



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ “ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกและพริกไทย
ในการควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืชผักตระกูลกะหล่ำ”

โดย

รศ. ดร. ไสว บุรณพานิชพันธุ์
ผศ. ดร. เกวลิน คุณาศักดากุล

31 ธันวาคม 2549

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ “ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกและพริกไทย ในการควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืชผักตระกูลกะหล่ำ”

คณะผู้วิจัย

สังกัด

1. รศ. ดร. ไสว บุรณพานิชพันธุ์

ภาควิชาชีววิทยา คณะเกษตรศาสตร์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

2. ผศ. ดร. เกวลิน คุณาศักดากุล

ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ชุดโครงการ “สมุนไพรเพื่อคุณภาพชีวิต”

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

รายงานสรุปสำหรับผู้บริหาร
EXECUTIVE SUMMARY

รายงานสรุปสำหรับผู้บริหาร

1. ชื่อโครงการ: ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกและพริกไทยในการควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืชผักตระกูลกะหล่ำ

2. ชื่อ/ที่อยู่ของหัวหน้าโครงการและผู้ร่วมงาน

หัวหน้าโครงการ: รศ. ดร. ไสว นูรณพานิชพันธุ์

ภาควิชาชีววิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ผู้ร่วมงาน: ผศ. ดร. เกวลิน คุณาศักดากุล

ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3. ความเป็นมาและความสำคัญ

พืชผักตระกูลกะหล่ำเป็นพืชผักที่นิยมบริโภคกันมาก โดยมีพื้นที่ปลูกส่วนใหญ่อยู่ในเขตภาคเหนือของประเทศไทย อุปสรรคสำคัญประการหนึ่งของการปลูกพืชผักตระกูลกะหล่ำก็คือความเสียหายอันเนื่องมาจากการเข้าทำลายของศัตรูพืช ซึ่งได้แก่ โรคและแมลง เกษตรกรมักแก้ปัญหาเหล่านี้ด้วยการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อปกป้องความเสียหายที่จะเกิดขึ้น นอกจากนี้สารเคมีที่ใช่มักเป็นสารที่มีพิษรุนแรงและใช้ในอัตราความเข้มข้นที่สูงกว่าปกติ ทั้งนี้เพื่อต้องการควบคุมศัตรูพืชให้ได้ผลดี โดยเฉพาะกลุ่มของศัตรูพืชที่ต้านทานสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชแล้ว ผลกระทบของสารเคมีเหล่านี้นอกจากเป็นอันตรายต่อผู้ใช้โดยตรงแล้ว ยังสะสมอยู่ในสภาพแวดล้อมอีกด้วย ปัจจุบัน รัฐบาลไทยได้ตระหนักในเรื่องนี้จึงได้มีนโยบายเพื่อลดการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในระบบการผลิตทางการเกษตร โดยใช้สารเคมีเมื่อจำเป็น ให้ถูกต้องและปลอดภัย รวมทั้งหาวิธีการอื่นมาใช้ควบคุมศัตรูพืชแทนการใช้สารเคมี การนำสารสกัดจากพืชที่มีคุณสมบัติเป็นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชมาใช้ควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืช ก็เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบัน เนื่องจากสารสกัดเหล่านี้ค่อนข้างปลอดภัยต่อผู้ใช้และผู้บริโภค รวมทั้งเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม หากสามารถหาสารสกัดจากพืช เช่น พริก และพริกไทย มาใช้ควบคุมศัตรูพืชผักตระกูลกะหล่ำอย่างได้ผลและมีประสิทธิภาพแล้ว เกษตรกรก็จะมีทางเลือกเพิ่มมากขึ้นในการที่จะใช้สารสกัดเหล่านี้แทนการใช้สารเคมี ซึ่งสอดคล้องกับนโยบายของรัฐบาลที่ต้องการให้ประชาชนบริโภคอาหารที่ปลอดภัย นอกจากนี้ยังช่วยประหยัดเงินตราในการนำเข้าสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจากต่างประเทศอีกด้วย

