

๒.3

ANNUAL RESEARCH REPORT 1994

Toxicity Test of Extracted substances from the root Vetevergrass on Diamonback Moth

by

UDOMPORN PANGNAKORN

Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University

ABSTRACT

Root of vetiver grass *Vetiver zizanjoides* were collected and extracted with steam distillation method. The extracts in volatile oil were toxicity tested with diamond back moth *Plutella xylostella* L. under laboratory condition by two methods ie. Topical application (contact poison) and Feeding method (stomach poison). The two methods were infested with 3 star larvae of diamond back moth and observed the mortality daily for 4 days. The result revealed that the highest rate of concentration (100%) killed the larvae at 37.14% with contact poison and 51.52% with stomach poison. The lower rate of concentration from 50% to 90% killed the larvae related mortality when compared with two methods. and the lowest rate of concentration decrease 30% showed slightly disadvatages. In addition, observation the activity of the survival larvae and could become to pupa, but the pupa weak and dired soon.

.O.....
.B. 1160075X
.I. 1328969X

มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
ภาควิชาแมลงวิทยา

## รายงานผลงานวิชาการประจำปี 2537

### การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากรากหญ้าแฝกที่มีต่อหนอนใยผัก

#### Toxicity Test of Extracted substances from the root Vetivergrass on Diamonback Moth

อุดมพร แพ่งนคร

ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

#### บทคัดย่อ

จากการนำเอารากหญ้าแฝกชนิดแฝกหอม *Vetiver zizanioides* (Linn.) มาสกัดสารออกฤทธิ์ในรูปของน้ำมันหอมระเหย ด้วยวิธีกลั่นด้วยไอน้ำ และนำสารที่สกัดได้มาทำการทดสอบกับหนอนใยผักวัย 3 ทั้ง 2 วิธี คือ Topical application (ถูกตัวตาย) และ Feeding Method (กินตาย) จากการตรวจวัดผลการตายของหนอนทั้ง 2 วิธีทุกวันเป็นเวลา 4 วัน พบว่าสารสกัดจากรากหญ้าแฝกหอมในระดับความเข้มข้นของสาร 100% สามารถทำให้หนอนใยผักตายได้ถึง 37.14% โดยวิธีถูกตัวตาย และ 51.52% โดยวิธีกินตาย ส่วนความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่ำลงมาตั้งแต่ 50% จนถึง 30% สามารถทำให้หนอนตายได้ไม่ต่างกันนักทั้ง 2 วิธี และที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดต่ำตั้งแต่ 30% ลงมาจะไม่มีผลต่อการตายของหนอน อย่างไรก็ตามเมื่อสังเกตปฏิกิริยาของหนอนที่รอดตายจนเข้าดักแด้ได้ ดักแด้มักจะอ่อนแอและตายลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ความเข้มข้นของสารสูงๆ

#### คำนำ

หนอนใยผัก (*Plutella xylostella* L.) เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญที่สุดชนิดหนึ่งของพืชตระกูลผักกาด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ผักคะน้า ผักกาดขาว ผักกาดหัว ฯลฯ ผลจากการใช้สารเคมีสังเคราะห์เป็นยาฆ่าแมลง ในการควบคุมแมลงชนิดนี้อย่างแพร่หลายต่อเนื่องกันมาเป็นเวลานาน ก่อให้เกิดปัญหาการดื้อยาของหนอนใยผัก เพราะสารเคมีที่เคยใช้ไม่สามารถป้องกันการทำลายของแมลงชนิดได้อีกต่อไป (Miyata et al. 1988) นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดผลเสียต่างๆตามมา เช่น ปัญหามลพิษในสิ่งแวดล้อม ปัญหาในด้านสุขภาพอนามัยของมนุษย์ และสัตว์เลี้ยง ซึ่งในแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับล่าสุด ได้ระบุว่าจะต้องลดการใช้สารเคมีในการจาก

