

โทร. 032-594043 โทรสาร. 032-594037-8, 032-228419

3. ศิริวรรณ แดงคำ

Siriwan Dangcham

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร

ต. นาุ้ง อ. เมือง จ. เพชรบุรี 76000

โทรศัพท์ 089 492 6420, 032 493 270

4. วนิดา มากศิริ

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร

ต. นาุ้ง อ. เมือง จ. เพชรบุรี 76000

โทรศัพท์ 089 492 6420, 032 493 270

5. มหิสร ประภาสะโนบล

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร

ต. นาุ้ง อ. เมือง จ. เพชรบุรี 76000

โทรศัพท์ 089 492 6420, 032 493 270

1.3 งบประมาณและระยะเวลาทำวิจัย

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2551 จำนวนเงิน 300,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 2 ปี เริ่มการทำวิจัยเมื่อ 1 ตุลาคม 2551

ถึง 1 ตุลาคม 2552

2. สรุปโครงการวิจัย

การผลิตหนอนพายุตัวกลมในระบบทางเดินอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้อง เป็นปัญหาที่สำคัญในอันดับต้นๆ ของการเลี้ยงปศุสัตว์แบบปล่อยทุ่ง แม้ยาถ่ายพยาธิที่มีในปัจจุบัน มีการใช้อย่างแพร่หลาย แต่รายงานการดื้อต่อยาของปรสิตหนอนพายุตัวกลมยังคงมีอยู่ต่อเนื่อง (Van Wyk *et al.*, 1997; Waller, 2003; Jabbar *et al.*, 2006; Saddiqi *et al.*, 2006; Saeed *et al.*, 2007) ประกอบกับปัจจุบันผู้บริโภคห่วงใยต่อสุขภาพมากขึ้น ผู้บริโภคมีความวิตกกังวลในเรื่องยาตกค้างในอาหาร และความต้องการบริโภคอาหารอินทรีย์ (organic food) ที่ผลิตจากกระบวนการธรรมชาติทั่วโลกเพิ่มขึ้น ซึ่งรูปแบบการเลี้ยงสัตว์ที่ตอบสนองต่อการผลิตแบบปศุสัตว์อินทรีย์ ใช้ระบบการเลี้ยงปศุสัตว์แบบปล่อยทุ่ง ดังนั้น เกษตรกรยังคงเผชิญปัญหาจากการที่ปศุสัตว์ถูกเลี้ยงแบบปล่อยทุ่งดังกล่าว ดิคพยาธิ ดังนั้นเพื่อแก้ไขการดื้อยาของพยาธิที่ใช้ในปัจจุบัน และทำให้การเลี้ยงสัตว์แบบปศุสัตว์อินทรีย์บรรลุผล ทำให้การวิจัยเพื่อมองหาทางเลือกใหม่สำหรับการใช้ยาถ่ายพยาธิที่

ไม่ใช่การใช้สารเคมี แต่มีต้นกำเนิดมาจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ หรือสมุนไพร เป็นสิ่งจำเป็น ซึ่งนอกจากเป็นทางเลือกใหม่สำหรับเกษตรกรและผู้บริโภคแล้ว ยังเป็นแนวทางที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมด้วย

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการความสามารถของสารสกัดจากพืชสมุนไพร ใบแก้ว รากขี้เหล็ก และ ใบขี้เหล็ก ในการฆ่าพยาธิตัวกลมในกระเพาะตัวของวัว *M. digitatus* โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่ผิวพยาธิ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope)

