

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากรากหญ้าแฝก ที่มีต่อหนอนใยผัก

Toxicity Test of Root Extracted Substances from Vetiver Grass on Diamond Back Moth

อุดมพร แ่งนคร¹

Udomporn Pangnakorn¹

Abstract : Root of vetiver grass *Vetiver zizanioides* (Linn.) were collected and extracted with steam distillation method. The toxicity of extracted volatile oil was tested with *Plutella xylostella* L. under laboratory condition using two methods namely Topical application (contact poison) and Feeding method (stomach poison). The two methods were infested with 3rd instar larvae of diamond back moth and observed the mortality daily for 4 days. The result revealed that the highest concentration (100%) killed 37.14% and 51.52% of the larvae with contact poison and stomach poison, respectively. There is no significantly difference of mortality when 40% to 90% concentration were applied. The concentration less than 30% has no effect on mortality of larvae. However, tested larvae were finally weak and died during pupa stage.

บทคัดย่อ : จากการนำเอารากหญ้าแฝกชนิดแฝกหอม *Vetiver zizanioides* (Linn.) มาสกัดสารออกฤทธิ์ในรูปของน้ำมันหอมระเหย ด้วยวิธีกลั่นด้วยไอน้ำ และนำสารที่สกัดได้มาทำการทดสอบกับหนอนใยผักวัย 3 ทั้ง 2 วิธี คือ Topical application (ถูกตัวตาย) และ Feeding method (กินตาย) จากการตรวจวัดผลการตายของหนอนทั้ง 2 วิธีทุกวันเป็นเวลา 4 วัน พบว่าสารสกัดจากรากหญ้าแฝกในระดับความเข้มข้นของสาร 100% สามารถทำให้หนอนใยผักตายได้ถึง 37.14% โดยวิธีถูกตัวตาย และ 51.52% โดยวิธีกินตาย ส่วนความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่ำตั้งแต่ 90% ลงมาจนถึง

¹ ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002

¹ Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

40% สามารถทำให้หนอนตายได้ไม่ต่างกันนักทั้ง 2 วิธี และที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดต่ำตั้งแต่ 30% ลงมาจะไม่มีผลต่อการตายของหนอน อย่างไรก็ตามเมื่อสังเกตปฏิกิริยาของหนอนที่รอดตายจนเข้าดักแด้ได้ ดักแด้มักจะอ่อนแอและตายลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ความเข้มข้นของสารสูงๆ

Index words : หญ้าแฝก หนอนใยผัก สารสกัดจากพืช

Vetiver grass, Diamond back moth, Toxicity test, Root extracted substance,
Organic insecticide, *Vetiver zizanioides*, *Plutella xylostella*

คำนำ

หนอนใยผัก (*Plutella xylostella* L.) เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญที่สุดชนิดหนึ่งของพืชตระกูลผักกาด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ผักคะน้า ผักกาดขาว ผักกาดหัว ฯลฯ ผลจากการใช้สารเคมีสังเคราะห์เป็นยาฆ่าแมลง ในการควบคุมแมลงชนิดนี้ยังแพร่หลายต่อเนื่องกันมาเป็นเวลานานกลับทำให้เกิดปัญหาการดื้อยาของหนอนใยผัก เพราะสารเคมีที่เคยใช้ไม่สามารถ ป้องกันการทำลายของแมลงชนิดได้อีกต่อไป (Miyata et al., 1988) นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดผลเสียหลายอย่างตามมา เช่น ปัญหามลพิษในสิ่งแวดล้อม ปัญหาในด้านสุขภาพอนามัยของมนุษย์และสัตว์เลี้ยง ซึ่งในแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับล่าสุด ได้ระบุว่า จะต้องลดการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยหันมาใช้สารสกัดจากพืชให้มากที่สุด ดังนั้นจึงมีการทดลองใช้สารสกัดจากพืชหลายชนิดที่มีผลต่อหนอนใยผัก ซึ่งในปี 1988 Sinchaisri และคณะได้ทำการศึกษาโดยใช้สารสกัดจากพืช 8 ชนิด เพื่อเป็นสารขับไล่หนอนใยผัก ปรากฏว่ามีพืช 2 ชนิด ที่มีฤทธิ์ในการขับไล่แมลงได้ในระดับดี คือ หนุมานประสานกาย และตะไคร้หอม

หญ้าแฝกเป็นพืชที่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว ได้ทรงมีพระราชดำริถึงแนวนโยบายที่จะสนับสนุนส่งเสริมการนำมาใช้ประโยชน์ โดยที่รากแฝกหอมมีคุณสมบัติเป็นสมุนไพรขับไล่