ป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยหันมาใช้สารสกัดจากพืชให้มากที่สุด ดังนั้นจึงมีการทดลองใช้สารสกัดจากพืชหลายชนิดที่มีผลต่อหนอนใยผัก ซึ่งในปี 1988 Sinchaisri และคณะ ได้ทำการศึกษาโดยใช้สารสกัดจากพืช 8 ชนิด เพื่อเป็นสารขับไล่หนอนใยผัก ปรากฏว่ามีพืช 2 ชนิด ที่มีฤทธิ์ในการขับไล่แมลงได้ในระดับดี คือ หนุมานประสานกาย และตะไคร้หอม

หญ้าแฝกเป็นพืชที่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว ได้ทรงมีพระราชดำริถึงแนวนโยบายที่จะสนับสนุนส่งเสริมการนำมาใช้ประโยชน์ โดยที่รากแฝกหอมมีคุณสมบัติเป็นสมุนไพร ใช้อบเสื้อผ้าให้หอม แล้วยังใช้ขับไล่แมลงได้ (จร., 2535) ดังนั้นการศึกษาถึงความเป็นพิษจากสารสกัดจากรากหญ้าแฝกที่มีต่อหนอนใยผัก จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจเพื่อหาทางลดปัญหาสารพิษต่อสภาพแวดล้อมและผู้บริโภคต่อไป

## อุปกรณ์วิธีการ

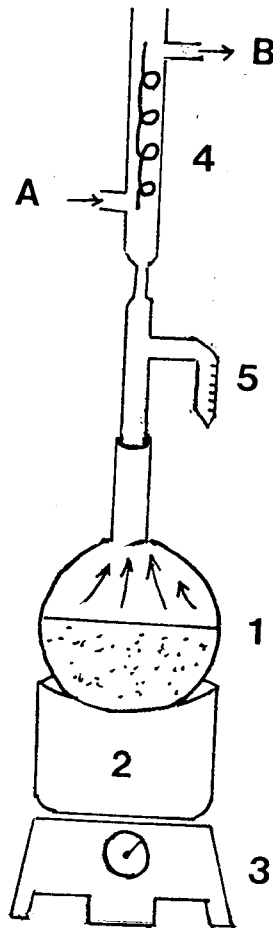
### 1. พืชและการจำแนก

แฝกเป็นพืชในวงศ์ Gramineae ที่พบในเมืองไทยมี 2 ชนิด คือ ก. หญ้าแฝกหรือแฝกดอน มีชื่อพฤกษศาสตร์ว่า *Vetiver nemoralis* (Balansa)

ข. หญ้าแฝกหอม มีชื่อพฤกษศาสตร์ว่า *Vetiver zizanioides* (Linn.) มีลักษณะหลังใบโค้ง ปลายแบน สีเขียวเข้ม เนื้อใบค่อนข้างเนียน มีไขเคลือบมาก ทำให้ดูมัน ท้องใบออกสีขาว ชิดกว่าด้านหลังใบ ในรากหญ้าแฝกหอม มีโพรงอากาศในชั้นคอร์เทกซ์ขนาดใหญ่กว่าแฝกดอน รากแห้งใช้อบเสื้อผ้าให้หอมและขับไล่แมลงได้ ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้นำเอารากของหญ้าแฝกหอมมาใช้สกัด

### 2. การแยกสกัดสารออกฤทธิ์จากรากแฝกหอมในห้องปฏิบัติการ

นำรากหญ้าแฝกหอมรวมทั้งเหง้ามาล้างน้ำให้สะอาด ผึ่งลมให้แห้งสับให้ละเอียด บดด้วย Blender อีกครั้ง จากนั้นนำบรรจุลงใน Bolling flask ซึ่งเป็นภาชนะแก้วกันกลม โดยใช้ตัวอย่างพืชประมาณ 500 กรัมต่อการกลั่น 1 ครั้ง ทำการสกัดโดยจัดตั้งอุปกรณ์ในการสกัดน้ำมันหอมระเหย ดังรูปที่ 1 ซึ่งเรียกรากสกัดด้วยวิธีนี้ว่าการกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation method) รอนจนกระทั่งมีน้ำมัน(oil) ผสมกับน้ำตกลงมา เก็บตัวอย่างที่กลั่นได้นี้ไว้กรองเอาแต่ oil ซึ่งจะลอยอยู่บนผิวชั้นบนรวบรวมเอา oil ที่สกัดได้เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5°C เพื่อรอการนำไปใช้ทดสอบกับหนอนใยผักต่อไป



