



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม)

ปริญญา

เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม

วิทยาศาสตรสิ่งแวดล้อม

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากหนอนตายหายากเพื่อควบคุมหนอนไผ่ผัก

Extraction of Bioactive Compounds from Non-Tai-Yak (*Stemona* sp.) for Diamondback Moth (*Plutella xylostella* L.) Control

นามผู้วิจัย นางสาวนิษณา พัทธพันธ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์บังกษรัตน์ ปิตินันต์, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์สุรพล วิเศษสรรค์, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์จักรกฤษณ์ มหัจฉริยวงศ์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากหนอนตายหยาบเพื่อควบคุมหนอนใยผัก

Extraction of Bioactive Compounds from Non-Tai-Yak (*Stemona* sp.)
for Diamondback Moth (*Plutella xylostella* L.) Control

โดย

นางสาวนิษณา พัทธพันธ์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม)

พ.ศ. 2554

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นิพนธ์ พัทธพันธ์ 2554: การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากหนอนตายหยากระเพื่อ
ควบคุมหนอนใยผัก ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีและการจัดการ
สิ่งแวดล้อม) สาขาวิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิทยาศาสตร์
สิ่งแวดล้อม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์บังกชรัตน์ ปิณฑินต์,
Ph.D. 110 หน้า

การใช้สารเคมีสังเคราะห์ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของ
มนุษย์และสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการใช้ชีวผลิตภัณฑ์จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในระบบการผลิตที่เป็น
มิตรต่อสิ่งแวดล้อมอีกทั้งยังช่วยลดการใช้สารเคมีสังเคราะห์ หนอนตายหยากระเป็นพืชสมุนไพร
สกุล *Stemona* ที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชได้ งานวิจัยนี้มี
วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารออกฤทธิ์ในสารสกัดรากหนอนตายหยากระและประเมินประสิทธิภาพของ
สารออกฤทธิ์ต่อการลดปริมาณของหนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) ซึ่งเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ
ของผักคะน้า โดยนำส่วนรากหนอน ตายหยากระ เก็บจากจังหวัดพิษณุโลก มาสกัดด้วยตัวทำละลาย
เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และ เมทานอล ตามลำดับ ทดสอบความเป็นพิษต่อหนอนใยผักวัย 3 โดย
วิธี leaf dipping ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ภายใน 24 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดหยากระไดคลอโรมีเทน ให้
เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักสูงสุด มีค่า LC_{50} เท่ากับ 5,927.34 พีพีเอ็ม สารสกัดเฮกเซน
และเมทานอล มีค่า LC_{50} เท่ากับ 11,476.26 และ 7,053.67 พีพีเอ็ม ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดหยากระ
ไดคลอโรมีเทนมาแยกให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี และแยกให้บริสุทธิ์
บางส่วนด้วยทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี สามารถแยกได้สารบริสุทธิ์ 2 สาร (F4.5.3 และ F4.5.4) ให้
เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผัก 77.78 ± 0.6 และ 57.78 ± 1.2 ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 1.5
เปอร์เซ็นต์ (w/v) ภายใน 24 ชั่วโมงผลการวิเคราะห์โครงสร้างของสารทั้งสองโดยใช้เทคนิคทางส
เปกโตรสโกปี ได้แก่ NMR LC-MS และ FT-IR พบว่าสารออกฤทธิ์เป็นสาร
didehydrostemofoline

Nissana Phattharaphan 2011: Extraction of Bioactive Compounds from Non-Tai-Yak (*Stemona* sp.) for Diamondback Moth (*Plutella xylostella* L.) Control. Master of Science (Environmental Technology and Management), Major Field: Environmental Technology and Management, Department of Environmental Science. Thesis Advisor: Associate Professor Bongotrat Pitiyont, Ph.D. 110 pages.

The injudicious use of synthetic pesticides has raised environmental and health concerns. Consequently, utilization of biopesticides as alternative bio-agents in crop production system has been increasingly adopted due to their ecofriendly nature. Non-Tai-Yak (*stemona* spp.) have been used for insect pest control agents as alternative pesticides. The objective of this research is therefore to assess the effectiveness of the stemona root extracts on reducing the major cabbage insect pest, the diamondback moth (*Plutella xylostella*). Non-Tai-Yak was collected from Phitsanulok province. The roots were cleaned, ground and sequentially extracted with hexane, dichloromethane and methanol. Bioassays of the crude extracts at different concentrations against 3rd instar *P. xylostella* larvae were investigated by leaf dipping method and mortality was assessed after 24 hrs. The highest insecticidal activity was observed from dichloromethane crude extract with the LC₅₀ of 5,927.34 ppm. Hexane and methanol crude extracts were 11,476.26 ppm and 7,053.67 ppm, respectively. Further isolation and purification of the crude dichloromethane extract by column and thin-layer chromatography yielded two purified compound (F4.5.3 and F4.5.4) showing the most effective to *P. xylostella* with 77.78 ± 0.6 and 57.78 ± 1.2 percentage mortality, respectively at concentration 1.5% (w/v) after 24 hrs. The molecular structure of the two active compounds were identified by spectroscopic techniques, including NMR, LC-MS and FT-IR to be didehydrostemofoline.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์ได้โดยการอุปการะและช่วยเหลือจากผู้มีพระคุณ
หลายท่าน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. บงกชรัตน์ ปิตินต์ อาจารย์ที่ปรึกษา
หลัก ที่กรุณาให้คำปรึกษาในการเรียน การค้นคว้าวิจัย ข้อเสนอแนะ และคำแนะนำด้านต่าง ๆ
เกี่ยวกับงานวิจัย ตลอดจนการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ รอง
ศาสตราจารย์ ดร. สุรพล วิเศษสรรค์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษา และคำแนะนำใน
การทำวิจัย ทำให้วิทยานิพนธ์มีความสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ ดร.วิรงค์ จันทร ประธานกรรมการ
ดร. วินัย ปิตินต์ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาสละเวลาให้คำปรึกษา ชี้แนะข้อบกพร่อง
ด้านต่าง ๆ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และสำนักงาน
ส่งเสริมวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อม (สสว.) ภายใต้โครงการสร้างกำลังคนเพื่อพัฒนา
อุตสาหกรรม รหัสโครงการเลขที่ MRG-OSMEP505S049 คณะผู้วิจัยจึงขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ตลอดจนเพื่อน ๆ พี่ ๆ ภาควิชาวิทยาศาสตร์
สิ่งแวดล้อมที่ให้การสนับสนุน ให้คำปรึกษา และเป็นกำลังใจให้ผู้วิจัยมาโดยตลอด และ
ขอขอบพระคุณผู้ที่ให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้ซึ่งมิได้เอ่ยนามใน
ที่นี้ทุก ๆ ท่าน

นิษณา พัทธพันธ์

พฤษภาคม 2554

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	5
อุปกรณ์และวิธีการ	48
อุปกรณ์	48
วิธีการ	50
ผลและวิจารณ์	62
สรุปและข้อเสนอแนะ	80
สรุป	80
ข้อเสนอแนะ	81
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	82
ภาคผนวก	91
ภาคผนวก ก ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อหนอนไผ่ผัก	92
ภาคผนวก ข เครื่องมือวิเคราะห์สารบริสุทธิ์	94
ภาคผนวก ค ลักษณะการกินใบคะน้าและการตายของหนอนไผ่ผัก	96
ภาคผนวก ง โครมาโตแกรมและแมสสเปกตรัมของสารออกฤทธิ์	104
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	110

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	พืชและสารออกฤทธิ์ที่มีผลในการยับยั้งการกินของแมลง	11
2	สปีชีส์ของพืชสกุล <i>Stemona</i> ที่พบในประเทศไทย	15
3	ค่า LC_{50} และ EC_{50} ของ <i>stemona</i> alkaloids 13 ชนิด ในการกำจัด หนอนกระทู้ผัก	30
4	ระบบตัวทำละลายที่ใช้ในการแยกสารสกัดหนอนตายหยาก	57
5	ปริมาณสารสกัดหยาบจากรากหนอนตายหยากและลักษณะสารสกัด	64
6	ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล ต่อ หนอนใยผัก วัย 3 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ทดสอบโดยวิธี leaf dipping ที่เวลา 24 ชั่วโมง	67
7	ปริมาณ fraction F1-F4 และความเป็นพิษต่อหนอนใยผัก ทดสอบโดยวิธี leaf dipping ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ที่เวลา 24 ชั่วโมง	70
8	ปริมาณ fraction F4.1-F4.5 และความเป็นพิษต่อหนอนใยผัก ทดสอบโดยวิธี leaf dipping ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ที่เวลา 24 ชั่วโมง	72
9	ปริมาณ fraction F4.5.1-F4.5.5 และความเป็นพิษต่อหนอนใยผัก ทดสอบโดย วิธี leaf dipping ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ที่เวลา 24 ชั่วโมง	74
10	ค่าการดูดกลืนแสงจากอินฟราเรดสเปกตรัมของสารออกฤทธิ์	76
11	C^{13} NMR (100 MHz) และ 1H -NMR (400 MHz) ของ F4.5.3 ใน $CDCl_3$	77
12	ค่า R_f และ R_i ของสารออกฤทธิ์ F4.5.3 และ F4.5.4	79
ตารางผนวกที่		
ก1	ค่า LC_{50} ของสารสกัดหยาบ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล ของราก หนอนตายหยากต่อหนอนใยผัก ที่เวลา 24 ชั่วโมง	93

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	สูตรโครงสร้างทางเคมีสารอัลคาลอยด์บางชนิด	6
2	สูตรโครงสร้างทางเคมีสารซาโปนิน	7
3	สูตรโครงสร้างทางเคมีสารโรทีโนน	8
4	สูตรโครงสร้างทางเคมีสารอะซาดิแรคติน	9
5	การกระจายพันธุ์ของพืชสกุล <i>Stemona</i> ในประเทศไทย	14
6	ลักษณะรากของพืชสกุล <i>Stemona</i>	16
7	ลักษณะดอกของพืชสกุล <i>Stemona</i>	17
8	ลักษณะส่วนต่าง ๆ ของ <i>Stemona collinsae</i> Craib: (A) ใบ ช่อดอกและผล (B) กลีบรวมชั้นนอก (C) กลีบรวมชั้นใน (D-F) เกสรเพศผู้ (G) รังไข่ (H) เมล็ด	21
9	ลักษณะส่วนต่าง ๆ ของ <i>Stemona curtisii</i> : (A) ช่อดอกและผล (B) กลีบรวมชั้นใน (C) กลีบรวมชั้นนอก (D) วงเกสรเพศผู้ (E) เกสรเพศผู้ (F) รังไข่ (G) เมล็ด	22
10	โครงสร้างทางเคมีของสาร tuberostemonone , tuberostemonol , stemoamide, tuberostemospironine, tuberostemonine และ didehydrotuberostemonine	26
11	โครงสร้างทางเคมีของสาร neotuberostemonine และ bisdehydroneotuberostemonine	27
12	โครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่ม pyridoazepine alkaloids	28
13	โครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่ม pyrroloazepine alkaloids	29
14	โครงสร้างทางเคมีของสาร stemonacetal , stemonal และ stemonone	31
15	โครงสร้างทางเคมีของสาร stemofoline 16,17-didehydro-16(E)-stemofoline และ 16,17- didehydro-4(E)-stemofoline	32
16	โครงสร้างทางเคมีของสาร stemocurtisine	33
17	โครงสร้างทางเคมีของสาร (2'R)-hydroxystemofoline methylstemofoline (3'R)-stemofolenol stemofolinol และ 1',2'-didehydrostemofoline-N-oxide	34
18	แกนโครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่ม stemona alkaloids	35
19	โครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่ม stichoneurine type alkaloid	36
20	โครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่ม croomine type alkaloid	37
21	โครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่ม protostemonine type alkaloid	38

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
22 ระยะหนอนใยผัก (A) ระยะไข่ (B) ระยะตัวหนอน (C) ระยะดักแด้ (D) ระยะตัวเต็มวัย	42
23 หนอนใยผักวัยที่ 1 ถึง วัยที่ 4 (1 st , 2 nd , 3 rd และ 4 th หมายถึงหนอนใยผักวัยที่ 1, 2, 3 และ 4)	43
24 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงหนอนใยผัก	52
25 ขั้นตอนการสกัดสารสกัดหยาบจากรากหนอนตายหายาก	54
26 การแยกสารสกัดจากรากหนอนตายหายาก ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี	56
27 แผนภาพการแยกสารสกัดหยาบหนอนตายหายากให้บริสุทธิ์ และการทดสอบความเป็นพิษต่อหนอนใยผัก	59
28 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ <i>S. collinsae</i> (A) ลักษณะลำต้น (B) ลักษณะราก (C) ลักษณะดอก และ (D) ลักษณะใบ	63
29 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดจากรากหนอนตายหายาก	65
30 ความเป็นพิษของ fraction F1-F4 ต่อหนอนใยผัก ที่เวลา 24 ชั่วโมง ทดสอบโดยวิธี leaf dipping ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v)	70
31 ความเป็นพิษของ fraction F4.1-F4.5 ต่อหนอนใยผัก ที่เวลา 24 ชั่วโมง ทดสอบโดยวิธี leaf dipping ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v)	72
32 ความเป็นพิษของ fraction F4.5.1-F4.5.5 ต่อหนอนใยผัก ที่เวลา 24 ชั่วโมง ทดสอบโดยวิธี leaf dipping ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v)	75
33 โครงสร้างทางเคมีของสารออกฤทธิ์ F4.5.3	79

ภาพผนวกที่

ข1	เครื่องมือวิเคราะห์สารบริสุทธิ์ (A) Gas Chromatograph/Mass Spectrometer (GC/MS): Agilent รุ่น 6890N (B) Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR): Bruker รุ่น vector 33 (C) Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer: (NMR): Bruker รุ่น DRX	95
----	--	----

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
ค1 ลักษณะการกินใบกระน้ำของหนอนไผ่ที่เวลา 24 ชั่วโมง (A) กลุ่มควบคุม (B) กลุ่มทดลองในทุกความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเฮกเซน (C) กลุ่มทดลองในทุกความเข้มข้นของสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน (D) กลุ่มทดลองในทุกความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเมทานอล	97
ค2 ลักษณะหนอนไผ่กลุ่มควบคุม	98
ค3 ลักษณะการตายของหนอนไผ่กลุ่มทดลอง ในทุกความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล	98
ค4 ลักษณะการกินใบกระน้ำของหนอนไผ่ที่เวลา 24 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) (A) กลุ่มควบคุม (B) fraction F1 (C) fraction F2 (D) fraction F3 (E) fraction F4	99
ค5 ลักษณะของหนอนไผ่กลุ่มควบคุม	99
ค6 ลักษณะการตายของหนอนไผ่กลุ่มทดลอง	100
ค7 ลักษณะการกินใบกระน้ำของหนอนไผ่ที่เวลา 24 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) (A) กลุ่มควบคุม (B) fraction F4.1 (C) fraction F4.2 (D) fraction F4.3 (E) fraction F4.4 (F) fraction F4.5	100
ค8 ลักษณะของหนอนไผ่กลุ่มควบคุม	101
ค9 ลักษณะการตายของหนอนไผ่กลุ่มทดลอง	101
ค10 ลักษณะการกินใบกระน้ำของหนอนไผ่ที่เวลา 24 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) (A) กลุ่มควบคุม (B) fraction F4.5.1 (C) fraction F4.5.2 (D) fraction F4.5.3 (E) fraction F4.5.4 (F) fraction F4.5.5	102
ค11 ลักษณะของหนอนไผ่กลุ่มควบคุม	102
ค12 ลักษณะการตายของหนอนไผ่กลุ่มทดลอง	103
ง1 อินฟราเรดสเปกตรัมของสารออกฤทธิ์ F4.5.3	105
ง2 โคโรมาโตแกรมของสารออกฤทธิ์ F4.5.3	105
ง3 แมสสเปกตรัมของสารออกฤทธิ์ F4.5.3	106
ง4 โคโรมาโตแกรมของสารออกฤทธิ์ F4.5.4	106
ง5 แมสสเปกตรัมของสารออกฤทธิ์ F4.5.4	107

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
ง6 $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของสารออกฤทธิ์ F4.5.3	107
ง7 $^{13}\text{C-NMR}$ สเปกตรัมของสารออกฤทธิ์ F4.5.3	108
ง8 HPLC โครมาโตแกรมของสารออกฤทธิ์ F4.5.3	108
ง9 HPLC โครมาโตแกรมของสารออกฤทธิ์ F4.5.4	109
ง10 ทินเลเยอร์โครมาโตกราฟีของสาร F4.5.1- F4.5.5 โดยใช้เอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล (80:20)	109

การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากหนอนตายหยากเพื่อควบคุมหนอนใยผัก

Extraction of Bioactive Compounds from Non-Tai-Yak

(*Stemona* sp.) for Diamondback Moth (*Plutella xylostella* L.) Control

คำนำ

ในแต่ละปีมีผลผลิตจากภาคการเกษตรของไทยถูกผลิตออกสู่ท้องตลาดเป็นจำนวนมาก ทั้งเพื่อการส่งออกและเพื่อบริโภคภายในประเทศ ผลผลิตที่ตรงตามความต้องการของตลาดและผู้บริโภคนั้นจึงจำเป็นต้องมีรูปลักษณ์ที่ดี แต่การนำสารเคมีสังเคราะห์เข้ามาใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชในกระบวนการผลิต ก่อให้เกิดผลเสียต่อสภาพแวดล้อมระบบนิเวศน์ อีกทั้งยังมีสารพิษและสารเคมีตกค้างซึ่งเป็นอันตรายต่อเกษตรกรผู้ไ้และผู้บริโภคทั้งในระยะสั้นและระยะยาว รวมไปถึงการเสื่อมคุณภาพของดินและแหล่งเพาะปลูกอีกด้วย ดังนั้นการทำเกษตรอินทรีย์ ซึ่งเป็นระบบการผลิตที่คำนึงถึงสภาพแวดล้อม รักษาสมดุลของธรรมชาติและ ความหลากหลายทางชีวภาพ โดยมีระบบการจัดการนิเวศวิทยาที่คล้ายคลึงกับธรรมชาติ จึงเป็นการหลีกเลี่ยงการใช้สารสังเคราะห์ ที่อาจก่อให้เกิดมลพิษในสภาพแวดล้อม รวมถึงการนำภูมิปัญญาชาวบ้านมาใช้ประโยชน์ด้วย

การใช้พืชสมุนไพรที่มีคุณสมบัติป้องกันกำจัดแมลงไม่เพียงแต่จะช่วยลดต้นทุนในการผลิตจากการลดการนำเข้าปุ๋ยและสารเคมีกำจัดศัตรูพืชจากต่างประเทศ แต่ยังเพิ่มความปลอดภัยให้แก่เกษตรกรผู้ไ้และผู้บริโภค อีกด้วย หนอนตายหยาก เป็นพืชสมุนไพรวงศ์ Stemonaceae ที่เกษตรกรทั่วไป และ ภูมิปัญญาในท้องถิ่นนำมาใช้ประโยชน์กันมาช้านานแล้ว เช่นการฆ่าเห็บ เหา ในสัตว์ประเภท โค กระบือ (มณฑา และคณะ, 2548) โดยเกษตรกรนิยมใช้รากของหนอนตายหยากเป็นส่วนผสมในน้ำหมักชีวภาพ มากกว่าที่จะนำมาสกัดเป็นสารสกัดจากรากหนอนตายหยากเพียงอย่างเดียว หรือมีการผสมเข้ากับสารสกัดจากพืชสมุนไพรชนิดอื่น เช่น สารกึ และสะเดา เป็นต้น สารสกัดในแต่ละสูตรจะมีฤทธิ์ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่แตกต่างกันไปตามอัตราส่วนของสารสกัดแต่ละชนิดที่นำมาผสมกัน ซึ่งสารออกฤทธิ์ของหนอนตายหยากจะอยู่ในกลุ่มอัลคาลอยด์ ได้แก่ สารสตีโมโพลีน ไดคิไฮโดรสตีโมโพลีน และ เทูเบอโรสตีโมนิน เป็นต้น (Jiwajinda *et al.*, 2001; Brem *et al.*, 2002; Tikum *et al.*, 2008)

หนอนตายหยากมีอยู่ด้วยกันหลายสปีชีส์ตามแต่ละภาคของประเทศไทย เช่น *Stemona tuberosa* Lour มักจะพบทางภาคเหนือตอนบน *Stemona curtisii* มักพบทางภาคใต้ของประเทศ

และ *Stemona collinsae* Craib พบได้ทั่วไปตามสภาพที่เหมาะสม เป็นต้น โดยในแต่ละสปีชีส์จะมีชนิดและปริมาณสารออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันไป การที่จะนำต้นหนอนตายหยากมาใช้ให้เกิดประโยชน์ให้คุ้มค่ามากที่สุด จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา และสารสำคัญในหนอนตายหยากแต่ละสปีชีส์ (Brem *et al.*, 2002) ซึ่งยังพบปัญหาในการจำแนกสปีชีส์ และการจัดหมวดหมู่ทางอนุกรมวิธานอีกด้วย (Wongsati, 2000) ดังนั้นการที่จะนำรากหนอนตายหยากมาใช้ประโยชน์นั้น ต้องผ่านกระบวนการตรวจสอบสปีชีส์ให้ถูกต้องเหมาะสมสำหรับการศึกษาการสกัดสารออกฤทธิ์จากพืชสมุนไพรและการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดนั้น เพื่อให้ได้สารสกัดป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีประสิทธิภาพ ปลอดภัย และส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์น้อยลง รวมทั้งเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมในระยะยาวอีกด้วย ในการวิจัยครั้งนี้จะศึกษาสารออกฤทธิ์ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชจากหนอนตายหยากจากภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย ที่เกษตรกรใช้ในการป้องกันแมลงศัตรูกะหล่ำ ประเภทหนอนใยผัก (diamondback moth) ซึ่งเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของพืชตระกูลกะหล่ำ เช่น คะน้า กะหล่ำ หัวไชเท้า พบการแพร่ระบาดมากในบริเวณที่มีการปลูกพืชตระกูลกะหล่ำ ตั้งแต่ช่วงปลายฤดูหนาวถึงฤดูแล้ง (จันทิมา, 2550) โดยจะใช้หนอนใยผักเป็นตัวทดสอบการออกฤทธิ์ของรากหนอนตายหยาก เพื่อศึกษาหาสารออกฤทธิ์และปริมาณที่เหมาะสมในการใช้ป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืชต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดจากรากหนอนตายหยากชนิดพันธุ์ท้องถิ่น เพื่อการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก
2. เพื่อแยกและระบุสารออกฤทธิ์ในสารสกัดจากรากหนอนตายหยากพันธุ์ท้องถิ่นที่มีต่อหนอนใยผัก



ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ในเชิงความรู้พื้นฐานและการใช้ประโยชน์ด้านต่าง ๆ เช่น เจริญนโยบาย เจริญสาธารณะ และ การพัฒนาสู่เชิงพาณิชย์

1. สามารถทราบถึงสารเคมีสำคัญที่ออกฤทธิ์สูงสุดในการกำหนดนโยบายซึ่งเป็นศัตรูพืชที่สำคัญในการศึกษา
2. นำไปสู่การควบคุมมาตรฐานของสารสกัดและพัฒนาไปสู่การผลิตเชิงพาณิชย์ที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม
3. เกษตรกรสามารถนำสารสกัดหนอนตายหยากลงไปประยุกต์ใช้ได้ในการแปลงเพาะปลูกเพื่อทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ เพื่อให้สอดคล้องกับนโยบายของรัฐบาล ในการทำการเกษตรแบบเกษตรทฤษฎีใหม่ และเพิ่มความมั่นใจให้กับผู้บริโภค ในการบริโภคพืชผักปลอดสารพิษ
4. เป็นการนำทรัพยากรธรรมชาติในท้องถิ่นมาใช้ให้เกิดประโยชน์ในการเพิ่มมูลค่าผลผลิตทางการเกษตร

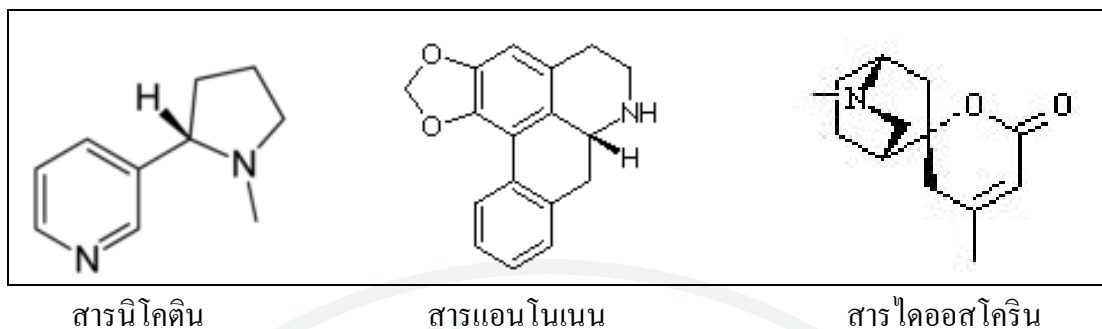
การตรวจเอกสาร

1. สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชจากธรรมชาติ

สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชจากธรรมชาติ โดยทั่วไปแล้ว เป็นสารที่สกัดได้มาจากพืช จะมีสารออกฤทธิ์ (active principles) เป็นสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีลักษณะค่อนข้างพิเศษต่างกันในพืชแต่ละชนิด สารเหล่านี้เกิดจากกระบวนการชีวสังเคราะห์ (biosynthesis) ในพืช ซึ่งกระบวนการชีวสังเคราะห์ของสารเคมีแต่ละชนิดจะมีกระบวนการที่แตกต่างกันเนื่องจากสารตั้งต้นที่ใช้ในการสังเคราะห์ต่างกัน พืชแต่ละวงศ์หรือสปีชีส์จึงสร้างสารประกอบทุติยภูมิแตกต่างกัน และสะสมไว้ในส่วนต่าง ๆ ของพืช (รัตนกรณ, 2552) สารทุติยภูมิเหล่านี้ส่วนใหญ่มีฤทธิ์นานาประการต่อทั้งมนุษย์ สัตว์ และแมลง จึงเรียกว่า สารออกฤทธิ์ สามารถใช้เป็นยาสมุนไพรรักษาโรคต่าง ๆ ได้ หากแต่เมื่อใช้เกินขนาด ส่วนใหญ่จะกลายเป็นพิษและก่อให้เกิดอันตรายขึ้นได้ สารประกอบ ทุติยภูมิบางประเภทก็ใช้เป็นยาไม่ได้ เมื่อได้รับเข้าไปไม่ว่ามากหรือน้อยก็เกิดเป็นพิษทั้งนั้น บางชนิดทำให้เสพติด บางชนิดถูกใช้เป็นยาฆ่าแมลง พืชและสัตว์รบกวนซึ่งนำโรคมาสู่คน เช่น หนู เป็นต้น (พรรณนิภา, 2545) สารประกอบทุติยภูมิที่สามารถนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช ได้แก่

1.1 อัลคาลอยด์ (alkaloids)

อัลคาลอยด์เป็นสารกลุ่มใหญ่ ส่วนมากพบในพืชชั้นสูง ในโมเลกุลมีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ มีชีวสังเคราะห์มาจากกรดอะมิโน คุณสมบัติทั่วไปของอัลคาลอยด์ คือ มักมีรสขม มีฤทธิ์เป็นด่าง ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ (รัตน, 2547) โดยปกติในพืชจะอยู่ในรูปเกลือของกรดอินทรีย์ มีความเป็นพิษและมีฤทธิ์ในการกำจัดแมลง ส่วนมากจะพบในพืชมีดอก และพืชใบเลี้ยงคู่มากกว่าพืชใบเลี้ยงเดี่ยว พบได้ในทุก ๆ ส่วนของพืช พบมากบริเวณส่วนเปลือก ราก ใบ และเมล็ด ทั้งนี้ขึ้นกับลักษณะและชนิดของพืชที่นำมาใช้ ตัวอย่างสารอัลคาลอยด์ในพืชที่มีฤทธิ์ในการกำจัดแมลง ได้แก่ สารนิโคติน (nicotine) ในใบยาสูบ (*Nicotiana tabacum* Linn.) สามารถฆ่าแมลงได้โดยมีผลต่อ ปมประสาทของแมลง สารนิโคตินจะมีพิษต่อสัตว์เลื้อยคลาน หากใช้ในความเข้มข้นสูง (วาสนา, 2545) สารแอนโนเนน (annonaine) ในใบและเมล็ดน้อยหน่า มีฤทธิ์ยับยั้งการหายใจของหนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) (Londershansen, 1991) และ สารไดออสโคริน (dioscorine) ในหัวกลอย มีฤทธิ์ยับยั้งการกินของแมลงศัตรูพืช (Nakata, 1999) สูตรโครงสร้างของสารดังกล่าวแสดงในภาพที่ 1

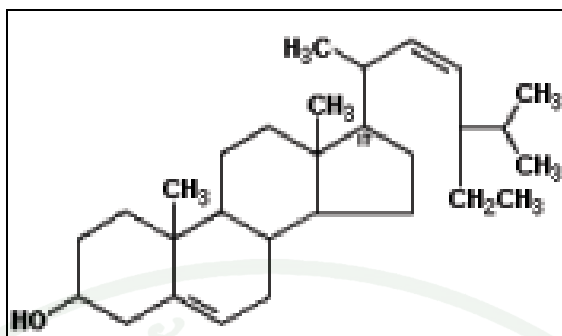


ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีสารอัลคาลอยด์บางชนิด

ที่มา: Nigg and Seigler (1992)

1.2 ไกลโคไซด์ (glycosides)

ไกลโคไซด์เป็นสารที่ประกอบด้วยน้ำตาลและส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาล การที่มีน้ำตาลมาจับอยู่ทำให้สารกลุ่มนี้ละลายน้ำได้ดีขึ้น ส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาลมีสูตร โครงสร้างและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่แตกต่างกันออกไป เช่น ซาโปนิน (saponin) (ภาพที่ 2) สามารถใช้กำจัดหอยเชอรี่ได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยการทำลายเม็ดเลือดในสัตว์ พบในผลของเทียนหยด เมล็ดมันแกว และเมล็ดก้ามปู เป็นต้น ไกลโคไซด์พบได้ในส่วนต่าง ๆ ของพืชชั้นสูง ไกลโคไซด์หลายชนิด มีฤทธิ์เป็นสารพิษ อาทิ ไซยาโนเจนิกไกลโคไซด์ เป็นไกลโคไซด์ซึ่งเมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์หรือด้วยปฏิกิริยาทางเคมีแล้วจะให้สารจำพวกไซยาไนด์ ซึ่งเป็นพิษต่อร่างกาย ทั้งนี้เพราะไซยาไนด์ไปแย่งจับกับเม็ดเลือดแดง ทำให้เม็ดเลือดแดงไม่สามารถจับกับออกซิเจนได้ พืชที่มีสารในกลุ่มนี้อยู่มักจะมีพิษ ก่อนนำมาเป็นอาหารต้องทำให้สุกเสียก่อน เพื่อให้สารจำพวกไซยาไนด์สลายไป (มารศรี, 2540)

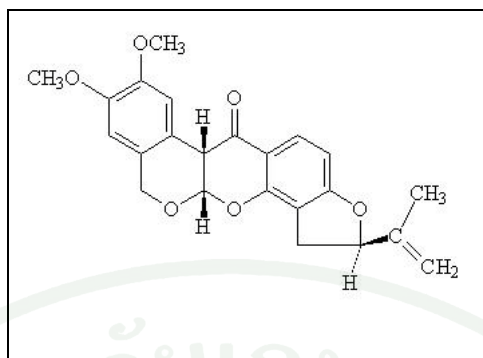


ภาพที่ 2 สูตรโครงสร้างทางเคมีสารชาโปนิน

ที่มา: Nigg and Seigler (1992)

1.3 ไอโซฟลาโวนอยด์ (isoflavonoids)

สารที่จัดอยู่ในกลุ่มไอโซฟลาโวนอยด์ ได้แก่ สารโรทีโนน (rotenone) (ภาพที่ 3) เป็นสารที่มีพิษต่อระบบหายใจของสิ่งมีชีวิต แมลงที่ถูกสารนี้จะมีอาการขาดออกซิเจน เป็นอัมพาต และตายในที่สุด (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2549) โดยทั่วไปพบในส่วนราก ลำต้น และใบ เช่น รากของต้นหางไหลหรือโล่ดิน หรืออวบน้ำ ซึ่งเป็นพืชวงศ์ถั่ว *Derris elliptica* Benth ในสมัยโบราณมนุษย์ได้นำสารโรทีโนนจากโล่ดินเป็นยาเบื่อปลา แต่มีพิษน้อยต่อสัตว์เลือดอุ่น (Khamis *et al.*, 2002) นอกจากนั้นยังสามารถสกัดได้จากรากและต้นของหนอนตายหยาก (*Stemona collinsae* Craib.) รากป่นแห้งของหนอนตายหยากสามารถกำจัดแมลงในบ้าน ได้แก่ เือด หมัด ลูกน้ำยุง และหนอนแมลงวัน สามารถกำจัดแมลงศัตรูพืช ได้แก่ ค้างคาวเมลิ็ดถั่ว (*Callosobruchus chinensis*) หนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) หนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) หนอนเจาะสมอฝ้าย (*Heliothis armigera*) แมลงวันแตง (*Dacus cucurbitae*) เพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii*) หนอนกะหล่ำ (*Crocidoiomia binotalis*) หนอนแตง (*Margalonia indica*) เป็นต้น (รักษเกียรติ, 2546)

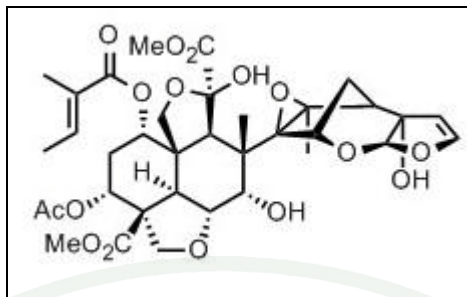


ภาพที่ 3 สูตรโครงสร้างทางเคมีสารโรทีโนน

ที่มา: Nigg and Seigler (1992)

1.4 เทอร์พีนอยด์ (terpenoids)

สารประกอบประเภทเทอร์พีนอยด์กระจายอยู่ทั่วไปในสิ่งมีชีวิต กลุ่มสารเทอร์ปีนสามารถพบได้มากในพืช นอกจากนี้ยังพบในเชื้อรา แมลง จุลินทรีย์ และสิ่งมีชีวิตในทะเล (รัตน, 2547) เป็นสารที่ประกอบด้วยหน่วยไอโซพรีน (isoprene units) หรือเรียกว่า ไอโซพรีนอยด์ (isoprenoids) สารสกัดที่ได้จากส่วนต่าง ๆ ของสะเดา เช่น ใบ เปลือก ผล และเมล็ด จะมีสารในกลุ่ม triterpenoids, diterpenoids และ monoterpenoids กลุ่มสารที่มีประสิทธิภาพต่อการป้องกันและกำจัดแมลงส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มไตรเทอร์พีนอยด์ (triterpenoids) โดยเฉพาะสารอะซาดิแรคติน (azadirachtin) ที่สกัดได้จากเมล็ดสะเดา (ภาพที่ 4) มีสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งการกิน ทำให้การเจริญเติบโตของแมลงผิดปกติ ยับยั้งการเจริญเติบโตของแมลง มีผลทำให้หนอนไม่สามารถลอกคราบเจริญเติบโตต่อไป หนอนจะตายในระยะลอกคราบ สารออกฤทธิ์ยังมีผลต่อการสร้างฮอร์โมน ซึ่งทำให้การผลิตไข่และปริมาณการฟักไข่ลดน้อยลง (Schmutter, 1992) สารอะซาดิแรคตินที่สกัดได้จากเมล็ดสะเดามีความสำคัญในการนำไปผลิตเป็นสารป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืช ในทางการค้าแล้ววัตถุดิบที่จะใช้ในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ จะถูกกำหนดให้ต้องมีความเข้มข้นของสารอะซาดิแรคตินอยู่ 10 ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ (Isman, 2006) โดยสารนี้จะใช้ได้ผลดีกับหนอน เช่น หนอนใยผัก หนอนใยกะหล่ำปลี หนอนเจาะยอดคะน้า หนอนขอนใบ หนอนกระทู้ หนอนหนามเจาะสมอฝ้าย หนอนหลอดหอม หนอนกอ และหนอนบุ้งปอแก้ว (ขวัญชัย, 2540)