เสียดื้อให้หอม แล้วยังใช้ขับไล่แมลงได้ (จร., 2535) ดังนั้นการศึกษาถึงความเป็นพิษของสารสกัดจากรากหญ้าแฝกที่มีต่อหนอนใยผัก จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจเพื่อหาทางลดปัญหาสารพิษในสภาพแวดล้อมและผู้บริโภคต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. พืชและการจำแนก

แฝกเป็นพืชในวงศ์ Gramineae ที่พบในเมืองไทยมี 2 ชนิด คือ

ก. หญ้าแฝกหรือแฝกดอน มีชื่อพจนานุกรมว่า *Vetiver nemoralis* (Balansa)

ข. หญ้าแฝกหอม มีชื่อพจนานุกรมว่า *Vetiver zizanioides* (Linn.) มีลักษณะหลังใบโค้งปลายแบน สีเขียวเข้ม เนื้อใบค่อนข้างเหนียว มีไขเคลือบมาก ทำให้ดูมัน ท้องใบออกสีขาวชัดเจนกว่าด้านหลังใบ ในรากหญ้าแฝกหอม มีโพรงอากาศในชั้นคอร์เทกซ์ขนาดใหญ่กว่าแฝกดอน รากแห้งใช้อบเสียดื้อให้หอมและขับไล่แมลงได้ ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้นำเอารากของหญ้าแฝกหอมมาใช้สกัด

2. การแยกสกัดสารออกฤทธิ์จากรากแฝกหอมในห้องปฏิบัติการ

นำรากหญ้าแฝกหอมรวมทั้งเหง้ามาล้างน้ำให้สะอาด ผึ่งลมให้แห้งสับให้ละเอียด ปั่นด้วย Blender อีกครั้ง จากนั้นนำบรรจุลงใน Boiling

flask ซึ่งเป็นภาชนะแก้วกันกลม โดยใช้ตัวอย่างพืชประมาณ 500 กรัมต่อการกลั่น 1 ครั้ง ทำการสกัดโดยใช้ความร้อนและอุปกรณ์ในการสกัดน้ำมันหอมระเหย ซึ่งเรียกการสกัดด้วยวิธีนี้ว่าการกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam distillation method) รวบรวมทั้งมีน้ำมัน (Oil) ผสมกับน้ำตกลงมา เก็บตัวอย่างที่กลั่นได้นี้ไว้กรองเอาแต่ Oil ซึ่งจะลอยอยู่บนผิวชั้นบนรวบรวมเอา Oil ที่สกัดได้เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5°C เพื่อรอการนำไปใช้ทดสอบกับหนอนใยผักต่อไป

3. วิธีการเตรียมหนอนใยผักเพื่อใช้ในการทดลอง

เก็บรวบรวมหนอนใยผักจากแปลงปลูกผักคะน้า บ้านบึงฉิม ต.พระลับ อ.เมือง จ.ขอนแก่น มาเลี้ยงในกล่องพลาสติกที่มีรูระบายอากาศในห้องปฏิบัติการ เมื่อเข้าดักแด้เก็บรวบรวมดักแด้ไปใส่กระดาษข่อยขนาด 47 x 47 x 70 ซม. ด้านบนเป็นกระชก ซึ่งตัดเป็นรูวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 15 ซม. แล้วเอาถุงไนลอนสีเหลืองขนาด 27 x 27 x 25 ซม. ที่มีโครงเป็นลวดครอบไว้อีกชั้น เมื่อดักแด้ออกเป็นตัวเต็มวัยจะบินขึ้นมากาะที่มุ้งไนลอน นำกลัคะน้าอายุ 3-5 วัน ที่ปลูกในกระถางใส่ในมุ้งเพื่อให้เป็นที่วางไข่ ย้ายกลัคะน้าที่มีกลุ่มไข่มาไว้ในกระถางขนาด 50x50x88 ซม. ประมาณ 2 วัน ไข่จะฟักเป็นตัวหนอน เมื่อหนอนมีอายุ 3 วัน ก็นำไปใช้ทดสอบกับสารสกัดจากรากหญ้าแฝกในห้องปฏิบัติการต่อไป

