย (ตัว) ±SE	% Mortality ±SE	จำนวนหนอนที่ตาย (ตัว) ±SE	% Mortality ±SE
61.	NHL-L 3/2	0.50±0.50	1.25±1.25	9.00±2.00	22.50±5.00
62.	NHL-L 3/3	0.00±0.00	0.00±0.00	3.00±1.00	7.50±2.50
63.	NHL-L 4/1	0.50±0.50	1.25±1.25	6.50±0.50	16.25±1.25
64.	NHL-P 5/1	0.50±0.50	1.25±1.25	8.00±1.00	20.00±2.50
65.	NHL-P 5/2	0.50±0.50	1.25±1.25	4.50±4.50	11.25±11.25
66.	NHL-L 5/4	1.00±0.00	2.50±0.00	7.00±0.00	17.50±0.00
67.	NHL-L 6/1	2.50±1.50	6.25±3.75	16.00±1.00	40.00±2.50
68.	NHL-L 6/2	3.50±0.50	8.75±1.25	18.00±1.00	45.00±2.50
69.	NHL-L 6/3	2.00±2.00	5.00±5.00	15.50±0.50	38.75±1.25
70.	NHL-L 6/4	2.00±1.00	5.00±2.50	14.00±3.00	35.00±7.50
71.	NHL-L 6/5	0.50±0.50	1.25±1.25	11.50±0.50	28.75±1.25
72.	NHL-L 6/6	3.00±1.00	7.50±2.50	16.50±0.50	41.25±1.25
73.	SR-L 1	1.00±1.00	2.50±2.50	7.50±0.50	18.75±1.25
74.	SR-L 2/1	2.00±0.00	5.00±0.00	5.50±0.50	13.75±1.25
75.	SR-L 2/2	0.00±0.00	0.00±0.00	7.50±0.50	18.75±1.25
76.	SR-L 3/1	1.50±1.50	3.75±3.75	11.50±0.50	28.75±1.25
77.	SR-P 8/1	3.50±0.50	8.75±1.25	17.50±0.50	43.75±1.25
78.	SR-P 6	1.00±0.00	2.50±0.00	13.00±2.00	32.50±5.00
79.	SR-P 5/1	2.50±0.50	6.25±1.25	17.50±1.50	43.75±3.75
80.	SR-L 5/2	1.00±1.00	2.50±2.50	5.50±0.50	13.75±1.25

ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ ใช้หนอนกระทู้หอมซ้ำละ 40 ตัว

SE = Standard Error

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ลำดับ	รหัส	ภายใน 7 วัน		ภายใน 14 วัน	
		จำนวนหนอนที่ตาย (ตัว) ±SE	% Mortality ±SE	จำนวนหนอนที่ตาย (ตัว) ±SE	% Mortality ±SE
81.	SR-P 8/2	2.00±1.00	5.00±2.50	6.00±1.00	15.00±2.50
82.	SR-L 12	0.00±0.00	0.00±0.00	9.50±1.50	23.75±3.75
83.	RYL-SB 4-4	2.50±0.50	6.25±1.25	5.00±0.00	12.50±0.00
84.	RYL-SB 1-11	2.00±0.00	5.00±0.00	9.50±0.50	23.75±1.25
85.	RYL-SB 2-5	0.50±0.50	1.25±1.25	14.50±0.50	36.25±1.25
86.	RYL-SB 1-10	2.00±1.00	5.00±2.50	10.00±0.00	25.00±0.00
87.	RYP-SB 1-12	0.00±0.00	0.00±0.00	6.00±0.00	15.00±0.00
88.	RYL-SB 2-1	0.00±0.00	0.00±0.00	3.00±1.00	7.50±2.50
89.	RYR-SB 6-4	3.50±1.25	8.75±3.75	19.50±0.50	48.75±1.25
90.	RYL-SB 4-2	2.00±0.00	5.00±0.00	11.50±0.50	28.75±1.25
91.	RYL-SB 1-2	3.00±1.00	7.50±2.50	18.00±1.00	45.00±2.50
92.	RYL-SB 6-3	0.00±0.00	0.00±0.00	5.00±0.00	12.50±0.00
93.	RYP-SB 3-2	0.50±0.50	1.25±1.25	8.00±0.00	20.00±0.00
94.	SERS-P 4/28-1	2.00±0.00	5.00±0.00	9.00±1.00	22.50±2.50
95.	SERS-P 4/28-2	1.50±0.50	3.75±1.25	5.00±1.00	12.50±2.50
96.	SERS-P 1/1-7	1.00±0.00	2.50±0.00	12.00±1.00	30.00±2.50
97.	SERS-L 1/5-2	2.50±1.50	6.25±3.75	3.00±1.00	7.50±2.50
98.	SERS-P4/12-1	0.50±0.50	1.25±1.25	6.50±1.50	16.25±3.75
99.	SERS-P 4/33-1	2.00±0.00	5.00±0.00	8.50±0.50	21.25±1.25
100.	SERS-P 4/9-1	1.00±0.00	2.50±0.00	10.00±0.00	25.00±0.00

ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ ใช้หนอนกระทู้หอมซ้ำละ 40 ตัว

SE = Standard Error

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ลำดับ	รหัส	ภายใน 7 วัน		ภายใน 14 วัน	
		จำนวนหนอนที่ตาย (ตัว) ±SE	% Mortality ±SE	จำนวนหนอนที่ตาย (ตัว) ±SE	% Mortality ±SE
101.	SERS-L 1/14-3	1.50±0.50	3.75±1.25	19.50±1.50	48.75±3.75
102.	SERS-P4/35-1	3.50±1.50	8.75±3.75	10.00±0.00	25.00±0.00
103.	SERS-P 4-32-2	2.50±0.50	6.25±1.25	10.00±1.00	25.00±2.50
104.	SERS-P4/24-1	3.50±2.50	8.75±6.25	13.50±2.50	33.75±6.25
105.	SERS-L 4/18-4	0.00±0.00	0.00±0.00	3.00±0.00	7.50±0.00
106.	SERS-L 4/18-5	0.50±0.50	1.25±1.25	15.00±1.00	37.50±2.50
107.	SERS-P 4/11-2	3.50±0.50	8.75±1.25	17.00±0.00	42.50±0.00
108.	SERS-R 1/9-1	3.00±1.00	7.50±2.50	19.00±0.00	47.50±0.00
109.	SERS-L 1/11-4	1.50±0.50	3.75±1.25	3.50±1.50	8.75±3.75
110.	SERS-P 4/15-1	3.50±0.50	8.75±1.25	14.50±1.50	36.25±3.75
111.	SERS-R 4/22/1-1	1.00±0.00	2.50±0.00	6.50±0.50	16.25±1.25
112.	SERS-L 1/8-3	0.00±0.00	0.00±0.00	7.00±1.00	17.50±2.50
113.	SERS-P 4/14-1	0.00±0.00	0.00±0.00	5.00±1.00	12.50±2.50
114.	SERS-R 1/4-1	1.50±0.50	3.75±1.25	4.00±0.00	10.00±0.00
115.	SERS-R 1/5-1	1.50±0.50	3.75±1.25	7.00±0.00	17.50±0.00
116.	SERS-P 4/10-1	2.50±0.50	6.25±1.25	19.50±0.50	48.75±1.25
117.	SERS-P1/13-2	1.50±1.50	3.75±3.75	8.50±0.50	21.25±1.25
118.	SERS-P 4/7-2	1.50±1.50	3.75±3.75	10.50±0.50	26.25±1.25
119.	SERS-L 1/8-1	1.00±1.00	2.50±2.50	11.50±1.50	28.75±3.75
120.	SERS-L 4/7-4	1.00±1.00	2.50±2.50	10.00±2.00	25.00±5.00
121.	SERS-P 4/5-1	1.00±0.00	2.50±0.00	19.00±1.00	47.50±2.50

ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ ใช้หนอนกระทู้หอมซ้ำละ 40 ตัว

SE = Standard Error

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ลำดับ	รหัส	ภายใน 7 วัน		ภายใน 14 วัน	
		จำนวนหนอนที่ตาย (ตัว) ±SE	% Mortality ±SE	จำนวนหนอนที่ตาย (ตัว) ±SE	% Mortality ±SE
122.	NHL2/11-L1	4.50±0.50	11.25±1.25	7.00±0.00	17.50±0.00
123.	NHL1/26-L2	4.50±0.50	11.25±1.25	15.00±2.00	37.50±5.00
124.	NHL1/27-L2	4.50±1.50	11.25±3.75	17.00±1.00	42.50±2.50
125.	NHL1/13-L1	4.00±1.00	10.00±2.50	14.50±0.50	36.25±1.25
126.	NHL2/7-L4	4.00±0.00	10.00±0.00	19.50±0.50	48.75±1.25
127.	NHL1/23-P2	5.00±1.00	12.50±2.50	17.50±1.50	43.75±3.75
128.	LL-SB 40	4.00±4.00	10.00±10.00	18.50±5.50	46.25±13.75
129.	ML-SB 32-1	5.50±0.50	13.75±1.25	7.50±0.50	18.75±1.25
130.	LL-SB 20-2	4.50±0.50	11.25±1.25	7.00±0.00	17.50±0.00
131.	LL-SB 17-1	5.00±1.00	12.50±2.50	15.00±3.50	38.75±8.75
132.	ML-SB 7-4	4.00±0.00	10.00±0.00	18.00±1.00	45.00±2.50
133.	MP-SK 13-2	4.00±0.00	10.00±0.00	17.50±0.50	43.75±1.25
134.	CM 18	4.00±1.00	10.00±2.50	17.50±0.50	43.75±1.25
135.	NHL-L 2/1	4.00±3.00	10.00±7.50	17.00±1.00	42.50±2.50
136.	NHL-L 5/5	4.00±1.00	10.00±2.50	15.50±0.50	38.75±1.25
137.	SR-P 11	4.50±1.50	11.25±3.75	18.00±1.00	45.00±2.50
138.	RYP-SB 4-8	5.50±0.50	13.75±1.25	19.50±1.50	48.75±3.75
139.	SERS-P 4/8-2	6.00±0.00	15.00±0.00	13.50±0.50	33.75±1.25
140.	SERS-L1/10-3	4.00±0.00	10.00±0.00	15.50±1.50	38.75±3.75
141.	SERS-R 4/22/2-1	7.00±2.00	17.50±5.00	18.50±0.50	46.25±1.25

ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ ใช้หนอนกระทู้หอมซ้ำละ 40 ตัว

SE = Standard Error

ตารางที่ 4 แสดงผลการทดสอบสารชีวภาพจากราเอนโดไฟท์ที่มีผลทำให้หนอนกระทู้หอมตายน้อยกว่า 20 % ภายใน 7 วันของการทดสอบ และอย่างน้อย 50 % ภายใน 14 วันของการทดสอบ

ลำดับ	รหัส	ภายใน 7 วัน		ภายใน 14 วัน	
		จำนวนหนอนที่ตาย (ตัว) ±SE	% Mortality ±SE	จำนวนหนอนที่ตาย (ตัว) ±SE	% Mortality ±SE
1.	NHL1/13-L3	5.00±3.00	12.50±7.50	23.00±2.00	57.50±5.00
2.	NHL1/16-L2	7.00±1.00	17.50±2.50	26.00±3.00	65.00±7.50
3.	NHL1/20-L1	7.00±5.00	17.50±12.50	27.50±2.50	68.75±6.25
4.	NHL1/23-L1	4.50±3.00	11.25±8.75	22.00±2.00	55.00±5.00
5.	NHL1/24-L1	4.00±2.00	10.00±5.00	24.00±1.00	60.00±2.50
6.	ML-SB 16-1	5.50±0.50	13.75±1..25	22.50±0.50	56.25±1..25
7.	MR-SK 21	4.50±0.50	11.25±1..25	25.00±0.00	62.50±0.00
8.	RYP-SB 1-5	4.50±0.50	11.25±1..25	22.00±1.00	55.00±2.50
9.	SERS-L 1/5-5	6.50±1.50	16.25±3.75	25.50±0.50	63.75±1..25
10.	SERS-R 4/22/4-1	5.00±1.00	12.50±2.50	22.50±1.50	56.25±3.75
11.	ML-SB 16-3	7.5±2.50	18.75±6.25	23.00±5.00	57.5±12.50
12.	SERS-P 4/37-1	6.50±1.50	16.25±3.75	21.00±1.00	52.50±2.50
13.	NHL-L 2/2	5.50±0.50	13.75±1.25	21.00±2.00	52.50±5.00
14.	NHL-L 5/3	6.00±1.00	15.00±2.50	20.50±3.50	51.25±8.75
15.	NHL1/14-P2	5.00±1.00	12.50±2.50	21.00±0.00	52.50±0.00
16.	NHL1/14-P3	0.50±0.50	1.25±1.25	21.00±1.00	52.50±2.50
17.	NHL1/5-L1	3.00±0.00	7.50±0.00	28.00±1.00	70.00±2.50
18.	NHL2/9-P1	1.50±0.50	3.75±1.25	22.00±0.00	55.00±0.00
19.	SR-L 3/2	2.00±0.00	5.00±0.00	21.50±1.50	53.75±3.75
20.	MR-SK 8	3.00±0.00	7.50±0.00	26.50±0.50	66.25±1.25
21.	RYP-SB 3-3	0.00±0.00	0.00±0.00	20.00±1.00	50.00±2.50

ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ ใช้หนอนกระทู้หอมซ้ำละ 40 ตัว

SE = Standard Error

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ลำดับ	รหัส	ภายใน 7 วัน		ภายใน 14 วัน	
		จำนวนหนอนที่ตาย (ตัว) ±SE	% Mortality ±SE	จำนวนหนอนที่ตาย (ตัว) ±SE	% Mortality ±SE
22.	NHL1/9-P1	3.50±1.50	8.75±3.75	29.50±0.50	73.75±1.25
23.	NHL2/25-L1	1.50±0.50	3.75±1.25	33.00±1.00	82.50±2.50
24.	NHL2/7-L1	1.50±1.50	3.75±3.75	31.00±1.00	77.50±2.50
25.	NHL2/8-L1	0.00±0.00	0.00±0.00	24.00±0.50	60.00±2.50
26.	NHL2/10-L1	1.50±1.50	3.75±3.75	30.50±0.50	76.25±1.25
27.	NHL1/22-P1	0.00±0.00	0.00±0.00	30.00±1.00	75.00±2.50
28.	NHL2/10-P1	1.00±1.00	2.50±2.50	29.50±0.50	73.75±1.25

ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ ใช้หนอนกระทู้หอมซ้ำละ 40 ตัว

SE = Standard Error

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบสารชีวภาพจากราเอนโดไฟท์ที่มีผลทำให้หนอนกระทู้หอมตายมากกว่า 20 % ใน 7 วัน และอย่างน้อย 50 % ภายใน 14 วัน

ลำดับ	รหัส	ภายใน 7 วัน		ภายใน 14 วัน	
		จำนวนหนอนที่ตาย (ตัว) ±SE	% Mortality ±SE	จำนวนหนอนที่ตาย (ตัว) ±SE	% Mortality ±SE
1.	NHL2/27-L3	10.50±1.50	26.25±3.75	31.50±0.50	78.75±1.25
2.	NHL2/7-L3	11.00±1.00	27.50±2.50	28.00±2.00	70.00±5.00
3.	LL-SB 49-1	11.00±2.00	27.50±5.00	27.50±3.50	68.75±8.75
4.	NHL1/16-L1	12.00±2.00	30.00±5.00	21.00±1.00	52.50±2.50

ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ ใช้หนอนกระทู้หอมซ้ำละ 40 ตัว

SE = Standard Error

ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ ใช้หนอนกระทู้หอมซ้ำละ 40 ตัว

SE = Standard Error

เมื่อคำนึงถึงการนำไปใช้ในการเกษตรแล้ว สารชีวภาพที่สร้างจากรากลุ่มนี้ไม่เหมาะสม เนื่องจากออกฤทธิ์ช้าเกินไป หากนำไปใช้จะไม่สามารถลดความเสียหายของพืชผลทางการเกษตรที่เกิดจากหนอนศัตรูพืชได้ทันเวลา

2. กลุ่มที่สร้างสารที่ทำให้หนอนกระทู้หอมตายอย่างน้อย 50% ภายในเวลา 14 วัน

ราเอนโดไฟท์ในกลุ่มนี้มีจำนวน 32 ไอโซเลท หรือประมาณ 18.4% ที่สามารถสร้างสารที่ทำให้หนอนกระทู้หอมตายได้ดีกว่ากลุ่มที่ 1 คือภายใน 14 วัน สารที่รากลุ่มนี้สร้างนั้นทำให้หนอนกระทู้หอมตายสูงกว่า 50% ราในกลุ่มนี้ถูกแบ่งย่อยออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

2.1 รากลุ่มที่สร้างสารที่ทำให้หนอนตายน้อยกว่า 10% ใน 7 วันแรกของการทดสอบและทำให้หนอนตายอย่างน้อย 50% ภายใน 14 วันของการทดสอบ ราในกลุ่มนี้มีจำนวน 28 ไอโซเลท ราเอนโดไฟท์ในกลุ่มนี้สร้างสารชีวภาพที่มีลักษณะคล้ายกับราในกลุ่มแรกคือ เป็นสารที่มีฤทธิ์ต่อหนอนกระทู้หอมน้อยมาก เนื่องจากสารที่สร้างจากรากลุ่มนี้ทำให้อัตราการตายของหนอนกระทู้หอมตายภายใน 7 วันหลังจากกินอาหารที่มีสารชีวภาพที่รากลุ่มนี้สร้างต่ำกว่า 10% (0-8.5%) อย่างไรก็ตามอัตราการตายของหนอนกระทู้หอมในวันที่ 14 จากสารชีวภาพของราในกลุ่มนี้สูงกว่ากลุ่มแรก เช่นราเอนโดฟท์รหัส NHL2/25-L1 สร้างสารชีวภาพที่สามารถฆ่าหนอนกระทู้หอมได้เพียง 3.75% ภายใน 7 วันแต่สามารถฆ่าหนอนกระทู้หอมได้สูงขึ้นกว่า 20 เท่าในเวลา 7 วันต่อมา (กว่า 80% ในวันที่ 14 ของการทดสอบ, ตารางที่ 4) แม้ว่าราในกลุ่มนี้สร้างสารชีวภาพที่สามารถยับยั้งหนอนกระทู้หอมได้สูงมากในวันที่ 14 ของการทดสอบ ผู้วิจัยเห็นว่าสารชีวภาพที่สร้างโดยรากลุ่มนี้ไม่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ในการเกษตรเช่นกัน เนื่องจากออกฤทธิ์ต่อหนอนกระทู้หอมช้าเช่นเดียวกับกลุ่มที่ 1

2.2 รากลุ่มที่สร้างสารที่ทำให้หนอนกระทู้หอมตายมากกว่า 25% ใน 7 วันแรกของการทดสอบและทำให้หนอนกระทู้หอมตายอย่างน้อย 50% ภายใน 14 วันของการทดสอบ ราเอนโดไฟท์ในกลุ่มนี้มีเพียง 4 ไอโซเลท ได้แก่ราเอนโดไฟท์รหัส NHL1/16-L1 สามารถสร้างสารที่ฆ่าหนอนกระทู้หอมได้สูงสุด (30%) ภายใน 7 วัน ส่วนราเอนโดไฟท์ในกลุ่มนี้อีก 3 ไอโซเลท ได้แก่ NHL2/27-L3, NHL2/7-L3, และ LL-SB 49-1 สามารถสร้างสารที่ฆ่าหนอนกระทู้หอมได้ 26.25 และ 27.5% ตามลำดับใน 7 วัน (ตารางที่) และราเอนโดไฟท์ NHL2/27-L3 สามารถทำให้อัตราการตายของหนอนกระทู้หอมตายสูงที่สุดในกลุ่มนี้คือ ประมาณ 78% ในวันที่ 14 ของการทดลอง ทั้งนี้การตายของหนอนกระทู้หอมอาจขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารชีวภาพ หรือ ความรุนแรงของสารชีวภาพที่อาจยังไม่เหมาะสมกับแมลงชนิดนี้

โดยทั่วไปสารชีวภาพ เช่น สารสกัดจากพืชบางชนิด หรือสารชีวภาพที่สร้างโดยจุลินทรีย์ ที่สามารถฆ่าหนอนแมลงศัตรูพืชนั้นจะมีกลไกการออกฤทธิ์ต่อแมลงในลักษณะที่แตกต่างกัน เราสามารถแบ่งสารเหล่านี้ออกเป็นกลุ่ม ได้แก่

1. กลุ่มที่ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทของแมลง โดยอาจมีผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system) หรือ peripheral nervous system สารที่ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทของแมลง แบ่งออกเป็น

1.1 cholinesterase inhibition

1.2 acetylcholine receptor stimulation

1.3 chloride channel regulation

1.4 sodium channel modulators

2. กลุ่มที่ยับยั้งเมทาบอลิซึมที่เกี่ยวข้องกับการผลิตพลังงาน (energy production) โดยสารเหล่านี้มีกลไก ที่แตกต่างกันดังนี้