4. วัตถุประสงค์

เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกและพริกไทยในการควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืชผักตระกูลกะหล่ำ

5. อุปกรณ์และวิธีการ

5.1 การเตรียมสารสกัด

สารสกัดจากพริกสิ่งซึ่งมาจากสถาบันวิจัยและพัฒนา องค์การเภสัชกรรม กรุงเทพฯ และสารสกัดจากพริกไทยได้รับความอนุเคราะห์จากโครงการ “การพัฒนายาลดพิษเพื่อใช้เป็นยาฆ่าแมลง” ของสำนักประสานงานชุดโครงการสมุนไพร สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย สารสกัดที่ได้นำมาเตรียมให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ต้องการเพื่อทดสอบกับเชื้อโรคพืชและแมลงศัตรูพืช

5.2 การทดสอบกับเชื้อสาเหตุโรคพืช

5.2.1 การเตรียมเชื้อสาเหตุโรคพืช

เก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการโรคเน่าดำ นำมาแยกเชื้อ *Xanthomonas campestris* และนำเชื้อที่ได้ไปเลี้ยงบนอาหาร NA โดยการ streak plate ดำเนินการแยกเชื้อจนได้เชื้อบริสุทธิ์ และนำเชื้อที่ได้ไปเก็บไว้ในน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อในหลอดทดลอง เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป ส่วนเชื้อ *Alternaria brassicicola* สาเหตุโรคใบจุด ทำการแยกจากใบคะน้าที่เป็นโรคใบจุด เชื้อที่แยกได้ไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เมื่อเชื้อเจริญ แยกเชื้อบริสุทธิ์ โดยใช้ capillary ตัดปลายเส้นใย (hyphal tip isolation) เลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อบน PDA ซึ่งเป็นอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา

5.2.2 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช

การประเมินประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกและพริกไทยที่มีต่อเชื้อสาเหตุโรคเน่าดำและโรคใบจุด สามารถกระทำได้โดยการตรวจวัดการเจริญของเชื้อดังกล่าว การตรวจวัดการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคเน่าดำ ทำได้โดยการตรวจนับจำนวนโคโลนี (colony counting) ส่วนการตรวจวัดการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคใบจุด ดำเนินการตรวจวัด 2 วิธีการ คือ การวัดขนาดของโคโลนีของเชื้อบนอาหาร PDA และ ตรวจสอบลักษณะการเจริญของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์

5.3 การทดสอบกับแมลงศัตรูพืช

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกและพริกไทยที่มีต่อหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผักในห้องปฏิบัติการ ดำเนินการทดสอบความเป็นพิษ 2 วิธีการ คือ 1) ทดสอบพิษทางการกิน (oral toxicity test) โดยการจุ่มใบพืช (leaf dipping method) ในสารสกัด ปลอ่ยให้สารสกัดแห้งแล้วจึงนำมาให้หนอนกิน เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางการกิน (stomach poison) และ 2) ทดสอบพิษทางผิวหนัง (dermal toxicity test) โดยการพ่นสารสกัดโดยตรง (direct spray method) บนตัวหนอนด้วย air brush sprayer เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางสัมผัส (contact poison)

สารสกัดแต่ละความเข้มข้นหรือกรรมวิธี (treatment) รวมทั้งกรรมวิธีเปรียบเทียบ (check) ที่ใช้ ดำเนินการ 3 ซ้ำ (replications) โดยแต่ละซ้ำใช้หนอนเพื่อการทดสอบจำนวน 10 ตัว ทำการบันทึกการตายของหนอนที่เวลา 3, 6, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมงหลังให้สารสกัดกับหนอน นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนโดยวิธี Least Significant Difference (LSD) นอกจากนี้ นำข้อมูลที่ได้มาหาค่า LC_{50} ของสารสกัดจากพริกและพริกไทยที่มีต่อหนอนใยผักและหนอนกระทุ้ง ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Logit PC