พยาธิ *M. digitatus* ที่เก็บจากกระเพาะ abomasum ของวัวที่โรงฆ่าสัตว์ นำมาล้างด้วยน้ำเกลือ 0.85% แล้วเลือกเฉพาะตัวที่แข็งแรงจำนวน 2040 ตัว มาแบ่งเป็น 5 กลุ่มที่สัมผัสกับสารที่ต่างความเข้มข้นต่าง ๆ กัน คือ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มที่สัมผัสกับยา Levamisole กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มที่ทดสอบกับสารสกัดจากใบแก้ว กลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มที่ทดสอบกับสารสกัดจากรากขี้เหล็ก กลุ่มที่ 5 เป็นกลุ่มที่ทดสอบกับสารสกัดจากใบขี้เหล็ก โดยใช้ความเข้มข้นของยา Levamisole ที่ 0.25, 0.5, 1 และ 2mg/ml และใช้ความเข้มข้นของของสารสกัดต่างๆ ที่ 1, 10, 20 และ 40 mg/ml โดยแต่ละกลุ่มการทดลองใช้พยาธิกลุ่มละ 30 ตัว โดยแบ่งเลี้ยงใน petridish ละ 10 ตัว ต่ออาหารเลี้ยงเซลล์ (M199, sigma) 20 ml โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 37°C คาร์บอนไดออกไซด์ 5 % และให้คะแนนการเคลื่อนไหวของพยาธิที่เวลา 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง (Grady and Kotze, 2004) และศึกษาการเปลี่ยนแปลงของผิวพยาธิด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

ผลการศึกษาพบว่า ทุกกลุ่มการทดลองมีการเคลื่อนไหวของพยาธิลดลงสัมพันธ์กับเวลาและปริมาณความเข้มข้นของยาที่เพิ่มขึ้น โดยพบว่า ทุกกลุ่มการทดลองมีการเคลื่อนไหวลดลงหลังสัมผัสยา ซึ่งเริ่มเห็นได้ชัดที่เวลา 6 ชั่วโมง และค่อยๆ ลดการเคลื่อนไหวลง จนถึงเวลาที่ 12 ชั่วโมง เริ่มมีพยาธิหยุดการเคลื่อนไหว และที่เวลา 24 ชั่วโมงเริ่มมีการตายของพยาธิ (โดยพบว่ากลุ่มที่สัมผัสกับยา Levamisole มีการตายของพยาธิที่ทุกความเข้มข้น มีค่า LD50 ที่ 0.32 mg/ml สำหรับกลุ่มที่ทดสอบกับสารสกัดสมุนไพร พบว่ามีเพียงสารสกัดใบแก้วที่มีการตายของพยาธิที่ทุกความเข้มข้น โดยมีค่า LD50 ที่ 32.99 mg/ml สำหรับสารสกัดรากและใบขี้เหล็ก มีค่า LD50 ที่สูงเกินกว่าช่วงความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ทดลอง ไม่สามารถคำนวณหาค่า LD50 ได้

สำหรับที่เวลา 3 และ 6 ชั่วโมง พบว่าพื้นผิวของพยาธิในทุกกลุ่มการทดลองยังคงไม่มีการเปลี่ยนแปลง ที่เวลา 12 ชั่วโมง พบว่าพื้นผิวของพยาธิในกลุ่มการทดลองที่สัมผัสกับสารสกัดแก้ว และ รากขี้เหล็ก มีการเปลี่ยนแปลง โดยที่ลำตัวพยาธิมีลักษณะของพื้นผิวที่เกิดการบวมขึ้น ขณะที่เวลา 24 ชั่วโมง พบว่าพื้นผิวของพยาธิในกลุ่มการทดลองที่สัมผัสกับสารสกัดแก้ว มีการเปลี่ยนแปลง มีลักษณะพื้นผิวที่บวมขึ้นอย่างเห็นได้ชัดและมีพื้นผิวบางส่วนมีการหลุดลอก ส่วนกลุ่มการทดลองที่สัมผัสกับรากขี้เหล็กพบว่ามีลักษณะพื้นผิวที่บวมขึ้นเช่นกัน ขณะที่กลุ่มที่สัมผัสกับ Levamisole และใบขี้เหล็ก พบว่าพื้นผิวของพยาธิยังคงเป็นปกติ ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมตลอดการทดลอง

จากการศึกษาข้างต้น สารสกัดใบแก้วเป็นสารสกัดชนิดเดียวที่ทำให้เกิดการตายของพยาธิมากกว่า 50 % ที่ 24 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามยา Levamisole มีฤทธิ์ดีกว่า โดยมีค่า LD50 ที่ 0.32 mg/ml ขณะที่สารสกัดใบแก้ว มีค่า LD50 ที่ 32.99 mg/ml แตกต่างจากยา levamisole ประมาณ 100 เท่า อย่างไรก็ตาม จากผล