2.1 ระงับการกินอาหารของแมลง (antifeedant) ส่วนมากสารประเภทนี้เป็นสารที่มีรสขมหรือฝาด เพราะมีอัลคาลอยด์ (alkaloid) เป็นองค์ประกอบ ซึ่งเป็นสารที่มีไนโตรเจนอยู่ในโมเลกุล (organic nitrogen compounds) โดยสารเหล่านี้ออกฤทธิ์ต่อระบบทางเดินอาหาร สารพิษจะทำลายเซลล์ผนังลำไส้ ทำให้เกิดการรั่วของผนังลำไส้ ทำให้ pH และโพแทสเซี่ยมอิออนเสียสมดุล ทำให้แมลงเป็นอัมพาตและตายในที่สุด

2.2 ยับยั้งการทำงานของ electron transport system และ/หรือ oxidative phosphorylation ทำให้แมลงไม่ได้รับพลังงานมากพอในการดำรงชีวิต

3. กลุ่มที่รบกวนกระบวนการเจริญเติบโตและพัฒนาการของแมลง ทำให้เกิดความผิดปกติกับแมลงได้หลายอย่าง เช่น ยับยั้งการเจริญเติบโตของแมลง, ทำให้การลอกคราบผิดปกติ, วางไข่หรือฟักไข่น้อยลง กลไกการทำงานของสารกลุ่มนี้อาจเป็น

3.1) ยับยั้งการสร้างและ/หรือทำลายไคติน (chitin synthesis inhibitors, CSIs)

3.2) รบกวนขั้นตอนการเจริญของแมลง (insect growth regulators) โดยรบกวนกระบวนการสืบพันธุ์ และการลอกคราบ สารเหล่านี้รบกวนระบบฮอร์โมนเอนโดไครน์ (endrocrine) เพราะมีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนจูวีไนล์ (juvenile hormone) ของแมลง ฮอร์โมนจูวีไนล์เป็นฮอร์โมนที่ควบคุมให้แมลงเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปตามวัยต่าง ๆ (metamorphosis) เมื่อแมลงได้รับสารเหล่านี้จะไม่สามารถพัฒนาการเจริญต่อไปได้ นอกจากนั้นสารชีวภาพอาจไปรบกวนการสร้างฮอร์โมน ecdysone ทำให้แมลงไม่สามารถลอกคราบได้

การทดลองในงานวิจัยนี้เป็นการคัดแยกเชื้อเพื่อหาราเอนโดไฟท์ที่มีศักยภาพในการสร้างสารที่ยับยั้งหรือฆ่าหนอนกระทู้หอมได้ และสามารถนำไปใช้ในการเกษตรได้ จึงไม่ได้ออกแบบการทดลองเพื่อศึกษารายละเอียดกลไกการฆ่าหนอนกระทู้หอมของสารชีวภาพที่ผลิตโดยราเอนโดไฟท์ อย่างไรก็ตามผู้วิจัยพบว่าหนอนกระทู้หอมวัยสองที่ใช้ในการทดลองนี้กินอาหารได้น้อยลงเมื่อสังเกตในวันที่ 14 ของการทดลอง จึงอาจตั้งสมมุติฐานในเบื้องต้นว่าสารที่ราเอนโดไฟท์สร้างขึ้นนั้นน่าเป็นสาร antifeedant ที่อาจมีโครงสร้างในกลุ่มอัลคาลอยด์ที่สามารถยับยั้งการกินอาหารของหนอนกระทู้หอม

นอกจากนั้นมีรายงานการศึกษาว่าพบสารพวกอัลคาลอยด์จำนวนมากในต้นหนอนตายหยาก เช่น จากรายงานของ Kinoshita และ Mori (1996) พบว่า ในสารสกัดหนอนตายหยากประกอบด้วยสารในกลุ่ม Polycyclic alkaloids หลายชนิดที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าแมลง เช่น Stemoniae, stenin และ

Stemospironin งานวิจัยของ Jiwajinda และคณะ (2001) พบว่า สารกลุ่ม Alkaloid ในรากหนอนตายหยาก (*S. collinsae*) ได้แก่ stemofoline และ 16,17-didehydro-16-(E)-stemofoline มีฤทธิ์ในการกำจัดแมลงศัตรูพืช Peter และLee (1997) พบว่า stemoamide เป็น alkaloid ที่แยกได้จากสารสกัดหนอนตายหยาก (*S. tuberosa*) มีศักยภาพในการฆ่าแมลงได้ดี alkaloid เป็นสารที่มีผลระงับการกินอาหารของแมลงส่วนใหญ่มีรสขม ไม่ละลายน้ำแต่ละลายในสารเคมีที่มีฤทธิ์เป็นด่าง (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 1999) จากรายงานของสุภาณีและคณะ (2546) พบว่า หนอนตายหยาก (*S. tuberosa*) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการกินอาหารของหนอนใยผัก และหนอนกระทู้ผัก ดังนั้นราเอนโดไฟท์อาจสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นสารอัลคาร์ลอยด์ที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงหรือเหมือนกันกับที่พบในต้นหนอนตายหยาก ซึ่งสารที่ราเอนโดไฟม์อาจสร้างขึ้นอาจเกิดจากปฏิสัมพันธ์ของพืชและราเอนโดไฟท์

เมื่อพิจารณาความเสียของพืชผลทางการเกษตรที่เกิดจากหนอนแมลงนั้น อาจสรุปได้ว่าราเอนโดไฟท์ที่แยกจากต้นหนอนตายหยากทั้ง 173 ไอโซเลทในงานวิจัยนี้นั้นมีความเป็นไปได้ในการนำไปใช้ในภาคสนามได้ยาก อย่างไรก็ตามถ้านำสารที่สร้างจากรากลุ่มสุดท้ายนี้ (กลุ่มที่ 2.2) ได้แก่ราในกลุ่มที่สร้างสารชีวภาพที่ทำให้หนอนกระทู้หอมตายมากกว่า 25% ใน 7 วันแรกของการทดสอบ ซึ่งออกฤทธิ์เร็วกว่าสองกลุ่มข้างต้น มาทำให้เข้มข้นมากขึ้นอาจทำให้ความสามารถในการฆ่าหนอนกระทู้หอมของสารที่สร้างจากรากลุ่มนี้สูงเพียงพอต่อการนำไปใช้ในภาคสนาม ผู้วิจัยจึงทดลองใช้วิธีต่าง ๆ ในการเพิ่มฤทธิ์ของสารชีวภาพที่ราเอนโดไฟท์ในกลุ่มนี้สร้างขึ้น โดยพยายามทำให้สารมีความเข้มข้นมากขึ้น ได้แก่

1. ทำให้ปริมาณสกัดสารชีวภาพเข้มข้นขึ้นนี้ด้วยการสกัดน้ำหมัก (culture broth) ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์บางชนิดและระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ออกเพื่อทำให้สารเข้มข้นขึ้น และระเหยน้ำออกจากน้ำหมัก (culture broth) ของราเอนโดไฟท์
2. เลี้ยงราเอนโดไฟท์ในกลุ่มนี้บนอาหารแข็งแล้วสกัดสารชีวภาพออกจากอาหารแข็งด้วยตัวทำละลายอินทรีย์บางชนิด