ภาพที่ 4 สูตรโครงสร้างทางเคมีสารอะซาดิแรคติน

ที่มา: Nigg and Seigler (1992)

1.5 น้ำมันหอมระเหย (volatile oils)

น้ำมันหอมระเหยมีลักษณะเป็นน้ำมันที่มีกลิ่นหอม ระเหยง่ายในอุณหภูมิปกติ ไม่มีสี มีองค์ประกอบของสารเคมีหลายชนิด สามารถกลั่นได้ด้วยไอน้ำและวิธีอื่น ๆ พบได้ในส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ดอก ใบ ผล และกลีบเลี้ยง เป็นต้น คุณสมบัติที่สำคัญของน้ำมันหอมระเหยในด้านการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชคือ เป็นสารที่มีฤทธิ์ในการดึงดูดแมลง ไล่แมลง ตัวอย่างพืชที่รู้จักกันดีคือ ตะไคร้หอม ใช้ไล่แมลง ยุง และแมลงสาบ ซึ่งในตะไคร้หอมจะมีสารซิโทรเนลล (citronellal) เจอรานิอล (geraniol) และ ซิโทรเนลลอล (citronellol) เป็นหลัก (รัตนกรณ, 2552) ในประเทศไทยมีการนำ Repel Care (ยูคาลิปตัส และน้ำมันขมิ้น) และน้ำมันจากรากขิง ใบฝรั่ง และเหง้าขมิ้น มากลั่นด้วยไอน้ำแล้วนำไปทำการทดลองกับอาสาสมัครในการไล่ยุงและแมลงวัน พบว่า สามารถป้องกันยุงได้นานถึง 9 ชั่วโมง จากผลที่ได้นำไปสู่การนำพืชทั้ง 5 ชนิด มาใช้ในการขับไล่แมลงวัน ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 9 ชั่วโมง แต่จะป้องกันได้เพียง 82 ถึง 96 เปอร์เซ็นต์ หลังจากผ่านไป 10 และ 11 ชั่วโมง (Tawatsin *et al.*, 2006)

1.6 อื่น ๆ

ไพรีทรินเป็นพืชตระกูลเบญจมาศ *chrysanthemum* ซึ่งจะมีสารจำพวก pyrethrins chrysanthemates และ pyrethrates สารเหล่านี้เมื่อรวมตัวกับแอลกอฮอล์ของ pyrethrolone คือ pyrethrins I และ II จะสามารถป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ สารไพรีทรินสามารถใช้ควบคุมแมลงและศัตรูพืชได้อย่างกว้างขวาง อีกทั้งยังไม่มีผลกระทบต่อมนุษย์ เนื่องจากมี

ฤทธิ์ต่อศัตรูพืช และ พืชผลที่จับเก็บ แหล่งที่อยู่ของสัตว์ และตัวสัตว์ อีกด้วย สารไพรีทรินจึงถูกนำไปผลิตและจัดจำหน่ายในสูตรที่หลากหลายภายใต้ผู้ผลิตที่ต่างกันจำนวนมาก (Isman, 2006)

2. ลักษณะการออกฤทธิ์และความเป็นพิษของสารทุติยภูมิต่อแมลงศัตรูพืช

ปริมาณสารออกฤทธิ์ในพืชขึ้นอยู่กับพันธุ์ สภาพแวดล้อม อายุ การเก็บเกี่ยว วิธีเก็บเกี่ยว และวิธีการรักษาหลังการเก็บเกี่ยว การเลือกวิธีการสกัดได้เหมาะสมเพื่อสกัดสารออกฤทธิ์ออกจากพืชจึงขึ้นกับชนิดของสารออกฤทธิ์นั้น ๆ ซึ่งต้องรู่ว่าจะใช้ส่วนใดของพืช (รัตนภรณ์, 2552)

สารทุติยภูมิที่มีในพืชจะมีคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชตามลักษณะของสารออกฤทธิ์ ซึ่งพืชแต่ละชนิดมีสารออกฤทธิ์ต่างกัน ดังนั้นจึงใช้ป้องกันศัตรูพืชต่างกันด้วย ผุสดีและ พันธิตร (2546) รายงานว่า สารทุติยภูมิในพืชมีประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ทำลายแมลงศัตรูพืชได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม การทำลายโดยตรง คือ เมื่อแมลงได้รับพิษแล้วจะตายทันที โดยสารออกฤทธิ์จะเข้าไปทำลายระบบต่าง ๆ เช่น ระบบประสาท ระบบทางเดินอาหาร และระบบหายใจ เป็นต้น ส่วนการทำลายโดยทางอ้อม คือ แมลงศัตรูพืชจะไม่ตายทันทีเมื่อได้รับสารนั้น แต่จะมีผลต่อระบบสรีระและพฤติกรรมของแมลง เช่น ยับยั้งการเจริญเติบโตของตัวหนอน โดยจะมีผลต่อฮอร์โมนที่ใช้ควบคุมการลอกคราบ ทำให้แมลงไม่สามารถลอกคราบจนเป็นตัวเต็มวัยได้ และตายในที่สุด นอกจากนี้ยังมีผลต่อระบบสืบพันธุ์ โดยแมลงจะเป็นหมัน ไข่ฝ่อ วางไข่น้อยลง หรือไข่ฟักไม่สมบูรณ์

2.1 ลักษณะการออกฤทธิ์ของสารทุติยภูมิต่อแมลงศัตรูพืช

การออกฤทธิ์ของสารทุติยภูมิสามารถแบ่งได้ ดังนี้

2.1.1 สารไล่แมลง (repellant)

สารไล่แมลงมักเป็นสารที่มีกลิ่น ระเหยง่าย ได้จากพืชที่มีน้ำมันหอมระเหย เช่น ใบกะเพรา (*Ocimum sanctum*) ใบโหระพา (*O. basilicum*) ใบกานพลู (*Eugenia caryophyllus*) ใบพลู (*Piper betel*) และเหง้าของขมิ้น (*Curcuma longa*) มีสารพวกโมโนเทอร์พีนอยด์ ซึ่งมีฤทธิ์ในการไล่แมลง (พิติยาและณรงค์, 2542) นอกจากนี้ สุภาณี และคณะ (2545) ได้ศึกษาประสิทธิภาพน้ำมันหอม

ระเหยกระทือ น้ำมันหอมระเหยพลากรอง และน้ำมันสะเดา ในการไล่ด้วงวงข้าวโพด พบว่า ที่ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ มีค่า EC_{50} เท่ากับ 4.918, 10.429 และ 16.068 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

2.1.2 สารล่อแมลง (attractant)

สารล่อแมลงมักเป็นสารที่มีกลิ่น ระเหยง่าย ได้จากพืชที่มีน้ำมันหอมระเหย เช่นเดียวกับสารไล่แมลง แต่จะการทำงานตรงกันข้าม คือ ล่อแมลงให้เข้ามาหา เช่น หญ้าเหี่ยวหมู มีสารเซลินาเดียน (selinnadiene) เป็นสารดึงดูดแมลงวันทอง อีกทั้งยังมีใบแก้ว ใบพลับพลึง เล็บมือนาง และดอกคำแสน เป็นต้น ที่สามารถดึงดูดแมลงวันทองได้เช่นเดียวกัน ใบและต้นตะไคร้หอม มีสารซิโตรเนลลอล (citronellol) เป็นสารดึงดูดแมลงให้มาอยู่รวมกัน เป็นต้น (รัตนกรณ, 2552)

2.1.3 สารยับยั้งการกิน (antifeedant)

การที่แมลงจะกินพืชชนิดใดนั้น ขึ้นอยู่กับว่าพืชนั้นผลิตสารที่กระตุ้นการกินใบหรือไม่ ในทางตรงกันข้ามแมลงจะไม่กินพืชที่มีการสร้างสารยับยั้งการกินในแมลงชนิดนั้น ซึ่งเราจะสังเกตได้ว่าพืชแต่ละชนิดมีแมลงเป็นศัตรูต่างชนิดกัน สารยับยั้งการกินของแมลงที่รู้จักกันดีคือ อะซาดิแรคติน ซึ่งได้จากเนื้อในเมล็ดสะเดา (รัตนกรณ, 2552) และพบสารอื่น ๆ อีก แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 พืชและสารออกฤทธิ์ที่มีผลในการยับยั้งการกินของแมลง

พืช	สารออกฤทธิ์	อ้างอิง
สะเดา	อะซาดิแรคติน	Isman, 2006
เมล็ดส้มเขียวหวาน	ลิโมนอยด์	Laohakunjit <i>et al.</i> , 2007
กระเทียม	อะลิซิน	รักษ์เกียรติ, 2546
หนอนตายหยาก	ไดคิไฮโดรสตีโมโฟลินและ สตีโมโฟลิน	Jiwajinda <i>et al.</i> , 2001

2.1.4 สารยับยั้งการเจริญเติบโต

สารยับยั้งการเจริญเติบโตเป็นสารที่มีผลต่อฮอร์โมนที่ใช้ควบคุมการลอกคราบ ทำให้แมลงไม่สามารถลอกคราบจนเป็นตัวเต็มวัยได้และตายในที่สุด พืชที่มีคุณสมบัตินี้ ได้แก่ เมล็ดพริก สารสำคัญคือ สารแคปไซซิน (capsaisin) มีผลยับยั้งเอนไซม์ในแมลงที่กำลังเจริญเติบโต ใบและต้นสาวเลื้อ มีสารยูพาทอล (eupathal) ทำให้แมลงไม่สามารถลอกคราบได้

2.1.5 สารที่มีผลต่อระบบประสาทของแมลง

สารที่มีผลต่อระบบประสาทของแมลงเกี่ยวข้องกับการส่งผ่านของโซเดียม และโปแตสเซียมไอออนในเซลล์ประสาท เมื่อแมลงสัมผัสกับสารจะเกิดอาการตื่นเต้น สั่น และเป็นอัมพาตอย่างรวดเร็ว (knock down effect) หรือเกี่ยวข้องกับการยับยั้งการส่งสัญญาณระหว่างเซลล์ประสาท (รัตนภรณ์, 2552) พืชที่มีคุณสมบัตินี้ ได้แก่ ผักกูด มีสารแอนทราควิโนน (anthraquinone) มีฤทธิ์ต่อระบบประสาทของหนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม และด้วง เป็นต้น เหง้าवानน้ำ มีสารคาลามอลแอลดีไฮด์ (calamol aldehyde) มีพิษต่อระบบประสาทของแมลง เช่น ด้วงหมัดผัก ด้วงงวงช้าง และแมลงวันทอง เป็นต้น และเหง้าขมิ้นชัน มีสารทูเมอร์โอน คูเคอร์มิน (turmerone curcumin) มีฤทธิ์ทำลายระบบประสาทของแมลงอีกด้วย (รักษเกียรติ, 2546)

2.1.6 สารที่รบกวนระบบการหายใจของแมลง

สารที่รบกวนระบบการหายใจของแมลงจะขัดขวางการส่งผ่านอิเล็กตรอนในไมโทคอนเดรีย ตัวอย่างพืชที่มีคุณสมบัตินี้ ได้แก่ รากหางไหล มีสารโรทีโนน (rotenone) ซึ่งทำให้แมลงตายจากกระบวนการยับยั้งการหายใจ เป็นต้น (รัตนภรณ์, 2552)

2.2 ความเป็นพิษของสารทุติยภูมิต่อแมลงศัตรูพืช

ความเป็นพิษของสารทุติยภูมิสามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท ได้แก่

2.2.1 พิษโดยการถูกตัวตาย (contact poisons)

เมื่อแมลงถูกสารพิษจะทำให้สารพิษซึมผ่านเข้าไปตามผิวหนังของลำตัวแมลง เข้าไปทำลายระบบประสาทและสมอง สารประเภทนี้ได้แก่ สารโรทีโนนจากต้นหางไหล หรือ โล่ดินสารนิโคตินจากใบยาสูบ สารไพรีทรินจากดอกไพรีทรัม สารแทนนิน และอาซาโรนจากว่านน้ำ สารเคอร์คูมินจากขมิ้นชัน สารเหล่านี้สามารถทำลายแมลงต่าง ๆ ได้หลายชนิด เช่น เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยหอย หนอนผีเสื้อ และด้วงต่าง ๆ

2.2.2 พิษต่อระบบทางเดินอาหาร (stomach poisons)

เมื่อแมลงกัดกินพืช สารพิษจากพืชก็จะเข้าไปทำลายระบบทางเดินอาหาร เช่น กระเพาะอาหาร ลำไส้ สารประเภทนี้ได้แก่ สารนิโคตินจากใบยาสูบ โดยใช้ร่วมกับสารพวกแทนนิน จากว่านน้ำ สารอะซาแรคตินจากสะเดา และสารไพรีทรินจากดอกไพรีทรัม เป็นต้น ซึ่งจะทำลายแมลงพวกกัดกิน เช่น ปลวก ด้วง ตั๊กแตน และหนอนต่าง ๆ

2.2.3 พิษจากสารรมควัน (fumigants)

สารพิษประเภทนี้เป็นสารที่ระเหยได้ในอุณหภูมิธรรมดาและเป็นพิษต่อแมลง เมื่อแมลงสูดดมสารพิษเข้าไป พิษเข้าไปทำลายระบบการหายใจ แต่ถ้าหากแมลงได้รับสารพิษเข้าไปในปริมาณมาก ทำให้แมลงตายได้ เช่น สารนิโคตินจากใบยาสูบ สารแคบไซซินจากพริกขี้หนู เป็นต้น

3. พืชสกุล *Stemona*

พืชสกุล *Stemona* นี้มีอยู่ประมาณ 30 สปีชีส์ พบแพร่กระจายอยู่ตามประเทศต่าง ๆ เช่น ญี่ปุ่น จีน ฮอลแลนด์ ฯลฯ แต่ที่พบกระจายอยู่ในประเทศแถบเอเชีย คือ พม่า กัมพูชา จีน อินเดีย ญี่ปุ่น ลาว มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ ไทย และเวียดนาม มีอยู่ประมาณ 20 สปีชีส์ ส่วนทางตอนเหนือของออสเตรเลีย ถูกพบอยู่ 5 สปีชีส์ ได้แก่ *S. australiana* (Benth.) C.H. Wright, *S. curtisii* Hk.f., *S. javanica* (Kunth) Engl., *S. lucida* (R.Brown) Duyfjes และ *S. tuberosa* Lour. (เมธี, 2544) ในปี พ.ศ. 2528 นักพฤกษศาสตร์ด้านอนุกรมวิธาน (taxonomy) จากมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ได้จำแนกกลุ่ม และเรียงลำดับของพืชสกุล *Stemona* ไว้ดังต่อไปนี้

Division	Embryophyta
Subdivision	Angiospermae
Class	Monocotyledoneae
Order	Liliales
Family	Stemonaceae
Genus	Stemona

สำหรับประเทศไทย พบว่าพืชสกุลนี้มีความหลากหลายทางสปีชีส์ และมีการกระจายพันธุ์อยู่ทั่วไปในทุกภูมิภาคของประเทศ (ภาพที่ 5) พบได้ในที่ ๆ ค่อนข้างแห้งแล้ง ขึ้นอยู่ตามหินและบริเวณป่าดิบชื้น ป่าผลัดใบ และป่าไผ่ โดยทั่วไปแล้วจะพบไม่ไกลจากฝั่งทะเลที่ระดับความสูงต่ำกว่า 500 เมตร พืชสกุล *Stemona* เป็นพืชที่ขยายพันธุ์ง่าย โดยใช้เมล็ดหรือเหง้าใหม่ขึ้นจากกอต้นเดิม แล้วขยายออกไปเรื่อย ๆ ขึ้นได้ในดินทุกชนิด ทนทานสภาพแวดล้อมได้ดี เป็นพืชที่เจริญในฤดูฝน ออกดอกและติดผลในฤดูฝน เมื่อถึงฤดูแล้งต้นจะโทรมลง ครั้นถึงฤดูฝนต่อไปก็จะเจริญแทงหน่อขึ้นมาใหม่ (เมธี, 2544)



ภาพที่ 5 การกระจายพันธุ์ของพืชสกุล *Stemona* ในประเทศไทย

ที่มา: ปาจารย์ (2551)

จากการรวบรวมรายงาน พบพืชสกุล *Stemona* ในประเทศไทย ประมาณ 10 สปีชีส์ และมีชื่อเรียกแตกต่างกันตามท้องถิ่นต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 สปีชีส์ของพืชสกุล *Stemona* ที่พบในประเทศไทย

สปีชีส์	ชื่อท้องถิ่น	จังหวัดที่พบ
<i>Stemona aphylla</i> Craib	เครือปรุง	จ.แพร่, จ.ลำปาง
<i>Stemona asperula</i> J.J.Sm	ไม่มีรายงานชื่อไทย	ไม่ระบุจังหวัด
<i>Stemona burkillii</i> Prain	ปงมดงาม โปงมดงาม	คอดสุเทพ จ.เชียงใหม่, อ.ภูเพียง จ.น่าน
<i>Stemona collinsae</i> Craib	ปงช้าง หนอนตายหายาก	ภาคเหนือและภาคกลาง (ไม่ระบุจังหวัด) อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี, อ.วังทอง จ.พิษณุโลก
<i>Stemona curtisii</i> Hk.f.	รากลิง หนอนตายหายาก	จ.พัทลุง, จ.จันทบุรี, จ.ตรัง, อ.แม่เหียะ จ.เชียงใหม่
<i>Stemona griffithiana</i> Kurz	ไม่มีรายงานชื่อไทย	จ.แพร่
<i>Stemona hutanguriana</i> W.sp.nov.	ไม่มีรายงานชื่อไทย	ป่าปาเบนคอง อ.เมือง จ.อุบลราชธานี, จ.ศรีสะเกษ
<i>Stemona kerrii</i> Craib	ไม่มีรายงานชื่อไทย	คอดสุเทพ จ.เชียงใหม่, จ. ตาก
<i>Stemona phyllantha</i> Gagnep	ไม่มีรายงานชื่อไทย	จ.เพชรบุรี, จ.ภูเก็ต, จ.กาญจนบุรี, จ.นครราชสีมา
<i>Stemona tuberosa</i> Lour.	กะเพียด หนอนตายหายาก	จ.ประจวบคีรีขันธ์, จ.ชลบุรี, จ.นครสวรรค์, จ.แม่ฮ่องสอน, จ.เพชรบุรี

ที่มา: คัดแปลงจาก เมธี (2544ก)

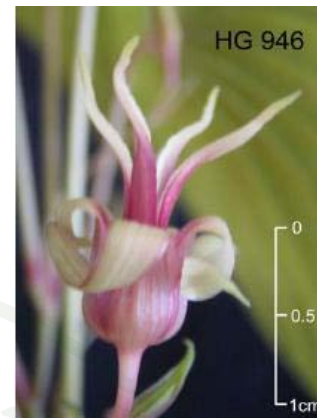
3.1 พฤกษศาสตร์ของพืชสกุล *Stemona*

พืชสกุล *Stemona* อยู่ในวงศ์ Stemonaceae เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวประเภทไม้เลื้อย ลำต้นใต้ดินจะมีรากเป็นแบบทูเบอร์ (tuber) อยู่รวมกันเป็นกระจุกคล้ายกระชาย มีจำนวน 50 ถึง 80 ราก แต่ละรากยาว 12 ถึง 50 เซนติเมตร (ภาพที่ 6) ใบเดี่ยวรูปหัวใจปลายแหลม หรือรูปใบคล้ายใบพลูแต่ปลายใบแหลมยาวขึ้นไป เส้นใบตามยาวมีหลายเส้นเห็นชัดเจนในแนวนอนกับขอบใบ ระหว่างเส้นใบดังกล่าวมีเส้นใบออกตามขวางของใบมาประสานกับเส้นใบ ดอกขนาดเล็กสีขาวหรือสีม่วงแล้วแต่สปีชีส์ (ภาพที่ 7) ในช่วงฤดูแล้งลำต้นบนดินจะโทรม พอเริ่มฤดูฝนจึงจะงอกออกมาใหม่ (เมธี, 2544)



ภาพที่ 6 ลักษณะรากของพืชสกุล *Stemona*

ที่มา: ปาจารย์ (2551)

*S. tuberosa**S. phyllantha**S. burkillii*

unidentified specie

*S. curtisii**S. collinsae**S. parviflora**S. cochinchinensis**S. kerrii*

ภาพที่ 7 ลักษณะดอกของพืชสกุล *Stemona*

ที่มา: Kaltenegger *et al.* (2003) และ Schinnerl *et al.* (2007)

จากเอกสารทางด้านอนุกรมวิธาน มีพืชสกุล *Stemona* ที่พบแล้วทั้งสิ้นประมาณ 25 สปีชีส์ ในประเทศไทยที่สำรวจพบ ณ ขณะนี้มีทั้งสิ้น 11 สปีชีส์ แต่สามารถตรวจระบุได้แน่ชัด 9 สปีชีส์ (Inthachub, 2008) ในการศึกษาด้านอนุกรมวิธานใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็นหลักโดยเฉพาะลักษณะของดอก ซึ่งมีความแตกต่างอย่างเห็นได้ชัดในพืชสกุล *Stemona* แต่ละสปีชีส์

3.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชสกุล *stemona* บางสปีชีส์

3.2.1 *Stemona burkillii* Prain emend Maxw.

Rungrojsakul (2001d) และ Maxwell (1991) กล่าวว่า *S. burkillii* Prain มีลำต้นตั้งตรง ต่อมาเจริญเลื้อยยาว ลำต้นไม่มีขน มีรากพิเศษแบบทูปเบอร์จำนวนมาก เป็นรูปกระสวย ผิวด้านนอกมีสีน้ำตาล ด้านในสีขาว มีขนาดยาวประมาณ 12 เซนติเมตร กว้าง 10 มิลลิเมตร ตัวใบรูปไข่ ปลายแหลม ฐานใบรูปหัวใจ มีเส้นใบยื่นออกมาจากฐานใบถึงปลายใบเห็นเด่นชัด 11 ถึง 13 เส้น ข้างใต้ใบเส้นจะมีลักษณะนูน ๆ ใบไม่มีขน ขนาดใบยาว 5 ถึง 11 เซนติเมตร กว้าง 6.25 ถึง 7.5 เซนติเมตร ก้านใบยาว 10 ถึง 15 เซนติเมตร ช่อดอกไม่มีขน แกนหลักมีสีเขียว ก้านดอกย่อยยาวประมาณ 4 เซนติเมตร มีสีแดงเลือดนกถึงสีครีม กลีบดอกไม่มีขน ด้านนอกมีสีเขียวซีดปนแดง ด้านในมีสีแดงจาง ๆ อับเรณูมี 4 อัน มีสีเขียวซีด ส่วนที่ชูเกสรตัวผู้อยู่เหนือส่วนอื่น ๆ ของดอกยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร ผลแบบแคปซูล รูปไข่ ลักษณะคล้ายกระสวย ปลายมีจะงอยยื่นยาวประมาณ 5 มิลลิเมตร โคนผลกว้าง ขนาดผลยาวประมาณ 25 มิลลิเมตร กว้าง 10 มิลลิเมตร ไม่มีขน ผิวเรียบ สีเขียว เมล็ดรูปไข่ มีลวดลายตามยาวเป็นร่องขนาดเล็ก ไม่มีขน ยาว 10 มิลลิเมตร กว้าง 3 มิลลิเมตร มี aril ปกคลุมเป็นลอนเล็ก ๆ ไม่สม่ำเสมอ พบดอกในเดือนพฤษภาคม ผล และเมล็ดในเดือนกรกฎาคม

3.2.2 *Stemona kerrii* Craib emend. Maxw.

Rungrojsakul (2001c) และ Maxwell (1991) กล่าวว่า *S. kerrii* Craib กลีบดอกมีหลายสี เริ่มจากสีแดงเลือดนกปนสีน้ำตาลไปจนถึงสีชมพูอ่อน ๆ ทั้ง 2 ด้านของกลีบดอก ในส่วนของกลีบดอกครึ่งกลีบล่างจะมีสีม่วง และมีสีเขียวซีดเรื่อยไปจนถึงส่วนล่างของกลีบดอกครึ่งบน ส่วนบนของกลีบดอกนี้จะมีสีเขียวอ่อน ผลแบบแคปซูล ปลายแหลม ไม่มีขน สีเขียว ขนาดยาว 12 ถึง 13 มิลลิเมตร กว้าง 11 ถึง 12 มิลลิเมตร เมล็ดกลมด้านเดียว มีลายเส้น ไม่มีขน เส้นผ่าศูนย์กลางยาว 4 ถึง 5 มิลลิเมตร ที่โคนมี aril ปกคลุม สีขาว สภาพแวดล้อมที่พบของ *S. kerrii* Craib และ *S.*

burkillii Prain คล้ายคลึงกัน แต่ *S. kerrii* จะมีความแข็งแรงน้อยกว่า *S. burkillii* ปกติ *S. kerrii* จะเลื้อยพันสิ่งอื่น และจะเริ่มมีดอกในช่วงปลายเดือนพฤษภาคมถึงปลายเดือนสิงหาคม และติดผลราวปลายเดือนสิงหาคมถึงต้นเดือนพฤศจิกายน *S. kerrii* นี้พบที่คอยสุเทพ จังหวัดเชียงใหม่ ที่ระดับความสูงจากน้ำทะเล 750 และ 900 เมตร และพบในบริเวณพื้นที่ทางตอนใต้ของคอยสะเก็ด ที่ระดับความสูงจากน้ำทะเล 525 เมตร

3.2.3 *Stemona tuberosa* Lour.

Rungrojsakul (2001b, 2001d) กล่าวถึงลักษณะของ *S. tuberosa* Lour. ลำต้นมีลักษณะเป็นไม้เลื้อยยาวได้ถึง 4 เมตร ไม่มีขน รากอยู่รวมกันเป็นกลุ่มหนาแน่นจำนวนมาก เป็นทิวเบอร์สทรูทสด เปลือกมีสีเหลืองหรือดำ ยาวประมาณ 10 เซนติเมตร ใบติดกันแบบตรงกันข้าม ส่วนปลายยอดจะติดแบบสลับ ตัวใบรูปไข่ ขนาดใหญ่ ยาว 9 ถึง 19.5 เซนติเมตร ช่อดอก ก้านดอกยาว 2 ถึง 8 เซนติเมตร เป็นอิสระหรือรวมกัน ก้านใบยาว 5 ถึง 30 มิลลิเมตร ดอก ก้านดอกยาว 5 ถึง 15 มิลลิเมตร กลีบดอกด้านนอกมีสีเขียวหรือสีเหลือง มีลายเส้นยาวสีเขียวเข้มหรือสีม่วง มีสีเขียวยาวตลอดถึงปลาย กลีบดอกด้านในมีสีม่วงหรือสีแดงน้ำตาลและมีลายสีแดง ขนาดของกลีบดอกยาว 25 ถึง 50 มิลลิเมตร กว้าง 4 ถึง 10 มิลลิเมตร เกสรตัวผู้มีสีม่วง ยาว 25 ถึง 40 มิลลิเมตร อับเรณูยาว 8 ถึง 15 มิลลิเมตร มี 2 ช่องแยกจากกันโดยมีเส้นกลางสูง 1 ถึง 1.5 มิลลิเมตร มีรยางค์ยาว 5 ถึง 12 เมตร ส่วนปลายเชื่อมรวมกัน ผลมีสีเขียว ยาว 40 ถึง 70 มิลลิเมตร กว้าง 15 ถึง 20 มิลลิเมตร ภายในมีเมล็ด 10 ถึง 20 เมล็ด เมล็ดมีขนาดยาว 9 ถึง 17 มิลลิเมตร ปลายแหลมยาวประมาณ 4 มิลลิเมตร ก้านเมล็ดยาว 8 มิลลิเมตร Rungrojsakul (2001b) ได้จำแนกลักษณะ *S. tuberosa* Lour. นี้ ออกเป็น 2 variety คือ

ก. var. *tuberosa*

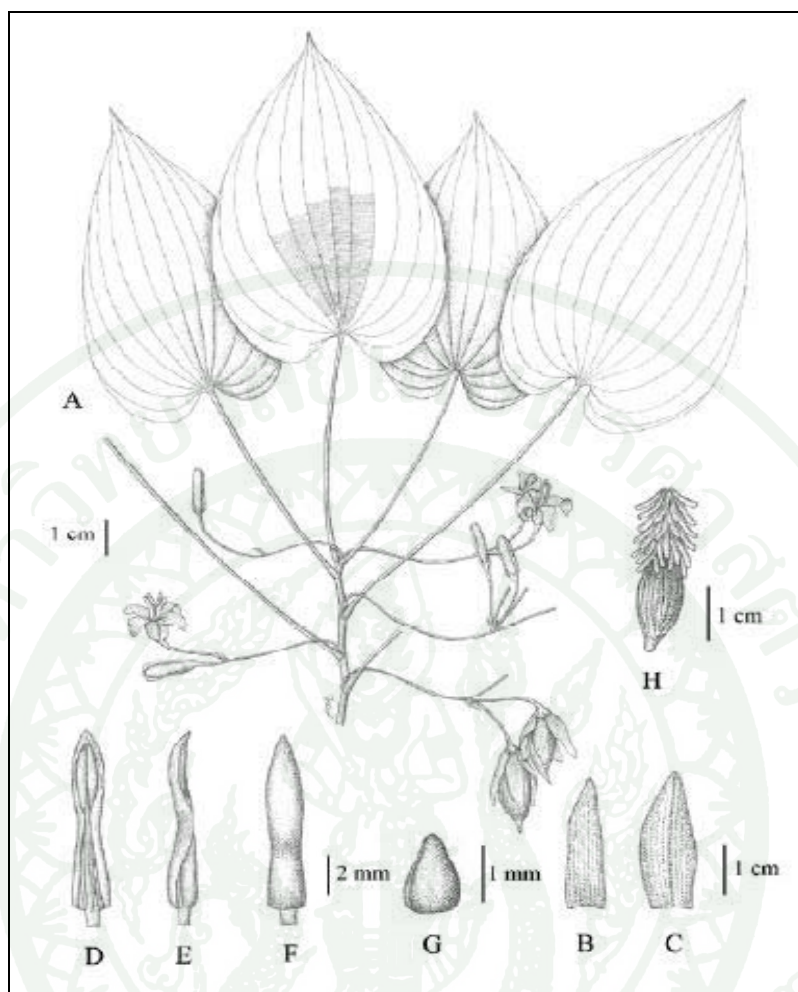
ก้านดอกย่อยของช่อดอกเป็นอิสระ ไม่เชื่อมรวมกับก้านใบ

ข. var. *ternatensis*

ก้านดอกย่อยจะเชื่อมรวมกับก้านใบยาว 5 ถึง 30 มิลลิเมตร มีความสัมพันธ์คล้ายคลึงกับ *S. phyllantha* Gagnep. จากประเทศไทย แต่ต่างกันตรงที่ก้านดอกย่อยมีเพียงบางส่วนเชื่อมรวมกับก้านใบ กลีบดอกมีขนาด 60 มิลลิเมตร หรือยาวกว่า

3.2.4 *Stemona collinsae* Craib

Rungrojsakul (2001a, 2001c) กล่าวว่า *S. collinsae* Craib ลำต้นมีลักษณะตั้งตรง สูงประมาณ 10 ถึง 30 เซนติเมตร แตกกิ่งก้านข้างเล็กน้อย และต่อมาจะเจริญเลื้อยพันสิ่งอื่น ขาวได้ ถึง 2 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น 2 ถึง 5 มิลลิเมตร ลักษณะลำต้นกลม สีเขียว มีรอยขีดเล็ก ๆ อยู่ ตลอดลำต้น ผิวลำต้นเรียบ มีข้อและปล้องเห็นชัดเจน ข้อต่างๆ มีกาบ (bract) หุ้ม ส่วนข้อบน ๆ ไม่มี ลำต้นจะให้กำเนิดรากฝอยเป็นกระจุก 10 ถึง 20 ราก รากมีรูปร่างคล้ายรากกระชายขาว 3 ถึง 40 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.6 ถึง 1.2 เซนติเมตร เปลือกกรากบาง สีน้ำตาลอ่อน เนื้อในสีขาวชุ่มชื้น น้ำ และมีแกนกลางราก ใบติดกับลำต้นแบบสลับ (alternate) ก้านใบยาว ตรงโคนพองเล็กน้อย ด้านหน้าเป็นร่อง ด้านหลังมนกลม ก้านใบยาว 4 ถึง 5 เซนติเมตร ตรงซอกโคนก้านใบของลำต้น ส่วนล่าง ๆ จะมีแผ่น (scale) แทรกอยู่ 1 อัน ส่วนตอนบนไม่มี ตัวใบรูปไข่ ปลายใบแหลม (acuminate) โคนใบโค้งลึกรูปหัวใจ (cordate) ขอบใบหยักเป็นคลื่นเล็กน้อย เนื้อใบบางเรียบ เส้นใบออกจากโคนใบไปหาปลายใบเรียงแบบ palmately venation 9 ถึง 15 เส้น และมีเส้นใบเรียงขวางกับ เส้นใบแบบแรก เรียงละเอียดตลอดใบ ตัวใบกว้าง 4 ถึง 12 เซนติเมตร ยาว 5 ถึง 14 เซนติเมตร ออก ดอกเดี่ยว ๆ หรือออกเป็นช่อ 1 ถึง 2 ดอก ช่อดอกจะออกตามซอกโคนก้านใบ (axillary) ดอกมีทั้ง ดอกตัวผู้และดอกสมบูรณ์เพศ ก้านช่อดอกกลม สีเขียว ผิวเรียบ ยาว 1 ถึง 6 เซนติเมตร ปลายก้านช่อดอกมี bract 1 อัน ก้านดอกย่อยกลม สีเขียวอมม่วง ยาว 1 เซนติเมตร ดอกสีขาวอมเขียว กลีบดอก (tepals) มี 4 กลีบ เรียงซ้อน 2 ชั้น ชั้นละ 2 กลีบ โดยเรียงสลับกัน ชั้นในมีขนาดใหญ่กว่าชั้นนอก เล็กน้อย เกสรตัวผู้มี 4 อัน อยู่ตรงข้ามกลีบดอก แต่ละกลีบมีสีม่วงแดง ก้านชูเกสรตัวผู้สั้นและแยก จากกัน ตอนปลายของเกสรตัวผู้มียางค์ (appendage) ยื่นยาวออกไป ลักษณะเป็นแผ่นแบน ปลาย แหลมขนาดใกล้เคียงกับอับเกสรตัวผู้ (anther) อับเกสรตัวผู้มี 2 ช่อง (cell) แตกตามยาว เกสรตัวเมีย (pistil) ประกอบด้วยรังไข่ 1 อัน เป็นแบบ superior ovary ก้านชูเกสรตัวเมียและยอดดอกเกสรตัวเมีย มองเห็นไม่ชัด รังไข่มี 1 เซลล์ ภายในมีไข่ (ovule) 3 ถึง 7 อัน ผลแบบ capsule รูปไข่ปลายแหลม แบน แตก 2 ซีกตามยาว สีเขียวอ่อน ไม่มีขน ขนาดกว้าง 1 เซนติเมตร ยาว 2 เซนติเมตร ภายในมี เมล็ด 2 ถึง 7 เมล็ด เมล็ดสีม่วงแดง (ภาพที่ 8) ตอนโคนมี aril สีขาวใสคล้ายชุ่มน้ำ



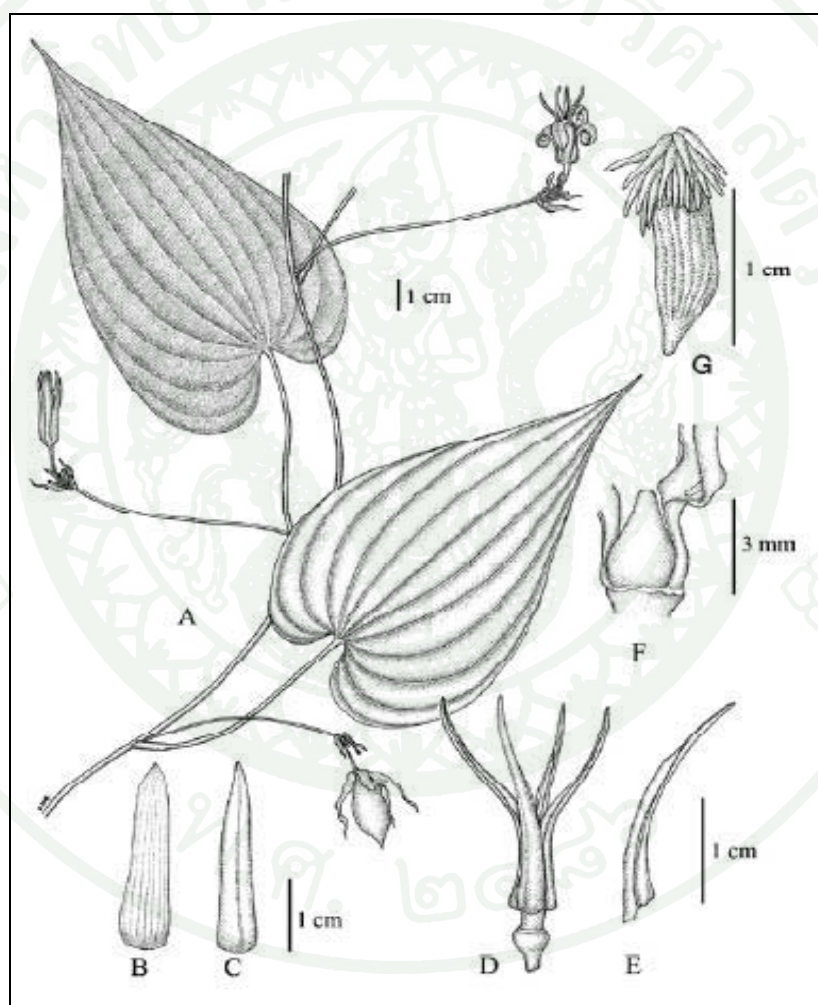
ภาพที่ 8 ลักษณะส่วนต่าง ๆ ของ *Stemona collinsiae* Craib: (A) ใบ ช่อดอกและผล (B) กลีบรวมชั้นนอก (C) กลีบรวมชั้นใน (D-F) เกสรเพศผู้ (G) รังไข่ (H) เมล็ด

ที่มา: ปาจารย์ (2551)

3.2.5 *Stemona curtisii* Hk. f.