5.4 การทดสอบกับพืช

ทำการตรวจสอบความเป็นพิษของสารสกัดที่มีต่อใบพืช โดยการพ่นสารสกัดในความเข้มข้นต่าง ๆ ลงบนต้นคะน้า แล้วตรวจอาการผิดปกติทั้งหมดที่เกิดขึ้นกับพืช พร้อมบันทึกข้อมูล

6. ผลการศึกษา

6.1 การทดสอบกับเชื้อสาเหตุโรคพืช

สารสกัดจากพริกและพริกไทยเมื่อนำไปทดสอบผลของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *X. campestris* สาเหตุโรคเน่าดำของกะหล่ำ พบว่า การบ่มเชื้อในสารสกัด โดยที่สารสกัดพริก ระดับความเข้มข้น 3.0 % ให้ผลดีที่สุด สามารถลดปริมาณของโคโลนีของเชื้อได้ถึง 99.73 % รองลงมาได้แก่ระดับความเข้มข้น 1.5 % ยับยั้งได้ 87.33 % ส่วน ระดับความเข้มข้น 0.75 % ใช้ไม่ได้ผล และยังพบว่าสารสกัดทุกความเข้มข้นทำให้เชื้อเจริญได้ช้ากว่าปกติ 12-24 ชั่วโมง สำหรับสารสกัดพริกไทยนั้น นอกจากจะสามารถทำให้เชื้อเจริญได้ช้ากว่าปกติ 12-24 ชั่วโมง เช่นเดียวกับสารสกัดพริกแล้ว ยังพบว่าให้ผลยับยั้งการเจริญของเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพมากเท่าเทียมกันทั้งระดับความเข้มข้น 3.0, 1.5 และ 0.75 % โดยยับยั้งเชื้อได้ 99.99, 99.95 และ 99.16 %ตามลำดับ เช่นเดียวกับสารสกัดผสมของพริกและพริกไทยทั้ง 3 ความเข้มข้นที่ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีมากถึง 100 %

สำหรับการทดสอบผลของการยับยั้งเชื้อรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดของกะหล่ำของสารสกัดจากพริกและพริกไทย โดยวิธีแช่ culture disc ในสารสกัดแล้วเลี้ยงบนอาหาร PDA แล้ววัดขนาดของโคโลนีที่ระยะเวลาต่าง ๆ พบว่า สารสกัดพริกทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ในช่วง 3-5 วันแรกของการทดลองเท่านั้นแต่เมื่อนานไปถึง 15 วันจะมีเพียงระดับความเข้มข้น 3.0 % เท่านั้นที่ยังได้ผล ส่วนสารสกัดพริกไทยนั้น พบว่าทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งเชื้อได้ใน 3 วันแรกเช่นกัน ต่อมาระดับความเข้มข้นสูงขึ้นจึงจะได้ผล แต่เมื่อเลี้ยงนาน 15 วัน พบว่าสารสกัดทุกความเข้มข้นไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ ซึ่งสอดคล้องกับการ

ทดลองตรวจดูการเจริญของเชื้อราที่เลี้ยงแบบ slide culture บน WA ที่ผสมสารสกัดและตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าลักษณะการเจริญของเชื้อในช่วงแรกเป็นไปได้ช้า โดยเส้นใยและสปอร์ที่งอกมี germ tube มีการเจริญผิดปกติ มีลักษณะบวมพองบิดเบี้ยว รวมถึงที่สารสกัดระดับความเข้มข้นสูงมีการสร้างสปอร์จำนวนน้อยลง

สำหรับการทดลองด้วยสารผสมของสารสกัดพริกและพริกไทย ให้ผลการยับยั้งที่ดีกว่าการใช้สารสกัดพริก หรือพริกไทย เพียงอย่างเดียว โดยพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ทุกระยะเวลาของการทดลองและทำให้ลักษณะการเจริญของโคโคนีของเชื้อมีเส้นใยบนผิวอาหารไม่หนาแน่น พบวงสีเข้มของการสร้างสปอร์น้อยลงอย่างเห็นได้ชัด และการตรวจสอบการเจริญของเชื้อบน WA ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบเส้นใยเจริญผิดปกติเช่นเดียวกัน นอกจากนั้นยังตรวจพบการสลายตัวของปลายเส้นใยของเชื้อราที่เจริญในสารสกัดผสมที่ระดับความเข้มข้น 1.5 และ 3.0 % เป็นจำนวนมากซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เชื้อลดการเจริญลงอย่างชัดเจน

