

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



190787

การศึกษาความเป็นพิษต้านการสืบพันธุ์ของสารตกค้าง
จากหม้อน้ำขยะหิน (Siemonea spp.) ในหมู่บ้านทราย

จิตติภรณ์ อินธีรโนนกุ

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาป้องกันฯ

บัมทิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

คุณคร 2554

b00256288

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



190787

การทดสอบความเป็นพิษด้านการสืบพันธุ์ของสารสกัด
จากหนอนตายหยาก (*Stemona spp.*) ในหมูขาวเพศผู้



จิตติกรานต์ อินตีโนงค์

วิทยานิพนธ์นี้เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัยเพื่อเป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ตุลาคม 2554

การทดสอบความเป็นพิษด้านการสืบพันธุ์ของสารสกัด
จากหนอนตายหายาก (*Stemonae spp.*) ในหมูขาวเพศผู้

จิตติกานต์ อินตีะโนงค์

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

รองศาสตราจารย์ บุทธนา สมิตะสิริ

.....

อาจารย์ ดร. สุภาพ แสนเพชร

..... กรรมการ

รองศาสตราจารย์ สาวิกา อริชาติ

..... กรรมการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กนกพร แสนเพชร

..... กรรมการ

อาจารย์ ดร. สุภาพ แสนเพชร

25 ตุลาคม 2554

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจาก อ. ดร. สุภาพ แสนเพชร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่รักและเคารพเป็นอย่างยิ่งที่กรุณาให้คำแนะนำ ตลอดจนคำปรึกษาที่ดีมาโดยตลอด และแก้ไขตรวจสอบจนเล่มวิทยานิพนธ์เสร็จสมบูรณ์ ผู้เขียนจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ยุทธนา สมิตศิริ ที่ให้ความกรุณารับเป็นประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ สาริกา อริชาติ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กนกพร แสนเพชรที่ให้ความกรุณารับเป็นกรรมการสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์ และให้คำแนะนำเป็นอย่างดีมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณหน่วยผลผลิตธรรมชาติจากพืช (Plant Natural Product Research Unit) ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนพืชกำจัดแมลงที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณหน่วยเดี่ยงสัตว์ทดลอง ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ในการเดี่ยงสัตว์ทดลอง

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนทุนการวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ คุณสุลักษณ์ วุทธิระพล พี่สุภาพร ปานโนก พี่นันท์ ทองใหม่ และนักศึกษาปริญญาโทในห้องปฏิบัติการทุกท่าน ที่ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือจนทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดี

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ สุคนธ์- คุณแม่ จงจิตร และพี่ชาย คุณสุจริต อินตี๊ โนมก์ สำหรับกำลังใจ คำปรึกษา และความช่วยเหลือในทุกๆ ด้านตลอดระยะเวลาที่ศึกษา เล่าเรียนจนประสบความสำเร็จ

จิตติการณ์ อินตี๊ โนมก์

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การทดสอบความเป็นพิษด้านการสืบพันธุ์ของสารสกัดจากหนอนต่ายหヤก (*Stemona spp.*) ในหนูขาวเพศผู้