จากนั้นจึงนำไปทดสอบความสามารถในการฆ่าหนอนแมลง

3. ผลการทดสอบสารชีวภาพที่สกัดจากน้ำหมักของราเอนโดไฟท์ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ในการควบคุมหนอนกระทู้หอม

น้ำหมักที่ได้จากกการเลี้ยงราเอนโดไฟท์ในกลุ่ม 2.2 ได้แก่ราเอนโดไฟท์รหัส NHL1/16-L1, NHL2/27-L3, NHL2/7-L3, และLL-SB 49-1 ในอาหาร MID ถูกนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ คลอโรฟอร์ม (Chloroform), และเอทธิล อะซีเทท (Ethyl Acetate) สองครั้งๆ ละหนึ่งปริมาตร เมื่อระเหยตัวทำละลายอินทรีย์โดยใช้ rotary evaporator จนหมดแล้วจึงละลายด้วย DMSO (Dimethyl Sufoxide) ปริมาตร 1/100 ของปริมาตรน้ำหมักเริ่มต้นที่ใช้ จากนั้นทดสอบการฆ่าหนอนกระทู้หอมโดยใช้ปริมาตรสารสกัด 100 ไมโครลิตร ดังนั้นปริมาณสารที่ใช้ในการทดสอบจึงเพิ่มขึ้น 20 เท่าของการทดลองที่ใช้น้ำหมักที่ผ่านมาเพราะตัวทำละลาย DMSO อาจมีพิษต่อหนอนกระทู้หอมหากใช้ในปริมาณมาก และ

บันทึกผลการทดลองภายใน 7 วันเท่านั้น เนื่องจากศักยภาพของสารสกัดขึ้นอยู่กับเวลาที่สามารถยับยั้งหนอนได้ ดังนั้นหากสารที่สกัดได้ต้องใช้เวลานานมากกว่า 7 วันในการควบคุมหนอนกระทู้หอม จะเป็นสารสกัดที่อาจไม่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ ในภาคการเกษตร และการทดลองนี้ใช้ DMSO เป็นตัวควบคุม ซึ่ง DMSO ในปริมาณที่ใช้ไม่ควรเป็นพิษต่อหนอนกระทู้หอม

ผลการทดลอง พบว่า สารสกัดชีวภาพโดยใช้ chloroform และ ethyl acetate จากราเอนโดไฟท์รหัส NHL1/16-L1 เพียงไอโซเลทเดียวมีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้หอม (ตารางที่ 6) โดยสารชีวภาพที่ถูกสกัดด้วย Ethyl Acetate ทำให้หนอนกระทู้หอมตายร้อยละ 67.50 ซึ่งสารสกัดนี้ควบคุมหนอนกระทู้หอมได้ดีกว่าสารสกัดด้วย Chloroform เล็กน้อยที่ทำให้หนอนกระทู้ตายร้อยละ 60 การใช้สารสกัดด้วยตัวทำละลายในการควบคุมหนอนกระทู้หอมทำให้หนอนกระทู้หอมตายเพิ่มขึ้นประมาณ 2 เท่าจากเดิมที่น้ำหมักจากราเอนโดไฟท์รหัส NHL1/16-L1 สามารถฆ่าหนอนกระทู้ได้เพียง 30% ในเวลา 7 วัน (ตารางที่ 5) อย่างไรก็ตามสารสกัดที่ใช้ในการทดลองนี้มีปริมาณเพิ่มขึ้นจากเดิมถึง 20 เท่า จึงน่าจะทำให้หนอนตายได้จำนวนมากและรวดเร็วกว่านี้ สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องจากตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้นี้ไม่สามารถสกัดสารสำคัญในน้ำหมักที่ออกฤทธิ์ยับยั้งหนอนกระทู้หอมได้ทั้งหมด หรือการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์อาจทำให้สารชีวภาพบางชนิดสูญเสียฤทธิ์ในการฆ่าหนอนเนื่องจากสูญเสียโครงสร้างบางอย่างไป เช่นโปรตีนบางชนิดจะสูญเสียโครงสร้างสามมิติเมื่ออยู่ในตัวทำละลายอินทรีย์ ส่วนสารสกัดของราอีกสามไอโซเลท ในกลุ่มนี้นั้น ไม่สามารถฆ่าหนอนกระทู้หอมได้เลย ซึ่งอาจอธิบายด้วยเหตุผลเดียวกับข้างต้นคือ ตัวทำละลายอินทรีย์ไม่สามารถสกัดสารชีวภาพออกมาได้ และ/หรือ มีผลทำให้สารชีวภาพสูญเสียคุณสมบัติไป

3. ผลการทดสอบสารชีวภาพในน้ำหมักของราเอนโดไฟท์ที่ทำให้เข้มข้นโดยวิธีระเหิดแห้ง (lyophilization) ในการควบคุมหนอนกระทู้หอม

จากผลการทดลองใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดสารชีวภาพจากราเอนโดไฟท์และระเหยตัวทำละลายออกเพื่อเพิ่มความเข้มข้นขึ้นนั้นทำให้ประสิทธิภาพของสารชีวภาพจากราเอนโดไฟท์รหัส NHL2/27-L3, NHL2/7-L3, และLL-SB 49-1 สูญเสียฤทธิ์ในการฆ่าหนอนกระทู้หอมทั้งหมด หรือสูญเสียบางส่วนเช่นที่พบในสารชีวภาพจากราเอนโดไฟท์รหัส NHL1/16-L1 ผู้วิจัยจึงได้ทดลองทำให้สารชีวภาพในน้ำหมักเข้มข้นด้วยการระเหิดน้ำออกโดยใช้เครื่อง freeze drier ในการทดลองนี้ใช้น้ำหมักที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟท์ ในอาหาร MID นาน 7 และ 14 วัน เนื่องจากผู้วิจัยคาดว่าสารชีวภาพที่สร้างจากเชื้อราอาจลดลงถ้าเลี้ยงเชื้อเป็นเวลานานเกินไป หลังจากแยกเส้นใยออกแล้ว นำน้ำหมักที่จะนำมาระเหิดให้แห้งนั้นไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียสก่อน จึงจะนำไประเหิดจนแห้ง จะได้ concentrated culture broth ซึ่งมีความเข้มข้นสูงขึ้น 10 เท่าของน้ำหมักก่อนทำการระเหิดแห้ง แล้วจึงนำไปทดสอบการยับยั้งหนอนกระทู้หอมภายใน 7 วัน

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบสารสกัดชีวภาพที่ได้จากเชื้อราเอนโดไฟท์ที่เลี้ยงในอาหารเหลว MID แล้วสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีผลต่อการควบคุมหนอนกระทู้หอมภายใน 7 วัน

ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัด	ราเอนโดไฟท์	จำนวนหนอนที่ตาย (ตัว)	%Mortality
Ethyl Acetate	NHL2/27-L3	0	0.00
	NHL1/16-L1	27	67.50
	NHL2/7-L3	0	0.00
	LL-SB 49-1	0	0.00
Chloroform	NHL2/27-L3	0	0.00
	NHL1/16-L1	24	60.00
	NHL2/7-L3	0	0.00
	LL-SB 49-1	0	0.00