ดังกล่าวบ่งบอกศักยภาพของสารสกัดหยาบจากใบแก้ว ซึ่งมีผลทำให้พยาธิ *M. digitatus* ลดการเคลื่อนไหว และเกิดการตายของพยาธิ และเมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron microscope) พบว่าสารสกัดใบแก้วส่งผลให้เริ่มเกิดการบวมของผนังลำตัวที่ 12 ชั่วโมง และการบวมมีมากขึ้นที่ 24 ชั่วโมง โดยมีการหลุดลอกของผนังบางส่วนร่วมด้วย ซึ่งเป็นไปได้ว่าสารสกัดหยาบจากใบแก้วมีองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงที่ผิวพยาธิ

สารสกัดจากใบแก้วจึงเป็นสารสกัดที่มีศักยภาพที่ควรนำไปพัฒนาเพื่อหาสารออกฤทธิ์ จากผลการศึกษาในครั้งนี้เป็นแนวทางเบื้องต้น ควรมีการนำสารสกัดหยาบของใบแก้ว ไปทำการแยกหาสารประกอบย่อย แล้วนำสารประกอบต่างๆมาทดสอบเพื่อหาองค์ประกอบของสารที่ออกฤทธิ์ต่อไป

3. บทคัดย่อภาษาไทยและบทคัดย่อภาษาอังกฤษ

บทคัดย่อภาษาไทย

ผลของสารสกัดใบแก้วและจีเหี้ยต่อพยาธิ *Mecistocirrus digitatus* ระยะตัวเต็มวัย ได้ถูกนำมาศึกษา โดยพยาธิได้ถูกนำมาเลี้ยงใน M199 สารสกัดใบแก้วและจีเหี้ยที่ความเข้มข้นที่ 1, 10, 20 และ 40 mg/ml และยา Levamisole ที่ความเข้มข้น 0.25, 0.5, 1 และ 2mg/ml โดยศึกษาค่าสัดส่วนเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหว ค่าความเข้มข้นที่ทำให้พยาธิเกิดการตายที่ 50% และการเปลี่ยนแปลงของผิวพยาธิภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน จากการศึกษาพบว่า Levamisole และสารสกัดใบแก้วและจีเหี้ยทำให้พยาธิลดการเคลื่อนไหว ในช่วงเวลา 3-6 ชั่วโมง และหยุดการเคลื่อนไหวที่ 12 ชั่วโมง มีเพียงกลุ่มการทดลองที่สัมผัส Levamisole และสารสกัดใบแก้ว ที่เกิดการตายของพยาธิที่ทุกความเข้มข้น หลังสัมผัสยาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง กลุ่มที่สัมผัสกับยา Levamisole และสารสกัดใบแก้ว มีค่า LD50 ที่ 24 ชั่วโมงเป็น 0.32 และ 32.99 mg/ml ตามลำดับ การเปลี่ยนแปลงของผิวพยาธิที่สัมผัสสารสกัดใบแก้ว พบว่าเกิดการบวมโป่งพอง ที่ช่วงเวลา 12-24 ชั่วโมง ดังนั้นสารสกัดใบแก้วอาจมีคุณสมบัติในการกำจัดพยาธิโดยมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงที่ผิวพยาธิ

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

The effect of the crude extract of *Murraya paniculata* and *Cassia siamea* on adult *Mecistocirrus digitatus* was evaluated. The parasites were investigated after 3, 6, 12, 24 h incubation in M199 medium containing 1, 10, 20 and 40 mg/ml. or Levamisole at the concentrations of 0.25, 0.5, 1 and 2 mg/ml as the positive control by monitoring worm motility, using relative motility (RM) assay, 50% lethal dose (LD50) and observation by scanning electron microscope (SEM). Levamisole and crude extracts of both *Murraya paniculata* and *Cassia siamea* reduced the parasite's motility during 3 to 6 h. The worms begin to immobile at 12 h after exposure. Only Levamisole and crude extract of *Murraya paniculata* that the worms were died at 24 h at all concentration of treatments. The LD50 of Levamisole and crude extract of *Murraya paniculata* at 24 h are 0.32 and 32.99 mg/ml respectively. The cuticle of *M. digitatus* shows

blebing during 12-24 h. Hence, the crude extract of *Murraya paniculata*, may exert its anthelmintic effect against *M. digitatus* by initially causing the cuticle change.