Rungrojsakul (2001b, 2001d) กล่าวว่า *S. curtisii* Hk.f. ลำต้นไม่มีขน เลื้อยยาว ได้มากกว่า 3 เมตร ยาวประมาณ 10 เซนติเมตร อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ใบติดกันแบบสลับ (alternate) ตัวใบรูปไข่ เรียวยาว ยาว 6 ถึง 21 เซนติเมตร กว้าง 2.5 ถึง 10 เซนติเมตร ฐานใบเว้ารูปหัวใจ ปลายใบแหลม ยาวประมาณ 2 เซนติเมตร มีเส้นใบ 11 ถึง 15 เส้น ก้านใบยาว 4 ถึง 8.5 เซนติเมตร ช่อดอกมี 2 ดอกหรือมากกว่า ก้านช่อดอกยาว 2.5 ถึง 10 เซนติเมตร ไม่รวมกัน มี bract แคบ ยาว 6 ถึง 10

มิลลิเมตร ดอก ก้านดอกยาว 8 ถึง 10 มิลลิเมตร กลีบดอกมีสีชมพู สีชมพูเข้ม หรือสีแดงเข้ม กลีบดอกยาว 17 ถึง 22 มิลลิเมตร เกสรตัวผู้ยาว 13 ถึง 18 มิลลิเมตร อับเรณูยาว 7 ถึง 10 มิลลิเมตร 1 เซลล์ประกอบด้วย 2 ห้อง ยาวถึงปลายกลีบดอก โดยมีเส้นกลางลักษณะเป็นแผ่นแบนเรียบ ปลายแหลม แบ่งแยกอับเรณูออกจากกัน หนา 1 ถึง 1.5 มิลลิเมตร มีความยาวใกล้เคียงกับอับเรณู ผลมีขนาดยาว 25 ถึง 30 มิลลิเมตร กว้าง 15 มิลลิเมตร มีจะงอยสั้นๆ ภายในมี 2 ถึง 6 เมล็ด เมล็ดมีขนาดยาว 18 ถึง 20 มิลลิเมตร กว้าง 3 ถึง 3.5 มิลลิเมตร ปลายเมล็ดแหลม ยาวประมาณ 5 มิลลิเมตร (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 ลักษณะส่วนต่าง ๆ ของ *Stemonon curtisii*: (A) ช่อดอกและผล (B) กลีบรวมชั้นใน (C) กลีบรวมชั้นนอก (D) วงเกสรเพศผู้ (E) เกสรเพศผู้ (F) รังไข่ (G) เมล็ด

ที่มา: ปาจารย์ (2551)

3.3 ประโยชน์ของพืชสกุล *stemona*

พืชสกุล *stemona* เป็นพืชสมุนไพรที่รู้จักกันแพร่หลายและมีการนำมาใช้ประโยชน์ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน โดยส่วนรากใช้เป็นยาทางด้านแพทย์แผนโบราณและการสาธารณสุข ปศุสัตว์ รวมทั้งในด้านการเกษตร

3.3.1 ด้านทางการแพทย์แผนโบราณ

พืชสกุล *stemona* ใช้รักษาโรคในคนได้หลากหลาย เช่น โรคผิวหนัง น้ำเหลืองเสีย ผื่นคันตามร่างกาย ฆ่าเชื้อโรคพยาธิภายใน มะเร็งตับ ลดระดับน้ำตาลสำหรับโรคเบาหวาน รวมทั้งริดสีดวง ปวดฟัน ปวดเมื่อย Qin และ Xu (1996) รายงานว่า ในประเทศจีนมีการนำราก *S. tuberosa* Lour. *S. sessilifolia* (Miq) และ *S. japonica* (BJ) Miq มาใช้ในการรักษาอาการไอ โรคหวัด โรค ฯลฯ โดยใช้ร่วมกับสมุนไพรชนิดอื่น ๆ และใช้รากแช่เหล้าเป็นยาแก้ไอ และขับเสมหะ ประเทศในแถบอินโดจีนมีการนำมาต้มเป็นน้ำสมุนไพรเพื่อบำรุงกำลังและรักษาโรค และในประเทศไทยใช้เป็นยารักษาโรคผิวหนัง ยาขับพยาธิ และยาฆ่าเหา (Saralamp, 1996) และได้มีการนำหนอนตายหยากไปทำการทดสอบคุณสมบัติในด้านการต้านมะเร็ง ซึ่งผลที่ได้แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มที่ดีของการใช้ (วรภรณ์, 2546) นอกจากนี้ Limtrakul *et al.* (2007) ได้ศึกษาสารสกัด *S. curtisii* ต่อการยับยั้ง drug-efflux pump และ P-glycoprotein อีกทั้งยังได้ศึกษาถึงศักยภาพในการประยุกต์ใช้เพื่อเป็นยาด้านมะเร็ง (multidrug-resistant cancers) ได้อีกด้วย

3.3.2 ด้านปศุสัตว์

สมจิตรและสุภาพ (2534) รายงานว่า เกษตรกรใช้รากหนอนตายหยากตำละเอียด น้ำหยอดใส่แผลโคและกระบือที่มีหนอนแมลงวันไชอยู่จะสามารถฆ่าหนอนได้ดี นอกจากนี้การใช้สารสกัดหนอนตายหยากที่ระดับความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ สามารถกำจัดเห็บโค (*Boophilus microphilus* L.) ระยะตัวอ่อนได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และกำจัดตัวเต็มวัยได้ 93.3 เปอร์เซ็นต์ ธวัชชัย และคณะ (2545) ทำการศึกษาโดยใช้รากหนอนตายหยากสดและแห้งบดละเอียด อัตรา 9 เปอร์เซ็นต์ ผสมในอาหารและมูลไก่สามารถยับยั้งพัฒนาการของหนอนแมลงวันที่เจริญเติบโตในมูลไก่ได้ แต่ทั้งนี้ประสิทธิภาพของหนอนตายหยากที่ผสมในมูลไก่จะสูงกว่าที่ผสมในอาหาร โดยที่ไม่มีผลกระทบต่อสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพของซากไก่

3.3.3 การควบคุมแมลงพาหะนำโรคทางการแพทย์และการสาธารณสุข

เลาเจนาและประคอง (2520) รายงานว่าสารสกัดจากรากหนอนตายหยาก *S. collinsae* มีพิษสูงต่อหนอนแมลงวันบ้าน (*Musca domestica* L.) กฤษณา (2525) รายงานว่าสารสกัดจากรากหนอนตายหยาก *S. curtisii* มีความเป็นพิษสูงต่อลูกน้ำยุงลาย (*Aedes* sp.) และลูกน้ำยุงรำคาญ (*Culex* sp.) ซึ่งจากการศึกษาโดย วาสนา (2545) พบว่า รากหนอนตายหยาก ที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน มีความเป็นพิษสูงต่อลูกน้ำยุงลาย เช่นเดียวกัน ชูลิพร และคณะ (2551) ศึกษาการใช้สารสกัดชีวภาพหนอนตายหยากในการควบคุมลูกน้ำยุงลาย ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 10 มิลลิลิตร พบว่า ลูกน้ำยุงลายที่อยู่ในน้ำกลั่นผสมน้ำสกัดชีวภาพหนอนตายหยาก มีอัตราการตายร้อยละ 86.33 และ 100 ส่วนลูกน้ำยุงลายที่อยู่ในน้ำคลองผสมน้ำสกัดชีวภาพหนอนตายหยาก มีอัตราการตายร้อยละ 78.33 และ 100 ลูกน้ำยุงลายที่อยู่ในน้ำกลั่นผสมน้ำสกัดชีวภาพจากสับปะรด มีอัตราการตายร้อยละ 85.33 และ 93.33

3.3.4 การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช

รัตติยาและพิทยา (2542) รายงานว่าหนอนตายหยาก *S. collinsae* มีฤทธิ์ในการยับยั้งการกินอาหารของหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* Hubner) ค่าการยับยั้งการกิน เท่ากับ 19.35 ± 1.00 และการศึกษาโดย วาสนา (2545) พบว่า สารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน มีความเป็นพิษสูงต่อหนอนกระทู้ผักโดยมีอัตราการตาย 46 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 40,000 พีพีเอ็ม และสารสกัดด้วยเมทานอล มีความเป็นพิษสูงต่อด้วงงวงข้าวโพด (*Sitophilus zeamais* Motsch.) โดยมีอัตราการตาย 48 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 50,000 พีพีเอ็ม ขณะที่สุภาณี และคณะ (2546) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหนอนตายหยาก เก็บตัวอย่างจาก อำเภอ ด่านขุนทด จังหวัด นครราชสีมา สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล ตามลำดับ เมื่อทดสอบประสิทธิภาพต่อหนอนใยผัก วัย 2 ด้วยวิธี leaf dip feeding ที่เวลา 48 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดเมทานอล มีพิษสูงกว่าสารสกัดไดคลอโรมีเทน และ เฮกเซน โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 555 928 และ 4,468 พีพีเอ็ม ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่า สารสกัดหนอนตายหยากที่สกัดด้วยน้ำมีประสิทธิภาพค่อนข้างสูง ค่า LC_{50} เท่ากับ 876 พีพีเอ็ม นอกจากนี้ Jiwajinda *et al.* (2001) พบว่าหนอนตายหยาก *S. collinsae* มี stemofoline เป็นองค์ประกอบ และสามารถแยกสารอนุพันธ์ 16,17-didehydro -16(E)-stemofoline ซึ่งพบว่ามีฤทธิ์ฆ่าแมลง และยับยั้งการกินอาหารของหนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) ได้สูงกว่า stemofoline โดย 16,17-didehydro -16(E)-stemofoline มีค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการกินอย่างสมบูรณ์ที่ความเข้มข้น 2.5 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร ในขณะที่ stemofoline ออกฤทธิ์ยับยั้งการกิน

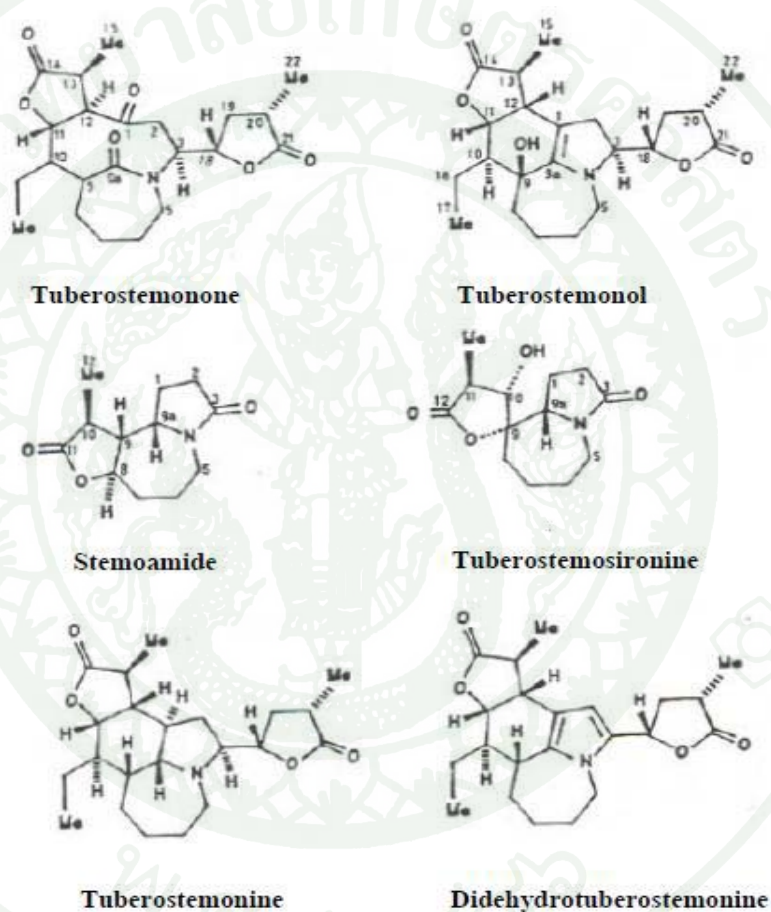
อาหารของหนอนใยผักอย่างสมบูรณ์ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร ต่อมา Brem *et al.* (2002) พบว่า หนอนตายหยาก *S. collinsae* แสดงความเป็นพิษสูงต่อหนอนกระทู้ผักแล้ว ยังสามารถยับยั้งการกินอาหารของหนอนกระทู้หอมสูงด้วย Tikum *et al.* (2008) ศึกษาสารออกฤทธิ์ จาการากหนอนตายหยาก *S. burkillii* ในการควบคุมหนอน กระทู้หอม และหนอนกระทู้ผักวัย 2 โดยวิธี leaf dipping ที่ 24 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนมีประสิทธิภาพสูงสุด โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 6,204 และ 9,589 พีพีเอ็ม ตามลำดับ ในระดับแปลงทดลอง Thanapat (2006) ทำการ ทดสอบประสิทธิภาพของสูตรกำจัดแมลงชีวภาพในแปลงทดลองผักคะน้า พบว่าสารกำจัดแมลง ชีวภาพให้ผลดีที่สุด สำหรับปริมาณของหนอนใยผัก หนอนคืบ และหนอนกระทู้ไม่มีความแตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีประสิทธิภาพต่อเพลี้ยอ่อน เกษตรกรมีการนำหนอนตายหยากมาใช้ ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช ซึ่งจะนำรากสดมาทุบพอแหลกและแช่น้ำทิ้งไว้ค้างคืน กรองเอา ส่วนน้ำไปเจือจางผสมน้ำอีกครั้งเพื่อใช้ฉีดพ่น ชาวสวนจันทบุรีได้นำมาใช้เป็นสารกำจัดแมลง โดย ใช้รากตำละเอียดแล้วแช่น้ำมะพร้าวคั้นในสวนพริกไทย นอกจากนั้นยังใช้เป็นส่วนผสมของน้ำ สกัดชีวภาพ ซึ่งส่วนผสมประกอบด้วย รากหนอนตายหยาก 15 กิโลกรัม กากน้ำตาล 15 กิโลกรัม ตะไคร้ทั้งต้น 5 กิโลกรัม และน้ำ 20 ลิตร (สุภาพ, 2546)

4. องค์ประกอบทางเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชสกุล *stemona*

พืชสกุล *stemona* นี้เป็นที่สนใจของนักวิทยาศาสตร์หลายประเทศ การศึกษาองค์ประกอบ ทางเคมีและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่า ส่วนใหญ่เป็นสารกลุ่มอัลคาลอยด์ อาจเรียกได้ว่าเป็น สารกลุ่ม *stemona alkaloids* ซึ่งจากงานวิจัยของนักวิทยาศาสตร์หลายท่านพบว่า พืชสกุล *Stemona* แต่ละสปีชีส์ยังพบกลุ่มอัลคาลอยด์อื่น ๆ อีกด้วย

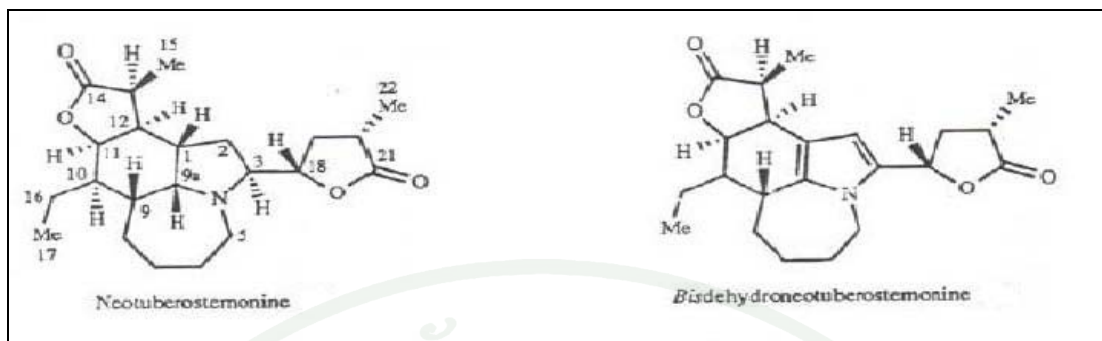
จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพืชสกุล *Stemona* สปีชีส์ *S. tuberosa* Wen *et al.* (1992) ได้พบสารชนิดใหม่จำนวน 4 ชนิด คือ tuberostemonone , tuberostemonol , stemoamide และ tuberostemospironine และพบสารที่ทราบชนิดแล้วอีก 2 ชนิดคือ tuberostemonine และ dihydrotuberostemonine (ภาพที่ 10) ขณะที่ Ye *et al.* (1994) ได้พบสารอัลคาลอยด์ชนิดใหม่ คือ neotuberostemonine และ bisdehydroneotuberostemonine (ภาพที่ 11) จาการากของ *S. tuberosa* สกัด ได้โดย นำรากบดแห้งของ *S. tuberosa* มาสกัดด้วย 95 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล นำสารสกัดเอทานอล มาสกัดด้วย 4 เปอร์เซ็นต์ กรดไฮโดรคลอริก นำสารละลายที่ได้มาทำให้เป็นเบสด้วยแอมโมเนีย และ สกัดด้วย ไดเอทิลอีเทอร์และคลอโรฟอร์ม นำสารสกัดส่วนไดเอทิลอีเทอร์มาตกผลึก (recrystallized) ด้วยเอทานอล นอกจากนั้น Jiang *et al.* (2002) ยังพบสารอัลคาลอยด์จาก *S. tuberosa*

Lour. ในกลุ่ม stemonine อีก 2 ชนิด คือ neotuberostemonol และ neotuberostemoniol และ Brem *et al.* (2002) ศึกษาารากหนอนตายหยาก *S. collinsae* และ *S. tuberosa* พบว่า สารประกอบหลัก *S. collinsae* คือ ไดดีไฮโดรสเตมอฟอลีน (didehydrostemonofoline) ซึ่งมีความเป็นพิษต่อหนอนกระทุ้ผัก ้วย 5 ค่า LC_{50} เท่ากับ 0.84 พีพีเอ็ม และมีผลยับยั้งการเจริญเติบโต โดยมีค่า EC_{50} ของหนอนกระทุ้ ผัก 0.46 พีพีเอ็ม เมื่อเวลาผ่านไป 5 วัน ส่วน *S. tuberosa* มีสารทุเบอโรสดีโมนีน (tuberostemonine) เป็นองค์ประกอบหลักไม่มีความเป็นพิษต่อหนอนกระทุ้ผัก แต่มีคุณสมบัติในการเป็นสารไล่แมลง



ภาพที่ 10 โครงสร้างทางเคมีของสาร tuberostemonone tuberostemonol stemoamide tuberostemosironine tuberostemonine และ didehydrotuberostemonine

ที่มา: Wen *et al.* (1992)

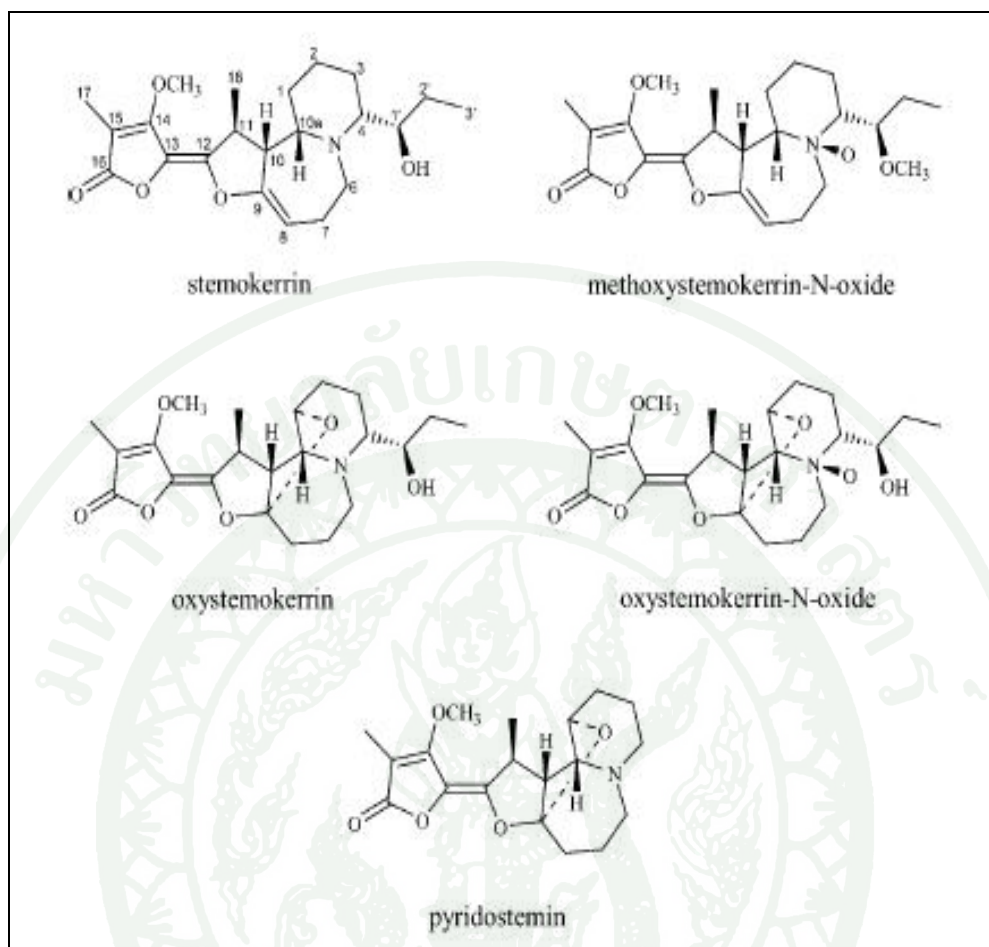


ภาพที่ 11 โครงสร้างทางเคมีของสาร neotuberostemonine และ bisdehydroneotuberostemonine

ที่มา: Ye *et al.*, (1994)

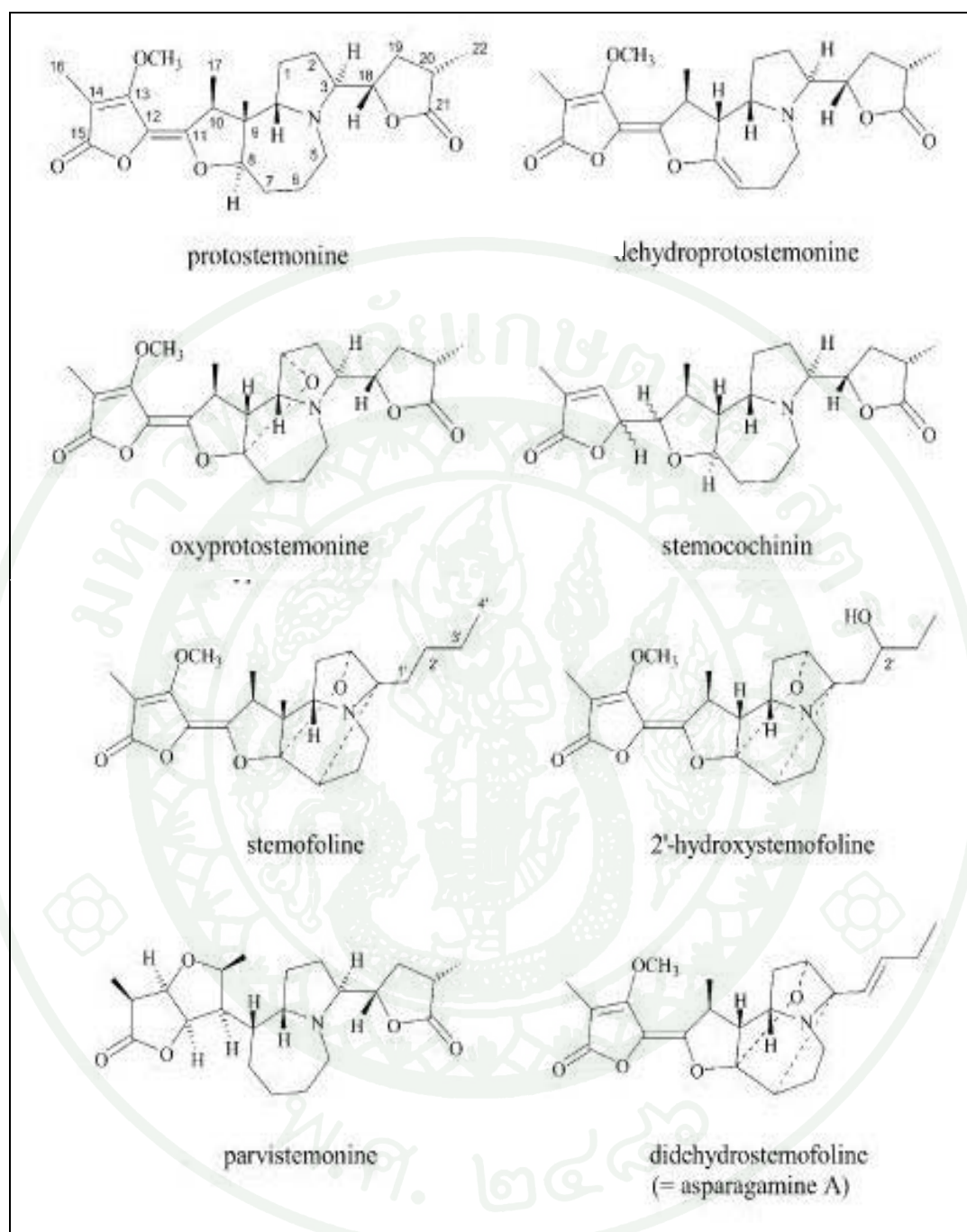
สารอัลคาลอยด์ที่พบในพืชสกุล *stemona* สปีชีส์อื่น ๆ มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลาย ดังรายงานต่อไปนี้

Kaltenegger *et al.* (2003) ได้ทำการเปรียบเทียบสารของพืชสกุล *stemona* 4 สปีชีส์ในประเทศไทย ระหว่างรากและใบ คือ *S. kerrii* *S. curtisii* *S. cochinchinensis* และ *Stemona species* (HG 915) พบสาร *stemona alkaloids* 13 ชนิด จัดอยู่ในกลุ่ม *pyridoazepine alkaloids* (ภาพที่ 12) และ *pyrroloazepine alkaloids* (ภาพที่ 13) ให้ค่า LC_{50} และ EC_{50} ในการกำจัดหอนกระตุ้ม (*Spodoptera littoralis*) แสดงในตารางที่ 3



ภาพที่ 12 โครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่ม pyridoazepine alkaloids

ที่มา: Kaltenegger *et al.* (2003)



ภาพที่ 13 โครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่ม pyrroloazepine alkaloids

ที่มา: Kaltenecker *et al.* (2003)

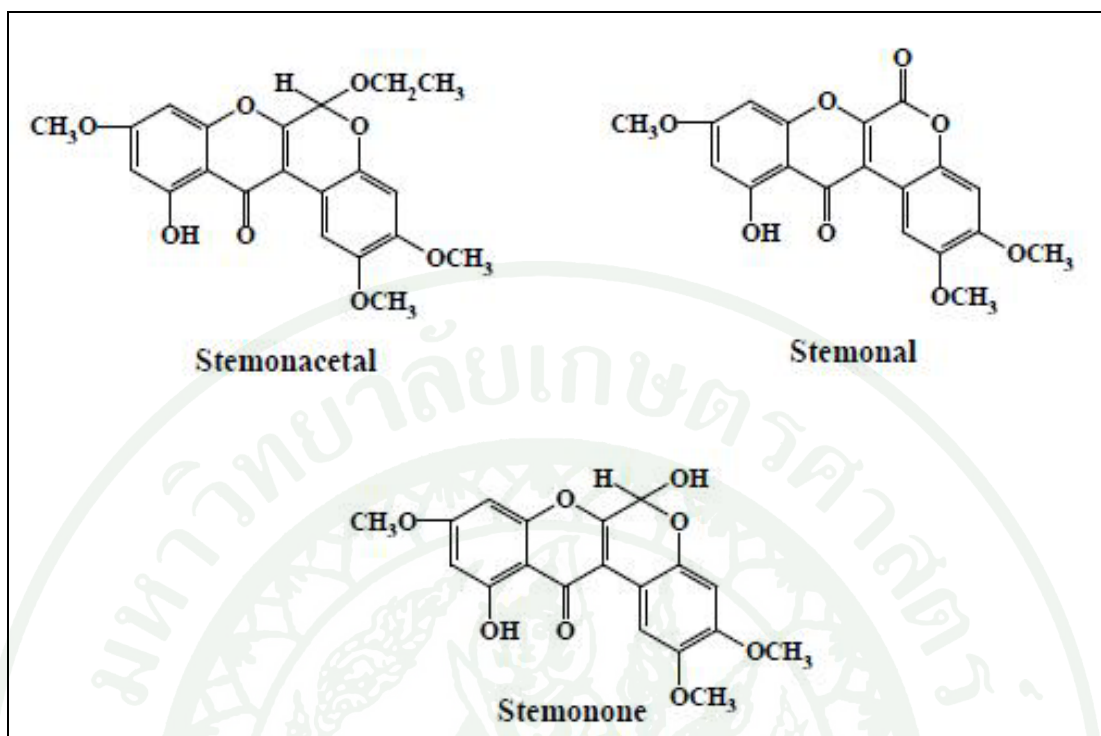
ตารางที่ 3 ค่า LC_{50} และ EC_{50} ของ stemona alkaloids 13 ชนิด ในการกำจัดหอนกระทุ้ง

Compound	LC_{50} (ppm)	EC_{50} (ppm)
Stemokerrin	58	14.1
Methoxystemokerrin- <i>N</i> -oxide	>100	16.3
Oxystemokerrin	5.9	0.7
Oxystemokerrin- <i>N</i> -oxide	12.5	0.4
Pyridostemin	149	96
Protostemonin	17.7	2.2
Dehydroprotostemonine	6.1	0.8
Oxyprotostemonine	159	47
Stemocochinin	170	61
Stemofoline	2.0	1.5
2'-Hydroxystemofoline	30	38
Parvistemonine	>200	163
Didehydrostemofoline	0.8	0.5

ที่มา: Kaltenegger *et al.* (2003)

การศึกษา สารอัลคาลอยด์ที่พบในพืชสกุล *stemona* และฤทธิ์ทางชีวภาพโดยนักวิทยาศาสตร์ของประเทศไทย มีรายงานดังนี้

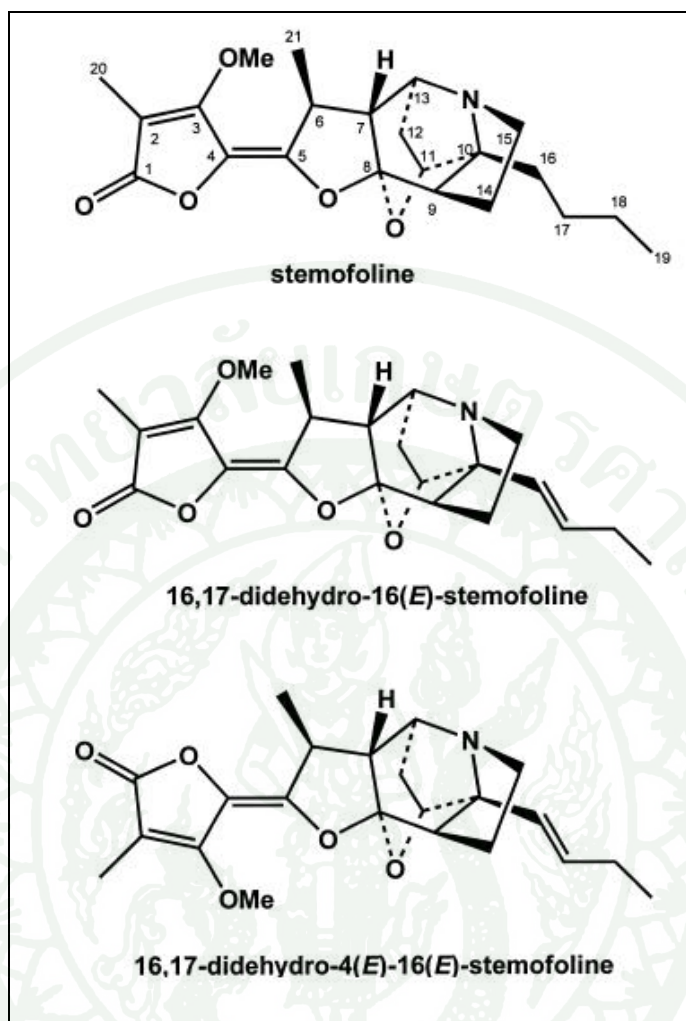
เทพ และ โสภณ (2517) พบสารสำคัญจากราก *S. curtisii* ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม rotenoids ทั้งหมด 3 ตัวคือ Stemonacetal (m.p. 203-204 องศาเซลเซียส) Stemonal (m.p. 203-204 องศาเซลเซียส) และ Stemonone (m.p. 229-230 องศาเซลเซียส) (ภาพที่ 14) การสกัดสารทั้ง 3 นี้จะใช้ผงแห้งของ *Stemona curtisii* มาสกัดด้วย 50 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล และนำสารสกัดหยาบเอทานอล มา partition ด้วยน้ำและคลอโรฟอร์ม นำชั้นคลอโรฟอร์มมาระเหยและนำสารที่ได้มาแยกโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี โดยใช้ตัวทำละลาย คลอโรฟอร์มต่อเฮกเซน (9:1) ถึง คลอโรฟอร์ม 100 เปอร์เซ็นต์ Jiyavornant (2001) ได้ทำการศึกษาสารออกฤทธิ์ของ *S. tuberosa* Lour. ต่อหอนใยผัก โดยนำหอนใยผักมาสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน พบว่า ที่เวลา 24 ชั่วโมง ทำให้หอนใยผักตาย 62.5 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 14 โครงสร้างทางเคมีของสาร stemonacetal stemonal และ stemonone

ที่มา: เทพ และ โสภณ (2517)