ผลการทดลองการควบคุมหนอนกระทู้หอม ใกล้เคียงกับการใช้สารสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ โดยพบว่า มีเพียงสารชีวภาพที่ได้จากราเอนโดไฟท์รหัส NHL1/16-L1 เท่านั้นที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้หอม (ตารางที่ 7) สารชีวภาพที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟท์นาน14 วัน ให้ประสิทธิภาพสูงกว่าสารชีวภาพที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟท์นาน 7 วันเล็กน้อย คือให้ร้อยละของการตายของหนอนกระทู้หอมเท่ากับ 52.50 และ42.50 ตามลำดับ ดังนั้นเวลาในการเลี้ยงราเอนโดไฟท์รหัส NHL1/16-L1 นานขึ้นไม่ทำให้ปริมาณสารชีวภาพลดลง

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารชีวภาพหลังการระเหิดแห้ง (concentrated culture broth) กับสารที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ พบว่าสารชีวภาพหลังการระเหิดแห้ง (concentrated culture broth) มีประสิทธิภาพดีกว่าเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ เนื่องจากการใช้สาร concentrated culture broth ที่เตรียมจากการระเหิดแห้งโดยทำให้ความเข้มข้นสูงขึ้นเป็นสองเท่าของการทดลองแรก สารชีวภาพที่เตรียมได้สามารถฆ่าหนอนได้ 52.5% หรือเพิ่มขึ้น 22.5% จากการทดลองแรก แต่เมื่อใช้สารสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ความเข้มข้นสูงถึง 20 เท่าของการทดลองแรก สารชีวภาพที่เตรียมได้จากวิธีนี้สามารถฆ่าหนอนแมลงเพิ่มขึ้นอีกเพียง 37% จากการทดลองแรก คือเป็น 67.5% ทั้งนี้อาจเนื่องจากการสูญเสียฤทธิ์ของสารชีวภาพในระหว่างการสกัดด้วยตัวทำละลาย

ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพของสารชีวภาพจากเชื้อราเอนโดไฟท์ที่ถูกทำให้เข้มข้นขึ้นโดยการระเหิดแห้ง (lyophilization) ต่อการควบคุมหนอนกระทู้หอม

ราเอนโดไฟท์	Concentrated culture broth ที่ได้จากราเอนโดไฟท์	จำนวนหนอนที่ตาย (ตัว) ภายใน 7 วัน	%Mortality
NHL1/27-L3	7 วัน	0	0.00
	14 วัน	0	0.00
NHL1/16-L1	7 วัน	17	42.50
	14 วัน	21	52.50
NHL2/7-L3	7 วัน	0	0.00
	14 วัน	0	0.00
LL-SB 49-1	7 วัน	0	0.00
	14 วัน	0	0.00

นอกจากนั้นผลการทดลองนี้ยังแสดงว่าสารชีวภาพที่สร้างจากราสามไอโซเลทคือ NHL2/27-L3, NHL2/7-L3, และLL-SB 49-1 สูญเสียฤทธิ์ทางชีวภาพเมื่อผ่านการระเหิดแห้งแล้ว ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องจากสารชีวภาพดังกล่าวเสียสภาพเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ (-70°C) ที่ทำให้น้ำเป็นน้ำแข็งเพราะสารชีวโมเลกุลบางชนิดเช่นโปรตีนบางชนิดจะเสียโครงสร้างสามมิติจากการทำลายของผลึกของน้ำแข็ง ทำให้เสียคุณสมบัติต่าง ๆ ได้

4. ผลการทดสอบสารสกัดชีวภาพจากเชื้อราเอนโดไฟท์ที่เจริญบนอาหารแข็ง

จากการผลการทดลองในข้อ 3 การสกัดสารชีวภาพจากราเอนโดไฟท์รหัส NHL1/16-L1 ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ยังออกฤทธิ์ในการควบคุมหนอนกระทู้หอมได้ และมีรายงานว่าราเอนโดไฟท์บางชนิดสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ได้เมื่อเลี้ยงในอาหารแข็ง (Janes และคณะ, 2007) ผู้วิจัยจึงทดลองเลี้ยงราเอนโดไฟท์รหัส NHL1/16-L1 บนอาหาร modified MID agar นาน 7 และ14 วัน แล้วสกัดสารชีวภาพจากเชื้อราเอนโดไฟท์จากอาหารแข็งด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด ได้แก่ Ethyl Acetate, Hexane และ Methanol แล้วนำไประเหยแห้งด้วย rotary evaporator จากนั้นนำไปทดสอบการควบคุมหนอนกระทู้หอม ผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ประสิทธิภาพสารสกัดชีวภาพที่ได้จากเชื้อราเอนโดไฟท์รหัส NHL 1/16-L1ที่เจริญบนอาหารแข็ง (MID agar) ต่อการควบคุมหนอนกระทู้หอมภายใน 7 วัน

ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัด	สารชีวภาพสกัดจากราเอนโดไฟท์ รหัส NHL1/16-L เจริญบน MID agar	จำนวนหนอนกระทู้หอมที่ตาย (ตัว)	%Mortality
Ethyl Acetate	7	2	5.00
	14	10	25.00
Hexane	7	0	0
	14	0	0
Methanol	7	0	0
	14	0	0

สารสกัดชีวภาพที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ Ethyl Acetate มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้หอมได้ค่อนข้างต่ำโดยพบว่าหนอนมีอัตราการตายร้อยละ 5 และ 25 เมื่อใช้สารสกัดจากราเอนโดไฟท์รหัส NHL1/16-L1 ที่บ่มเป็นเวลา 7 และ 14 วันบนอาหาร Modified MID Agar ตามลำดับ ผลการทดลองนี้ทำให้สรุปได้ว่า ราเอนโดไฟท์รหัส NHL1/16-L1บนอาหาร Modified MID Agar นั้นไม่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ในการควบคุมหนอนกระทู้หอมได้ดีเท่ากับการเลี้ยงราในอาหารเหลวที่มีการเขย่าให้อากาศ และสารชีวภาพที่สร้างขึ้นเพิ่มมากขึ้นเมื่อบ่มเชื้อนานขึ้นทั้งนี้อาจเกิดจากการเจริญของเชื้อราช้ากว่าการเจริญในอาหารเหลวที่มีการให้อากาศ

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้หอมของสารชีวภาพจากเชื้อราเอนโดไฟท์ทั้งหมด 174 ไอโซเลท พบว่ามีราเอนโดไฟท์เพียง 1 ไอโซเลทเท่านั้นที่ไม่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารควบคุมหนอนกระทู้หอม ราเอนโดไฟท์อีก 173 ไอโซเลทสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารควบคุมหนอนกระทู้หอมได้ อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้หอมของสารชีวภาพที่ได้จากราส่วนใหญ่ (81%) ค่อนข้างต่ำ เนื่องจากทำให้หนอนกระทู้หอมตายต่ำกว่า 50% ในเวลา 14 วัน ส่วนราเอนโดไฟท์ที่เหลือ (ประมาณ 18.4%) สามารถสร้าง