4. การเตรียมสารสกัดจากรากหญ้าแฝกหอม

การทดสอบฤทธิ์กับหนอนใยผัก

นำสารสกัดจากรากหญ้าแฝกหอมที่ได้ในข้อ 2 ซึ่งเป็นน้ำมัน จึงให้น้ำมันมีความเข้มข้นเท่ากับ 100% มาละลายกับน้ำกลั่นในปริมาตรต่างๆ เพื่อให้ได้สารละลายที่มีความเข้มข้นต่างๆกันตั้งแต่

20% 30% 40% เรื่อยไปจนถึง 90% วิธีการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดกับหนอนใยผักแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ

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

4.2 Feeding method วิธีนี้หนอนจะตายเพราะการกิน โดยนำใบคะน้ามาตัดเป็นวงกลมให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 ซม. มาชุบสารละลายของสารสกัดความเข้มข้นต่างๆที่เตรียมไว้ ผึ่งลมให้แห้งพอหมาดๆ แล้วจึงนำไปวางในถ้วยพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 ซม. เชี่ยหนอนใยผักวัย 3 ด้วยฟูก้นวางลงบนใบคะน้าใบละ 10 ตัว ทำการทดลองแบบเดียวกัน ความเข้มข้นละ 4 ข้ำ เก็บไว้ในอุณหภูมิห้องของห้องปฏิบัติการ ทำการตรวจวัดผลทุกวันจนครบ 4 วัน ทั้ง 2 วิธี

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากรากหญ้าแฝก โดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำที่มีต่อการตายของหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* L.) ในสภาพห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธีถูกตัวตาย (Topical application) ตั้งแต่ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดคือ 30% จนถึงระดับสูงสุด 100% ติดตามผลการถูกทำลาย 4 วัน เพราะภายหลัง 4 วัน หนอนที่รอดตายก็จะเข้าดักแด้ สังเกตปฏิกิริยาการตายที่เกิดขึ้นจากตารางที่ 1 พบว่าสารสกัดจากรากหญ้าแฝกที่

ระดับความเข้มข้น 30% ถึง 50% ทำให้หนอนใยผักตายไม่แตกต่างกันคือเพียง 20% และเปอร์เซ็นต์การตายเพิ่มขึ้นเป็นลำดับในสัดส่วนที่ไม่มี

ความแตกต่างกันทางสถิติตั้งแต่ความเข้มข้น 60% จนถึง 100% ที่ระดับความเข้มข้นของสาร 100% มีฤทธิ์ทำให้หนอนตายเพียง 37-14%

Table 1 Toxicity of extracted volatile oils from the root of vetiver grass applied as topical application on diamond back moth.

Concentration (%)	Mean of mortality larvae of 4 days after treatment(A)	% Mortality	%Corrected mortality(B)
Control	5	12.5	_ b
30	12	30.0	20.00ab
40	12	30.0	20.00ab
50	12	30.0	20.00ab
60	15	37.5	28.75a
70	15	37.5	28.75a
80	17	42.5	34.29a
90	17	42.5	34.29a
100	18	45.0	37.14a

(A) Average of 4 replications

(B) Abbott's formula

LSD value = 2.02

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยวิธีกินตาย (Feeding method) และติดตามผลและปฏิกิริยา 4 วัน ภายหลังการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่าที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดคือ 30% ไม่มีผลต่อการตายของหนอนตั้งแต่ระดับความเข้มข้นของสารตั้งแต่ 40% ขึ้นไปจนถึง 90% เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนเพิ่มขึ้นเป็นลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติและใกล้เคียงกันมากกับผลการทดลองแบบถูกตัวตาย (Topical application) ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของสาร 100% ของวิธีทดลองแบบกินตายจะให้

ผลดีที่สุด ซึ่งสามารถทำให้หนอนตายได้ถึง 51.52% แสดงว่าหนอนใยผักได้รับสารออกฤทธิ์จากสารสกัดจากรากหญ้าแฝกโดยวิธีกินตายมากกว่าถูกตัวตาย ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Jotwani and Srivastava (1981) ว่าสารสกัดจากสะเดาจะมีฤทธิ์ทำให้หนอนและแมลงเบื่ออาหารจึงกินอาหารได้น้อยลง ซึ่งจากการสังเกตปฏิกิริยาการกินของหนอนใยผักที่ใช้ในการทดลองกินใบคะน้าที่ชุบสารสกัดจากรากหญ้าแฝก พบว่าหนอนดังกล่าวกินอาหารได้เป็นปกติ แม้ความเข้มข้นของสารสูงถึง 100%

Table 2 Toxicity of extracted volatile oils from the root of vetiver grass applied as feeding method on diamond back moth.