6.2 การทดสอบกับแมลงศัตรูพืช

สารสกัดจากพริกและพริกไทยเมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพกับหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผักโดยวิธีจุ่มใบพืช แล้วนำมาให้หนอนกินเป็นอาหารเพื่อทดสอบฤทธิ์ทางกรกิน พบว่า สารสกัดจากพริกและพริกไทยทุกระดับความเข้มข้นคือ 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 % ไม่มีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนทั้งสองชนิดเลย แต่เมื่อนำสารสกัดจากพริกและพริกไทยในความเข้มข้นระดับเดียวกับที่ใช้ทดสอบฤทธิ์ทางกรกิน ไปพ่นใส่ตัวหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผักเพื่อทดสอบฤทธิ์ทางสัมผัส กลับพบว่า สารสกัดจากพริกที่ระดับความเข้มข้น 3, 4 และ 5 % มีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนใยผักได้ดีไม่แตกต่างกัน โดยหนอนมีค่าเฉลี่ยการตาย 63.33, 66.67 และ 76.67 % ตามลำดับ และมีค่า LC_{50} (ทางสัมผัส) เท่ากับ 2.3372 % สำหรับสารสกัดจากพริกไทยในการทดสอบครั้งแรกเฉพาะที่ความเข้มข้น 3 % เท่านั้น ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการกำจัดหนอนใยผัก โดยฆ่าหนอนได้สูง 70 % ส่วนในการทดสอบครั้งที่สอง ประสิทธิภาพของสารสกัดกลับลดลงทั้ง ๆ ที่ใช้ความเข้มข้นสูงกว่าครั้งแรก โดยที่ความเข้มข้น 5 % ฆ่าหนอนใยผักได้สูงสุดเพียง 36.67 % อาจเนื่องมาจากสารสกัดเสื่อมฤทธิ์ลงเพราะเก็บไว้นานเกินไป

สำหรับการทดสอบกับหนอนกระทู้ผัก พบว่า สารสกัดจากพริกมีประสิทธิภาพดีเยี่ยม โดยที่ความเข้มข้น 4 และ 5 % สามารถฆ่าหนอนกระทู้ผักตายได้ 100 % ขณะที่สารสกัดจากพริกที่ความเข้มข้น 2 และ 3 % ก็ให้เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนไม่ต่างกันทางสถิติกับสารสกัดที่ความเข้มข้น 4 และ 5 % ที่เวลา 12 ชั่วโมงหลังการพ่นสารให้หนอน โดยสารสกัดจากพริกที่ความเข้มข้น 2 และ 3 % มีการตายของหนอนเท่ากันคือ 86.67 % และมีค่า LC_{50} (ทางสัมผัส) เท่ากับ 0.4295 % ส่วนสารสกัด

จากพริกไทยมีประสิทธิภาพไม่ดีนักในการฆ่าหนอนกระทู้ผัก โดยที่ความเข้มข้น 5 % ฆ่าหนอนได้สูงสุดเพียง 16.67 %

เมื่อนำสารสกัดจากพริกมาผสมกับสารสกัดจากพริกไทยให้ได้สารผสมความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 % และนำมาทดสอบพิษทางการกินกับหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผัก พบว่า สารสกัดผสมทุกความเข้มข้นไม่สามารถฆ่าหนอนทั้งสองชนิดแม้แต่ตัวเดียว ขณะที่การทดสอบพิษทางสัมผัสกลับให้ผลเป็นที่น่าพอใจ โดยสารสกัดผสมความเข้มข้น 4 และ 5 % มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักตายไม่ต่างกันทางสถิติ คือมีการตายเท่ากับ 56.67 และ 63.33 % ตามลำดับ ส่วนการทดสอบกับหนอนกระทู้ผัก พบว่า สารสกัดผสมมีประสิทธิภาพดีคล้ายกับการใช้สารสกัดจากพริกอย่างเดียว โดยสารสกัดผสมที่ความเข้มข้น 3, 4 และ 5 % มีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนไม่ต่างกันทางสถิติในทุกเวลาทำการตรวจวัดผล โดยสารสกัดผสมที่ความเข้มข้น 5 % มีการตายสูงสุดคือ 96.67 %

จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริก พริกไทย และสารสกัดผสมระหว่างดีปลีกับหางไหล ที่มีต่อหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผักโดยวิธีพ่นสารไปบนตัวหนอน พบว่า สารสกัดจากพริกความเข้มข้น 4 % มีประสิทธิภาพพอใช้ในการควบคุมหนอนใยผัก โดยมีเปอร์เซ็นต์การตายเกิดขึ้นสูงสุด 66.67 % และสารสกัดจากพริกความเข้มข้น 3 % มีประสิทธิภาพดีมากในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงสุดเท่ากับ 86.67 % สำหรับสารสกัดผสมระหว่างดีปลีกับหางไหลให้ผลดีมากเมื่อใช้กับหนอนใยผัก ให้ผลการตายสูงสุดที่ 93.33 % ตั้งแต่ 24 ชั่วโมงหลังจากให้สารแก่หนอน แต่มีประสิทธิภาพต่ำกับหนอนกระทู้ผัก ซึ่งสามารถฆ่าหนอนได้เพียง 23.33 % เท่านั้น ส่วนสารสกัดจากพริกไทยมีประสิทธิภาพต่ำมากในการควบคุมหนอนทั้งสองชนิด

6.3 การทดสอบกับพืช

เมื่อนำสารสกัดจากพริกและพริกไทยไปพ่นต้นคะน้าเพื่อทดสอบความเป็นพิษกับพืช พบว่า สารสกัดทุกความเข้มข้นที่ทดสอบไม่ทำให้คะน้าแสดงอาการผิดปกติเกิดขึ้น โดยเฉพาะอาการไหม้ของใบ ยกเว้นสารสกัดจากพริกเท่านั้น ที่เมื่อพ่นไปแล้วในระยะ 4-5 วันแรกเท่านั้นที่ทำให้ใบคะน้าเปียกน้ำได้ง่าย เห็นเป็นสีเหลืองอ่อน ๆ นอกจากนี้ กลิ่นของสารสกัดจากพืชทั้งสองชนิดค่อนข้างแรง อาจส่งผลกระทบต่อผู้ปฏิบัติงานได้ ส่วนใบคะน้าที่ผ่านการพ่นสารสกัดไปแล้ว 3 วัน พบว่า ใบคะน้าไม่มีกลิ่นของสารสกัด และรสชาติไม่เปลี่ยนแปลงไปจากใบคะน้าปกติ

Executive Summary

1. **Project Title** Efficacy of Chili and Pepper Extracts for Controlling Disease and Insect Pests of Crucifer Crop
2. **Project Personnel** 1. Assoc. Prof. Dr. Sawai Buranapanichpan, Project Leader
 Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University
 2. Assist. Prof. Dr. Kaewalin Kunasakdakul, Co-worker
 Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

3. Introduction

Crucifer crop is one of the most popular vegetable in Thailand, commercial grown covering large area in northern Thailand. As other economic crops, many problems always occurred during planting especially diseases and insect pests. The main control method usually is based on chemical pesticides in order to prevent serious losses of crucifer yield. Highly toxic pesticides and high concentration of pesticides are commonly practiced to solve pest resistant problem when recommendation pesticides and the suggested application rate did not work well. The undesirable effects of pesticides to the users and the environment could not be avoided. Currently, Thai government has been proposed policy to reduce the use of pesticide in agricultural production system. The alternative control measures and the safe use of pesticides need to be considered and developed. Botanical pesticide therefore become the attractive approach to control crucifer pests due to they are safe to users, consumers and environment. Recently, the potential of many plants such as chili and pepper have been reported to control various plant pests; however, the use of chili and pepper extract to control crucifer pests was scared. Therefore, the efficacy of chili and pepper extract for controlling disease and insect pests of crucifer crops were carried out.