สารชีวภาพในน้ำหมักที่ทำให้หนอนกระทู้หอมตายมากกว่า 50% ภายใน 14 วัน เมื่อพิจารณาจำนวนหนอนที่ตายในสัปดาห์แรกของการทดสอบ ราเอนโดไฟท์ถูกแบ่งออกเป็นสองกลุ่ม คือ กลุ่มที่สร้างสารที่ทำให้หนอนกระทู้หอมตายน้อยกว่า 10% ใน 7 วันแรกของการทดสอบและกลุ่มที่สองที่สร้างสารที่ทำให้หนอนกระทู้หอมตายมากกว่า 25% ใน 7 วันแรกของการทดสอบ ได้แก่ราเอนโดไฟท์รหัส NHL1/16-L1, NHL2/27-L3, NHL2/7-L3, และLL-SB 49-1 ซึ่งน้ำหมักจากราทั้ง 5 ไอโซเลทนี้ได้ถูกนำมาทำให้เข้มข้นเพื่อเพิ่มฤทธิ์ในการฆ่าหนอนกระทู้หอม

เมื่อนำสารชีวภาพในน้ำหมักของราทั้ง 5 ไอโซเลทข้างต้นมาทำให้เข้มข้นมากขึ้นด้วยการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ หรือด้วยวิธีระเหิดแห้งแล้วใช้สารสกัดในการทดสอบเพิ่มขึ้น 20 เท่า และ 2 เท่าของการทดลองแรก ตามลำดับ พบว่ามีเพียงราเอนโดไฟท์ NHL1/16-L1 เท่านั้นที่สามารถฆ่าหนอนกระทู้หอมเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 30 เป็นร้อยละ 67.5 เมื่อทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ และเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 30 เป็นร้อยละ 52.5 เมื่อทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยวิธีระเหิดแห้ง ส่วนราไอโซเลทอื่นอีก 4 ไอโซเลทไม่สามารถฆ่าหนอนได้เลย

สารสกัดหยาบของราทั้ง 5 ไอโซเลท ที่เจริญบนอาหารแข็ง Modified MID Agar แล้วสกัดหยาบด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่าง ๆ ได้แก่ Hexane, Ethyl Acetate, และ Methanol พบว่ามีเพียงสารชีวภาพจากราเอนโดไฟท์ NHL1/16-L1ในอาหารแข็งที่ถูกสกัดด้วย Ethyl Acetate สามารถยับยั้งหนอนกระทู้หอมโดยทำให้หนอนตายเพียงร้อยละ 25

ผลการทดลองทั้งหมดข้างต้นแสดงว่าสารออกฤทธิ์ที่ราเอนโดไฟท์ที่แยกจากต้นหนอนตายหยากสร้างขึ้นในงานวิจัยนี้ไม่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ในการเกษตรเนื่องจากสารสกัดเหล่านี้ออกฤทธิ์ในการฆ่าหนอนกระทู้ต่ำ ทำให้ร้อยละการตายของหนอนกระทู้ต่ำและใช้เวลานาน ผู้วิจัยไม่สามารถพัฒนาการสร้างสารออกฤทธิ์ในการควบคุมหนอนกระทู้หอมของราเอนโดไฟท์ได้อีกเนื่องจากข้อจำกัดของเวลาและงบประมาณในการทำวิจัย อย่างไรก็ตาม ผู้วิจัยขอเสนอแนะวิธีที่อาจช่วยพัฒนาการสร้างสารออกฤทธิ์ในการควบคุมหนอนกระทู้หอมได้อีกเช่น

1. แยกราเอนโดไฟท์และคัดแยกเชื้อที่สร้างสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งหนอนกระทู้หอมเพิ่มมากขึ้น
2. ใช้สภาวะและอาหารเลี้ยงเชื้ออื่นนอกจากที่ใช้ในงานวิจัยนี้
3. ใช้วิธีทดสอบอื่นร่วมด้วย เช่นการพ่น (spray) ใบไม้ หรือจุ่ม (dip) ใบไม้ลงในสารที่ต้องการทดสอบ
4. ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์อื่นในการสกัด นอกจากที่ใช้ในงานวิจัยนี้
5. ศึกษากลไกในการยับยั้งหนอนกระทู้หอมหลังจากคัดเลือกเชื้อที่มีศักยภาพได้แล้ว

บรรณานุกรม

ชัยวัฒน์ บุญมากาศ, อัมพร ศุภตระกูล และ ทวีรัตน์วิจิตรสุนทรกุล, 2550 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากราเอนโดไฟท์ของพืชในวงศ์ *Stemonaceae* ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในพืช วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, พฤศจิกายน-ธันวาคม 2550, ปีที่ 38, ฉบับที่ 6, หน้า 339-343

นลิน รัตนราทร, เกษรา เพิ่มสุข, ทวีรัตน์ วิจิตรสุนทรกุล, สารออกฤทธิ์ต้านเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคพืชจากราเอนโดไฟท์ของต้นหนอนตายหยาก, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, มกราคม–เมษายน 2552, ปีที่ 40, ฉบับที่ 1 (พิเศษ), หน้า 114-117

สถาบันการแพทย์แผนไทย, 1999, สารเคมีในพืชสมุนไพร, ฝ่ายวิชาการ สถาบันการแพทย์แผนไทย [Online], Available http://ittm.dtam.moph.go.th/data_all/herbs/herbal02.htm [2006 , December 1].

สุภาณี พิมพ์สมาน, รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธา และ สังวาล สมบูรณ์, 2546, สารสกัดจากหนอนตายหยาก (*Stemona* sp.) เพื่อการควบคุมแมลงศัตรูพืช ใน การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 6 ณ โรงแรมโซฟิเทลราชาออคิดขอนแก่น วันที่ 24-27 พฤศจิกายน 2546, 22 หน้า

อุทัย เกตุนุติ, 2544, การควบคุมแมลงสัตรูพืชด้วย NPV, การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีเพื่อการเกษตรยั่งยืน, เอกสารวิชาการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพม กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตรม หน้า 141-182

Azevedo J.L., Maccheroni Jr., W, Pereira, J.O., Luiz de Araujo, W. 2000. Endophytic microorganisms: A review on insect control and recent advances on tropical plants. EJB Electronic Journal of Biotechnology. 3:40-65.

Bayman, B.P., Lebron, L.L., Tremblay, R.L., and Lodge, D.J. 1997. Variation in endophytic fungi from roots and leaves of Lepanthes (Orcidaceae). New Phytologist. 135: 143-149.

Brem, B., Seger, C., Pacher, T., Hofer, T., Vajrodaya, S., and Greger, H. 2002. Feeding deteranrence and control toxicity of stemona alkaloid- a source of potent natural insecticides. Agri. Food Chem. 50:6383-6388.

Capinera, J.L., 2001. Handbook of Vegetable Pests, Academic Press, San Diego, 729 pp.

Clay, K., Hardy, T.N. and Hammond Jr., A.M. 1985a. Fungal endophytes of *Cyperus* and their effect on the insect herbivore. American J. Botany. 72:1284-1289.