รูปที่ 1. แสดงอุปกรณ์การกลั่นน้ำมันหอมระเหยจากรากหญ้าแฝก

- 1 flask ก้นกลมขนาด 2000 มล บรรจุพืชตัวอย่าง
- 2 กะบะทราย
- 3 เตาให้ความร้อน
- 4 ชุดควบแน่นประกอบด้วย  
A ทางน้ำเข้า  
B ทางน้ำออก
- 5 บริเวณที่น้ำมัน (oil) จะตกลงมา

### 3. วิธีการเตรียมหนอนใยผักเพื่อใช้ในการทดลอง

เก็บรวบรวมหนอนใยผักจากแปลงปลูกผักคะน้า บ้านบึงฉิม ต.พระลับ อ.เมือง จ.ขอนแก่น มาเลี้ยงในกล่องพลาสติกที่มีรูระบายอากาศในห้องปฏิบัติการ เมื่อเข้าคักแค่เก็บรวบรวมคักแคไปใส่กรงตาข่ายขนาด 47x47x70 ซม. ด้านบนเป็นกระจก ซึ่งตัดเป็นรูวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 15 ซม. แล้วเอามุ้งไนลอนสีเหลืองขนาด 27x27x25 ซม. ที่มีโครงเป็นลวดครอบไว้อีกชั้น เมื่อดักแคออกเป็นตัวเต็มวัยจะบินขึ้นมาเกาะที่มุ้งไนลอน นำกล้าคะน้าอายุ 3-5 วัน ที่ปลูกในกระถางใส่ในมุ้งเพื่อให้เป็นที่วางไข่ ย้ายกล้าคะน้าที่มีกลุ่มไข่มาไว้ในกรงเลี้ยงขนาด 50x50x88 ซม. ประมาณ 2 วัน ไข่จะฟักเป็นตัวหนอน เมื่อหนอนมีอายุ 3 วัน ก็นำไปใช้ทดสอบกับสารสกัดจากรากแผลกในห้องปฏิบัติการต่อไป

### 4. การเตรียมสารสกัดจากรากหญ้าแผลกหอม การทดสอบฤทธิ์กับหนอนใยผัก

นำสารสกัดจากรากแผลกหอมที่ได้ในข้อ 2 ซึ่งเป็นน้ำมัน จึงให้น้ำมันมีความเข้มข้นเท่ากับ 100% มาละลายกับน้ำกลั่นในปริมาตรต่างๆ เพื่อให้ได้สารละลายที่มีความเข้มข้นต่างๆกัน ตั้งแต่ 20%, 30%, 40% จนถึง 90%

วิธีการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดกับหนอนใยผัก แบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ

4.1 Topical application วิธีนี้หนอนจะตายเพราะถูกตัวตาย โดยนำสารสกัดหยดลงบนบริเวณสันกระโหลกของหนอนใยผักวัย 3 ด้วยเครื่อง micro applicator ในปริมาณ 0.1 microlitres/ตัว จากนั้นนำหนอนไปเลี้ยงในถ้วยพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 ซม. ซึ่งมีใบคะน้า ซึ่งด้านล่างรองด้วยกระดาษ tissue ชุบน้ำเล็กน้อยเพื่อให้ความชุ่มชื้นแก่ใบคะน้า ด้วยละ 10 ตัว ทำการทดลองแบบเดียวกัน ความเข้มข้นละ 4 ซ้ำ

4.2 Feeding Method วิธีนี้หนอนจะตายเพราะกินตาย นำใบคะน้ามาตัดเป็นวงกลมให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 ซม. มาชุบสารละลายของสารสกัดความเข้มข้นต่างๆที่เตรียมไว้ฝั่งลมให้แห้งพอหมาดๆ แล้วจึงนำไปวางในถ้วยพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 ซม. เชี่ยหนอนใยผักวัย 3 ด้วยฟู่กัน วางลงบนใบคะน้าใบละ 10 ตัว ทำการทดลองแบบเดียวกัน ความเข้มข้นละ 4 ซ้ำ เก็บไว้ในอุณหภูมิละ 25 องศาเซลเซียสในห้องปฏิบัติการ ทำการตรวจวัดผลทุกวันจนครบ 4 วัน ทั้ง 2 วิธี