Jiwajinda *et al.* (2001) ได้พบสาร 3 ชนิดจากรากของ *S. collinsae* คือ Stemofoline 16,17-didehydro-16(*E*)-stemofoline และ 16,17-didehydro-4(*E*)-stemofoline (ภาพที่ 15) สำหรับการสกัดสารทั้ง 3 ชนิดมีขั้นตอนดังนี้ นำผงรากแห้ง ของ *S. collinsae* สกัดด้วย เมทานอล และนำสารสกัดเมทานอล มาสกัดด้วยเอทิลอะซิเตต และน้ำ (Liquid-Liquid extraction) นำชั้นเอทิลอะซิเตต มาแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี โดยใช้ตัวทำละลาย คือ 100 เปอร์เซ็นต์ โทลูอิน (toluene) และค่อย ๆ เพิ่มเอทิลอะซิเตต ครั้งละ 20 เปอร์เซ็นต์ จนถึงเมทานอล และนำ fraction ที่ชะล้าง (elute) ด้วยเมทานอลมาแยกอีกครั้งโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี ใช้ระบบตัวทำละลาย คือ คลอโรฟอร์มต่อเมทานอล ซึ่งใน fraction ที่ 1 (100 เปอร์เซ็นต์ คลอโรฟอร์ม) และ fraction ที่ 2 (2 เปอร์เซ็นต์ เมทานอล) จะให้สารทั้ง 3 ชนิด และนำมาแยกโดย HPLC อีกครั้งจะได้สารบริสุทธิ์ ซึ่งสาร Stemofoline และ 16,17-didehydro-16(*E*)-stemofoline มีคุณสมบัติในการกำจัดแมลงและยับยั้งการกินอาหารของแมลง โดยมีความเป็นพิษต่อหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* L.) วัย 3 ค่า LD₅₀ เท่ากับ 5.50 และ 0.63 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร

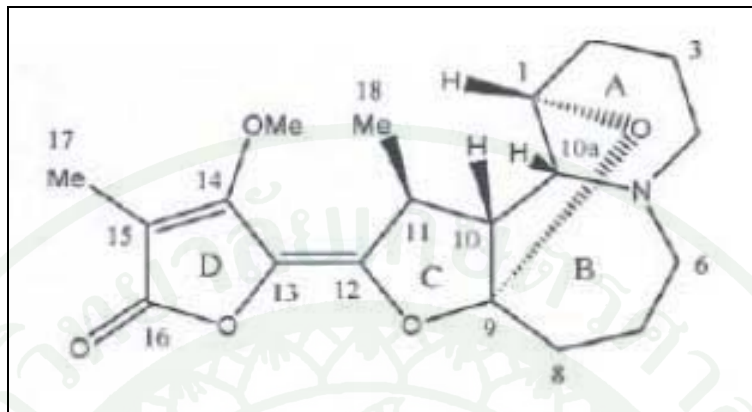


ภาพที่ 15 โครงสร้างทางเคมีของสาร stemofoline 16,17-didehydro-16(E)-stemofoline และ 16,17- didehydro-4(E)-stemofoline

ที่มา: Jiwajinda *et al.* (2001)

Mungkornasawakul *et al.* (2004) ได้พบสารชนิดใหม่คือ Stemocurtisine (ภาพที่ 16) ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม pentacyclic stemon alkaloid จากการสกัดผงแห้งบดของ *S. curtisii* ด้วยเอทานอล และนำสารสกัดหยาบมาสกัดด้วยน้ำ และคลอโรฟอร์ม นำสารส่วนคลอโรฟอร์มมาสกัดด้วย 5 เปอร์เซ็นต์ กรดไฮโดรคลอริก และนำสารละลายกรดมาปรับให้เป็นเบสด้วยแอมโมเนีย สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม นำสารสกัดหยาบคลอโรฟอร์มมาแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี โดยใช้ตัวทำละลาย 100 เปอร์เซ็นต์ ไดคลอโรมีเทน ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ เมทานอลต่อไดคลอโรมีเทน ที่ผสมด้วย 1 เปอร์เซ็นต์ แอมโมเนีย และนำสารที่ได้มาทำ TLC preparative โดยใช้ mobile phase คือ ไดคลอโร

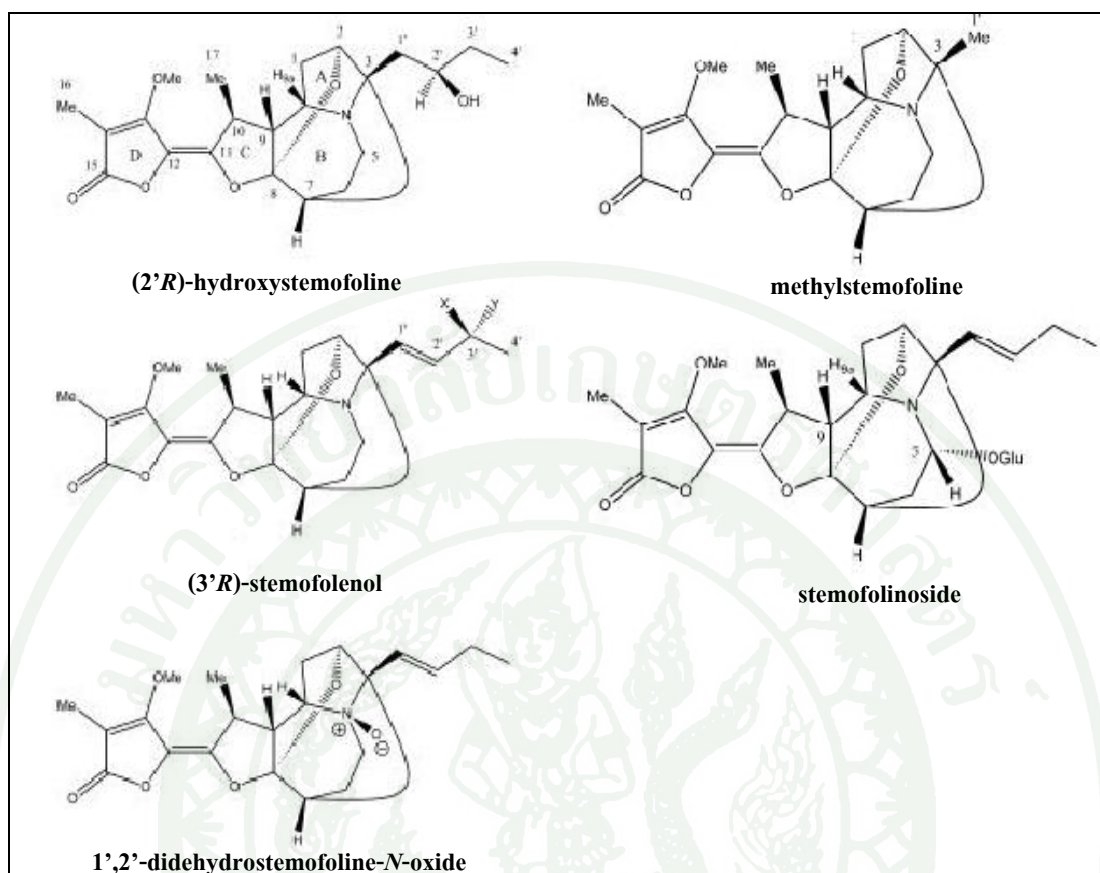
มีเทนต่อเมทานอลต่อแอมโมเนีย (94:5:1) จะได้สาร stemocurtisine ซึ่งแสดงความเป็นพิษต่อลูกน้ำ ยุง *gfv(Anopheles minimus HO)* ค่าความเป็นพิษ IC_{50} อยู่ในช่วง 4 ถึง 39 พีพีเอ็ม



ภาพที่ 16 โครงสร้างทางเคมีของสาร stemocurtisine

ที่มา: Mungkornasawakul *et al.* (2004)

Sastraruji *et al.* (2005) ศึกษาหนอนตายหยาก 3 สปีชีส์ ได้แก่ *S. curtisii* จากจังหวัดตรัง หนอนตายหยากไม่ทราบสปีชีส์ 1 (unknown1) จากจังหวัดเชียงใหม่ และ หนอนตายหยากไม่ทราบสปีชีส์ 2 (unknown2) จากจังหวัดพิษณุโลก มาสกัดด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ จากนั้นแยกสารสกัดให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคทางโครมาโตกราฟี และพิสูจน์โครงสร้างด้วยข้อมูล NMR พบสารอัลคาลอยด์ที่เคยพบแล้วใน *S. curtisii* ได้แก่ stemocurtisino, oxyprotostemonine และ stemocurtisine ส่วน unknown1 พบสาร อัลคาลอยด์ใหม่ 3 ชนิด ได้แก่ tuberostemonine L tuberostemonne M และ (3'S)-hydroxystemofoline ใน unknown2 พบสารอัลคาลอยด์ใหม่ 6 ชนิด ได้แก่ methylstemofoline (2'R)-hydroxystemofoline (3'R)-stemofolenol (3'S)-stemofolenol stemofolinoside และ 1',2'-didehydrostemofoline-N-oxide (ภาพที่ 17) นอกจากนี้ยังพบสารอัลคาลอยด์เดิมที่เคยค้นพบแล้ว ได้แก่ (2'S)-hydroxystemofoline (11Z)-1',2'-didehydrostemofoline และ (11E)-1',2'-didehydrostemofoline เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดหยากทั้งหมด พบว่าสารสกัดจาก *S. curtisii* มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์สูงสุดมีค่า LC_{50} 37 พีพีเอ็ม ในขณะที่สารอัลคาลอยด์บริสุทธิ์ที่มีประสิทธิภาพในการเป็นสารออกฤทธิ์สูงสุด ได้แก่ oxyprotostemonine มีค่า LC_{50} 18 พีพีเอ็ม



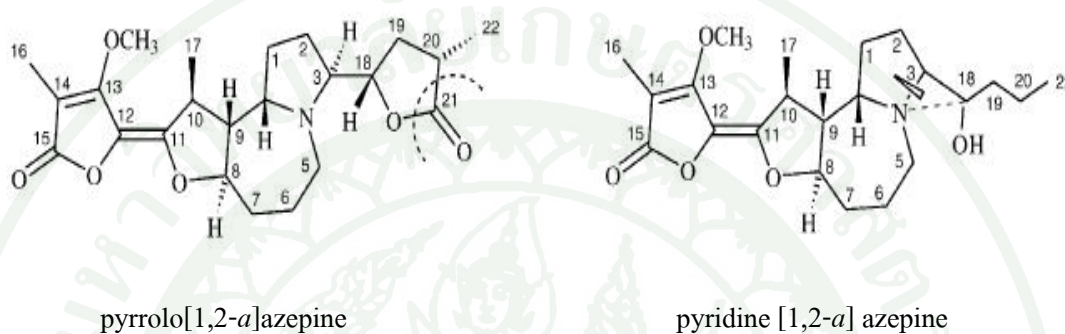
ภาพที่ 17 โครงสร้างทางเคมีของสาร (2'*R*)-hydroxystemofoline methylstemofoline (3'*R*)-stemofolenolstemofolinolide และ 1',2'-didehydrostemofoline-*N*-oxide

ที่มา: Sastraruji *et al.* (2005)

Tikum *et al.* (2008) ศึกษาสารออกฤทธิ์จากรากหนอนตายหยากสายพันธุ์ *S. burkillii* ในการควบคุมหนอนกระทุ้งหอม และหนอนกระทุ้งผัก 2 โดยวิธี leaf dipping ที่ 24 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดไดคลอโรมีเทนมีประสิทธิภาพสูงสุด โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 6,204 และ 9,589 พีพีเอ็ม ตามลำดับ จากนั้นทำการแยกสารสกัดไดคลอโรมีเทน ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี และแยกให้บริสุทธิ์ยิ่งขึ้นด้วย preparative HPLC ทำการทดสอบการยับยั้งการกินอาหารของหนอนกระทุ้งหอมและหนอนกระทุ้งผัก โดยวิธี no-choice leaf dip พบว่า สาร fraction 2 สามารถยับยั้งการกินอาหารของหนอนกระทุ้งหอม 87.9 ± 2.05 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 44.25 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร การศึกษาสูตรโครงสร้างของสาร fraction 2 พบว่า เป็นสาร stemofoline

การจำแนกสารอัลคาลอยด์ที่พบในพืชสกุล *stemona* สามารถจำแนกได้ดังนี้

สารอัลคาลอยด์ที่พบในพืชสกุล *stemona* เป็นสารในกลุ่ม *stemona alkaloids* มีโครงสร้างซับซ้อน โครงสร้างประกอบด้วยวง 6 เหลี่ยมเชื่อมต่อกับวง pyrrolo[1,2-*a*]azepine หรือวง pyridine [1,2-*a*] azepine เป็นแกนหลักของโครงสร้าง แสดงดังภาพที่ 18



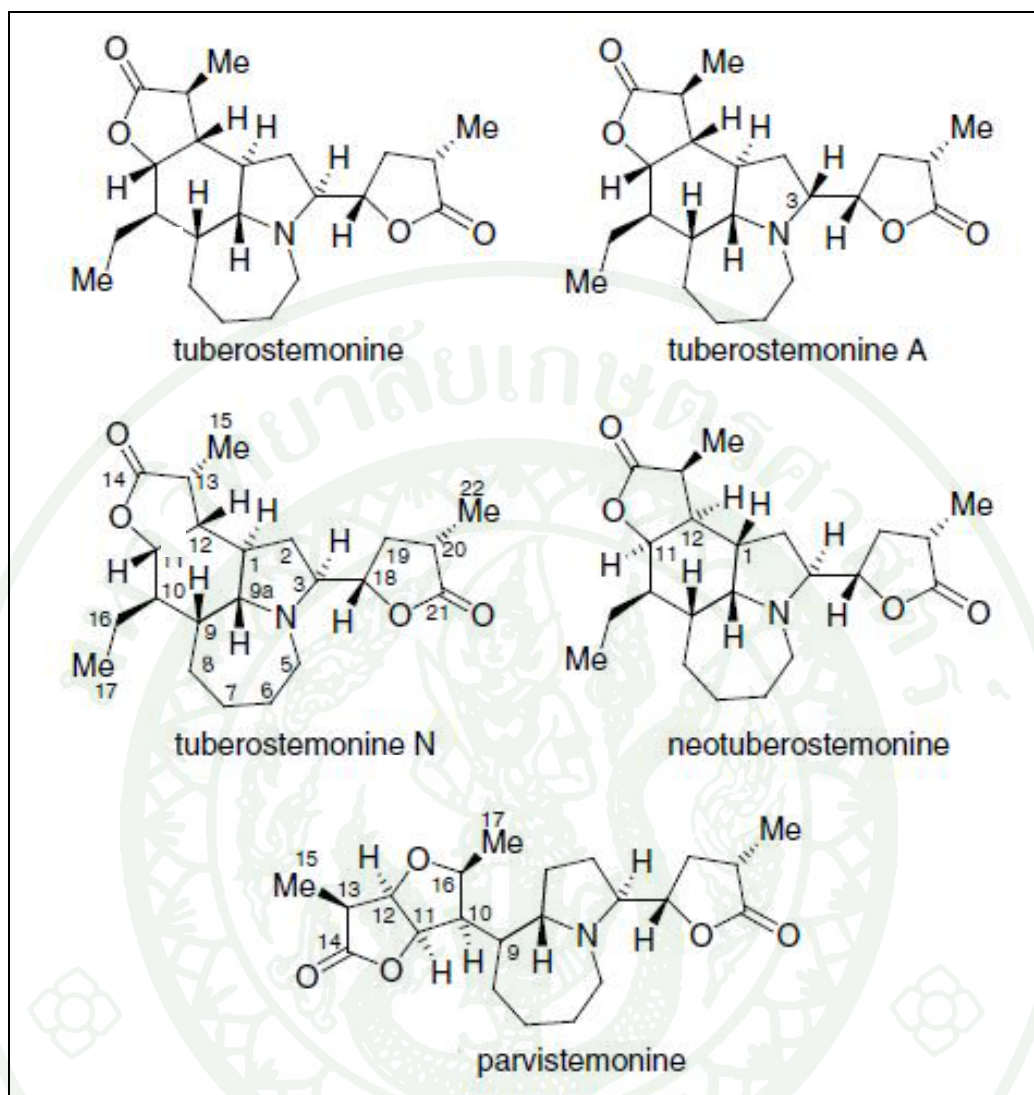
ภาพที่ 18 แกน โครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่ม *stemona alkaloids*

ที่มา: Kaltenecker *et al.* (2003)

Greger (2006) ได้จัดกลุ่มโครงสร้างทางเคมีของ *stemona alkaloids* ออกเป็น 3 ประเภท ดังนี้

1. Stichoneurine type alkaloid

สารที่อยู่ในกลุ่ม Stichoneurine เช่น tuberostemonine tuberostemonine A tuberostemonine N neotuberostemonine parvistemonine เป็นต้น (ภาพที่ 19)

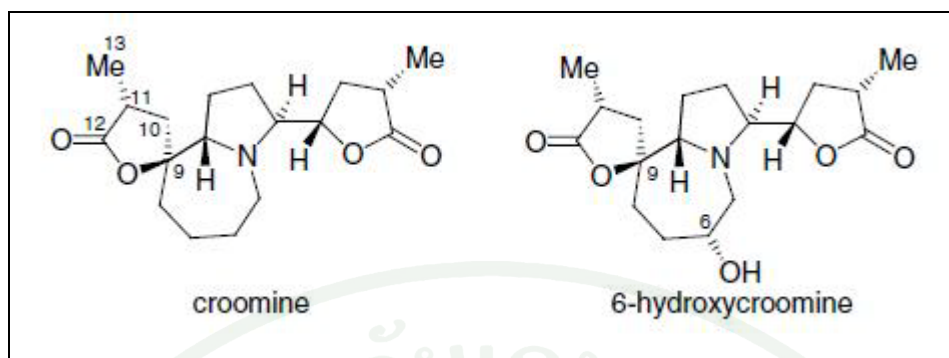


ภาพที่ 19 โครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่ม stichoneurine type alkaloid

ที่มา: Greger (2006)

2. Croomine type alkaloid

สารที่อยู่ในกลุ่มนี้ เช่น croomine และ 6-hydroxycroomine เป็นต้น (ภาพที่ 20)

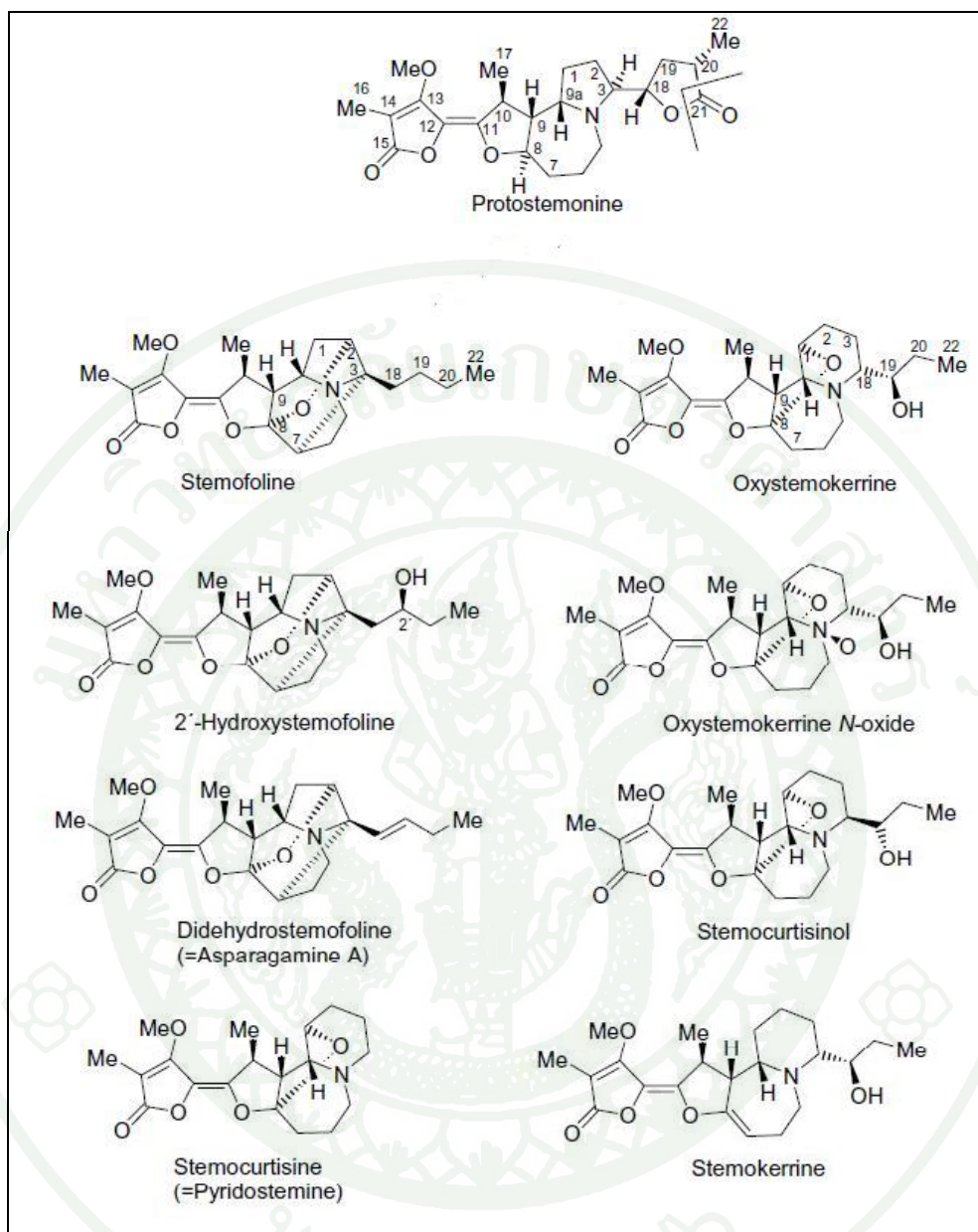


ภาพที่ 20 โครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่ม croomine type alkaloid

ที่มา: Greger (2006)

3. Protostemonine type alkaloid

สารที่อยู่ในกลุ่มนี้ เช่น protostemonine stemofoline oxystemokerrine
2'-hydroxystemofoline didehydrostemofoline stemocurtisinol และ stemokerrine เป็นต้น
(ภาพที่ 21)



ภาพที่ 21 โครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่ม protostemonine type alkaloid

ที่มา: Schinnerl *et al.* (2007)

5. หนอนใยผัก

หนอนใยผัก (diamondback moth) เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของพืชตระกูลกะหล่ำ เช่น คะน่ำ กะหล่ำ หัวไชเท้า เป็นต้น กรมวิชาการเกษตร (2549) จัดจำแนก (classification) หนอนใยผัก ดังนี้

Kingdom	Animalia
Phylum	Arthropoda
Class	Insecta
Order	Lepidoptera
Family	Plutellidae
ชื่อวิทยาศาสตร์	<i>Plutella xylostella</i>
ชื่อสามัญ	diamondback moth, cabbage plutella, short-hole worm, small cabbage moth

5.1 การแพร่ระบาด

หนอนใยผักเป็นแมลงที่มีการแพร่กระจายอยู่ทั่วไป โดยคาดว่าน่าจะมีจุดกำเนิดขึ้นในแถบเมดิเตอร์เรเนียน และพบมากแถบอเมริกาเหนือ ตอนใต้ของอเมริกาใต้ ตอนใต้ของแอฟริกา ยุโรป อินเดีย เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ นิวซีแลนด์ และบางส่วนของออสเตรเลีย สำหรับในทวีปเอเชีย หนอนใยผักกลายเป็นศัตรูพืชที่รุนแรงมากในญี่ปุ่น และยังสามารถพบหนอนใยผักได้อีกในประเทศมาเลเซีย และสิงคโปร์ รวมทั้งประเทศไทยด้วย ซึ่งพบการแพร่ระบาดมากในบริเวณที่มีการปลูกพืชตระกูลกะหล่ำ และสามารถพบได้ตลอดทั้งปี เช่น จังหวัดราชบุรี บางพื้นที่ของเชียงใหม่ นนทบุรี และในเขตกรุงเทพฯ พบการระบาดมากตั้งแต่ช่วงปลายฤดูหนาวถึงฤดูแล้ง โดยเฉพาะเดือนมกราคมถึงเดือนเมษายน ส่วนในฤดูฝนมีการระบาดน้อยเนื่องจากฝนเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้หนอนใยผักตาย (จันทิมา, 2550)

หนอนใยผักจัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญตัวหนึ่งในการปลูกผัก โดยเฉพาะที่ปลูกในระบบเปิด (กลางแจ้ง) หนอนใยผักระบาดทำความเสียหายอย่างรุนแรงกับพืชผักตระกูลกะหล่ำชนิด

ต่าง ๆ โดยตัวหนอนจะทะทะกินผิวใบด้านล่างเป็นวงกว้างและมักทิ้งผิวใบด้านบนซึ่งมีลักษณะโป่ง
 แสงเอาไว้ หากมีการระบาศรุนแรงจะกัดกินใบจนเป็นรูพรุนเหลือแต่ก้านใบ หรือถ้าเกิดกับผักใน
 ระยะต้นอ่อน หนอนจะกัดทำลายส่วนยอดจนชะงักการเจริญเติบโต สำหรับผักในระยะที่ออกดอก
 ติดผัก ดอกและฝักอาจถูกทำลายหมดไปได้ เมื่อมีสภาพแวดล้อมที่เอื้ออำนวยหนอนใยผักจะมีการ
 ระบาดอย่างรวดเร็วและพบเห็นเป็นจำนวนมากในพืชผัก เช่น กะหล่ำปลี ที่มีขนาดโตเต็มที่ เคยพบ
 หนอนใยผักถึง 270 ตัว สำหรับผักกาดเขียวปลีหรือขาวปลี โตเต็มที่ อาจพบถึง 20 ถึง 30 ตัว การ
 ระบาดของหนอนใยผักในระดับดังกล่าวพืชจะถูกทำลายหมด สำหรับใบจะเหลืออยู่แต่ก้าน การ
 กระจายของหนอนในบริเวณแปลงผักมักจะมีการกระจายทั่ว ๆ ไป และทุกครั้งที่หนอนใยผักระบาด
 จะพบว่า มีหนอนผีเสื้อชนิดอื่น ๆ อยู่ด้วย เช่น หนอนคืบกะหล่ำ และหนอนเจาะยอดกะหล่ำ
 (ครุณลักษณ์, 2544)

5.2 รูปร่างลักษณะทั่วไป (จันทิมา, 2550)

5.2.1 ลักษณะไข่

ไข่สีขาวปนเหลืองมีลักษณะกลมรีขนาดเล็กมาก วางอยู่เป็นกลุ่ม ๆ ละ 2 ถึง 6
 ฟอง ตามบริเวณใต้ใบหรืออาจจะบนใบพืชที่อาศัย แต่ชอบวางไข่บริเวณใต้ผิวใบพืชมากกว่า ระยะที่
 ไข่ฟักเป็นตัวหนอน ไข่มีสีเข้มขึ้น

5.2.2 ลักษณะตัวหนอน

เมื่อหนอนโตเต็มที่จะมีขนาดความยาวประมาณ 10 มิลลิเมตรหัวท้ายแหลม ส่วน
 หางมีปมแหลม 2 แฉก ผิวลำตัวมีขนขนาดเล็กสีดำคลุมบาง ๆ สีลำตัวโดยทั่วไปมีสีเขียวอ่อน
 บางครั้งมีสีเขียวปนเทา

5.2.3 ลักษณะดักแด้

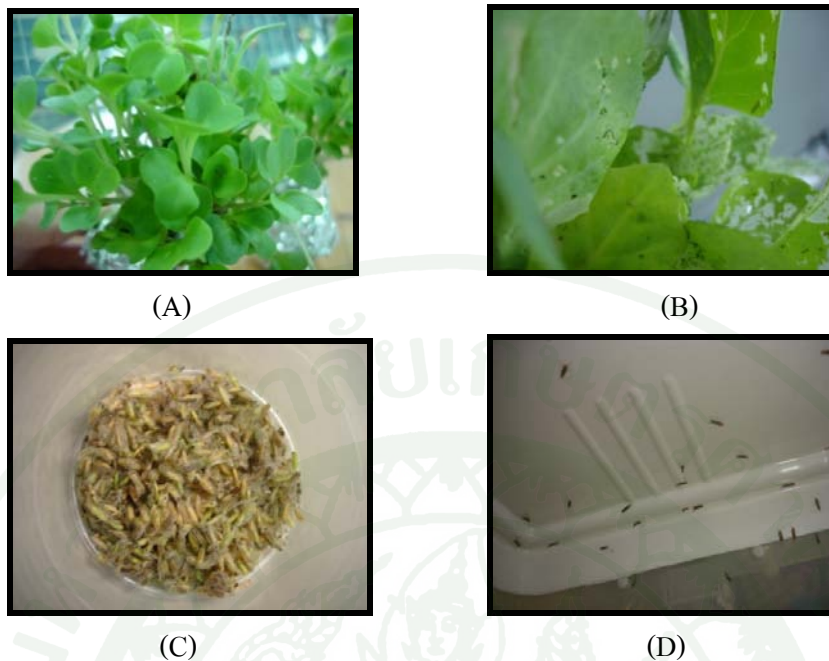
ดักแด้ในระยะเพิ่งเข้าไหม้ จะมีสีเขียว ต่อไปจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และสุดท้าย
 จะเป็นสีน้ำตาล หลังจากนั้นก็จะออกเป็นตัวเต็มวัย ดักแด้สร้างอยู่ในปลอกหุ้มดักแด้อีกหนึ่ง ปลอก
 หุ้มดักแด้มีลักษณะเป็นใยไหมสีขาวปนเหลืองประสานกันหุ้มดักแด้อยู่ภายใน

5.2.4 ลักษณะตัวเต็มวัย

ตัวเต็มวัยของหนอนใยผัก มีขนาดค่อนข้างเล็ก ลำตัวยาวประมาณ 10 มิลลิเมตร ที่ลำตัวมีขนเล็ก ๆ อยู่รอบ ๆ ปีกคู่หน้าของแมลงตัวผู้มีสีเทาและมีแถบสีเหลืองอยู่ที่ขอบปีกด้านใน จากแถบสีเหลืองนี้ เมื่อแมลงหุบปีกจะเห็นเป็นรูปหยักสามเหลี่ยมที่ปีก ซึ่งลักษณะนี้เป็นลักษณะที่ต่างจากตัวเมีย ปีกคู่หน้าของตัวเมียมีสีเทาตลอดไม่มีแถบสีเหลือง สำหรับปีกคู่หลังทั้งตัวผู้และตัวเมียสีเทาดำตลอดและมีขนสั้น ๆ อยู่รอบปีก นิสยของหนอนใยผัก เมื่อถูกตัวจะคันและสร้างใยทั้งตัวลงพื้นดิน หนอนเมื่อออกจากไข่และโตขึ้นจะเพาะผิวใบด้านล่างเป็นวงกว้างและมักทิ้งผิวใบด้านบน ซึ่งมีลักษณะบางใสไว้ ถ้ามีการระบาดอย่างรุนแรง หนอนใยผักจะกัดกินใบจนเหลือแต่ก้านใบ

5.3 วงจรชีวิต

หนอนใยผักเป็นหนอนที่มีขนาดเล็กที่สุดในบรรดาหนอนผีเสื้อที่เป็นศัตรูพืช วงจรชีวิตของหนอนใยผักแบ่งเป็น 4 ระยะ (ภาพที่ 22) หนอนใยผักจะมีการเจริญเติบโตรวดเร็วกว่าหนอนผีเสื้อชนิดอื่น ๆ ตัวหนอนใช้เวลาในการเจริญเติบโต 6 ถึง 7 วัน หลังจากนั้นจะออกมากัดกินภายนอก ทำให้ใบผักเป็นรูพรุน (ครุณลักษณ์, 2544) ซึ่งจันทิมา (2550) พบว่า ในระยะไข่ ตัวอ่อนและดักแด้ จะพบได้บนพืชอาหาร ซึ่งบางส่วนอาจเข้าดักแด้ในดิน ส่วนในระยะตัวเต็มวัยสามารถพบได้ทั้งบนพืชอาหารและพืชชนิดอื่น ๆ โดยที่หนอนใยผักใช้เวลาในการพัฒนาจากไข่ไปจนเป็นตัวเต็มวัยประมาณ 11 วัน ระยะฟักของไข่ใช้เวลา 2 วัน ระยะการพัฒนาในตัวอ่อนตั้งแต่วัยที่ 1 ถึง 4 ใช้เวลา 6 วัน และระยะการใช้เวลาเป็นดักแด้ 3 วัน สามารถเพิ่มประชากรได้ถึง 30 รุ่นต่อปี สมศักดิ์ (2552) รายงานว่า วงจรชีวิตหนอนใยผักเฉลี่ย 14 ถึง 18 วัน ในช่วงฤดูร้อนเดือนเมษายนถึงพฤษภาคม วงจรชีวิตหนอนใยผักเฉลี่ย 17 ถึง 18 วัน และในช่วงฤดูหนาวเดือนพฤศจิกายนถึงธันวาคม วงจรชีวิตหนอนใยผักเฉลี่ย 28 ถึง 29 วัน



ภาพที่ 22 ระยะหนอนใบผัก (A) ระยะไข่ (B) ระยะตัวหนอน (C) ระยะดักแด้ (D) ระยะตัวเต็มวัย

5.3.1 ไข่ (eggs)

หนอนใบผักจะวางไข่ทั้งบนใบและใต้ใบ เป็นฟองเดี่ยวหรือเป็นกลุ่มติดกัน ประมาณ 2 ถึง 5 ฟอง ไข่มีขนาดเล็กมาก มีลักษณะค่อนข้างแบนและยาวรี มีสีเหลืองอ่อนเป็นมัน มีผิวเรียบ เมื่อไข่ใกล้ฟักออกเป็นตัวจะมีสีเหลืองเข้ม เมื่อขยายตัวด้วยกล้องจุลทรรศน์จะมองเห็นหัวของตัวอ่อนเป็นสีดำ ซึ่งตัวหนอนของมันเป็นรูปตัวซีอยู่ภายในไข่นั้น ตัวเต็มวัยตัวหนึ่ง ๆ สามารถวางไข่ได้ประมาณ 37 ถึง 407 ฟอง (ครุณลักษณ์, 2544) ภายใต้การควบคุมทางห้องทดลอง ไข่มีระยะฟักตัว 1.87 ± 0.34 วัน ที่อุณหภูมิ 28.38 ± 1.11 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 75.41 ± 4.91 เปอร์เซ็นต์ (จันทิมา, 2550)

5.3.2 ตัวอ่อน (larvae)

ระยะตัวอ่อนนี้มีอยู่ด้วยกัน 4 ระยะ หรือ 4 วัย (instar) เมื่อตัวอ่อนฟักออกมาใหม่ ๆ มีขนาดเล็ก ตั้งแต่วัยที่ 1 ถึง 4 จะมีความกว้างของหัวคือ 0.16 0.25 0.37 และ 0.61 มิลลิเมตร ตามลำดับ หรือตามความยาวของลำตัว คือ 1.7 3.5 7.0 และ 11.2 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 23) โดยที่วัยที่ 1 และ 2 มีลำตัวสีขาวซีด ขนาดเล็ก ส่วนหัวสีน้ำตาลอ่อน จะอาศัยและกัดกินเซลล์อยู่

ภายในใบพืช (วิรเทพ, 2528) เมื่อเข้าสู่วัย 3 และ 4 นั้น มีสาร cuticle ปกคลุมลำตัวหนากว่า 2 วัยแรก รวมทั้งส่วนหัวก็กว้างกว่าด้วย เมื่อโตเต็มที่แล้วลำตัวมีสีเขียวและหัวมีสีน้ำตาล มีลักษณะหัวท้ายแหลม ลำตัวพอมยาว ส่วนท้ายมีปุ่มยื่นออกมา 2 แฉก สีลำตัวอาจจะเป็นสีเขียวอ่อน เทาอ่อนหรือเขียวปนเหลือง มีขาจริง 3 คู่ และขาเทียม 5 คู่ ปากอยู่ส่วนท้องปล้องที่ 3 4 5 6 และปล้องสุดท้ายของลำตัว (ครุณลักษณ์, 2544) เมื่อถูกตัวจะคืบอย่างแรง และสามารถสร้างใยพาตัวขึ้นลงระหว่างพื้นดินกับใบพืชได้ ซึ่งในช่วงของการเป็นตัวอ่อนจากวัยที่ 1 ถึง 4 ใช้เวลาประมาณ 8 ถึง 10 วัน อย่างไรก็ตามสามารถยืดหยุ่นเวลาได้มากกว่านี้ประมาณ 6 ถึง 30 วัน ขึ้นอยู่กับปัจจัยจำกัดต่าง ๆ ที่อยู่รอบตัว เช่น อาหารและอุณหภูมิ (จันทิมา, 2550)