Clay, K., Hardy, T.N. and Hammond Jr., A.M. 1985b. Fungal endophytes of grasses and their effects on an insect herbivore. Oecologia. 66:1-6.

Claydon, N., Grove, J.F. and Pople, M. 1985. Elm bark beetle boring and feeding deterrents from *Phomopsis oblonga*. Phytochem. 24:937-943.

Denno, R.F., Gruner, D.S., Kaplan, I. 2008. Potential for entomopathogenic Nematodes in Biological Control: A Meta-Analytical Synthesis and Insights from Trophic Cascade Theory. Journal of Nematology. 40:61-72.

Hardy, T.N., Clay, K. and Hammond Jr., A.M. 1985. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): A laboratory bioassay and larval preference study for the fungal endophyte of perennial ryegrass. Journal of Economic Entomology.78:571-575.

Janes, D., Kreft, S., Jurc, M., Seme, K., and Strukelj, B., 2007. Antibacterial Activity in Higher Fungi (Mushrooms) and Endophytic Fungi from Slovenia. Pharmaceutical Biology. 45:700-706.

Jirawajnda, S., Hirai, N., Watanabe, K., Santisopasri, V., Cheumgsamarnyart, N., Koshimizu, K., and Ohigashi, H. 2001. Occurrence of insecticidal 16, 17-didehydro-16(*E*)-stemofoline in *Stemona colinsae*. Phytochemistry. 56: 693-695.

Kakuta, D., Hitotsuyanagi, Y., Matsuura, N., Fukaya, H., and Takeya, K. 2003. Structure of new alkaloid sessilifoliamides A-D from Stmmona sessilifolia. Tetrahedron. 59: 7779-7786.

Kaltenegger, E., Brem, B., Mereiter, K., Kahlig, H., Hofer, O., Vajrodaya, S., and Gerger, H. 2003. Insecticidal pyridol [1,2-a] azepin alkaloid and related derivatives from *Stemona* species. Phytochemistry. 63: 803-816.

Kinoshita, A., and M. Mori. 1996.Total synthesis of (-) stemoamide using ruthenium catalyst enzyme metalysis reaction. J. Org. Chem. 8356-8357.

Kostecki, K., Engelmeier, D., Pacher, T., Hofer, O., Vajrodaya, S., and Greger, H. 2004. Dihydrophenabthrenes and other antifungal stilbenoids from Stemona cf. pierrei. Phytochemistry. 65:99-106.

Lacey, L.A., and Neven, L.G. 2006. The potential of the fungus, *Muscodor albus*, as a microbial control agent of potato tuber moth (Lepidoptera: *Gelechiidae*) in stored potatoes. J. Invertebrate Pathology. 91: 195-198.

Lasota, J.A., Waldvogel, M.G. and Shetlar, D.J. 1983. Fungus found in galls of *Adelges abietis* (L.) (Homoptera: Adelgidae): identification within tree distribution and possible impact on insect survival. Environmental Entomology 12:245-246.

Mungkornasawakul, P.,Pyne, S.G., Jatisatienr, A., Lie, W.,Ung, A.T., Issakul, K.,Sawatwanich A., Supyen, D., Jatisatienr, C.2004. Phytochemicals studies on *Stemona burkillii*: two new dihydrostemfoline alkaloids. J. Nat Prod. 67:1740-1743.

Prestidge, R.A. and Gallagher, R.T. 1988. Endophyte conifers resistance to ryegrass: Argentine steem weevil larval studies. Ecological Entomology. 13:429-435.

Pilli, R.A. and Oliveira, M. C. F. 2000. Recent progress in the chemistry of Stemona alkaloids.Nat. Prod. Rep. 17:117-127.

Riedell, W.E., Kieckhefer, R.E., Petroski, R.J. and Powell, R.G. 1991. Naturally-occurring and synthetic loline alkaloid derivatives: Insect feeding behaviour modification and toxicity. J. Entomo Science. 26:122-129.

Sopalun, K., Strobel, G.A., Hess, W.M.,and Worapong, J. 2003. A record of Muscador albus, an endophyte from Myristica fragrans, in Thailand. Mycotaxon. 88:239-247.

Stroble, G.A. 2002. Microbial gifts from rain forest. Can. J. Patho. 24: 14-20.

Thakur, A., Kaur, S., and Kaur, A., 2012 Detrimental effects of endophytic sp. on survival and development of Spodoptera litura. Biocontrol Science and Technology 22: 151-161.

Webber, J. (1981). A natural control of Dutch elm disease. Nature, London 292:449-451.

Zhao, J., Zhou, L., Wang, J., Shan, T., Zhong, L., Liu, X., and Gao, X. 2010. Endophytic fungi for producing bioactive compounds originally from their host. In "Current Rsearch, Technology and Education topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology" A. Mendez-Vilas (Ed.). 567-576.

ภาคผนวก

ก. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก.1 Modified M1D Media (Filner)

$Ca(NO_3)$	0.28	กรัม
KNO_3	0.08	กรัม
KCl	0.06	กรัม
$MgSO_4$	0.36	กรัม
NaH_2PO_4	0.02	กรัม
Sucrose	30.00	กรัม
Ammonium Tartrate	5.00	กรัม
$FeCl_3$	2.00	มิลลิกรัม
$MnSO_4$	5.00	มิลลิกรัม
$ZnSO_4$	2.50	มิลลิกรัม
H_3BO_3	1.40	มิลลิกรัม
KI	0.70	มิลลิกรัม
Yeast Extract	0.25	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ปรับ pH ด้วย 0.1 M HCl ให้มีค่า pH 5.5 แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที

ก.3 Potato Dextrose Agar (PDA)

Dextrose	20.0	กรัม
มันฝรั่ง	200.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	กรัม

นึ่งฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที

ก.1 Modified M1D Media (Filner)

$Ca(NO_3)$	0.28	กรัม
KNO_3	0.08	กรัม
KCl	0.06	กรัม
$MgSO_4$	0.36	กรัม
NaH_2PO_4	0.02	กรัม
Sucrose	30.00	กรัม
Ammonium Tartrate	5.00	กรัม
$FeCl_3$	2.00	มิลลิกรัม
$MnSO_4$	5.00	มิลลิกรัม
$ZnSO_4$	2.50	มิลลิกรัม
H_3BO_3	1.40	มิลลิกรัม
KI	0.70	มิลลิกรัม
Yeast Extrace	0.25	กรัม
Agar	20.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ปรับ pH ด้วย 0.1 M HCl ให้มีค่า pH 5.5 แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที

ก.4 อาหารเทียมสำหรับเลี้ยงหนอนกระทู้หอม (อุทัย, 2534)

Mung bean	130	กรัม
Dried Brewer’s yeast	10	กรัม
Wheat germ	10	กรัม
Methyl parabenzoate	2	กรัม
Ascorbic Acid	2	กรัม
Sorbic Acid	1	กรัม
Casein	2	กรัม
Vitamin diet fortification	2	กรัม
Choline Chloride	0.6	กรัม
Formaldehyde 40 %	2	กรัม
Agar	10	กรัม
น้ำกลั่น	800	มิลลิลิตร