ตารางที่ 1 ผลของสารสกัดจากรากหญ้าแฝกหอมที่มีต่อหนอนใยผัก โดยวิธี Topical application

ความเข้มข้น	จำนวนหนอนที่ตาย ภายหลังทดลอง 4 วัน (a)	%การตาย	%การตาย ที่แท้จริง (b)
Control	5	12.5	
30%	12	30	20
50%	12	30	20
70%	15	37.5	28.75
80%	17	42.5	34.29
90%	17	42.5	34.29
100%	18	45	37.14

หมายเหตุ : a แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ซ้ำ โดยใช้หนอนใยผักซ้ำละ 10 ตัว

b เนื่องจากมีการตายใน control จึงต้องหาเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงโดยใช้  
Abbott's formula

ตารางที่ 2 ผลของสารสกัดจากรากหญ้าแฝกหอมที่มีต่อหนอนไผ่ฝัก โดยวิธี Feeding Method

ความเข้มข้น	จำนวนหนอนที่ตาย ภายหลังทดลอง 4 วัน (a)	%การตาย	%การตาย ที่แท้จริง (b)
Control	7	17.5	
20%	9	22.5	6.06
30%	10	25	9.1
40%	15	37.5	24.25
50%	15	37.5	24.24
60%	18	45	33.33
70%	15	37.5	24.25
80%	16	40	27.27
90%	19	47.5	36.36
100%	24	60	51.52

หมายเหตุ : a แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ซ้ำ โดยใช้หนอนไผ่ฝักซ้ำละ 10 ตัว

b เนื่องจากมีการตายใน control จึงต้องหาเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงโดยใช้  
Abbott's formula

### สถานที่ทำการทดลองและเก็บข้อมูล

1. ห้องปฏิบัติการและเรือนทดลอง ภาควิชากีฏวิทยา
2. แปลงปลูกพืชผักของเกษตรกร
3. แปลงปลูกพันธุ์หูก้าแฝกจากสำนักงานคณะกรรมการพิเศษเพื่อประสานงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ (กปร. และกรมพัฒนาที่ดิน

ระยะเวลา ตุลาคม 2537 - กันยายน 2538

### ผลการทดลองและวิจารณ์

1. จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากรากหูก้าแฝก ที่มีต่อการตายของ หนอนใยผัก (*Plutella sylostella* L.) ในสภาพห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธีถูกตัวตาย Topical application ตั้งแต่ที่ระดับความเข้มข้น 30%, 50%, 70%, 80%, 90% และ 100% ติดตามผลการ ถูกทำลาย 4 วัน เนื่องจากภายหลัง 4 วัน หนอนที่รอดตายก็จะเข้าดักแด้ สังเกตการตายและ ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นจากตารางที่ 1 พบว่าสารสกัดจากรากหูก้าแฝกที่ระดับความเข้มข้น 30% และ 50% ทำให้หนอนใยผักตายได้ 20% และตายเพิ่มขึ้นเป็น 28.57% ที่ระดับความเข้มข้น 70% ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 80% และ 90% ทำให้หนอนตายได้เท่ากันคือ 34.29 ส่วน ระดับความเข้มข้นของสาร 100% จะทำให้หนอนตายถึง 37.14%

แต่ทั้งนี้เพื่อติดตามปฏิกริยาของหนอนที่รอดตายจนสามารถเข้าดักแด้ได้ในวันที่ 5 หลังการทดลองไปจนถึงสิ้นสุดการทดลองพบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดตั้งแต่ 70%, 80%, 90% และ 100% ดักแด้จะอ่อนแอและตายลงในอัตราส่วนที่ใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่า ประสิทธิภาพของสารสกัดจากรากหูก้าแฝกหอมที่มีต่อหนอนใยผัก แม้จะไม่แสดงผลอย่างเด่นชัดในการควบคุมหนอนใยผักในระยะตัวหนอน คือตายในระยะตัวหนอนเพียง 37% แต่ฤทธิ์ของ สารสกัดมีผลต่อดักแด้ทำให้ตายไม่สามารถเป็นตัวเต็มวัยได้ต่อไป

2. จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยวิธีกินตาย (Feeding Method) และ ติดตามผลและปฏิกริยา 4 วัน ภายหลังการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่าที่ระดับความเข้มข้นต่ำที่ 20%, 30% ไม่มีผลต่อการตายของหนอน ตั้งแต่ระดับความเข้มข้นของสารตั้งแต่ 40% ขึ้นไป เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใกล้เคียงกันมากกับผลการทดลองแบบถูกตัวตาย (Topical application) และให้ผลดีที่สุดในการควบคุมหนอนใยผักคือที่ระดับความเข้มข้นของสาร 100% ซึ่ง สามารถทำให้หนอนตายได้ถึง 51.52% และเมื่อสังเกตปฏิกริยาของหนอนที่รอดตายจนเข้าดักแด้ ได้ ปรากฏว่าในระดับความเข้มข้นสูงตั้งแต่ 70% ขึ้นไป ดักแด้จะตายก่อนจะเข้าสู่ตัวเต็มวัย

### สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากรากหญ้าแฝกหอม สามารถทำให้หนอนใบผักตบชวาได้ทั้งในลักษณะกินตายและถูกตัวตาย โดยจะเห็นผลชัดเจนเฉพาะในระดับความเข้มข้นสูงของสารสกัดที่ 100% จะให้ผลดีเพราะในการสกัดสารออกฤทธิ์ ใช้วิธีการกั่นเอาน้ำมันหอมระเหยจากรากรวมทั้งเหง้าหญ้าแฝกหอม ซึ่งน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกั่นจะออกมาในรูปแบบของน้ำมันผสมกับน้ำ แต่ไม่สามารถแยกชั้นของน้ำมันออกมาให้เห็นอย่างชัดเจน แม้จะตั้งทิ้งไว้เป็นเวลานาน จะเห็นเป็นเพียง film บางๆ ลอยอยู่บนผิวชั้นบน ไม่มีสีเช่นเดียวกับน้ำต่างจากน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากตะไคร้หอม ซึ่งจะเห็นชั้นของน้ำมันเป็นสีเหลืองแยกชั้นจากน้ำได้ชัดเจน (Chungsamarnyart และ Jiwajinda 1992)

น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกั่นจึงไม่สามารถบอกปริมาณความเข้มข้นได้ แต่ในการทดลองครั้งนี้ถือว่าให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 100% ดังนั้นเมื่อนำมาเติมสารละลายน้ำกลั่นหรือ acetone เพื่อให้ได้ปริมาณความเข้มข้นที่เจือจางลงในระดับต่างๆ จึงเห็นผลของสารออกฤทธิ์ที่ไม่ชัดเจนนัก และให้ผลที่ไม่ค่อยน่าพอใจในระดับความเข้มข้นของสารที่ต่ำ

แต่อย่างไรก็ตามจากผลการทดสอบพบว่า ประสิทธิภาพของสารสกัดจากรากหญ้าแฝกหอมมีสารออกฤทธิ์ที่มากคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดแมลงได้ดีเป็นแนวทางที่นำไปใช้ประโยชน์ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชร่วมกับสารสกัดจากพืชชนิดอื่นๆ ดังเช่นเมื่อนำสารสกัดจากรากหญ้าแฝกผสมกับน้ำมันตะไคร้หอมจะสามารถฆ่าตัวอ่อนเห็บโคได้ถึง 100% (รุ่งนภาและคณะ 2538) ฉะนั้นจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่เกษตรกรจะลดการใช้สารเคมี มาใช้สารสกัดจากพืชธรรมชาติที่ขึ้นง่ายมีอยู่ทั่วไปทุกภาคได้