ภาพที่ 23 หนอนใยผักวัยที่ 1 ถึง วัยที่ 4 (1st, 2nd, 3rd และ 4th หมายถึงหนอนใยผักวัยที่ 1, 2, 3 และ 4)

ที่มา: จันทิมา (2550)

5.3.3 ดักแด้ (pupa)

ดักแด้ระยะต้น ๆ มีลำตัวสีเขียวอมเหลือง เมื่อเวลาผ่านไปจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลจนถึงดำ จากนั้นตัวเต็มวัยก็โผล่ออกมา ซึ่งในระยะดักแด้ใช้เวลาพัฒนาตัว 4 ถึง 15 วัน ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ในแต่ละฤดูกาลที่มีอุณหภูมิแตกต่างกันไป พบว่าฤดูร้อนและฤดูฝนระยะดักแด้ใช้เวลาประมาณ 4 และ 5 วัน ตามลำดับ ฤดูหนาวใช้เวลา 4 ถึง 5 วัน สำหรับประเทศไทยนั้นระยะดักแด้ใช้เวลาเพียง 3 ถึง 4 วันเท่านั้น แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการพัฒนาของดักแด้คือ 25 ถึง 26 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 3.20 ± 0.62 วัน (จันทิมา, 2550) ดักแด้ของหนอนใยผักเป็นแบบ obtect pupae

โดยมีอวัยวะและปีกติดกันเป็นเนื้อเดียวกับลำตัว คักแต่มีความยาวประมาณ 5 ถึง 12 มิลลิเมตร มีสีเขียวอ่อนหรือสีน้ำตาล มีอายุประมาณ 3 ถึง 4 วัน ก็จะออกเป็นตัวเต็มวัย (ครุณลักษณ์, 2544)

5.3.4 ตัวเต็มวัย (adult)

ตัวเต็มวัยหรือระยะฟักตัวนี้มีรูปร่างบอบบาง ตัวผู้และตัวเมียมีขนาดเท่ากัน เพศผู้ปีกคู่หน้ามีสีเทา มีรอยสีดำจาง ๆ ทางด้านบนของปีกคู่หน้า ที่ปลายปีกมองเห็นเป็นจุดสีดำเล็กและมีแถบสีเหลืองอยู่ที่ขอบปีกด้านใน ส่วนเพศเมียไม่มีแถบสีเหลืองอยู่ขอบปีกด้านในของปีกคู่หน้า สำหรับปีกคู่หลังมีสีดำทั้งเพศผู้และเพศเมีย ปีกมีสีเทาและมองเห็นจุดสว่าง ๆ บนปีกคู่แรกของตัวผู้ ตัวเมีย 1 ตัว จะวางไข่ประมาณ 18 ถึง 356 ฟอง ขึ้นอยู่กับอิทธิพลของช่วงแสง อุณหภูมิ อาหาร และอายุ ซึ่งตามธรรมชาติแล้วตัวเมียสามารถมีชีวิตอยู่ได้ประมาณ 3 ถึง 58 วัน หรือโดยเฉลี่ย 12.1 วัน (Li, 2001) แต่จากการศึกษาในประเทศอินเดีย ณ อุณหภูมิ 25 ถึง 26 องศาเซลเซียส นั้น ตัวเต็มวัยมีชีวิตอยู่ได้ 16.17 ± 3.06 วัน (จันทิมา, 2550) อัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมียในรุ่นแรก คือ 1.6 : 1 และ 1.6 : 1.35 ในรุ่นที่ 2 ตัวเต็มวัยเมื่อเกาะนิ่งอยู่กับที่จะวางหวดชี้ตรงไปข้างหน้า หวดเป็นแบบเส้นด้าย แต่ละปล้องมีสีดำสลับสีขาว ปลายหวดเรียว หัวมีตาเดี่ยวสีดำ ปีกคู่หลังรูปร่างคล้ายหอกสีดำ และมีขนขึ้นรอบ ๆ ปีก ขามีสีเทาและดำปะปนกัน ระยะการเป็นตัวเต็มวัยประมาณ 5 ถึง 7 วัน (ครุณลักษณ์, 2544)

5.4 พืชอาหาร

พืชอาหารของหนอนใยผัก ส่วนใหญ่เป็นพืชในตระกูลกะหล่ำ โดยเฉพาะในตระกูล *Brassicas* ทั้งที่ปลูกเพื่อการเกษตรและพืชป่า ในพืชทางการเกษตร ได้แก่ บล็อกโคลี กะหล่ำ คะน้า ผักกาดขาว ผักกาดดอก ผักกาดเขียวกวาดตุ้งและ หัวไชเท้า เป็นต้น ซึ่งโดยธรรมชาติแล้ว หนอนใยผักมักจะอยู่ตามส่วนต่าง ๆ ของพืชอาหารที่สามารถรับประทานได้ เช่น ลำต้น ใบ เป็นต้น (สมศักดิ์, 2552)

5.5 การป้องกันกำจัด

การป้องกันกำจัดหนอนใยผักเป็นงานที่ยากเนื่องจากหนอนใยผักมีความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงได้มากมายหลายชนิด ดังนั้นการที่จะควบคุมกำจัดหนอนใยผักให้ได้ผลดี ควรใช้วิธีการ

แบบผสมผสาน (integrated pest management) ซึ่งต้องใช้ทั้งวิธี biological control, chemical control และ วิธีอื่น ๆ ร่วมกันจึงจะประสบผลสำเร็จดังต่อไปนี้

5.5.1 Biological control

โดยธรรมชาติแล้วมีแมลงตัวห้ำและตัวเบียน ที่ควบคุมประชากรของหนอนใยผักอยู่หลายชนิด พบรายงานว่าในเขตที่สูงมีแตนเบียนไข่ *Trichogramma confusum* Viggiani และในเขตที่ราบต่ำมีแตนเบียนไข่ *Trichogrammatoidea bactrae* Nagaraja สามารถควบคุมหนอนใยผักได้อย่างมีประสิทธิภาพ 16.2 ถึง 45.2 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้มีแตนเบียน *Cotesia (Apanteles) plutellae* Kurdjumov คอยควบคุมหนอนใยผักได้ 3.1 ถึง 3.2 เปอร์เซ็นต์ (ปิยรัตน์ และคณะ, 2531) นอกจากนี้ อัจฉรา (2538) กล่าวว่า มีจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* Berliner ซึ่งเป็นศัตรูธรรมชาติที่ควบคุมหนอนใยผักได้อย่างมีประสิทธิภาพอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งแบคทีเรียชนิดนี้โดยปกติแล้วสามารถพบได้ในธรรมชาติ แต่ปัจจุบันมีการผลิตออกมาจำหน่ายเป็นการค้ามากมาย เมื่อตัวหนอนกินเชื้อแบคทีเรียเข้าไป เชื้อแบคทีเรียจะถูกทำลายเข้าสู่ทางเดินอาหารและปล่อยสารพิษออกมาฆ่าตัวหนอนได้

5.5.2 Chemical control

สารเคมีที่นำมาใช้ป้องกันกำจัดหนอนใยผักนั้น สามารถเป็นไปได้ทั้งเป็นสารล่อเพศ (sex pheromone) เพื่อใช้เป็นตัวล่อให้ตัวเต็มวัยของหนอนใยผักเข้ามาติดกับดักได้ และสารเคมีที่สกัดได้มาจากพืชธรรมชาติจำพวกนิโคติน ไพรีทรัม ไปจนถึงสารเคมีที่สังเคราะห์ขึ้น ได้แก่ สารเคมีจำพวก ออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate) ออร์กาโนคลอรีน (organochlorine) คาร์บาเมต (carbamate) และไพรีทรอยด์สังเคราะห์ (synthetic pyrethroid) เป็นต้น (จันทิมา, 2550)

การใช้สารล่อเพศ หรือ sex pheromone ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักในประเทศไทยนั้นมีรายงานว่า สารล่อเพศ Takeda ซึ่งมีส่วนผสมของ *cis-11-hexadecenol* ในปริมาณ 0.1 มิลลิกรัม มีประสิทธิภาพสูงสุดในการดักจับผีเสื้อหนอนใยผักเพศผู้ (สมศักดิ์, 2552) นอกจากนี้ วินัย (2534) รายงานว่า สำหรับสารฆ่าแมลง อะบาแมคติน (abamectin) อัตรา 2.88 กรัม เนื้อสารออกฤทธิ์ต่อไร่ เชื้อแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ และการใช้สลับกันระหว่าง อะบาแมคตินอัตรา 2.88 กรัม กับ ไดอะเฟนไทูรอน (diafenthiuron) อัตรา 120 กรัม เนื้อสารออกฤทธิ์ต่อไร่ให้ผลดีในการกำจัด

หนอนใยผัก ในแนวทางเดียวกันเมื่อหนอนใยผักระบาดควรกำจัดด้วยการพ่นด้วยอะบาแมคติน และไพโรนิล เป็นต้น โดยการฉีดพ่นสลับกันไป จึงจะให้ผลในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักได้ดี

5.5.3 Cultural control and host resistance

นอกเหนือจากการควบคุมกำจัดหนอนใยผักโดยวิธี biological และ chemical control แล้ว การจัดการโดยวิธีการทำการเกษตรกรรม (cultural control) และความต้านทานของยีนส์ (host resistance) เข้ามาควบคุมหนอนใยผักก็ถือว่าเป็นวิธีการหนึ่งที่จะส่งเสริมให้การควบคุมได้ผลดียิ่งขึ้น ใยอ่อนของหนอนใยผักจะอ่อนแอต่อการจมน้ำ ดังนั้นในช่วงฤดูฝนที่มีความชื้นในอากาศสูง เมื่อมีหยดน้ำในบริเวณที่อยู่อาศัยของหนอนใยผักมากกว่าครึ่งหนึ่งของตัวหนอนในระยะ 3 วันแรก ตัวหนอนอาจตายจากการจมน้ำได้ สำหรับการควบคุมโดยใช้ความต้านทานของยีนส์ พบว่ามีการใช้มากใน อเมริกาเหนือ เนื่องจากหนอนใยผักมีความต้านทานสูงต่อสารเปอร์เมทริน และเมโทมิล (methomyl) จึงต้องมาใช้พันธุ์ต้านทานแทน โดยปลูกพืชตระกูลกะหล่ำที่ใบมีความมันเงาและมียีนส์ที่สร้างไข (wax) มาก ซึ่งความหลากหลายของความเป็นมันเงานี้มีผลต้านทานต่อตัวอ่อนวัยที่ 1 ของหนอนใยผัก ทำให้เกิดพฤติกรรมเคลื่อนไหวมากและกินอาหารน้อยลง ชักนำให้ตัวอ่อนขาดอาหารและแห้งตายไปในที่สุด (จันทิมา, 2550)

5.5.4 การใช้กับดักแมลงชนิดต่าง ๆ

ก. กับดักแสงไฟ

ใช้ไฟหลอดสีน้ำเงิน 20 วัตต์ เป็นหลอดเรืองแสงที่เหมาะสมในการใช้จับผีเสื้อหนอนใยผักมากที่สุด สามารถดึงดูดผีเสื้อหนอนใยผักได้มากพอสมควร มีราคาถูกกว่า blacklight blue 20 วัตต์ ซึ่งจับผีเสื้อได้มากที่สุดและหลอดสีน้ำเงินไม่มีอันตรายจากแสงอุลตราไวโอเลต (ศรีสุดา และคณะ, 2530)

ข. กับดักกาวเหนียวสีเหลือง

เป็นกับดักกาวเหนียวสีเหลืองทรงกระบอก หรือกระป๋องทากาวเหนียว (polybutane) ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ในสารละลายเฮกเซน ประมาณ 10 ถึง 15 วันต่อครั้ง สามารถจับผีเสื้อหนอนใยผักได้เฉลี่ย 16 ตัวต่อวันต่อกับดัก โดยจับผีเสื้อเพศเมียและเพศผู้ได้ใน

อัตราส่วน 0.79 : 1 และเมื่อติดตั้งกับดักกาวเหนียวสีเหลืองชนิดนี้จำนวน 80 กับดักต่อไร่ สามารถลดการใช้สารฆ่าแมลงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ (วินัย, 2533)



อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. พืชทดลอง

รากหนอนตายหยากที่ใช้ในการศึกษาเก็บมาจากพื้นที่ อ.วังทอง จ.พิษณุโลก ในช่วงเดือนมิถุนายน ถึง สิงหาคม พ.ศ. 2551

2. แมลงศัตรูพืช

หนอนใยผัก *Plutella xylostella* (L.) เก็บจากแปลงปลูกผักคะน้าของเกษตรกร อำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี แปลงผักไม่มีการฉีดพ่นสารฆ่าแมลง

3. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการสกัดแยกและตรวจสอบสูตรโครงสร้างสาร

3.1 เครื่องมือ

3.1.1 เครื่องบดตัวอย่างพืช

3.1.2 ตู้อบ: Binder

3.1.3 เครื่องชั่งทศนิยมสองตำแหน่ง: Mettler toledo รุ่น PB 1502

3.1.4 เครื่องชั่งทศนิยมสี่ตำแหน่ง: Sartorius รุ่น AC 2115

3.1.5 บีกูคูอากาศ

3.1.6 เครื่องระเหยแห้ง (freeze dryer): FTS systems/stone ridge

3.1.7 เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary vacuum evaporator): Buchi รุ่น R-

124

3.1.8 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-Visible spectrophotometer): Camag

3.1.9 เครื่อง Gas Chromatograph/Mass Spectrometer (GC/MS): Agilent รุ่น

6890N

3.1.10 เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (NMR): Bruker รุ่น

DRX

3.1.11 เครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR): Bruker รุ่น vector
33

3.1.12 เครื่อง High Performance Liquid Chromatograph (HPLC): Agilent รุ่น
1100

3.2 เครื่องแก้ว และสารเคมี

3.2.1 เครื่องแก้ว เช่น กระบอกตวง ปีกเกอร์ แท่งแก้วคนสาร กรวยกรอง และ ขวด
รูปชมพู่ เป็นต้น

3.2.2 คอลัมน์แก้วขนาด 5 x 60 เซนติเมตร 4 x 50 เซนติเมตร และ 2.5 x 40
เซนติเมตร

3.2.3 TLC Tank (20 × 20 เซนติเมตร)

3.2.4 หลอดทดลองขนาด 10 และ 25 มิลลิลิตร

3.2.5 ซิลิกาเจล 60 ขนาด 0.063-0.200 มิลลิเมตร บริษัท Merck จำกัด

3.2.6 TLC aluminium sheets Silica gel 60 F₂₅₄ ขนาด 20 × 20 เซนติเมตร และ
PTLC Silica gel 60 F₂₅₄ ขนาด 20 × 20 เซนติเมตร บริษัท Merck จำกัด

3.2.6 ผ้าขาวบาง

3.2.7 สารเคมี ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เมทานอล เอทิลอะซิเตต และอะซิ
โตนanalytical reagent grade

4. อุปกรณ์และสารเคมีในการเพาะเลี้ยง และทดสอบความเป็นพิษ

4.1 เมล็ดพันธุ์ผักคะน้าใบ ยี่ห้อยี่ห้อ และกระถางปลูกต้นคะน้าขนาดเส้นผ่าน
ศูนย์กลาง 8 นิ้ว

4.2 กล่องพลาสติกขนาด 25×15×9 เซนติเมตร พร้อมฝาปิดที่มีช่องระบายอากาศ
สำหรับเลี้ยงหนอนใยผัก

4.3 กล่องพลาสติกขนาด 60 ×40×25 เซนติเมตร พร้อมฝาปิดที่มีช่องระบายอากาศ
สำหรับ เลี้ยงตัวเต็มวัย

4.4 กล่องพลาสติกขนาด 10×10×5 เซนติเมตร พร้อมฝาปิดที่มีช่องระบายอากาศ สำหรับ
ใส่ดักแด้

4.5 ฟูก้นสำหรับเลี้ยงหนอน

- 4.6 สารเคมี ได้แก่ น้ำกลั่น น้ำผึ้ง 10 เปอร์เซนต์ อะซิโตน และ Tween-80
- 4.7 อุปกรณ์เครื่องแก้ว เช่น บีกเกอร์ กระบอกตวง ปิเปต เป็นต้น
- 4.8 กระดาษฟลอยด์ กระดาษพิษชู และสำลี

วิธีการ

1. การตรวจสอบสปิชีส์หนอนตายหยาก

เก็บตัวอย่างต้นหนอนตายหยากจาก อ.วังทอง จ.พิษณุโลก ช่วงเดือนมิถุนายน-สิงหาคม พ.ศ. 2551 นำมาตรวจสอบสปิชีส์ ณ ศูนย์ความหลากหลายพันธุกรรมพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยอาศัยข้อมูลพฤกษศาสตร์หนอนตายหยากเป็นหลักในการพิจารณา

2. การเพาะเลี้ยงหนอนใยผัก (*Plutella xylostella*)

2.1 การเก็บตัวอย่างหนอนใยผัก

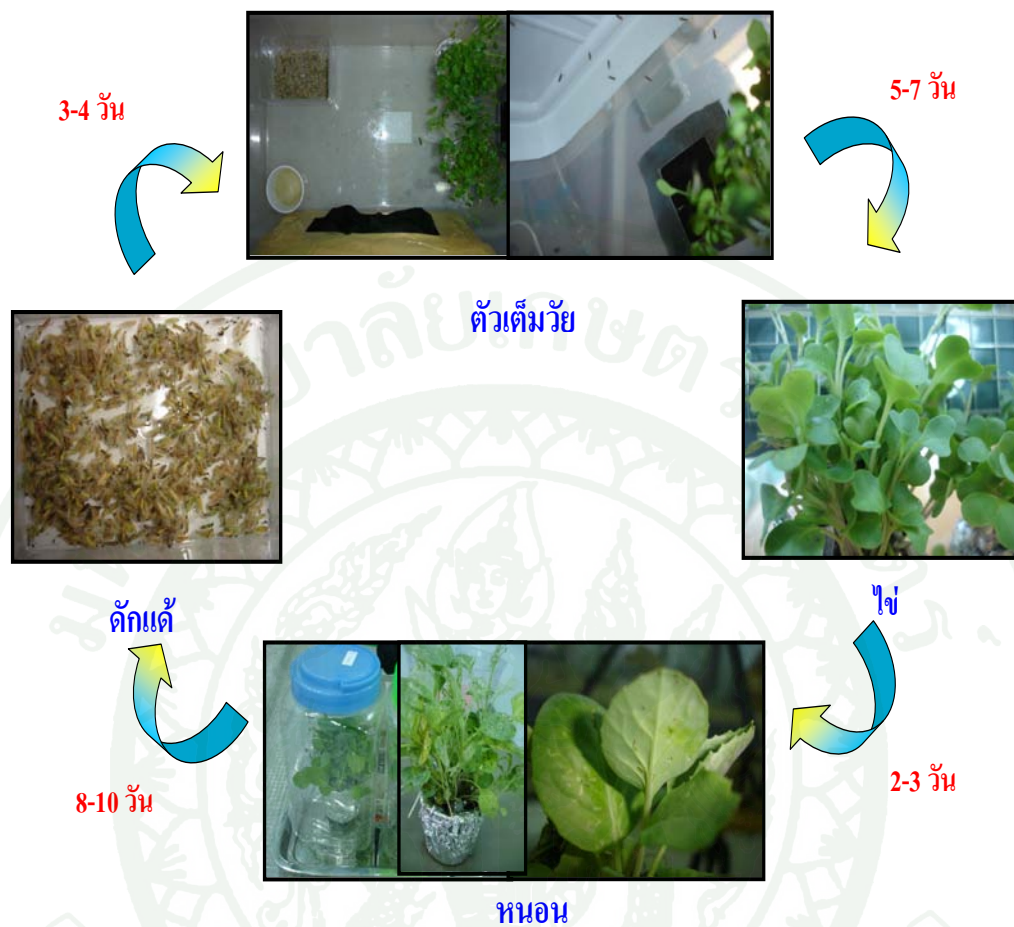
เก็บใบคะน้าที่มีตัวหนอนและดักแด้ จากแปลงผักคะน้า ที่ไม่ได้ฉีดพ่นสารเคมีกำจัดศัตรูพืช จากอำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี ใส่ในกล่องพลาสติกขนาด 10×10×5 เซนติเมตร

2.2 การเตรียมผักคะน้าสำหรับการเพาะเลี้ยงหนอนใยผัก

การเตรียมผักคะน้า เพื่อใช้ในการทดสอบความเป็นพิษต่อหนอนใยผัก ต้องใช้ใบคะน้าที่มีการปนเปื้อนของสารพิษทางการเกษตรน้อยที่สุด ดังนั้นผู้วิจัยจึงต้องปลูกคะน้าในเรือนทดลองตลอดระยะเวลาการวิจัย ดังนี้ เตรียมกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 นิ้ว นำดินใส่ลงในกระถางให้ดินอยู่ต่ำกว่ากระถางประมาณ $\frac{1}{2}$ นิ้ว นำเมล็ดพันธุ์ผักคะน้าใบหย่อยเจียวได้หว่านลงในกระถางแล้วใช้ดินกลบประมาณ $\frac{1}{4}$ นิ้ว รดน้ำให้ดินมีความชุ่มชื้น การบำรุงรักษา รดน้ำวันละ 2 ครั้งเช้าและเย็น

2.3 การเพาะเลี้ยงหนอนไผ่

การเลี้ยงขยายพันธุ์หนอนไผ่ในห้องทดลอง นำหนอนที่เก็บมาเลี้ยงในกล่องพลาสติก ขนาด $25 \times 15 \times 9$ เซนติเมตร มีฝาปิดพร้อมช่องระบายอากาศ โดยให้ใบค่น้ำเป็นอาหาร เปลี่ยนใบค่น้ำจนเข้าระยะดักแด้ จึงเก็บใส่กล่องพลาสติกขนาด $10 \times 10 \times 5$ เซนติเมตร ปิดด้วยผ้าที่มีช่องระบายอากาศ จากนั้นนำเข้ากล่องเลี้ยงดักแด้ทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 10 เซนติเมตร ใส่ในกล่องพลาสติกขนาด $60 \times 40 \times 25$ เซนติเมตร มีฝาปิดพร้อมช่องระบายอากาศ จนกระทั่งเป็นผีเสื้อ จากนั้นปล่อยให้ผีเสื้อผสมพันธุ์กัน ให้อาหารผีเสื้อด้วยน้ำผึ้ง 10 เปอร์เซ็นต์ และเตรียมต้นค่น้ำอ่อนสำหรับวางไข่ สำหรับเป็นอาหาร ตัวเต็มวัยจะวางไข่บนต้นค่น้ำอ่อน ประมาณ 5 ถึง 7 วัน จากนั้นไข่ของหนอนจะถูกทำการฟักที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส รอการฟักเป็นตัวหนอนประมาณ 2 ถึง 3 วัน ทำการแยกหนอนออกใส่ในกล่องพลาสติกขนาด $25 \times 15 \times 9$ เซนติเมตร ให้ใบค่น้ำเป็นอาหารทุกวัน เลี้ยงจนกระทั่งเป็นหนอนวัย 3 อายุ 10 วัน จึงนำมาใช้ในการทดลองทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหนอนค้ายหยาบในการกำจัดหนอนไผ่ อีกส่วนเลี้ยงเพื่อขยายพันธุ์ต่อไป วงจรชีวิตของหนอนไผ่ ประมาณ 18 ถึง 20 วัน (ภาพที่ 24)



ภาพที่ 24 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงหนอนใยผัก

3. การเตรียมสารสกัดหยาบจากรากหนอนตายหยาก และการทดสอบความเป็นพิษต่อหนอนใยผัก

3.1 การเตรียมพืช

ส่วนของพืชที่เก็บมาศึกษา ได้แก่ ส่วนรากของหนอนตายหยาก ปริมาณ 30 กิโลกรัม นำมาล้างให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นบาง ๆ อบให้แห้งในตู้อบแบบลมร้อน อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส แล้วบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด

3.2 การสกัดรากหนอนตายหยาก

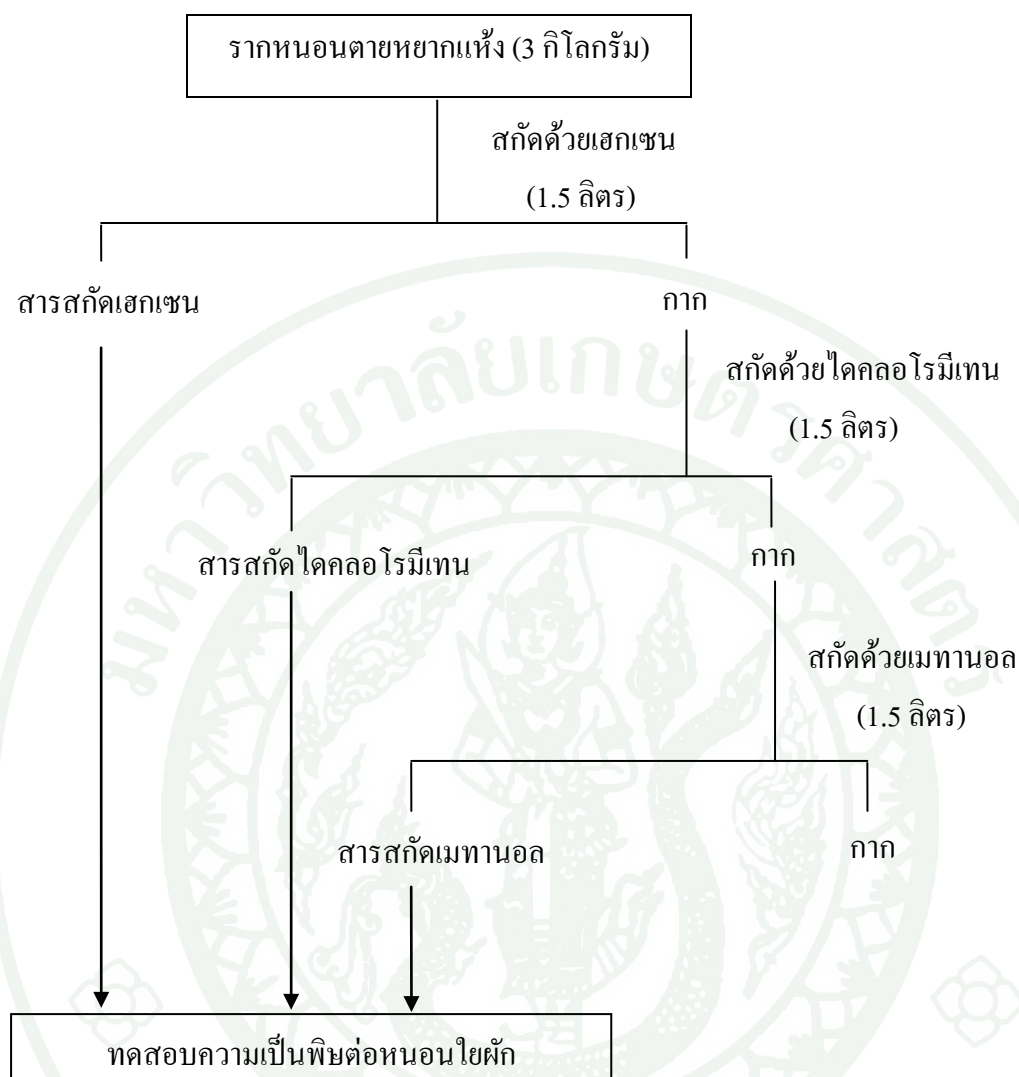
นำรากหนอนตายหยากบดละเอียด 3 กิโลกรัม ใส่ในโถแก้วขนาด 2 ลิตร สกัดโดยวิธีการหมัก (maceration) ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ปริมาตร 1.5 ลิตร หรือจนท่วมรากหนอนตายหยาก คนให้เข้ากันทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วัน ณ อุณหภูมิห้อง กรองแยกส่วนกากออกจากตัวทำละลาย ด้วยชุดกรองต่อกับปั๊มดูดอากาศ นำส่วนกากมาสกัดต่อด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน และเมทานอล ตามลำดับ และระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน ซึ่งสารสกัดหยาบทั้ง 3 ชนิด หลังผ่านการระเหยนํ้าออกด้วยเครื่องระเหยแห้ง เพื่อนำไปทดสอบความเป็นพิษต่อหนอนไผ่ผัก (ภาพที่ 25) และแยกสารออกฤทธิ์ในขั้นตอนต่อไป

3.3 การทดสอบความเป็นพิษต่อหนอนไผ่ผัก

นำสารสกัดหยาบจากรากหนอนตายหยาก มาทดสอบความเป็นพิษต่อหนอนไผ่ผัก โดยวิธี leaf dipping วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ใช้หนอนไผ่ผักวัย 3 ทดสอบ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 30 ตัว ตามขั้นตอนดังนี้

3.3.1 การเตรียมความเข้มข้นสารสกัดหยาบ

เตรียม stock solution ของสารสกัดหยาบเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ในขวดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร โดยนำสารสกัดหยาบปริมาณ 0.5 กรัม ใส่ลงในขวดปริมาตร ละลายด้วยอะซิโตนปริมาตร 1 มิลลิลิตร เมื่อสารสกัดหยาบละลายแล้วจึงปรับปริมาตรให้มีปริมาตร 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นที่ผสม Tween-80 (emulsifier) 1 เปอร์เซ็นต์ (v/v) จากนั้นเจือจาง stock solution ของสารสกัดหยาบเพื่อใช้ในการทดสอบที่ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ส่วนกลุ่มควบคุมเตรียมโดยปิเปตอะซิโตนปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในขวดปริมาตร จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นที่ผสม Tween-80 1 เปอร์เซ็นต์ (v/v)



ภาพที่ 25 ขั้นตอนการสกัดสารสกัดหยากจากรากล่อนตายหยาก

3.3.2 การทดสอบความเป็นพิษต่อหอนไขฝัก โดยวิธี leaf dipping ดัดแปลงจากวิธีของ เกรียงไกร และคณะ (2540)

ใช้ใบคะน้าอ่อนจากการเพาะปลูกผักคะน้าในเรือนทดลอง ตัดเป็นวงกลม เส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร จุ่มในสารละลายสารสกัดหยากที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 1 นาที ผึ่งให้แห้ง ณ อุณหภูมิห้อง นำไปวางลงในกล่องพลาสติกขนาด 10×10×5 เซนติเมตร ปิดด้วยฝาที่มีช่องระบายอากาศ ปล่อยหอนไขฝักจำนวน 30 ตัวต่อซ้ำลงในกล่องทดลอง นับจำนวนหอนไขฝักที่ตายหลังการทดสอบ ที่เวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผล คำนวณอัตราการตายภายใน 24 ชั่วโมง ตามวิธี Abbott (1925) และ คำนวณค่า Median Lethal Concentration 50 (LC₅₀) โดยใช้โปรแกรม Probit

analysis (Finney, 1971) วิเคราะห์ความแปรปรวนและความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ one way ANOVA และ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ อัตราการตายคำนวณได้จากสูตรต่อไปนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การตายแท้จริง} = \frac{(A - B) \times 100}{(100 - B)}$$

เมื่อ A คือ เปอร์เซ็นต์การตายของชุดการทดลอง

B คือ เปอร์เซ็นต์การตายของชุดควบคุม

3.4 การเปรียบเทียบความเป็นพิษสารสกัดหยาบหนอนตายหยากต่อหนอนใยผัก

จากผลการทดสอบความเป็นพิษสารสกัดหยาบเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล ที่มีต่อหนอนใยผัก เปรียบเทียบความเป็นพิษสารสกัดหยาบหนอนตายหยากที่มีฤทธิ์สูงสุดจากค่า LC_{50} ของสารสกัดหยาบหนอนตายหยากทั้ง 3 ชนิด นำสารสกัดหยาบที่มีความเป็นพิษสูงสุด แยกให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคทางโครมาโตกราฟีต่อไป

4. การแยกสารสกัดหยาบหนอนตายหยากให้บริสุทธิ์บางส่วน และการทดสอบความเป็นพิษต่อหนอนใยผัก

4.1 การแยกสารสกัดหยาบจากรากหนอนตายหยากด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี

เตรียมคอลัมน์แก้ว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร ยาว 60 เซนติเมตร ใส่สำลีรองด้านล่างของคอลัมน์ ผสม silica gel 60 F₂₅₄ ปริมาณ 250 กรัม กับเฮกเซนจนให้เป็นเนื้อเดียวกัน เทลงในคอลัมน์โดยไม่ให้เกิดฟองอากาศ นำสารสกัดหยาบหนอนตายหยากปริมาณ 10 กรัม ละลายด้วยไดคลอโรมีเทนจำนวนเล็กน้อย ผสมกับ silica gel 60 ระเหยตัวทำละลายออก จากนั้นบรรจุลงในคอลัมน์ (ภาพที่ 26) แยกสารสกัดหยาบหนอนตายหยาก ด้วยตัวทำละลาย ตามตารางที่ 4 โดยตัวทำละลายทั้งหมด ใช้ปริมาตร 1,800 มิลลิลิตร เก็บสารสกัดแต่ละส่วนที่ผ่านการชะออกจากคอลัมน์ (fraction) ครั้งละ 50 มิลลิลิตร ระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน และเก็บ fraction ใส่ในขวดเก็บสาร นำแต่ละ fraction ไปตรวจสอบองค์ประกอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี (TLC) โดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม ตรวจสอบด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่

ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร รวม fractions ที่มีองค์ประกอบคล้ายกันไว้ด้วยกัน ระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนและทำให้แห้งด้วยเครื่องระเหยแห้ง ชั่งน้ำหนัก fraction ที่ได้ และนำไปทดสอบความเป็นพิษต่อ หนอนใยผัก



ภาพที่ 26 การแยกสารสกัดจากรากหนอนตายหยาก ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี

ตารางที่ 4 ระบบตัวทำละลายที่ใช้ในการแยกสารสกัดหนอนตายหายาก

ตัวทำละลาย	อัตราส่วน (เปอร์เซ็นต์)
Hexane	100
Hexane: Ethyl acetate	80 : 20
Hexane: Ethyl acetate	60 : 40
Hexane: Ethyl acetate	40 : 60
Hexane: Ethyl acetate	20 : 80
Ethyl acetate	100
Ethyl acetate: Methanol	80 : 20
Ethyl acetate: Methanol	60 : 40
Ethyl acetate: Methanol	40 : 60
Ethyl acetate: Methanol	20 : 80
Methanol	100

4.2 การทดสอบความเป็นพิษต่อหนอนใยผัก

นำสารสกัดแต่ละ fraction มาทดสอบความเป็นพิษต่อหนอนใยผัก โดยวิธี leaf dipping วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design ใช้หนอนใยผักวัย 3 ทดสอบ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซ้ำละ 30 ตัว ตามขั้นตอนดังนี้

4.2.1 การเตรียมสารสกัด

เตรียมสารสกัดความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) โดยชั่งน้ำหนักสารแต่ละ fraction ใส่ลงในขวดปริมาตร 10 มิลลิลิตร ละลายสารสกัดด้วยอะซิโตนปริมาตร 1 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่ผสม Tween-80 1 เปอร์เซ็นต์ (v/v) โดยเมื่อทำการปรับปริมาตรแล้ว ตัวอย่างสารสกัดที่เตรียมได้จะต้องมีความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) เท่ากันทุกตัวอย่าง ส่วนกลุ่มควบคุม เตรียมโดยปิเปตอะซิโตนปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในขวดปริมาตร จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นที่ผสมด้วย Tween-80 1 เปอร์เซ็นต์ (v/v)

4.2.2 การทดสอบความเป็นพิษต่อหนอนใยผักของสารสกัดแต่ละ fraction

ใช้ใบกะน้าอ่อนจากการเพาะปลูกผักกะน้าในเรือนทดลอง ตัดเป็นวงกลม เส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร จุ่มในสารละลายสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 1 นาที ผึ่งให้แห้ง ณ อุณหภูมิห้อง นำไปวางลงในกล่องพลาสติกขนาด 10×10×5 เซนติเมตร ปิดด้วยฝาที่มีช่องระบายอากาศ ปลอ่ยหนอนใยผักจำนวน 30 ตัวต่อซ้ำ ลงในกล่องทดลอง นับจำนวนหนอนใยผักที่ตายหลังการทดสอบ ที่เวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผล คำนวณอัตราการตายภายใน 24 ชั่วโมง ตามวิธี Abbott (1925) และคำนวณค่า Median Lethal Concentration 50 (LC₅₀) โดยใช้โปรแกรม Probit analysis (Finney, 1971) วิเคราะห์ความแปรปรวนและความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ one way ANOVA และ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ นำ fraction ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดไปแยกให้บริสุทธิ์ยิ่งขึ้น