ผู้เขียน

นางสาวจิตติกานต์ อินตีะ โนงค์

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ดร. สุภาพ แสนเพชร

บทคัดย่อ

190787

หนอนต่ายหยา ก เป็นพืชสมุนไพรที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการกำจัดแมลงกันอย่างแพร่หลาย แต่ข้อมูลเกี่ยวกับผลกระเทบของพืชชนิดนี้ต่อการสืบพันธุ์ยังมีอยู่น้อยมาก งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาผลของสารสกัดด้วยเออทานอลจากหนอนต่ายหยา 2 ชนิด คือ *Stemona* sp. และ *Stemona aphylla* ต่ออวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ของหนูขาวเพศผู้ โดยให้สารสกัดจากหนอนต่ายหยาทั้ง 2 ชนิด ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW แก่หนูเป็นเวลา 45 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับเฉพาะน้ำกลั่น พนว่าสารสกัดทุกกลุ่มไม่มีผลกระเทบต่อน้ำหนักของ testes, prostate gland, seminal vesicle และ epididymis รวมทั้งไม่มีผลต่อความหนาแน่นของอสุจิ แต่มีผลทำให้ระดับ MDA ในอัณฑะเพิ่มขึ้นแบบ dose dependent ทุกกลุ่ม การทดลองเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยเฉพาะอย่างยิ่งพบว่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนต่ายหยา *S. aphylla* ที่ขนาด 500 mg/kg BW ($p<0.05$) จากการตรวจสอบลักษณะเนื้อเยื่ออวัยวะสืบพันธุ์ พนการเกิด vacuole ภายในเนื้อเยื่อ testes ของหนูที่ได้รับสารสกัดทุกกลุ่ม และในชั้น epithelium ของ seminal vesicle ในหนูที่ได้รับสารสกัดจากหนอนต่ายหยาชนิด *Stemona* sp. ที่ขนาด 500 mg/kg BW จากการวิจัยพบว่าสารสกัดด้วยเออทานอลจากหนอนต่ายหยาชนิด *Stemona* sp. ถึงแม้จะได้รับที่ขนาด 500 mg/kg BW ก็อย่างไรก็ไม่เพียงประس่งค์ต่อระบบสืบพันธุ์ของหนูขาวในระดับพรีคลินิกน้อยกว่าสารสกัดจากหนอนต่ายหยาชนิด *S. aphylla* เมื่อคุณลักษณะทางเนื้อเยื่ออวัยวะ ระดับ MDA และความหนาแน่นของอสุจิ

Thesis Title Reprotoxicity Test of Extracts from *Stemona* spp. on Male Rats

Author Ms. Jittikan Intamong

Degree Master of Science (Biology)

Thesis Advisor Lect. Dr. Supap Saenphet

ABSTRACT

190787

Stemona spp. are widely used as botanical insecticides. However, a few scientific paper about the effects of the *Stemona* spp. extracts on the reproductive function has been reported. Thus, the current study was carried out to evaluate the effect of the ethanolic extracts of *Stemona* sp. and *Stemona aphylla* on the function of the reproductive system organ in male rat. The ethanolic extract of these species (at doses 300 and 500 mg/kg BW) were administrated to each treated group (n=8) for 45 days, control group was received distilled water. The testes, prostate gland, epididymis and seminal vesicle weights and sperm density were not different from those of control group. But, MDA levels in all treated groups, revealed a dose-dependent increased in testicular MDA level, especially there was significantly increase at 500 mg/kg BW of *S. aphylla* ($p<0.05$). The histological changes in reproductive organs were found vacuolization in epithelium of seminal vesicle in rats administrated with *Stemona* sp. extract at the dose of 500 mg/kg BW only whereas the vacuolation in epithelium of seminiferous tubules were recognized in all treated groups. The results suggested that *Stemona* sp. extracts even given at 500 mg/kg BW had less affected to reproductive system of the preclinical (rats) models in view of testicular histology, MDA levels and sperm density than *S. aphylla* extracts.

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ	๑
บทคัดย่อภาษาไทย	๓
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	๔
สารบัญ	๘
สารบัญตาราง	๙
สารบัญภาพ	๙
อักษรย่อและสัญลักษณ์	๙
บทที่ 1 บทนำและวัตถุประสงค์	๑
บทที่ 2 ทบทวนเอกสาร	๔
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	๒๕
บทที่ 4 ผลการทดลอง	๓๓
บทที่ ๕ อภิปรายผลการทดลอง	๕๖
บทที่ ๖ สรุปผลการทดลอง	๖๔
เอกสารอ้างอิง	๖๕
ภาคผนวก	๘๐
ประวัติผู้เขียน	๘๖
Supported paper	๘๗

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1 ปัจจัยรูปแบบการดำเนินชีวิต (life style) ต่อความเสียหาย ของระบบสืบพันธุ์เพศผู้	5
2 รายชื่อสารเคมีที่มีอิทธิพลต่อการเกิดภาวะ oxidative stress ในเนื้อเยื่อ testes	24
3 น้ำหนักของอวัยวะสืบพันธุ์และต่อมซ่อนยการสืบพันธุ์ของหนูเพศผู้ ที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตabyหยากชนิด <i>Stemona</i> sp. และ <i>S. aphylla</i> ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW	33
4 ค่าความหนาแน่นอสูรของหนูที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตabyหยาก ชนิด <i>Stemona</i> sp. และ <i>S. aphylla</i> ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW	36
5 ระดับ MDA (μM) ในอัณฑะของหนูขาวที่ได้รับสารสกัดจาก หนอนตabyหยากชนิด <i>Stemona</i> sp. และ <i>S. aphylla</i> ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW เป็นเวลา 45 วัน	38