Concentration (%)	Mean of mortality larvae of 4 days after treatment(A)	% Mortality	%Corrected mortality(B)
Control	7	17.5	- c
30	10	25.0	9.10bc
40	15	37.5	24.35abc
50	15	37.5	24.35abc
60	18	45.0	33.33abc
70	15	37.5	24.25abc
80	16	40.0	27.27abc
90	19	47.5	36.36ab
100	24	60.0	51.52a

(A) Average of 4 replications

(B) Abbott's formula

LSD value = 2.48

อย่างไรก็ตามน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่นของรากหญ้าแฝก จะออกมาในรูปของน้ำมันผสมกับน้ำ ไม่สามารถแยกชั้นของน้ำมันออกมาให้เห็นอย่างชัดเจน จะเห็นเป็นเพียง film บางๆ ลอยอยู่ชั้นบน ไม่มีสีเช่นเดียวกับน้ำค่างจากน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากตะไคร้หอม ซึ่งจะเห็นชั้นของน้ำมันเป็นสีเหลืองแยกชั้นจากน้ำได้ชัดเจน (Chungsamarnyart และ Jiwajinda, 1992) ดังนั้นน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่นจึงไม่สามารถบอกปริมาณความเข้มข้นได้ แต่ในการทดลองครั้งนี้ถือว่าให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 100% เมื่อนำมาเติมสารเพื่อให้ได้ปริมาณความเข้มข้นที่เจือจางลงในระดับต่างๆ จึงเห็นผลของสารออกฤทธิ์ที่ไม่ชัดเจน และไม่ค่อนข้างพอใจเท่ากับความเข้มข้นของสารสกัดที่ 100%

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากรากหญ้าแฝกหอมโดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำสามารถทำให้หนอนใยผักตายในระดับที่ไม่ค่อยดีนัก ทั้งในลักษณะกินตายและถูกตัวตาย โดยจะเห็นผลชัดเจนเฉพาะในระดับความเข้มข้นสูงของสารสกัดที่ 100% แต่ทั้งนี้เมื่อติดตามปฏิกิริยาของหนอนที่รอดตายจนสามารถเข้าดักแด้ได้หลังการทดลองสิ้นสุดลง พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดตั้งแต่ 60% ขึ้นไป ดักแด้จะอ่อนแอและตายลงในอัตราส่วนที่ใกล้เคียงกัน แม้จะไม่แสดงผลอย่างเด่นชัดในการควบคุมหนอนใยผักในระยะตัวหนอน แต่มีผลกระทบต่อดักแด้ทำให้ดักแด้ไม่สามารถเป็นตัวเต็มวัยได้ต่อไป ดังนั้นแนวโน้มของประสิทธิภาพของสารสกัดจากรากหญ้าแฝกหอมมีสารออกฤทธิ์ที่มีคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดแมลง

ได้ซึ่งเป็นแนวทางที่นำไปใช้ประโยชน์ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชโดยผสมกับสารสกัดจากพืชชนิดอื่น ฉะนั้นจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่เกษตรกรจะลดการใช้สารเคมี มาใช้สารสกัดจากพืชธรรมชาติ ที่ขึ้นง่ายมีอยู่ทั่วไปทุกภาคได้.

เอกสารอ้างอิง

- จร สดกร. 2535. แผลหอม หญาแผล. กสิกร 65 (2) : 135-140.
- รุ่งนภา ก่อประดิษฐ์สกุล ชัยณรงค์ รัตนกริชากุล สุรัตน์ดี จิระจินดา สุพงษ์ สวัสดิ์ พานิชย์ และราชนทร์ อธิพร. 2538. การใช้สารสกัดจากรากหญ้าแฝกในการควบคุมเห็บโค. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 33. หน้า 460-466.
- Chungsamarnyart, N. and S. Jiwajinda. 1992. Acaricidal activity of volatile oil from lemon and citronella grasses on tropical cattle ticks. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 26 : 52-56.
- Jotwani, M.G. and K.P. Srivastava. 1981. Neem : insecticide of the future-II. Pesticide 15(11) : 4047.
- Miyata, T., N. Sinchaisri, B. Sayampol, W. Rushtapakornchai and A. Vattanatagum. 1988. Insecticide resistance patterns. Page 10-19. In Report meeting of the joint research project during March 19-21, 1988 at Rama Garden Hotel, Bangkok, Thailand
- Sinchaisri, N., D. Roongsook and S. Areekul. 1988. Botanical repellent against the diamond back moth, *Plutella xylostella* L. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 22(5): 71-74