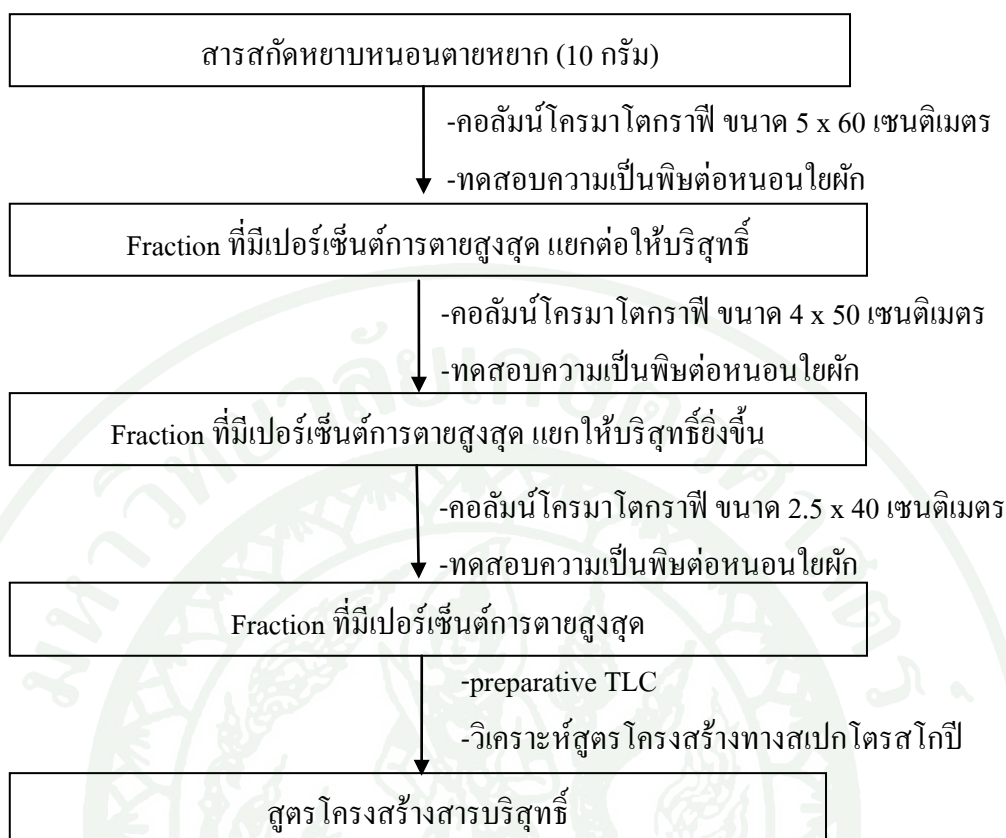
4.3 การแยก fraction ให้บริสุทธิ์เพียงบางส่วน ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี

เตรียมคอลัมน์แก้ว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร ยาว 50 เซนติเมตร ผสม silica gel 60 F₂₅₄ ปริมาณ 150 กรัม บรรจุลงในคอลัมน์ โดยทำตามวิธีการข้อ 4.1 แยก fractions ที่มีความเป็นพิษต่อหนอนใยผักสูงสุดจากข้อ 4.2 ด้วยตัวทำละลายตามตารางที่ 4 โดยตัวทำละลายทั้งหมดใช้ ปริมาตร 900 มิลลิลิตร เก็บสารสกัดแต่ละ fraction ครั้งละ 20 มิลลิลิตร จากนั้นทำตามวิธีการข้อ 4.1 และนำไปทดสอบความเป็นพิษต่อหนอนใยผัก ตามวิธีการข้อ 4.2

4.4 การแยก fraction ให้บริสุทธิ์ยิ่งขึ้น ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี

เตรียมคอลัมน์แก้ว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร ยาว 40 เซนติเมตร ผสม silica gel 60 F₂₅₄ ปริมาณ 200 มิลลิกรัม บรรจุลงในคอลัมน์ โดยทำตามวิธีการข้อ 4.1 แยก fractions ที่มีความเป็นพิษต่อหนอนใยผักสูงสุดจากข้อ 4.2 ด้วยตัวทำละลายตามตารางที่ 4 โดยตัวทำละลายทั้งหมดใช้ ปริมาตร 360 มิลลิลิตร เก็บสารสกัดแต่ละ fraction ครั้งละ 2 มิลลิลิตร จากนั้นทำตาม วิธีการข้อ 4.1 และนำไปทดสอบความเป็นพิษต่อหนอนใยผัก ตามวิธีการข้อ 4.2

ขั้นตอนในการแยกสารสกัดหยาบหนอนตายหยากให้บริสุทธิ์บางส่วน และการทดสอบ ความเป็นพิษต่อหนอนใยผักสามารถสรุปได้ดังแสดงในภาพที่ 27



ภาพที่ 27 แผนภาพการแยกสารสกัดหยาบหนอนตายหยากให้บริสุทธิ์ และการทดสอบความเป็นพิษต่อหนอนใยผัก

5. การแยกสารให้บริสุทธิ์ ด้วย preparative thin layer chromatography (PTLC) และการทดสอบความเป็นพิษต่อหนอนใยผัก

การแยกสารให้บริสุทธิ์ ด้วย preparative thin layer chromatography นำแผ่น PTLC silica gel 60 F₂₅₄ ขนาด 20 x 20 เซนติเมตร ชัดสารตัวอย่างที่ต้องการแยกลงบนแผ่น PTLC โดยใช้ครอปเปอร์ดูดสารตัวอย่างหยดบนแผ่น PTLC ให้เป็นแถบ ชัดซ้ำด้วยสารตัวอย่าง 2 มิลลิลิตร จนหมด ใต้แผ่น PTLC ลงไปในแท่ง TLC ที่มีฝาปิดสนิท develop โดยใช้ตัวทำละลายเมทานอลต่อเอทิลอะซิเตท อัตราส่วน 20:80 เป็นตัวทำละลาย จากนั้นรอให้ตัวทำละลายเคลื่อนที่ขึ้นมาจนเกือบถึงขอบบน นำแผ่น PTLC ออกจากแท่งแล้วปล่อยให้ตัวทำละลายระเหยจนแห้ง ตรวจสอบองค์ประกอบด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ทำเครื่องหมายบริเวณที่มีแถบของสาร ชูด silica gel ที่มีสารอยู่ลงในบีกเกอร์โดยใช้ spatula เดิมตัวทำละลายที่เหมาะสมลงไป กรองด้วยกระดาษกรอง ระเหยตัวทำละลายจนแห้ง ชั่งน้ำหนัก

6. การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์

นำสารบริสุทธิ์มาวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีด้วยเครื่องมือ ประกอบด้วย Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (NMR) Gas Chromatograph/ Mass Spectrometer (GC/MS) และ Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR) โดยมีสภาวะเครื่องดังนี้

6.1 สภาวะเครื่อง ^1H -NMR และ ^{13}C -NMR

Instrument	:	Bruker DRX spectrometers
^1H -NMR Frequency	:	400 MHz,
^{13}C -NMR Frequency	:	100 MHz
Sample	:	dissolved in CDCl_3

6.2 สภาวะเครื่อง Gas Chromatograph/Mass Spectrometer

Gas Chromatograph	:	Agilent (6890 N)
Capillary column	:	DB-5MS (0.25 mm $\times$ 30 m $\times$ 0.25 μm)
Carrier gas	:	Helium, 1ml/min
Oven temp	:	60 $^{\circ}\text{C}$ - 3 min, 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ - 280 $^{\circ}\text{C}$ (10 min)
Injector mode	:	splitless
Injector temp	:	250 $^{\circ}\text{C}$
Injection volume	:	1 μL
Mass Spectrometer	:	Model number 122-5532
Transfer line temp	:	280 $^{\circ}\text{C}$
Solvent delay	:	5 min
EM voltage	:	70 eV

6.3 สภาวะเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR)

Instrument	:	Bruker vector 33
Wave number	:	900 – 3,800 cm^{-1}

6.4 สภาวะเครื่อง High Performance Liquid Chromatograph (HPLC)

Instrument	:	Agilent (1100)
Detector	:	UV 294 nm
Column	:	Hypersil ODS (250 mm × 4.6 m)
Mobile phase	:	Methanol : 0.1 M NH ₄ CO ₃ (60 : 40)
Injection volume	:	10 µL
Flow rate	:	1 ml/min

7. สถานที่ทำการทดลอง

7.1 ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ตึกปฏิบัติการกลางวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7.2 ห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

8. ระยะเวลาดำเนินการวิจัย

การทดลองเริ่มตั้งแต่ เดือน ตุลาคม 2550 ถึง เดือน ตุลาคม 2552

ผลและวิจารณ์

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของหนอนตายหยากที่ศึกษา

จากการเก็บตัวอย่างหนอนตายหยาก จาก อ.วังทอง จ.พิษณุโลก ซึ่งเป็นพื้นที่มีลักษณะเป็นเนินสูง ๆ ต่ำ ๆ มีความสูงโดยเฉลี่ยประมาณ 500 เมตร จากระดับน้ำทะเล และมีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยประมาณ 1,700 มิลลิเมตรต่อปี เมื่อนำมาตรวจสอบสปีชีส์ ณ ศูนย์ความหลากหลายพันธุกรรมพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยการพิจารณาจากลักษณะทางพฤกษศาสตร์พบว่า มีลักษณะสอดคล้องกับข้อมูลลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของ *S. collinsae* มีลักษณะเป็นไม้เลื้อยยาวประมาณ 1 ถึง 2 เมตร ผิว ลำต้นเรียบ ปลายใบแหลม โคนใบโค้งลึกรูปหัวใจ ขอบใบหยักเป็นคลื่นเล็กน้อย เนื้อใบบางเรียบ เส้นใบ 9 ถึง 15 เส้น ออกจากโคนใบไปหาปลายใบ และมีเส้นใบเรียงตามขวางละเอียดตลอดทั้งใบ ดอกออกเดี่ยว ๆ หรือเป็นช่อ 1-2 ดอก ช่อดอกจะออกมาช่อโคนก้านใบ ก้านช่อดอกกลม สีเขียว ผิวเรียบ กลีบดอก มี 4 กลีบ เรียงซ้อนกัน เกสรตัวผู้มี 4 อัน อยู่ตรงข้ามกลีบดอกแต่ละกลีบ เกสรตัวเมียประกอบด้วย รังไข่ 1 อัน ดอกสีขาวอมเขียว ลำต้นใต้ดินเกิดรากเป็นกระจุกยาว 10 ถึง 20 ราก รากมีรูปร่างคล้ายกระสวยยาว 15 ถึง 25 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.6 ถึง 1.0 เซนติเมตร เปลือกรากบางสีน้ำตาลอ่อน เนื้อในสีขาวชุ่มน้ำ และมีแกนกลางราก (ภาพที่ 28)

จากผลที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของอริยาภรณ์ และคณะ (2547) ได้ทำการสำรวจรวบรวมพันธุ์ และจัดจำแนกชนิดพันธุ์หนอนตายหยากที่พบในจังหวัดอุบลราชธานี พบการกระจายพันธุ์ของหนอนตายหยาก *S. collinsae* มีลักษณะลำต้นเป็นพุ่ม ใบมีขนาดกว้างประมาณ 6 ถึง 10 เซนติเมตร ยาวประมาณ 8 ถึง 15 เซนติเมตร รากมีลักษณะคล้ายกระสวย พบดอกบริเวณซอกใบ แต่ละซอกใบจะออกดอกครั้งละ 1 ดอก ลักษณะดอกประกอบด้วยกลีบเลี้ยง และกลีบดอกที่มีสีเหลืองครีม มีก้านดอกยาว ลักษณะฝักมีสีเขียวถึงเขียวอ่อน สุภาณี และคณะ (2546) ทำการศึกษาหนอนตายหยากจาก 3 พื้นที่ โดยเก็บตัวอย่างจาก อำเภอด่านขุนทด จังหวัดนครราชสีมา อำเภอกูเวียง จังหวัดขอนแก่น และ อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น พบว่า หนอนตายหยากที่เก็บจากอำเภอด่านขุนทด จังหวัดนครราชสีมา มีรากขนาดใหญ่ ใบหนาและใหญ่ โคนใบเว้าเล็กน้อย ส่วนกลีบดอกมีสีที่แตกต่างออกไป โดยชั้นนอกมีสีขาว ชั้นในเป็นสีม่วง ซึ่งได้รับการยืนยันจากนักพฤกษศาสตร์ว่าเป็น *S. collinsae* แสดงให้เห็นว่าสภาพภูมิประเทศของ แต่ละพื้นที่จะส่งผลให้มีความแตกต่างกันทางด้านสัณฐานวิทยา เช่น ขนาดราก รูปร่างดอก สีดอก และลักษณะใบ



(A)



(B)



(C)



(D)

ภาพที่ 28 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ *S. collinsae* (A) ลักษณะลำต้น (B) ลักษณะราก (C) ลักษณะดอก และ (D) ลักษณะใบ

2. ปริมาณและลักษณะของสารสกัดหยาบจากรากหนอนตายหยาก

การสกัดสารออกฤทธิ์จากรากหนอนตายหยากสกัดโดยวิธีการหมัก โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีระดับความเป็นขี้ต่างกัน จากต่ำไปสูง ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล ได้ปริมาณสารสกัดหยาบ 18.18 34.9 และ 156.33 กรัม คิดเป็นร้อยละ 0.35 0.63 และ 9.27 ของน้ำหนักหนอนตายหยากแห้ง ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ปริมาณสารสกัดหยาบจากรากหนอนตายหยากและลักษณะสารสกัด

สารสกัดหยาบ	ปริมาณสารสกัด (%w/w)	ลักษณะทางกายภาพ
เฮกเซน	0.35	น้ำมันสีน้ำตาลเหลือง
ไดคลอโรมีเทน	0.63	ผลึกสีน้ำตาล
เมทานอล	9.27	สารเหนียวสีน้ำตาลดำ

ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบเฮกเซนมีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลืองน้ำตาล สารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทนมีลักษณะเป็นผลึกสีน้ำตาล และสารสกัดหยาบเมทานอลมีลักษณะเป็นสารเหนียวสีน้ำตาลดำ (ภาพที่ 29) โดยสารสกัดเฮกเซนให้ปริมาณสารสกัดหยาบน้อยที่สุด เนื่องจากบริเวณส่วนรากมีน้ำมันอยู่ปริมาณน้อย รองลงมาคือสารสกัดไดคลอโรมีเทน ส่วนสารสกัดเมทานอลให้ปริมาณสารมากที่สุด เนื่องจากรากเป็นแหล่งสะสมอาหารของพืช มีน้ำตาลและแป้งเป็นองค์ประกอบ แสดงให้เห็นว่าสารที่อยู่ในหนอนตายหยากส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มที่มีขี้

จากผลที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของณัฐกานต์ (2552) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากรากหนอนตายหยากต่อหนอนกระทู้หอมวัย 2 ด้วยวิธีการสกัดอย่างต่อเนื่องด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล พบว่าได้ปริมาณสารสกัดหยาบคิดเป็นร้อยละ 0.21 0.74 และ 1.43 ของน้ำหนักหนอนตายหยากแห้งตามลำดับ ในการสกัดสารออกฤทธิ์จากหนอนตายหยาก ได้ปริมาณสารสกัดที่แตกต่างกัน อาจเนื่องมาจาก องค์ประกอบของหนอนตายหยาก แหล่งการเจริญเติบโต ชนิดตัวทำละลาย อุณหภูมิ และวิธีการที่ใช้สกัด



ภาพที่ 29 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดรากหนอนตายหยาก

3. การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากรากหนอนตายหยากต่อหนอนใยผัก

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากรากหนอนตายหยาก ได้แก่ สารสกัดหยาบเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อหนอนใยผักวัย 3 โดยวิธี leaf dipping ได้ผลดังนี้

3.1 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบเฮกเซน

ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบเฮกเซนต่อหนอนใยผัก วัย 3 ด้วยวิธี leaf dipping ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ตามลำดับ พบหนอนใยผักตาย 28.9 ± 2.1 48.9 ± 0.6 63.3 ± 2.7 และ 70.0 ± 1.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนกลุ่มควบคุมพบว่าไม่มีการตายของหนอนเกิดขึ้น ที่เวลา 24 ชั่วโมง โดยเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อวิเคราะห์อัตราการตาย (mortality) และนำมาคำนวณค่า LC_{50} โดยวิธี Probit analysis พบว่า สารสกัดหยาบเฮกเซน มีค่า LC_{50} เท่ากับ 11,476.26 พีพีเอ็ม (ตารางที่ 6)

3.2 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบไคคโลโรมีเทน

ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบไคคโลโรมีเทนต่อหนอนใยผัก วัย 3 ด้วยวิธี leaf dipping ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ตามลำดับ พบหนอนใยผักตาย 43.3 ± 2.0 68.9 ± 1.2 87.8 ± 0.6 และ 91.1 ± 0.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนกลุ่มควบคุมพบว่าไม่มีการตายของหนอนเกิดขึ้น ที่เวลา 24 ชั่วโมง โดยเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อวิเคราะห์อัตราการตายและนำมาคำนวณค่า LC_{50} โดยวิธี Probit analysis พบว่า สารสกัดหยาบไคคโลโรมีเทนมีค่า LC_{50} เท่ากับ 5,927.34 พีพีเอ็ม (ตารางที่ 6)

3.3 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบเมทานอล

ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบเมทานอลต่อหนอนใยผัก วัย 3 ด้วยวิธี leaf dipping ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ตามลำดับ พบหนอนใยผักตาย 37.8 ± 1.2 66.7 ± 2.0 78.9 ± 0.6 และ 85.6 ± 1.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนกลุ่มควบคุมพบว่าไม่มีการตายของหนอนเกิดขึ้น ที่เวลา 24 ชั่วโมง โดยเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อวิเคราะห์อัตราการตายและนำมาคำนวณค่า LC_{50} โดยวิธี Probit analysis พบว่า สารสกัดหยาบเมทานอล มีค่า LC_{50} เท่ากับ 7,053.67 พีพีเอ็ม (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบเฮกเซน ไคคโลโรมีเทน และเมทานอล ต่อหนอนใยผัก
วัย 3 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ทดสอบโดยวิธี leaf dipping ที่เวลา 24 ชั่วโมง

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (%w/v)	เปอร์เซ็นต์การตาย (mean $\pm$ S.D.)	LC ₅₀ (พีพีเอ็ม)
เฮกเซน	Control	0.0 $\pm$ 0.0 ^{aL}	11,476.26
	0.5	28.9 $\pm$ 2.1 ^b	
	1.0	48.9 $\pm$ 0.6 ^c	
	1.5	63.3 $\pm$ 2.7 ^d	
	2.0	70.0 $\pm$ 1.7 ^e	
ไคคโลโรมีเทน	Control	0.0 $\pm$ 0.0 ^{aL}	5,927.34
	0.5	43.3 $\pm$ 2.0 ^b	
	1.0	68.9 $\pm$ 1.2 ^c	
	1.5	87.8 $\pm$ 0.6 ^d	
	2.0	91.1 $\pm$ 0.6 ^e	
เมทานอล	Control	0.0 $\pm$ 0.0 ^{aL}	7,053.67
	0.5	37.8 $\pm$ 1.2 ^b	
	1.0	66.7 $\pm$ 2.0 ^c	
	1.5	78.9 $\pm$ 0.6 ^d	
	2.0	85.6 $\pm$ 1.2 ^e	

^L ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

จากการสังเกตพฤติกรรมของหนอนใยผัก ในช่วงทดสอบ พบว่า กลุ่มควบคุม หนอน
กินใบคะน้าจนเป็นรูพรุนทั่วทั้งใบ พื้นที่การกินใบคะน้าของกลุ่มควบคุมมีพื้นที่มากกว่าของกลุ่ม
ทดลองซึ่งยังมีพื้นที่ของใบคะน้าเหลืออยู่หลังจากการกินของหนอน (ภาพผนวกที่ 1) หนอนมีการ
เคลื่อนที่ตลอดเวลา มีขนาดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย หนอนจะมีการขับของเสียออกมาเป็นสีเขียวปนด้วยน้ำ
กระจายอยู่ทั่วไป แต่ไม่มีการตายเกิดขึ้น (ภาพผนวกที่ 2) แสดงว่า กลุ่มควบคุมไม่มีความเป็นพิษใด
ๆ ต่อหนอนใยผักเลย ต่างจากกลุ่มทดลองอื่น ๆ ในทุกความเข้มข้น ซึ่งหนอนกินใบคะน้าน้อยกว่า
กลุ่มควบคุมเล็กน้อย หนอนมีการเคลื่อนไหวน้อยลง ลำตัวค่อย ๆ ขดงอ แล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล

และตายในที่สุด (ภาพผนวกที่ ก3) แสดงว่าเมื่อหนอนกินสารสกัดหนอนตายหยากเข้าไป พืชของสารจะส่งผลต่อระบบทางเดินอาหารและสรีรวิทยาของหนอนใยผัก โดยเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนจะมีแนวโน้มสูงขึ้นตามปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดหยาก แสดงว่า สารสกัดหนอนตายหยากจะมีความเป็นพิษสูงขึ้นได้ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดหยากให้สูงขึ้น โดยที่สารสกัดไคคโลโรมีเทน มีความเป็นพิษมากกว่าสารชนิดอื่น ๆ ซึ่งให้เปอร์เซ็นต์การตายสูงสุด ที่ระดับความเข้มข้นเท่า ๆ กัน

3.4 การเปรียบเทียบความเป็นพิษของสารสกัดหยากหนอนตายหยาก

จากการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาก เฮกเซน ไคคโลโรมีเทน และ เมทานอลของรากหนอนตายหยากต่อหนอนใยผัก โดยวิธี leaf dipping ที่เวลา 24 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดหยากทั้ง 3 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน มีผลต่ออัตราการตายของหนอนใยผักวัย 3 แตกกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยการตายแปรผันตามความเข้มข้น สารสกัดหยากไคคโลโรมีเทนที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (w/v) แสดงความเป็นพิษสูงสุด มีเปอร์เซ็นต์การตาย 91.1 ± 0.6 รองลงมาคือ สารสกัดหยาก เมทานอล และ เฮกเซน มีเปอร์เซ็นต์การตาย 85.6 ± 0.6 และ 70.0 ± 1.7 ตามลำดับ (ตารางที่ 6) แสดงว่าสารออกฤทธิ์ที่มีผลต่อการตายหนอนใยผักน่าจะมีหลายสารตามข้อสรุป

การเปรียบเทียบความเป็นพิษของสารสกัดหยากทั้ง 3 ชนิด จากค่า LC_{50} ที่เวลา 24 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดไคคโลโรมีเทนมีความเป็นพิษต่อหนอนใยผักสูงสุด มีค่า LC_{50} เท่ากับ 5,927.34 พีพีเอ็ม รองลงมาคือ สารสกัดหยากเมทานอล และสารสกัดหยากเฮกเซน มีค่า LC_{50} เท่ากับ 7,053.67 และ 11,476.26 พีพีเอ็ม ตามลำดับ (ตารางที่ 6 และ ตารางผนวกที่ ก1) ดังนั้นจึงนำสารสกัดหยากไคคโลโรมีเทนไปแยกให้บริสุทธิ์ และศึกษาโครงสร้างสารออกฤทธิ์ในลำดับขั้นตอนถัดไป จากผลการศึกษาที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Tikum *et al.* (2008) พบว่าสารสกัดหยากไคคโลโรมีเทนจากรากหนอนตายหยาก *S. burkillii* เก็บตัวอย่างจาก จ.น่าน มีประสิทธิภาพสูงกว่าสารสกัดหยากเฮกเซน และเมทานอล ในการควบคุมหนอนกระทู้หอมและหนอนกระทู้ผัก วัย 2 โดยวิธี leaf dipping ค่า LC_{50} เท่ากับ 6,204 และ 9,589 พีพีเอ็ม ตามลำดับ ที่ 24 ชั่วโมง เช่นเดียวกับ วาสนา และคณะ (2545) ทำการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดรากหนอนตายหยาก เก็บตัวอย่างจาก จ.นครราชสีมา ต่อหนอนกระทู้ผัก วัย 2 โดยวิธี leaf dipping พบว่า สารสกัดด้วยไคคโลโรมีเทน มีความเป็นพิษสูงสุดต่อหนอนกระทู้ผัก โดยมีอัตราการตาย 46 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 40,000 พีพีเอ็ม รองลงมาคือ เมทานอล และเฮกเซน มีอัตราการตาย 24 และ 22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ภายใน 48 ชั่วโมง ในขณะที่ Jiyavorrannant (2001) ได้ทำการศึกษา หนอนตายหยาก *S. tuberosa* Lour. สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน พบว่า ที่เวลา 24 ชั่วโมง ทำให้หนอนใยผักตาย 62.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะเห็นว่าประสิทธิภาพของสารสกัดจากหนอนตายหยากมีความแปรผันตามสปีชีส์ ตัวทำละลาย และวิธีการสกัด เป็นต้น

4. การแยกสารสกัดหยาบหนอนตายหยากให้บริสุทธิ์บางส่วน และการทดสอบความเป็นพิษต่อหนอนใยผัก

จากการศึกษา การแยกสารสกัดหยาบหนอนตายหยากให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วยเทคนิค คอลัมน์ โครโมโตกราฟี และ การทดสอบความเป็นพิษต่อหนอนใยผักวัย 3 โดยวิธี leaf dipping ได้ผลดังต่อไปนี้

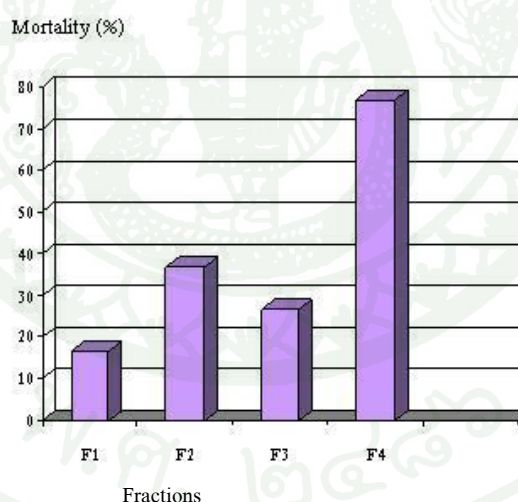
4.1 การแยกสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน (10 กรัม) ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี

ชะด้วยระบบตัวทำละลายตามตารางที่ 4 เก็บ fraction ละ 50 มิลลิลิตร นำ fractions ที่มีองค์ประกอบใกล้เคียงกันรวมกันได้ ทั้งหมด 4 fractions คือ F1-F4 ได้ปริมาณ 0.2140 1.4935 1.0168 และ 6.7111 กรัม ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละ 2.14 14.94 10.17 และ 67.11 ของน้ำหนักสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน ตามลำดับ การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหนอนตายหยากที่แยกได้แต่ละ fraction ต่อหนอนใยผักวัย 3 โดยวิธี leaf dipping ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) พบว่า fraction F4 มีผลทำให้หนอนใยผักตายแตกต่างจาก fraction F1-F3 และชุดควบคุม ที่เวลา 24 ชั่วโมง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่ fraction F1-F3 ก็มีความแตกต่างจากชุดควบคุมด้วยเช่นกัน โดย fraction F4 มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักสูงสุด 76.7 ± 2.0 เปอร์เซ็นต์ ส่วน fraction F1-F3 มีผลทำให้หนอนใยผักตาย 23.3 ± 0.6 33.3 ± 1.5 และ 20.0 ± 0.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 7) ความเป็นพิษของแต่ละ fraction แสดงให้เห็นแนวโน้มของอัตราการตายของหนอนใยผัก ดังภาพที่ 30

ตารางที่ 7 ปริมาณ fraction F1-F4 และความเป็นพิษต่อหนอนใยผัก ทดสอบโดยวิธี leaf dipping ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ที่เวลา 24 ชั่วโมง

Fractions	ปริมาณ fraction		เปอร์เซ็นต์การตาย (mean $\pm$ S.D.)
	(กรัม)	(%w/w)	
Control	-	-	0.0 $\pm$ 0.0 ^a
F1	0.2140	2.14	23.3 $\pm$ 0.6 ^b
F2	1.4935	14.94	33.3 $\pm$ 1.5 ^b
F3	1.0168	10.17	20.0 $\pm$ 0.6 ^b
F4	6.7110	67.11	76.7 $\pm$ 2.0 ^c

^a ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT



ภาพที่ 30 ความเป็นพิษของ fraction F1-F4 ต่อหนอนใยผัก ที่เวลา 24 ชั่วโมง ทดสอบโดยวิธี leaf dipping ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v)

จากการสังเกตพฤติกรรมของหนอนใยผัก พบว่า กลุ่มควบคุม หนอนมีการกินใบคะน้า อยู่ตลอดเวลา ใบคะน้าถูกเจาะเป็นรูพรุนทั่วทั้งใบ ส่วน F1-F4 พบพื้นที่การเจาะกินใบคะน้าน้อยกว่า กลุ่มควบคุม โดย F4 ใบคะน้าถูกเจาะเพียงเล็กน้อย แสดงว่าหนอนกินใบคะน้าน้อยกว่า F1-F3 (ภาพ

ผนวกที่ ค4) ลักษณะกลุ่มควบคุม หนอนมีขนาดลำตัวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย มีการเคลื่อนไหวตลอดเวลา และไม่พบการตายของหนอน (ภาพผนวกที่ ค5) ส่วน F1-F4 หลังจากการกินใบคะน้า หนอนเริ่มมีการเคลื่อนไหวน้อยลง ลำตัวค่อย ๆ ขดงอ แล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล จากนั้นหนอนจะตายโดยลักษณะการตาย ลำตัวมีสีดำ แห้ง และลีบแบน (ภาพผนวกที่ ค6) F4 มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักสูงสุด แต่มีพื้นที่ใบที่ถูกหนอนกินน้อยที่สุด อาจเกิดจาก หนอนได้รับสารที่มีผลต่อการยับยั้งการกินอาหารเข้าไป ทำให้หนอนเริ่มหยุดกินอาหาร จนขาดอาหารตายไปในที่สุด จากผลการทดลองที่ได้จึงนำสาร F4 ไปแยกต่อและทำให้บริสุทธิ์

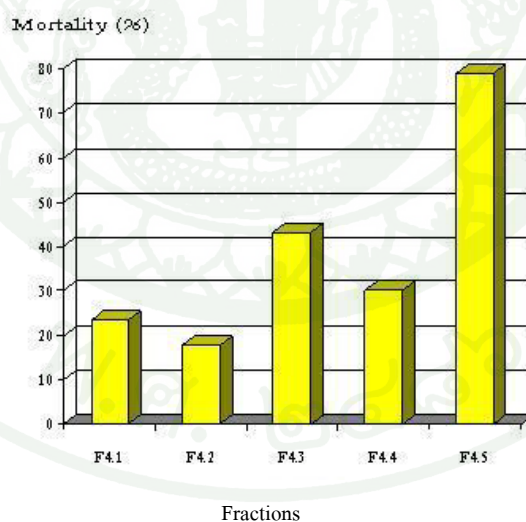
4.2 การแยก fraction F4 (5 กรัม) ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี

ชะด้วยระบบตัวทำละลายตามตารางที่ 4 เก็บ fraction ละ 20 มิลลิลิตร นำ fractions ที่มีองค์ประกอบใกล้เคียงกันรวมกันได้ทั้งหมด 5 fractions คือ F4.1 (เอทิลอะซิเตต 100 เปอร์เซ็นต์) F4.2 (เอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล 95:5) F4.3 (เอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล 90:10) F4.4 (เอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล 80:20) F4.5 (เอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล 70:30) F4.1-F4.5 ได้ปริมาณ 0.8002 0.1505 2.0536 0.7160 และ 0.7533 กรัม ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละ 17.90 3.36 45.93 16.01 และ 16.80 ของน้ำหนักสาร fraction F4 ตามลำดับ การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหนอนตายหายากที่แยกได้แต่ละ fraction ต่อหนอนใยผักวัย 3 โดยวิธี leaf dipping ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) พบว่า fraction F4.5 มีผลทำให้หนอนใยผักตายแตกต่างจาก fraction F4.1-F4.4 และชุดควบคุม ที่เวลา 24 ชั่วโมง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่ fraction F4.1-F4.4 ก็มีความแตกต่างจากชุดควบคุมด้วยเช่นกัน โดย fraction F4.5 มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักสูงสุด 78.9 ± 2.0 เปอร์เซ็นต์ ส่วน fraction F4.1-F4.4 มีผลทำให้หนอนใยผักตาย 23.3 ± 1.2 17.8 ± 1.2 58.9 ± 0.6 และ 30.0 ± 1.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยเปอร์เซ็นต์การตายของ fraction F4.1 F4.2 และ F4.4 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 8) ความเป็นพิษของแต่ละ fraction แสดงให้เห็นแนวโน้มของอัตราการตายของหนอนใยผัก ดังภาพที่ 31

ตารางที่ 8 ปริมาณ fraction F4.1-F4.5 และความเป็นพิษต่อหนอนใยผัก ทดสอบโดยวิธี leaf dipping ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ที่เวลา 24 ชั่วโมง

Fractions	ปริมาณ fraction		เปอร์เซ็นต์การตาย (mean $\pm$ S.D.)
	(กรัม)	(%w/w)	
Control	-	-	0.0 $\pm$ 0.0 ^{al}
F4.1	0.8002	17.90	23.3 $\pm$ 1.2 ^b
F4.2	0.1505	3.36	17.8 $\pm$ 1.2 ^b
F4.3	2.0536	45.93	58.9 $\pm$ 0.6 ^c
F4.4	0.7160	16.01	30.0 $\pm$ 1.7 ^b
F4.5	0.7533	16.80	78.9 $\pm$ 2.0 ^d

^{al} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT



ภาพที่ 31 ความเป็นพิษของ fraction F4.1-F4.5 ต่อหนอนใยผัก ที่เวลา 24 ชั่วโมง ทดสอบโดยวิธี leaf dipping ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v)

จากการสังเกตพฤติกรรมของหนอนใยผัก พบว่า กลุ่มควบคุมหนอนมีการกินใบคะน้าอยู่ตลอดเวลา ใบคะน้าถูกเจาะเป็นรูพรุนทั่วทั้งใบ ส่วนในทุกกลุ่มทดลอง F4.1-F4.5 หนอนกินใบคะน้าน้อยมาก ใบคะน้าถูกเจาะเพียงเล็กน้อย (ภาพผนวกที่ ค7) ลักษณะกลุ่มควบคุม หนอนมีขนาดลำตัวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย มีการเคลื่อนไหวตลอดเวลา และไม่พบการตายของหนอน (ภาพผนวกที่ ค8) ส่วน F4.1-F4.5 หลังจากการกินใบคะน้า หนอนเริ่มมีการเคลื่อนไหวน้อยลง ลำตัวค่อย ๆ ขดงอ แล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล จากนั้นหนอนจะตายโดยลักษณะการตาย ลำตัวมีสีดำ แห้ง และลีบแบน (ภาพผนวกที่ ค9) โดย F4.5 มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักสูงสุด แต่มีพื้นที่ใบที่ถูกหนอนกินน้อยที่สุด แสดงว่าหนอนได้รับสารที่มีผลต่อการยับยั้งการกินอาหารเข้าไป ทำให้หนอนเริ่มหยุดกินอาหาร จนขาดอาหารตายไปในที่สุด จากผลการทดลองที่ได้จึงนำสาร F4.5 ไปแยกต่อและทำให้บริสุทธิ์ยิ่งขึ้น

5. การแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography และ preparative thin layer chromatography (PTLC)

5.1 การแยกสาร fraction F4.5 (260 มิลลิกรัม) ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี

จะด้วยระบบตัวทำละลายตามตารางที่ 4 เก็บ fraction ละ 2 มิลลิลิตร นำ fractions ที่มีองค์ประกอบใกล้เคียงกันรวมกันได้ทั้งหมด 5 fractions คือ F4.5.1 (เอทิลอะซิเตต 100 เปอร์เซ็นต์) F4.5.2 (เอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล 90:10) F4.5.3 (เอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล 80:20) F4.5.4 (เอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล 75:25) F4.5.5 (เอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล 70:30) R_f เท่ากับ 0.86 0.82 0.66 0.68 และ 0.29 ตามลำดับ (ภาพผนวกที่ ง10) ได้ปริมาณ F4.5.1- F4.5.5 เท่ากับ 0.0010 0.0020 0.1113 0.0093 และ 0.0108 กรัม ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละ 0.74 1.49 82.81 6.92 และ 8.04 ของน้ำหนักสาร fraction F4.5 ตามลำดับ ผลการทดสอบความเป็นพิษของ F4.5.1- F4.5.5 ต่อหนอนใยผักวัย 3 โดยวิธี leaf dipping ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) พบว่า fraction F4.5.3 มีผลทำให้หนอนใยผักตายแตกต่างจาก fraction F4.5.1 F4.5.2 F4.5.4 F4.5.5 และกลุ่มควบคุม ที่เวลา 24 ชั่วโมง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่ fraction F4.5.1 F4.5.2 F4.5.4 และ F4.5.5 ก็มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมด้วยเช่นกัน โดย fraction F4.5.3 มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักสูงสุด 77.8 ± 0.6 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ fraction F4.5.4 มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผัก 57.8 ± 1.2 เปอร์เซ็นต์ ส่วน fraction F4.5.1 F4.5.2 และ F4.5.5 มีผลทำให้หนอนใยผักตาย 25.6 ± 0.6 42.2 ± 2.5 และ 26.7 ± 2.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยเปอร์เซ็นต์การตาย fraction F4.5.1 กับ F4.5.5

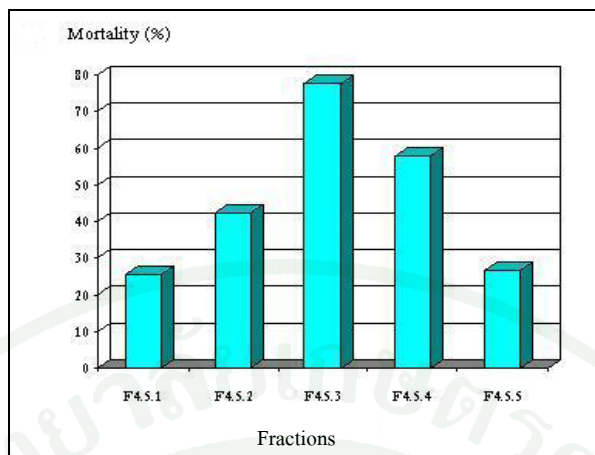
และ F4.5.2 กับ F4.5.4 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 9) ความเป็นพิษของ F4.5.1- F4.5.5 แสดงให้เห็นแนวโน้มของอัตราการตายของหนอนใยผัก ดังภาพที่ 32

จากการสังเกตพฤติกรรมของหนอนใยผัก พบว่า กลุ่มควบคุมหนอนมีการกินใบคะน้าอยู่ตลอดเวลา ใบคะน้าถูกเจาะเป็นรูพรุนทั่วทั้งใบ ส่วนในทุกกลุ่มทดลอง F4.5.1-F4.5.5 หนอนกินใบคะน้าน้อยมาก ใบคะน้าถูกเจาะเพียงเล็กน้อย (ภาพผนวกที่ ค10) ลักษณะกลุ่มควบคุม หนอนมีขนาดลำตัวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย มีการเคลื่อนไหวตลอดเวลา และไม่พบการตายของหนอน (ภาพผนวกที่ ค11) ส่วน F4.5.1-F4.5.5 หลังการกินใบคะน้า หนอนเริ่มมีการเคลื่อนไหวน้อยลง ลำตัวค่อย ๆ ขดงอ แล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล จากนั้นหนอนจะตายโดยลักษณะการตาย ลำตัวมีสีดำ แข็ง และลีบแบน (ภาพผนวกที่ ค12) โดย F4.5.3 มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักสูงสุด แต่มีพื้นที่ใบที่ถูกหนอนกินน้อยที่สุด แสดงว่าหนอนได้รับสารที่มีผลต่อการยับยั้งการกินอาหารเข้าไป ทำให้หนอนเริ่มหยุดกินอาหาร จนขาดอาหารตายไปในที่สุด

ตารางที่ 9 ปริมาณ fraction F4.5.1-F4.5.3 และความเป็นพิษต่อหนอนใยผัก ทดสอบโดยวิธี leaf dipping ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ที่เวลา 24 ชั่วโมง

Fractions	ปริมาณ fraction		เปอร์เซ็นต์การตาย (mean $\pm$ S.D.)
	(กรัม)	(%w/w)	
Control	-	-	0.0 $\pm$ 0.0 ^{aL}
F4.5.1	0.001	0.74	25.6 $\pm$ 0.6 ^b
F4.5.2	0.002	1.49	42.2 $\pm$ 2.5 ^c
F4.5.3	0.1113	82.81	77.8 $\pm$ 0.6 ^d
F4.5.4	0.0093	6.92	57.8 $\pm$ 1.2 ^c
F4.5.5	0.0108	8.04	26.7 $\pm$ 2.0 ^b

^L ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT



ภาพที่ 32 ความเป็นพิษของ fraction F4.5.1-F4.5.5 ต่อหนอนใยผัก ที่เวลา 24 ชั่วโมง ทดสอบโดยวิธี leaf dipping ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v)

นำ fraction F4.5.3 และ F4.5.4 มาแยกให้บริสุทธิ์ยิ่งขึ้นด้วย PTLC ใช้เอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล (80:20) เป็นตัวทำละลายเคลื่อนที่ ได้สารจากนั้นนำไปวิเคราะห์สูตร โครงสร้างโดยเทคนิคทางสเปกโตรสโกปีต่อไป

6. การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารออกฤทธิ์โดยเทคนิคทางสเปกโตรสโกปี

6.1 การวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารออกฤทธิ์ F4.5.3 ประกอบด้วย Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (NMR) Gas Chromatograph/ Mass Spectrometer (GC-MS) และ Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR) ได้ข้อมูลดังต่อไปนี้

6.1.1 ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารออกฤทธิ์ โดย FT-IR ได้อินฟราเรดสเปกตรัม มี V_{max} : cm^{-1} 2948, 2925, 1755, 1617, 1183 และ 1003 (ภาพผนวกที่ ง1) ที่ความถี่ 2948 และ 2925 cm^{-1} จะมีแถบดูดกลืนรังสีของพันธะ C-H ของหมู่ CH_3 และ CH_2 ความถี่ 1755 มีแถบดูดกลืนรังสีของหมู่ C=O ของวงแหวนไครโตน ความถี่ 1617 cm^{-1} มีแถบดูดกลืนรังสีของหมู่ C=C คอนจูเกตกับหมู่ C=O กับวงแหวนไครโตน และ C=C ความถี่ 1183 และ 1003 cm^{-1} จะมีแถบดูดกลืนรังสีที่ซับซ้อน เกิดจากการสั่นแบบยืดและแบบงอของพันธะ C-N และ C-O ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 ค่าการดูดกลืนแสงจากอินฟราเรดสเปกตรัมของสารออกฤทธิ์

ความยาวคลื่นสูงสุด ($V_{\max}$: cm^{-1})	Signal
1003	C-O stretching of C-O
1183	C-N stretching of C-N
1617	C=C stretching of C=C
1755	C=O stretching of C=O
2925	C-H stretching of CH_2/CH
2948	C-H stretching of CH_3

6.1.2 ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารออกฤทธิ์ F4.5.3 โดย GC-MS พบว่า F4.5.3 มีค่า retention time (R_t) เท่ากับ 18.04 (ภาพผนวกที่ 2) แมสสเปกตรัม แสดง molecular ion peak ที่ m/z 385 แมสสเปกตรัมประกอบด้วยพีคสำคัญ 4 พีค คือ พีค molecular ion ที่ m/e 385 และ พีคของ fragment ions ที่ m/e 160 202 และ 230 (ภาพผนวกที่ 3) ขบวนการแตกหักที่สำคัญของ สารประกอบคีโตน ซึ่งจะให้เกิดการสูญเสียหมู่แอลคิลที่จับหมู่ C=O ได้ทั้งสองหมู่ พีคที่ m/e 160 เกิดจากการสูญเสียหมู่เมทิล และพีคที่ m/e 202 เกิดจากการสูญเสียหมู่แอลคิล

6.1.3 ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารออกฤทธิ์ โดย Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (NMR) โดย ^1H -NMR ความถี่ 400 MHz และ ^{13}C NMR ความถี่ 100 MHz ในสารละลาย CDCl_3 ได้ผลดังต่อไปนี้

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.14 (1H, br s, H-2), 4.11 (3H, s, H-22), 5.71 (2H, dt, $J=15.0$, H-19), 3.45 (1H, br s, H-9a), 2.96 (1H, m, H-5), 3.07 (1H, dq, m, H-10), 2.78 (1H, d, $J=5.8$ Hz, H-7), 2.07 (3H, s, Me-16), 1.86 (1H, $J=7.8$ Hz, H-1), 1.84 (1H, m, H-6), 1.84 (1H, m, H-9), 1.30 (3H, d, $J=6.55$ Hz, Me-17), 0.93 (3H, t, $J=7.44$ Hz, Me-21) (ตารางที่ 11 และ ภาพผนวกที่ 6)

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 169.57 (C, C-15), 162.71 (C, C-13), 148.28 (C, C-11), 128.2 (C, C-12), 112.60 (C, C-8), 98.22 (C, C-14), 82.90 (C-C-3), 80.46 (CH, C-2), 133.12 (CH, C-19), 60.47 (CH, C-9a), 58.73 (CH_3 , C-22), 50.97 (CH, C-7), 47.79 (CH_2 , C-5), 47.21 (CH, C-9), 126.05 (CH_2 , C-18), 34.39 (CH, C-10), 32.65 (CH_2 , C-1), 24.77 (CH_2 , C-20),

26.66 (CH₂, C-6), 18.11 (CH₃, C-17), 13.44 (CH₃, C-4'), 8.92 (CH₃, C-16), 13.33 (CH₃, C-21)
(ตารางที่ 11 และ ภาพผนวกที่ 7)

6.1.4 ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารออกฤทธิ์ F4.5.3 โดย LC-MS พบว่า F4.5.3 มีมวลที่ได้จากการทดสอบเท่ากับ 385.1889 ซึ่งมวลทางทฤษฎีเท่ากับ 385.1889 เช่นกัน สอดคล้องกับสูตรโมเลกุล C₂₂H₂₇O₅N

ตารางที่ 11 C¹³ NMR (100 MHz) และ ¹H-NMR (400 MHz) ของ F4.5.3 ใน CDCl₃

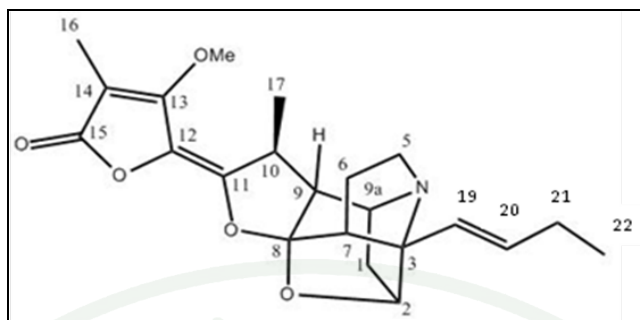
Data	Experiment		1',2'-(E)-Didehydrostemofoline ¹	
Position	δ(C) [ppm]	δ(H) [ppm]	δ(C) [ppm]	δ(H) [ppm]
1	32.65 (CH ₂)	1.86 (d, <i>J</i> =7.8)	32.9 (CH ₂)	1.95 (<i>d</i> , <i>J</i> =12.4) 1.79 (<i>dt</i> , <i>J</i> =12.4, 3.0)
2	80.46 (CH)	4.14 (br. s)	79.7 (CH)	4.21 (br. s)
3	82.90 (C)	-	83.1 (C)	-
5	47.79 (CH ₂)	2.96-2.89 (m)	48.0 (CH ₂)	3.10 (<i>ddd</i> , H _a , 13.2, 8.4, 4.8) 2.98 (<i>m</i> , H _b)
6	26.66 (CH ₂)	1.84-1.70 (m)	26.9 (CH ₂)	1.82 (<i>m</i>)
7	50.97 (CH)	2.78 (d, <i>J</i> =5.8)	51.2 (CH)	2.86 (<i>d</i>)
8	112.60 (C)	-	112.8 (C)	-
9	47.21 (CH)	1.84-1.70 (m)	47.6 (CH)	1.78 (<i>m</i>)
9a	60.47 (CH)	3.45 (br. s)	60.9 (CH)	3.51 (br. s)
10	34.39 (CH)	3.07-3.00 (m)	34.6 (CH)	3.10 (<i>m</i>)

ตารางที่ 11 (ต่อ)

Data	Experiment		1',2'-(<i>E</i>)-Didehydrostemofoline ^{1/}	
Position	δ(C) [ppm]	δ(H) [ppm]	δ(C) [ppm]	δ(H) [ppm]
11	148.28 (C)	-	148.4 (C)	-
12	128.2 (C)	-	128.0 (C)	-
13	162.71 (C)	-	162.8 (C)	-
14	98.22 (C)	-	98.6 (C)	-
15	169.57 (C)	-	169.7 (C)	-
16	8.92 (CH ₃)	2.07 (s)	9.2 (CH ₃)	2.07 (s)
17	18.11 (CH ₃)	1.30 (d, <i>J</i> =6.55)	18.3 (CH ₃)	1.37 (<i>d</i> , <i>J</i> =6.6)
18	126.05 (CH)	5.44 (dt, <i>J</i> =14.15)	126.5 (CH)	5.50 (<i>dt</i> , <i>J</i> =15.2, 1.3)
19	133.12 (CH)	5.71 (dt, <i>J</i> =15.0)	133.4 (CH)	5.78 (<i>dt</i> , <i>J</i> =15.2,6.3)
20	24.77 (CH ₂)	2.04-1.97 (m)	25.3 (CH ₂)	2.09 (<i>dqd</i> , <i>J</i> =15.2, 7.6, 1.3)
21	13.44 (CH ₃)	0.93 (t, <i>J</i> =7.44)	13.5 (CH ₃)	0.99 (<i>t</i> , <i>J</i> =7.6)
22	58.73 (CH ₃)	4.11 (s)	58.8 (CH ₃)	4.13 (s)

^{1/} Seger *et al.* (2004)

จากข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีของ FT-IR GC-MS และการเปรียบเทียบ NMR data ของ F4.5.3 กับ NMR data จากรายงานของ Jiwajinda *et al.* (2001); Brem *et al.* (2002); Seger *et al.* (2004) พบว่าเป็นสาร didehydrostemofoline (ภาพที่ 33) จัดอยู่ในกลุ่มโปรโตสตีโมนีนอัลคาลอยด์ (protostemonine-type alkaloids) (Greger, 2006)



ภาพที่ 33 โครงสร้างทางเคมีของสารออกฤทธิ์ F4.5.3

6.2 การวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารออกฤทธิ์ F4.5.4 โดย GC-MS

พบว่า F4.5.4 มีค่า R_f เท่ากับ 21.11 (ภาพผนวกที่ 4) แมสสเปกตรัม แสดง molecular ion peak ที่ m/z 385 แมสสเปกตรัมประกอบด้วยพีคสำคัญ 4 พีค คือ พีค molecular ion ที่ m/e 385 และ พีคของ fragment ions ที่ m/e 160 202 และ 230 (ภาพผนวกที่ 5) เช่นเดียวกับ F4.5.3 นอกจากนี้จากข้อมูลเชิงคุณภาพวิเคราะห์ของสารออกฤทธิ์ F4.5.3 และ F4.5.4 ด้วยเทคนิค HPLC ใช้คอลัมน์ Hypersil ODS และใช้เมทานอลต่อ 0.1 M NH_4CO_3 (60:40) เป็นตัวทำละลายเคลื่อนที่ (mobile phase) พบว่า สารทั้งสองมีค่า R_f ต่างกัน 0.38 นาที่ โดย F4.5.3 มีค่า R_f เท่ากับ 11.22 (ตารางที่ 12 และ ภาพผนวกที่ 8) ในขณะที่ F4.5.4 มีค่า R_f เท่ากับ 11.60 (ตารางที่ 12 และ ภาพผนวกที่ 9) จากข้อมูลพบว่า F4.5.4 และ F4.5.3 เป็นไอโซเมอร์กัน ซึ่ง F4.5.3 มีความเป็นพิษต่อหนอนใยผัก วัช 3 สูงกว่า F4.5.4

ตารางที่ 12 ค่า R_f และ R_t ของสารออกฤทธิ์ F4.5.3 และ F4.5.4

	F4.5.3	F4.5.4	สถานะที่ใช้ในการวิเคราะห์
R_f	0.66	0.68	TLC silica gel 60 F ₂₅₄ , EtOAc:MeOH (80:20)
R_t			
GC-MS	18.04	21.11	DB-5MS, 60 °C - 3 min, 20 °C/min - 280 °C (10 min)
HPLC	11.22	11.60	Hypersil ODS, MeOH : 0.1 M NH_4CO_3 (60:40)

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. จากการตรวจสอบสปีชีส์หนอนตายหายากที่เก็บมาจาก อ.วังทอง จ.พิษณุโลก โดยศูนย์ความหลากหลายพันธุกรรมพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จัดอยู่ในสปีชีส์ *S. collinsae*
2. สารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทนมีความเป็นพิษต่อหนอนใยฝักสูงสุด ค่า LC_{50} เท่ากับ 5,927.34 พีพีเอ็ม รองลงมาคือ สารสกัดหยาบเมทานอล และสารสกัดหยาบเฮกเซน ค่า LC_{50} เท่ากับ 7,053.67 และ 11,476.26 พีพีเอ็ม ตามลำดับ
3. การแยกสารออกฤทธิ์สูงสุดจากสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทนให้บริสุทธิ์ ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี และ preparative thin layer chromatography ได้สารออกฤทธิ์ 2 สาร (F4.5.3 และ F4.5.4) มีผลทำให้หนอนใยฝักตาย 77.78 ± 0.6 และ 57.78 ± 1.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ
4. การวิเคราะห์โครงสร้าง F4.5.3 โดย GC-MS ให้ molecular mass เท่ากับ 385 เมื่อประกอบข้อมูลจาก FT-IR และ NMR พบว่าเป็นสาร didehydrostemofoline จัดอยู่ในกลุ่มโปรโตสตีโมนีน อัลคาลอยด์ นอกจากนี้สารออกฤทธิ์ F4.5.4 เมื่อวิเคราะห์โดย GC-MS ให้ molecular mass เท่ากับ 385 เช่นเดียวกับ F4.5.3 แต่เมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วย HPLC พบว่า สารทั้งสองมีค่า R_t ต่างกัน ดังนั้น F4.5.4 และ F4.5.3 เป็นไอโซเมอร์กัน โดย F4.5.4 มีความเป็นพิษต่อหนอนใยฝักต่ำกว่า F4.5.3

ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจาก isomer (F4.5.4) ที่ได้มีปริมาณสารไม่เพียงพอ ในการวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค NMR LC-MS จึงควรมีการศึกษายืนยันโครงสร้างเพิ่มเติม เพื่อสามารถระบุโครงสร้างสารที่แน่นอนได้ เนื่องจากสารดังกล่าวมีความเป็นพิษต่อหนอนใยผักเช่นเดียวกัน และจะเป็นประโยชน์ในด้านวิชาการสารป้องกันกำจัดแมลงจากธรรมชาติและการประยุกต์ใช้

2. จากการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหนอนตายหยากต่อหนอนใยผัก มีการทดสอบโดยวิธี leaf dipping เพียงวิธีเดียว ควรศึกษาความเป็นพิษชนิดอื่น ๆ เพิ่มเติม เช่น พิษทางการสัมผัส เพื่อที่จะทราบถึงกลไกการออกฤทธิ์ของสารได้ชัดเจนยิ่งขึ้น เกษตรกรสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการกำจัดแมลงศัตรูพืชได้

3. จากการสังเกตผลการทดลอง พบว่า หนอนไม่มีการกินใบคะน้า จึงน่าจะมีการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการกินอาหารเพิ่มเติม

4. ประเทศไทยหนอนตายหยากมีมากกว่า 10 สปีชีส์ ซึ่งในแต่ละสปีชีส์จะมีชนิดและปริมาณสารออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน เนื่องมาจากปัจจัยต่าง ๆ เช่น แหล่งพื้นที่การเจริญเติบโต สภาพภูมิอากาศ ภูมิประเทศ ทำให้การที่จะระบุสารออกฤทธิ์เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานในการควบคุมสารสกัดจากหนอนตายหยากมีความยุ่งยากขึ้น ดังนั้นจึงต้องทราบสปีชีส์ที่จะนำมาใช้ นอกจากนี้ควรที่จะศึกษาหนอนตายหยากหลาย ๆ สปีชีส์ เพื่อเปรียบเทียบสารออกฤทธิ์ที่ดีที่สุด เพื่อใช้ในการคัดเลือกสปีชีส์ในการส่งเสริมและพัฒนาการขยายพันธุ์ อื่นๆ ปัจจุบันได้มีการนำหนอนตายหยากมาใช้ประโยชน์มากขึ้น ในทางการแพทย์ ทางเภสัชในการกำจัดแมลงศัตรูพืช ทำให้ต้นหนอนตายหยากเริ่มหายไปจากพื้นที่ป่า ดังนั้น จึงต้องคำนึงถึงแนวทางในการใช้ทรัพยากรธรรมชาติให้มีความยั่งยืนด้วย

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2549. การควบคุมแมลงศัตรูพืชผักโดยใช้สารสกัดจากพืชในธรรมชาติ.

ห้องสมุดความรู้การเกษตร. แหล่งที่มา: http://www.doae.go.th/LIBRARY/html/detail/ku magazine_43/suwnkuow/epds.htm, 19 มิถุนายน 2550.

กฤษณา ภูตคาม. 2525. รวบรวมรายงานการศึกษารากหนอนตายหายาก. **เชียงใหม่เภสัชสาร** 1(1): 28-34.

ขวัญชัย สมบัติศิริ. 2540. สะเดามีดีใหม่ของการป้องกันและกำจัดแมลง. สัมพันธ์พาณิชย์, กรุงเทพฯ.

จันทิมา แจ่มอรุณ. 2550. การใช้เชื้อราก่อโรครากับแมลงเพื่อควบคุมหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* Linnaeus) ในระยะไข่และตัวหนอน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ณัฐกานต์ ชีคำ. 2552. ศักยภาพของสารสกัดหนอนตายหายาก (*Stemona* sp.) ในการควบคุมหนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua* Hubner). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ดร.ณัฐกานต์ จันทยศ. 2544. ผลของสารสกัดจากหนอนตายหายาก (*Stemona tuberosa* Lour.) ต่อหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* L.) และหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litula* F.) ในห้องปฏิบัติการ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ทิตติยา จิตติहरรรษา และ ณรงค์ สามงามนี้. 2542. การศึกษาผลของสารสกัดหายากจากพืชบางชนิดต่อการตายและต่อพฤติกรรมการกินอาหารของเพลี้ยจักจั่นสีเขียว. น. 70-77. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 37. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เทพ เชียงทอง และ วิจิตร ภัคเกษม. 2517. สารประกอบบางอย่างที่มีในรากหนอนตายหายาก. น. 69-82. ใน รายงานผลการวิจัยประจำปี 2517. สภาวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

ธวัชชัย สุภดิษฐ์, วิโรจน์ กิตติคุณ, รุ่งจรัส หุตะเจริญ, สัตยชัย จตุรสิทธา และ สุทธาพันธ์ โพธิ์กำเนิด.

2545. การใช้รากสมุนไพรหนอนตายหายากผสมในอาหารและมูลไก่เพื่อควบคุมหนอน
แมลงวัน II. พัฒนาการของหนอนแมลงวัน. *แก่นเกษตร* 30(2): 137-145.

ปิยรัตน์ เขียนมีสุข, จาริ เกียรติสุพิมล, อนันต์ วัฒนธัญกรรม และ อวบ สารถ้อย. 2531. ตารางชีวิต
ของหนอนไผ่ฝัก. น. 611-644. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 6. กองกัญและ
สัตววิทยา. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

ปจาร์ีย์ อินทสุข. 2551. พืชสกุลหนอนตายหายาก (*Stemona* Lour.) บางชนิดในประเทศไทย.
วารสารข่าวศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง. 22(2): 20-23.

ศุสดี สายชนะพันธ์ และ พันธิ์ มะลิสุวรรณ. 2546. สมุนไพรกำจัดแมลงและศัตรูพืช.
สำนักพิมพ์ยูทิลิตี้, กรุงเทพฯ.

พรรณนิภา ชุมศรี. 2545. โครงการวิจัยปลูกและรวบรวมพันธุ์พืชสมุนไพร. คณะเภสัชศาสตร์
มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.

มณฑา วงศ์นิโรจน์, สุรัตน์ดี จิระจินดา, ศิริวรรณ บุรีคำ และ รรรอง หอมหวล. 2548. หนอนตาย
หายาก: พืชที่เรียกชื่อเหมือนกันแต่เป็นพืชต่างชนิดกัน. แหล่งที่มา: [http://clgc.rdi.ku.
ac.th/article/tissue/stemona/name/html](http://clgc.rdi.ku.ac.th/article/tissue/stemona/name/html), 10 มีนาคม 2551.

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 2528. ลักษณะวงศ์ของพืช. ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัช
คณะ แพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

มารศรี อุดมโชค. 2540. การเตรียมสารสกัดจากพืชเพื่อป้องกันกำจัดแมลง, น. 11-16. ใน อารยา
จาติเสถียร และ เรณู สุวรรณพรสกุล, ผู้รวบรวม. การพัฒนาสารสกัดจากธรรมชาติเพื่อ
ปราบแมลงศัตรูพืช. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

เมธี รุ่งโรจน์สกุล. 2544. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา จำนวนโครโมโซม และการขยายพันธุ์ของต้น
หนอนตายหายาก (*Stemona* spp.). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

- รักษ์เกียรติ จิรันธร. 2546. สมุนไพรควบคุมแมลงศัตรูพืช. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัย
สงขลานครินทร์. แหล่งที่มา: <http://pcog.pharmacy.psu.ac.th/thi/Article/2546/06-46/06-46.html>, 29 กรกฎาคม 2552.
- รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2547. การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. จุฬาลงกรณ์
มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- รัตนารักษ์ พรหมศรีธา. 2552. พืชที่มีแนวโน้มในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชและวิธีการสกัด.
น. 11-16. ใน การใช้สารสกัดจากพืชเพื่อควบคุมศัตรูพืช. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิต
ทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. (อัดสำเนา)
- รัตติยา นวลหล้า และ พัทยา สรวมศิริ. 2542. การคัดเลือกสมุนไพรป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ผัก.
วารสารเกษตร 15(2): 192-202.
- เลาจนา ชีรภัทรสกุล และ ประคอง พันธุ์ไธ. 2520. การศึกษาพิษของหนอนตายหยากที่มีผลต่อ
หนอนแมลงวันบ้าน. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 19(4): 217-226.
- วราภรณ์ แก้วคอน. 2546. ผลของสารสกัดจากรากหนอนตายหยากต่อเซลล์สายพันธุ์สัตว์และคน
และหนอนตัวกลม *Caenorhabditis elegans*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- วินัย รัชตปกรณ์ชัย. 2533. การใช้กับดักกาวเหนียวสีเหลืองจำนวนมากกับหนอนใยผัก. รายงานผล
การค้นคว้าวิจัยปี 2533. การกองกัญและสัตววิทยา. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- _____. 2534. การศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงบางชนิดในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก.
รายงานการค้นคว้าวิจัยปี 2534. การกองกัญและสัตววิทยา. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ. 2528. การศึกษาทางนิเวศวิทยาของหนอนใยผัก *Plutella xylostella* และศัตรู
ธรรมชาติในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วาสนา สอนเพ็ง, สุภาณี พิมพ์สมาน และ จันทนา อารมย์ดี. 2545. ฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัดจาก
หนอนตายหยาก (*Stemona tuberosa* Lour). วารสารวิจัย มข. 14(2): 112-122.

วาสนา ไชยคำ. 2545. ฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัดจากหนอนตายหยาก (*Stemona* sp.) และ
เถาวัลย์เปรียง (*Derris scandens* Benth.). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ศรีสุดา โททอง, ระพีพันธุ์ ภาสบุตร และ อนันต์ วัฒนธัญกรรม. 2530. การใช้กับดักแสงไฟเพื่อ
ป้องกันกำจัดหนอนใยผักแบบผสมผสาน. รายงานการค้นคว้าวิจัยปี 2530. การกองกัญและ
สัตววิทยา. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

สุภาณี พิมพ์สมาน รัตนภรณ์ พรหมศรีทธา และ สักวาฬ สมบูรณ์. 2546. สารสกัดจากรากหนอน
ตายหยาก (*Stemona* sp.) เพื่อการควบคุมแมลงศัตรูพืช. น. 22. ใน การประชุมวิชาการ
อารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 6. สมาคมอารักขาพืชแห่งประเทศไทย, ขอนแก่น.

สุภาณี พิมพ์สมาน, สักวาฬ สมบูรณ์ และ เบญจมาภรณ์ ฤทธิ์ไธสง. 2545. ความเป็นพิษและผลใน
การไล่ของน้ำมันหอมระเหยต่อด้วงงวงข้าวโพด. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 33(6): 295-
299.

สมจิตร พงษ์พจน์ และ สุภาพ ภูประเสริฐ. 2534. พืชกินได้และพืชมีพิษในป่าเมืองไทย.
โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น. 2552. แมลงศัตรูผักและการป้องกันกำจัด. ใน แมลง-สัตว์ศัตรูพืชและการ
ป้องกันกำจัด ครั้งที่ 14. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
(อัดสำเนา)

อัจฉรา ดันติโชค. 2538. การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยใช้แบคทีเรีย. วารสารกสิกร 68(6):
548-556.

อริยากรณ์ พงษ์รัตน์, กาญจนา รุ่งรักษานนท์, ศรีประไพ ธรรมแสง, วรงค์ นัยวินิจ, ภาคภูมิ สืบนุ
การณ, อารี วัฒนรัตน์ และ นิธิมา สุทธิพันธ์. 2547. การศึกษาการผลิต และขยายพันธุ์
หนอนตายหยาก . รายงานการวิจัย คณะเกษตรศาสตร์และคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัย
อุบลราชธานี , อุบลราชธานี.

Abbott, W.S. 1925. Method for computing the effectiveness of an insecticide. **J. Econ. Entomol.**
18: 265-267.

Brem, B., C. Seger, T. Pacher, O. Hofer, S. Vajrodaya and H. Greger. 2002. Feeding deterrence
and contact toxicity of *stemona* alkaloids a source of potent natural insecticides. **J. Agric.**
Food Chem. 50: 6383-6388.

Bullangpoti, V. 2007. **The Novel Botanical Insecticide, Alpha-Mangostin Mangosteen**
Pericarp Extracts, for Control of *Nilaparvata lugens* (Stal.). Ph. D. Thesis, Kasetsart
University.

Dadang. 1999. **Insect Regulatory Activity and Active Substances of Indonesian Plants**
Particularly to the Diamondback Moth. Ph.D. Thesis, Tokyo University of Agriculture.

Finney, D.J. 1971. **Probit analysis**. 3rd ed. Cambridge University Press, London.

Greger, H. 2006. Structure relationships, distribution and biological activities of *Stemona*
alkaloids. **Plant Medica** 72: 99-113.

Inthachub, P. 2008. **Taxonomic Revision on the Family Stemonaceae in Thailand**. M.S.
Thesis, Kasetsart University.

Isman, M.B. 2006. Botanical insecticide, deterrents, and repellents in modern agriculture and
increasing regulated world. **Ann. Rev Entomol.** 51: 45-66.

- Jiang, R.W., P.M. Hon, Y.T. Xu, Y.M. Chan, H.X. Xu, P.C. Shaw and P.H. But. 2002. Isolation and chemotaxonomic significance of tuberostemospironine-type alkaloids from *Stemona tuberosa*. **Phytochemistry** 67: 52-57.
- Jiyavorrnanant, T. 2001. **Insecticide from *Stemona tuberosa* Lour. and *Acorus calamus* Linn. and their residues after application**. M.S. Thesis, Chaing Mai University.
- Jiwajinda, S., N. Hirai, K. Watanabe, V. Santisopasri, N. Chauengsamarnyart, K. Koshimizu and H. Ohigashi. 2001. Occurrence of the insecticide 16, 17-didehydro-16(E)-stemofoline in *Stemona collinsae*. **Phytochemistry** 56: 693-695.
- Kaltenegger, E., B. Brem, K. Mereiter, H. Kalchhauser, H. Kahlig, O. Hofer, S. Vajrodayad and H. Gregera. 2003. Insecticidal pyrido[1,2-a]azepine alkaloids and related derivatives from *Stemona* species. **Phytochemistry** 63 :803-816.
- Khamis, A.K., M.R. Sarmidi, M.F. Mohamad and S. Ngadiran. 2002. Extraction of Bioflavonoids Rotenoids From *Derris elliptica*, pp. 210-213. In Mulla, S. **Proceedings International Conference on Biopesticides 3**. Compact Print, Thailand.
- Laohakunjit, N., O. Kerdchoechuen, K. Klymuk and P. Tripetch. 2007. Effectiveness of Limonoid Extracts from Mandarin seeds for Controlling Beet Army Worm. **J. Agr Sci.** 38(6): 66-69.
- Limtrakul, P., S. Siwanon, S. Yodkeeree and C. Duangrat. 2007. Effect of *Stemona curtisii* root extract on P-glycoprotein and MRP-1 function in multidrug-resistant cancer cells. **Phytochemistry**. 14: 381-389.
- Lin, X.Z., Yang, C.P. Tang, C.Q. Ke, J.B. Zhang and Y. Ye. 2007. Antibacterial stilbenoids from the roots of *Stemona tuberosa*. **Phytochemistry** 69: 457-463.
- Londershansen. 1991. Molecular action of Annonins pestic. **Sci.** 33: 427-428.

Maxwell, J. F. 1991. **Botanical Notes on the United State of America**. J.B. Lippincott Co., New York.

Mungkornasawakul, P., S. G. Pyne, A. Jatisatienr, D. Supyen, W. Lie., A. T. Ung., B. W. Skelton and A. H. White. 2004. Stemocurtisine, the first pyrido[1,2-*a*]azepine *Stemona* alkaloid. **J. Nat. Prod.** 66: 980-982.

Nakata, K., G.Aistrup, H. Honda, T.Shono and T. Narahashi. 1999. Modulation of the Nicotinic Acetylcholine Receptor by Dioscorine in Clonal Rat Phaeochromocytoma (PC12) Cells. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 64: 157-165.

Nigg, N.H. and D.Seigler. 1992. **Phytochemical resources for medicine and agriculture**. Plenum Press, New York.

Qin, Q.W. and R.S. Xu. 1996. **Recent advances on bioactive natural product from Chinese medical plants**. Special Issue. Harnesstingbiodiversity for therapeutic drugs and food: developing products for the 12st century, II, New Jusy, USA.

Rungrojsakul, M. 2001a. **Morphological Characteristic, Chromosome Number and Propagation of *Stemona* spp.** M.S. Thesis, Chiang Mai University. (in Thai) *Cited* Craib, W. G. 1920. **Contribution to the Flora of Siam Additament. Bulletin of Miscellaneous Informations**. Royal Botanic Garden Kew, London.

_____. 2001b. **Morphological Characteristic, Chromosome Number and Propagation of *Stemona* spp.** M.S. Thesis, Chiang Mai University. (in Thai) *Cited* Duyfjes, B.E.E. 1993. **Flora Malesiana**. Ser.I . Rijksherbarium/Hortus Botanicus, Leiden. 11: Uwin Ltd., London.

_____. 2001c. **Morphological Characteristic, Chromosome Number and Propagation of *Stemona* spp.** M.S. Thesis, Chiang Mai University. (in Thai) Cited Gagnepain, F. 1934. **Stemonacees (Roxburghiacees).** Flore Cenerale de L Indo-Chine. T. VI. Massin Et c^{ie}, Editeurs, Paris.

_____. 2001d. **Morphological Characteristic, Chromosome Number and Propagation of *Stemona* spp.** M.S. Thesis, Chiang Mai University. (in Thai) Cited Prain, D. 1905. Note on the Roxburghiaceae. **Journ. As. Soc. Beng.** 73: 39-44.

Salalamp, P. 1996. **Medical plants in Thailand volume 1.** Department of Phamaceutical Botany, Faculty of Phamacy, Mahidol University, Bangkok.