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
1 แสดงลักษณะรากและใบของหนอนตาย helyak	10
2 กลไกหลักในการเกิด reactive oxygen species	23
3 แสดงลักษณะภายในอกของหนูขาวสายพันธุ์ Wistar (<i>Rattus norvegicus</i>)	25
4 ลักษณะในป้อนสารสกัดแก่หนูทดลองและสารสกัดจากหนอนตาย helyak ที่ใช้ในการทดลอง	30
5 ลักษณะของเลี้ยงของหนูทดลอง	31
6 น้ำหนักของ testes และ seminal vesicle ของหนูที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตาย helyak ชนิด <i>Stemona</i> sp. และ <i>S. aphylla</i> ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW	34
7 น้ำหนักของ prostate gland และ epididymis ของหนูที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตาย helyak ชนิด <i>Stemona</i> sp. และ <i>S. aphylla</i> ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW	35
8 จำนวนอสุจิของหนูที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตาย helyak ชนิด <i>Stemona</i> sp. และ <i>S. aphylla</i> ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW	37
9 ระดับ MDA ในอัณฑะของหนูขาวที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตาย helyak ชนิด <i>Stemona</i> sp. และ <i>S. aphylla</i> ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW เป็นเวลา 45 วัน	39
10 ลักษณะ seminiferous tubules ของเนื้อเยื่อ testes เปรียบเทียบระหว่าง กลุ่มควบคุม (control) กับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตาย helyak ชนิด <i>Stemona</i> sp. และ <i>S. aphylla</i> ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW	41
11 ลักษณะ seminiferous tubules เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม (control) กับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตาย helyak ชนิด <i>Stemona</i> sp. และ <i>S. aphylla</i> ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW	43

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ	หน้า
12 เนื้อเยื่อต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ (seminal vesicle) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม (control) กับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหมากชนิด <i>Stemona</i> sp. และ <i>S. aphylla</i> ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW	45
13 เนื้อเยื่อต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ (seminal vesicle) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม (control) กับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหมากชนิด <i>Stemona</i> sp. และ <i>S. aphylla</i> ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW	47
14 ลักษณะเนื้อเยื่อต่อมลูกหมาก (prostate gland) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม (control) กับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหมากชนิด <i>Stemona</i> sp. และ <i>S. aphylla</i> ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW	49
15 ลักษณะเนื้อเยื่อต่อมลูกหมาก (prostate gland) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม (control) กับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหมากชนิด <i>Stemona</i> sp. และ <i>S. aphylla</i> ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW	51
16 ลักษณะเนื้อเยื่อของหลอดเก็บอสุจิ (epididymis) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม (control) กับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหมากชนิด <i>Stemona</i> sp. และ <i>S. aphylla</i> ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW	53
17 ลักษณะเนื้อเยื่อของหลอดเก็บอสุจิ (epididymis) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม (control) กับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากหนอนตายหมากชนิด <i>Stemona</i> sp. และ <i>S. aphylla</i> ที่ขนาด 300 และ 500 mg/kg BW	55

อักษรย่อและสัญลักษณ์

A300	= สารสกัดจากหนอนต่ายหงาก <i>S. aphylla</i> ที่ขนาด 300 มก./ กก. นน. ตัว
A500	= สารสกัดจากหนอนต่ายหงาก <i>S. aphylla</i> ที่ขนาด 500 มก./ กก. นน. ตัว
g/kg BW	= gram/kilogram body weight
LD ₅₀	= Lethal dose 50%
ml	= milliliter
mg/kg BW	= milligram/kilogram body weight
mm ²	= ตารางมิลลิเมตร
mm ³	= ลูกบาศก์มิลลิเมตร
ppm.	= parts per million
S300	= สารสกัดจากหนอนต่ายหงาก <i>Stemona</i> sp. ที่ขนาด 300 มก./ กก. นน. ตัว
S500	= สารสกัดจากหนอนต่ายหงาก <i>Stemona</i> sp. ที่ขนาด 500 มก./ กก. นน. ตัว
μm	= micromolar