Sastraruji, T., A. Jatisatienr, S. G. Pyne, A.T. Ung, W. Lie and M. C. Williams. 2005. Phytochemical Studies on *Stemona* Plants: Isolation of Stemofoline Alkaloids. **J. Nat. Prod.** 68: 1763-1767.

Schinnerl, J., B. Brem, P. P.H. But, S. Vajrodaya, O. Hofer and H. Greger. 2007. Pyrrolo- and pyridoazepine alkaloids as chemical markers in *Stemona* species. **Phytochemistry** 68: 1417-1427.

Schmutter, H. 1992. **Neem: A tree for solving global problems.** Washington, D.C.: National Academic Press.

Seger, C., K. Mereiter, E. Kaltenegger, T. Pacher, H. Greger and O. Hofer. 2004. Two pyrrolo[1,2- α]azepine type alkaloids from *Stemona collinsae* Craib: structure elucidations, relationship to asparagamine A, and a new biogenetic concept of their formation. **Chemistry & biodiversity** 1: 265-279.

Thanapat, S. 2006. **Bioinsecticide production from stemona extract and its application in agricultural use.** Ph.D. Thesis, Chiang Mai University.

Tawatsin, A., U. Thavara, U. Chansang, P. Chavalittumrong, T. Boonruad, P. Wongsinkongman, J. Bansidhi, and M.S. Mulla. 2006. Field evaluation of Deet, Repel Care and three plant-based essential oil repellents against mosquitoes, black flies (Diptera: Simuliidae), and land leeches (Arhynchobdellida: Haemadipsidae) in Thailand. **J. Amer. Mosquito Control Associ.** 22: 306-313.

Tikum N., B. Pitiyont, K. Shimomura and K. Ohsawa. 2008. Insecticidal Activity and Chemical Compositions of *Stemona burkilli* against *Spodoptera exiqua* and *Spodoptera litura*, pp. 91. **In The ISSAAS International Congress 2008 (Agriculture for the 3 Es: Economy, Environment, and Energy)**. The International Society for Southeast Asia Agricultural Sciences in collaboration with Kasetsart University, Thailand.

Wongsatit, C. 2000. *Stemona hutanguriana* sp. Nov. (Stemonaceae) from Thailand. Kew Bulletin. 55: 997-980.

Ye, Y., G.W. Qin and R. S. Xu. 1994. Alkaloids of *Stemona tuberosa*. **Phytochemistry** 37: 1201-1203.





ตารางผนวกที่ ก1 ค่า LC_{50} ของสารสกัดหยาบ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล
ของรากหนอนตายหยาบต่อหนอนไผ่ฝัก ที่เวลา 24 ชั่วโมง

สารสกัดหยาบ	LC_{50} (พีพีเอ็ม)	95% Confidence Limits		Slope $\pm$ S.E.
		Lower	Upper	
เฮกเซน	11,476.26	0.94	1.33	0.0044 $\pm$ 0.168
ไดคลอโรมีเทน	5,927.34	0.36	0.75	0.0085 $\pm$ 0.175
เมทานอล	7,053.67	0.45	0.88	0.0071 $\pm$ 0.170



ภาคผนวก ข
เครื่องมือวิเคราะห์สารบริสุทธิ์



(A)



(B)



(C)

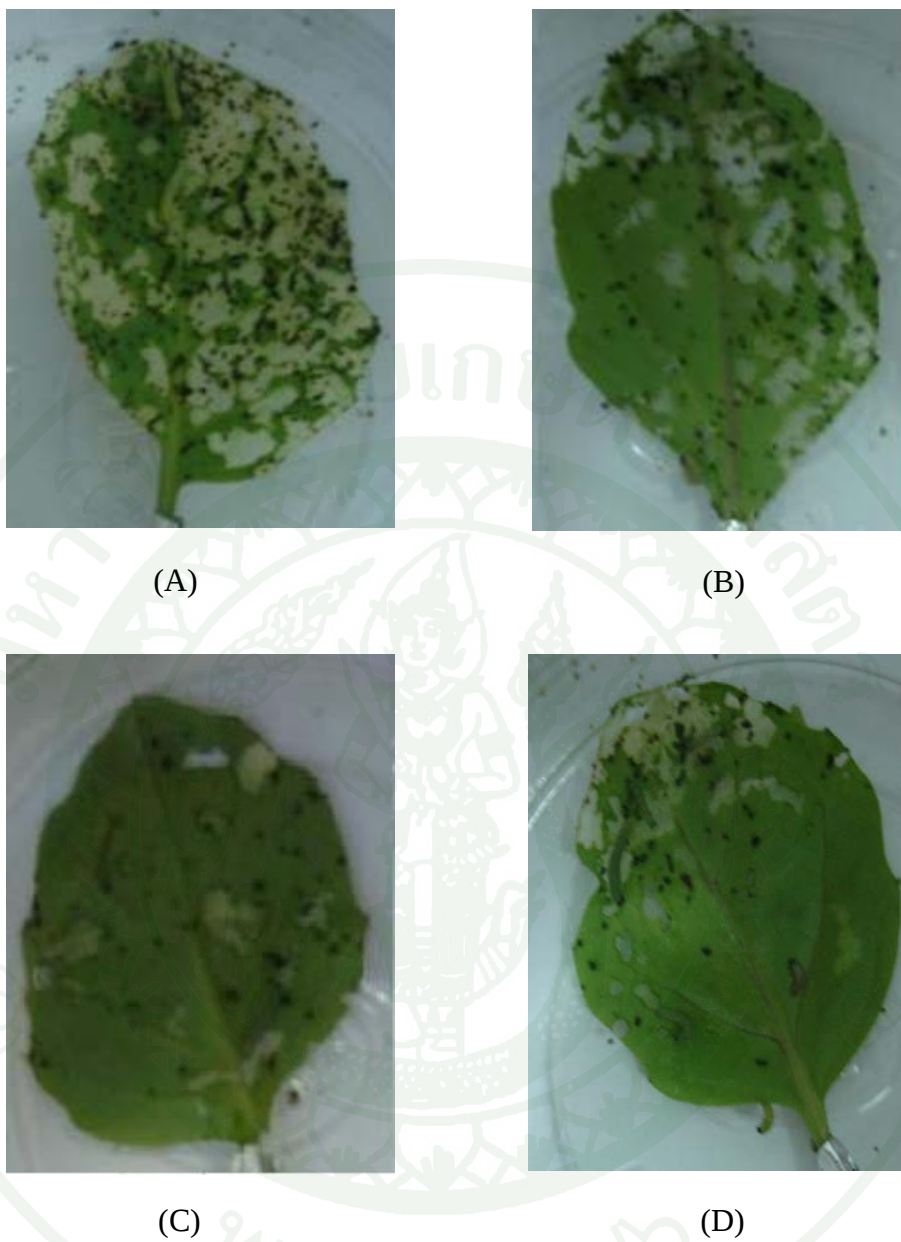
ภาพผนวกที่ ข1 เครื่องมือวิเคราะห์สารบริสุทธิ์

(A) Gas Chromatograph/Mass Spectrometer (GC/MS): Agilent รุ่น 6890N

(B) Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR): Bruker รุ่น vector 33

(C) Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer: (NMR): Bruker รุ่น DRX





ภาพผนวกที่ ค1 ลักษณะการกินใบคะน้าของหนอนใยผักที่เวลา 24 ชั่วโมง

(A) กลุ่มควบคุม

(B) กลุ่มทดลองในทุกความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเฮกเซน

(C) กลุ่มทดลองในทุกความเข้มข้นของสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน

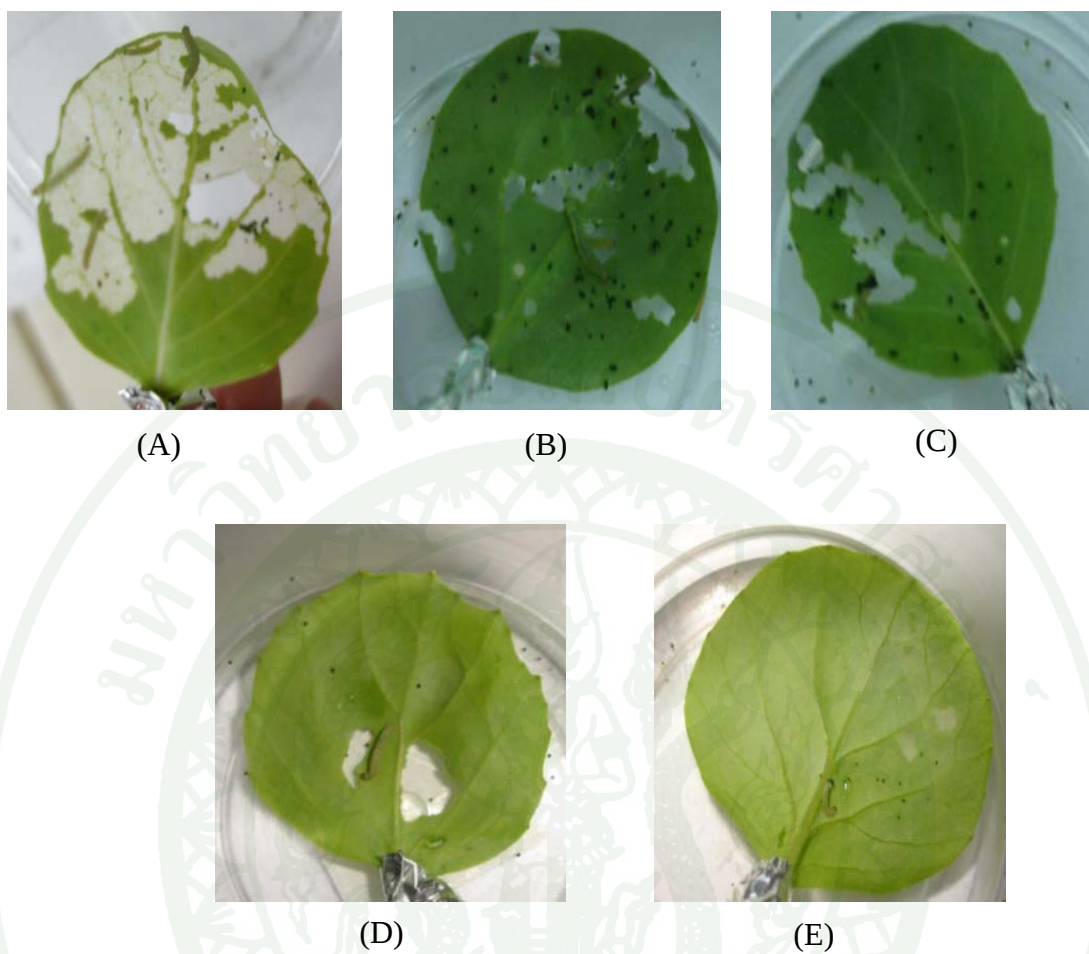
(D) กลุ่มทดลองในทุกความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเมทานอล



ภาพผนวกที่ ค2 ลักษณะหนอนใยผักกลุ่มควบคุม



ภาพผนวกที่ ค3 ลักษณะการตายของหนอนใยผักกลุ่มทดลอง ในทุกความเข้มข้นของสารสกัด
หยาบเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล



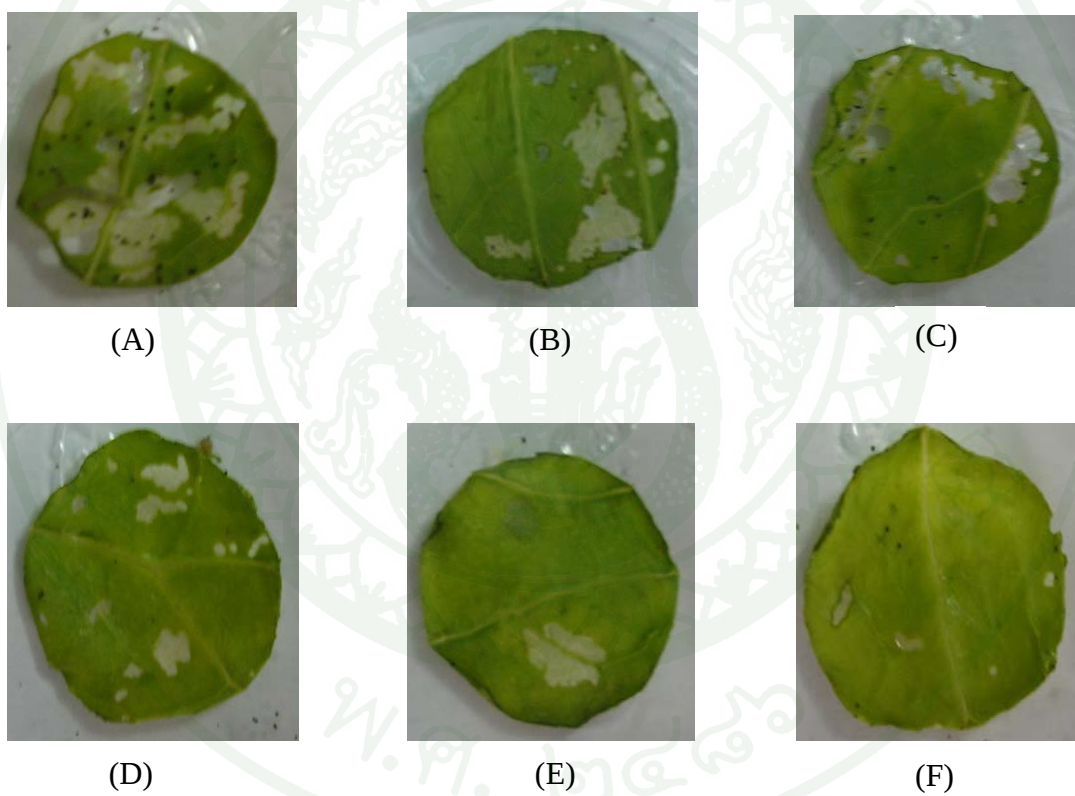
ภาพผนวกที่ ค4 ลักษณะการกินใบคะน้าของหนอนใยผักที่เวลา 24 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) (A) กลุ่มควบคุม (B) fraction F1 (C) fraction F2 (D) fraction F3 (E) fraction F4



ภาพผนวกที่ ค5 ลักษณะของหนอนใยผักกลุ่มควบคุม



ภาพผนวกที่ ๑๖ ลักษณะการตายของหนอนไหมฟักกลุ่มทดลอง



ภาพผนวกที่ ๑๗ ลักษณะการกินใบคะน้าของหนอนไหมฟักที่เวลา 24 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) (A) กลุ่มควบคุม (B) fraction F4.1 (C) fraction F4.2 (D) fraction F4.3 (E) fraction F4.4 (F) fraction F4.5



ภาพผนวกที่ ค8 ลักษณะของหนอนใยผักกลุ่มควบคุม



ภาพผนวกที่ ค9 ลักษณะการตายของหนอนใยผักกลุ่มทดลอง



(A)

(B)

(C)



(D)



(E)



(F)

ภาพผนวกที่ ค10 ลักษณะการกินใบคะน้าของหนอนใยผักที่เวลา 24 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) (A) กลุ่มควบคุม (B) fraction F4.5.1 (C) fraction F4.5.2 (D) fraction F4.5.3 (E) fraction F4.5.4 (F) fraction F4.5.5

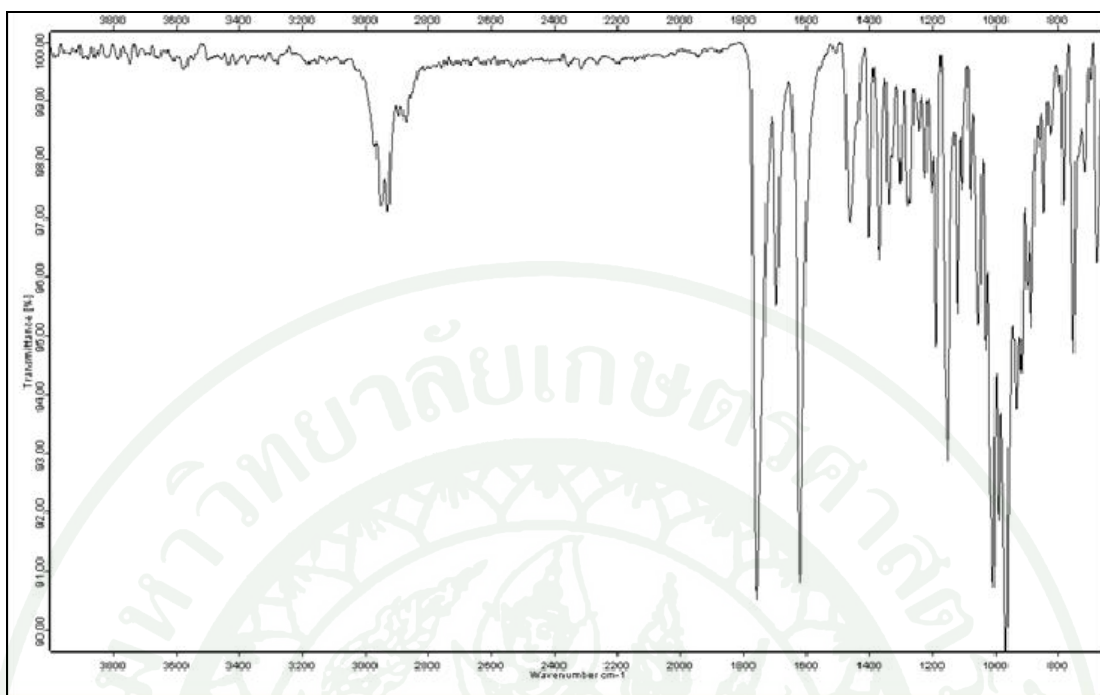


ภาพผนวกที่ ค11 ลักษณะของหนอนใยผักกลุ่มควบคุม

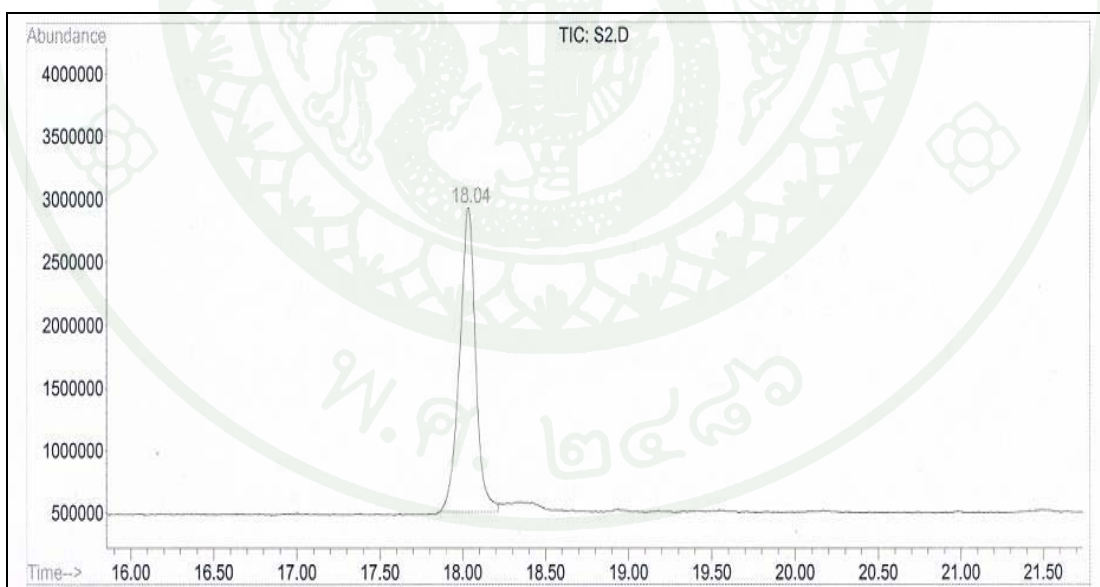


ภาพผนวกที่ ค12 ลักษณะการตายของหนอนใยผักกลุ่มทดลอง

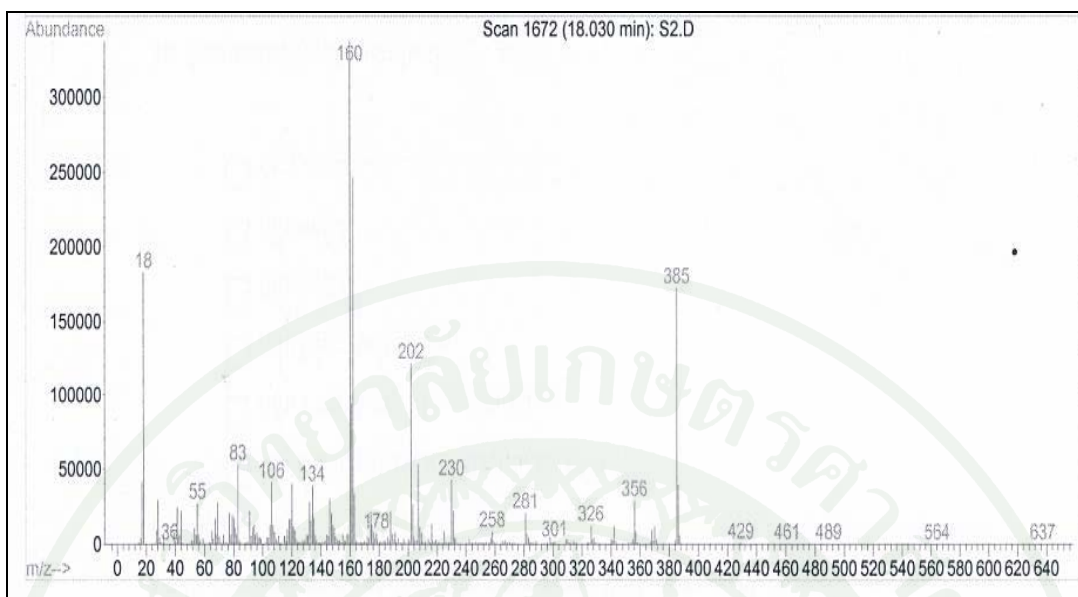




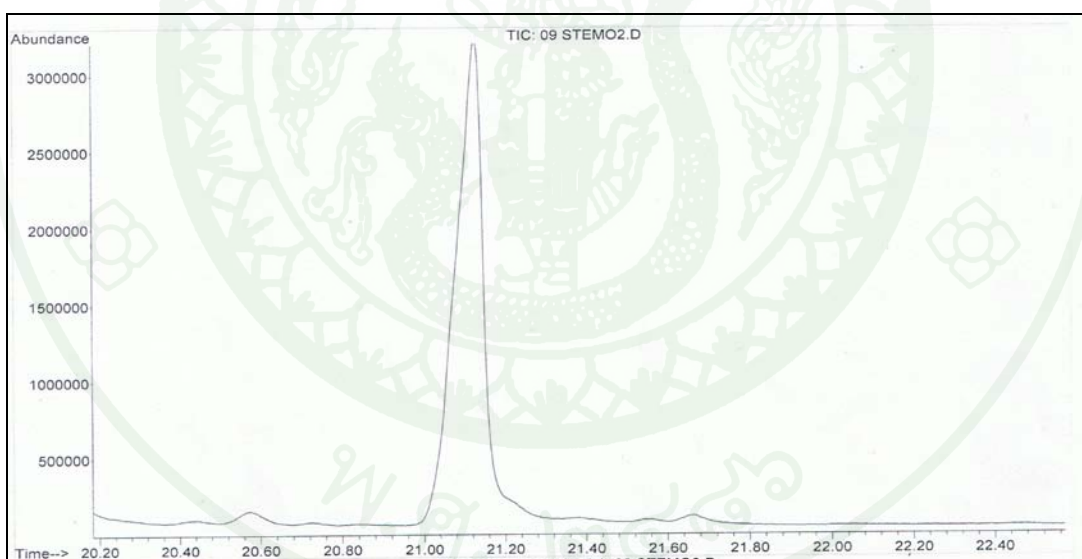
ภาพผนวกที่ ง1 อินฟราเรดสเปกตรัมของสารออกฤทธิ์ F4.5.3



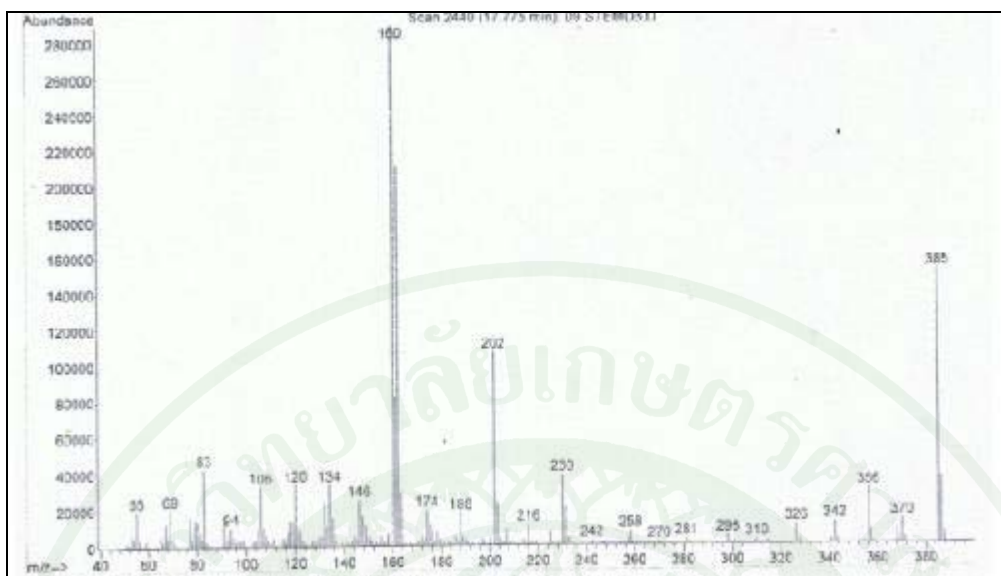
ภาพผนวกที่ ง2 โครมาโตแกรมของสารออกฤทธิ์ F4.5.3



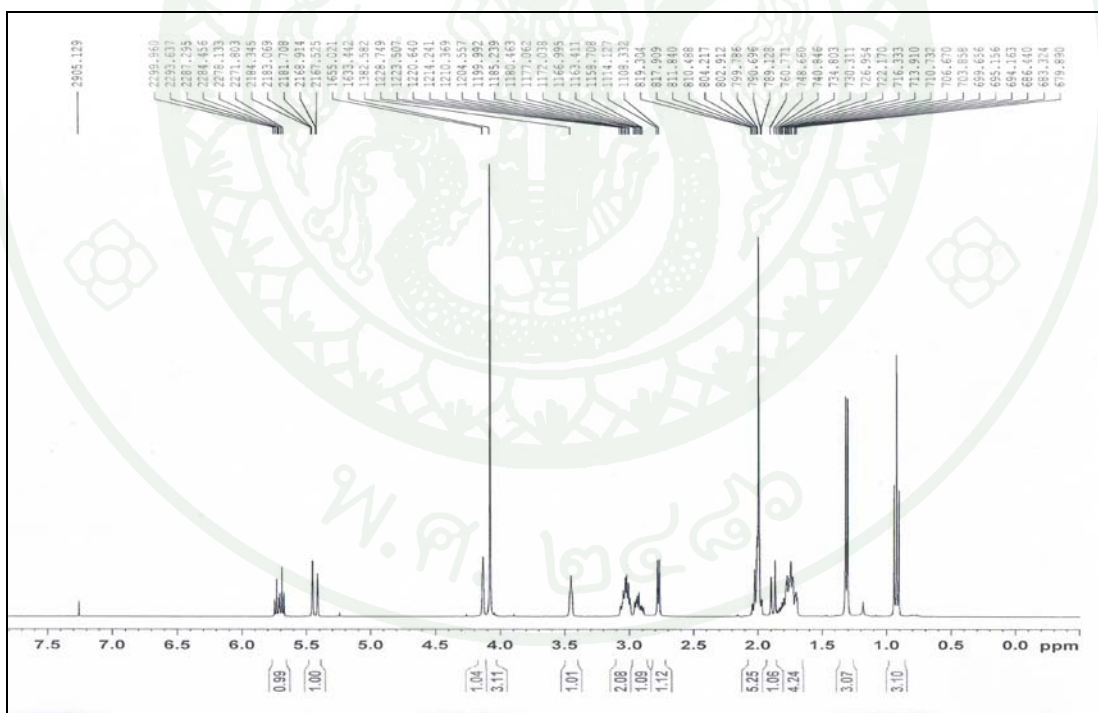
ภาพผนวกที่ ๓3 แมสสเปกตรัมของสารออกฤทธิ์ F4.5.3



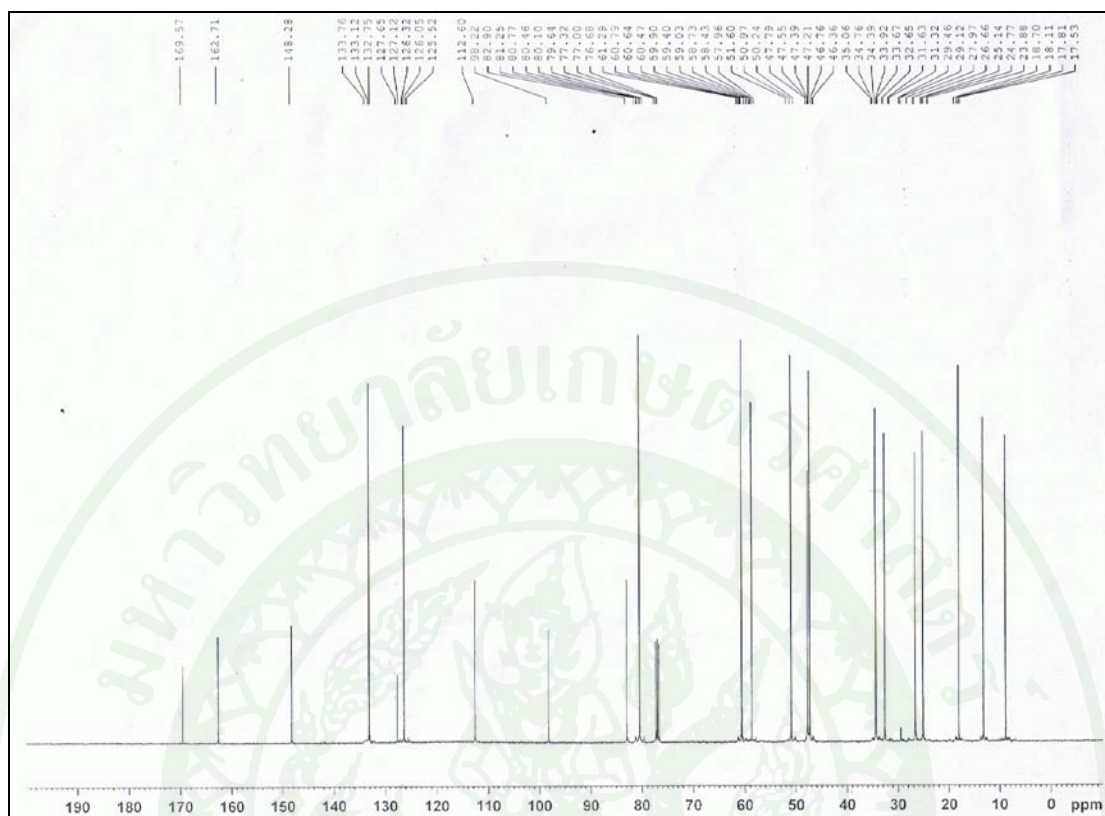
ภาพผนวกที่ ๓4 โครมาโตแกรมของสารออกฤทธิ์ F4.5.4



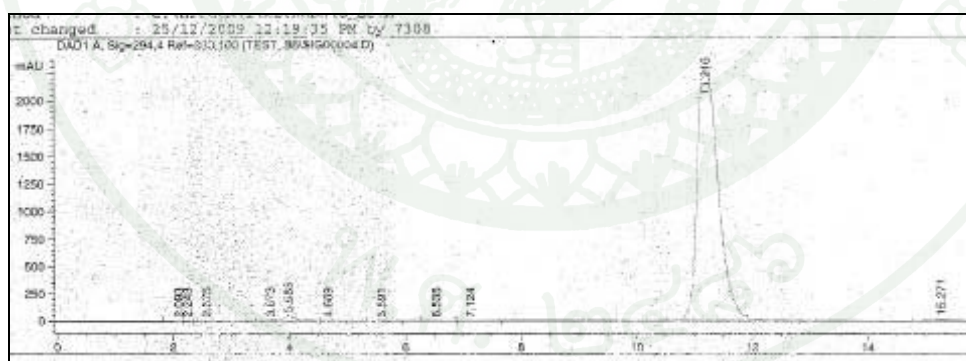
ภาพผนวกที่ ๖5 แมสสเปกตรัมของสารออกฤทธิ์ F4.5.4



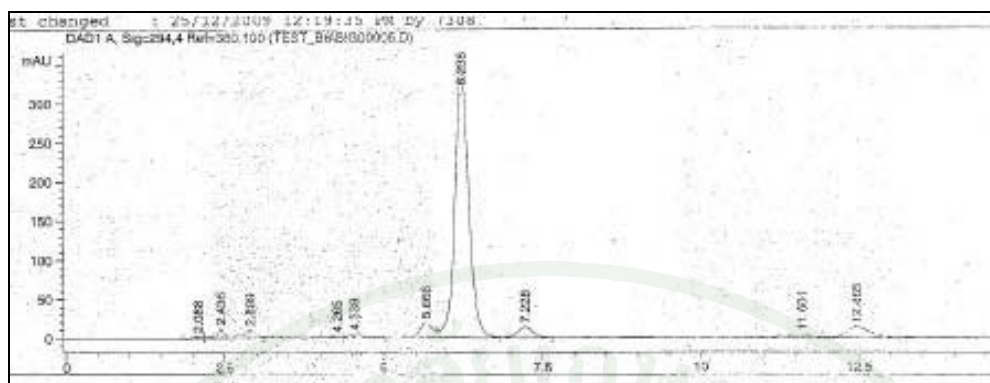
ภาพผนวกที่ ๖6 $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัมของสารออกฤทธิ์ F4.5.3



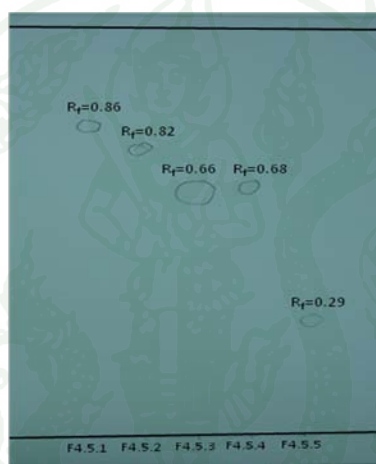
ภาพผนวกที่ ๗ ^{13}C -NMR สเปกตรัมของสารออกฤทธิ์ F4.5.3



ภาพผนวกที่ ๘ HPLC โครมาโตแกรมของสารออกฤทธิ์ F4.5.3



ภาพผนวกที่ 9 HPLC โครมาโตแกรมของสารออกฤทธิ์ F4.5.4



ภาพผนวกที่ 10 ทินเลเยอร์โครมาโตกราฟีของสาร F4.5.1- F4.5.5 โดยใช้เอทิลอะซิเตตต่อเมทานอล (80:20)

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวนิษณา พัทธพันธ์
วัน เดือน ปี ที่เกิด	29 มิถุนายน พ.ศ. 2526
สถานที่เกิด	ยะลา
ประวัติการศึกษา	วท.บ.วิทยาศาสตร์บัณฑิต (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
การนำเสนอผลงานทางวิชาการ	นำเสนอผลงานวิจัยในการประชุมทางวิชาการระดับนานาชาติ 2 nd Biopesticide International Conference (BIOCICON-2009) ณ ประเทศอินเดีย ระหว่างวันที่ 26-28 พฤศจิกายน 2552
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และ สำนักงานส่งเสริมวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อม (สสว.) ภายใต้โครงการสร้างกำลังคนเพื่อพัฒนาอุตสาหกรรม ประจำปี 2550 (สัญญาเลขที่ MRG-OSMEP505S049) ทุนสนับสนุนการนำเสนอผลงานวิจัยในการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ (ทุนนำเสนอผลงานวิจัยแบบปากเปล่า) ประจำปี 2552 จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ทุนสนับสนุนการนำเสนอผลงานวิจัยในการประชุมวิชาการระดับนานาชาติในต่างประเทศของนิสิตปริญญาโท ประจำปี 2552 จากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์