4. Objectives

The objectives aim to investigate on the efficiency of chili and pepper extracts on some important crucifer diseases and insect pests.

5. Materials and Methods

5.1 Plant extract preparation

The chili extract, obtained from Research and Development Institute, The Government Pharmaceutical Organization (GPO), and pepper extract, obtained from Pesticide Product Development Project, Medicinal Plant Project Coordinator, The Thailand Research Fund (TRF), were diluted to various concentrations for the trial on disease and insect pests of crucifer based on specific experimental design and replication numbers for disease and insect trials.

5.2 The crucifer disease trial

5.2.1 Disease preparation

Black rot disease, *Xanthomonas campestris*, was isolated from the infected plant samples, collected from the crucifer growing area, by streaking on NA media plate. Pure culture was transferred to sterilized water and kept at 4 °C until use. Whereas leaf spot disease, *Alternaria brassicicola*, was also isolated from the lesion on infected crucifer leaf after that hyphal tip isolation technique was used for pure culture on PDA media and then the pure culture was grown on PDA which suitable for its growth and sporulation.

5.2.2 Effective trial of plant extracts on crucifer diseases

Standard inhibition trails of bacteria were used for determining the effect of plant extracts on *X. campestris*. Dipping culture on PDA disc and slide culture on WA were conducted for determining those on *A. brassicicola*. The evaluation of chili and pepper extracts on bacterial black rot disease was carried out based on colony counting method. The evaluation of chili and pepper extracts for fungal leaf spot disease was based on measuring diameter of disease colony on PDA and microscopic observation method.

5.3 The crucifer insect pest trial

The efficacy test of chili and pepper extracts was carried out in laboratory on the larva of diamondback moth (*Plutella xylostella*) and common cutworm (*Spodoptera litura*) using 2 techniques: oral toxicity by leaf dipping methods in order to determine their stomach poison and dermal toxicity by direct spray of plant extracts on larva using air

brush sprayer in order to determine their contact poison. The experimental design was based on completely block design with 3 replications, 10 larvae for each experimental unit were assigned and control check was distilled water. The insect mortality was determined at 3, 6, 12, 24, 48, and 72 hours, after application of plant extracts. The data were analyzed based on analysis of variance, least significant difference (LSD) analysis, and LC_{50} using computer software, Logit PC.

5.4 Toxicity trail of plants extracts on crucifer crop

Various concentration of plant extracts were applied on crucifers and unusual symptoms were observed.

6. Results

6.1 Effective trial of plant extracts on crucifer disease

All various concentrations of chili extract affected the crucifer bacterial disease, *X. campestris* by slow down its growth up to 12-24 hours. The 2 highly effective concentrations of chili extract were 3.0% and 1.5% inhibited the amount of colonies almost 99.73% and 87.33%, respectively, whereas, the concentration at 0.75% did not show any effect on disease. The pepper extract at all concentration (3.0, 1.5, and 0.75%) inhibited the amount of *X. campestris* colonies up to 99.99, 99.95 and 99.16%, respectively which better than chili extracts. However, the mixture of both plant extracts provided the highest bacterial inhibition result (100%).

The inhibition result of chili and pepper extracts on leaf spot fungal disease (*A. brassicicola*) by dipping culture disc into the plant extracts, transferring to culture in PDA and measuring the size of fungal colonies at various times found that all concentrations of chili extract inhibited disease well during 3-5 days, after application and its effective was declined continuously. Only did the concentration at 3% show good control result until 15 days after application. Meanwhile, those of pepper extract inhibited fungal disease in the same manner as chili but no any concentrations showed effective result at 15 days after application. The evaluation on fungal growth by slide culture methods, which fungus was grown on WA media added various concentrations of the plant extracts and determined under microscope, found that the fungus grew slowly during the

first period. Abnormal, swallow and distortion, of fungal mycelium and germ tube were found. In addition, difficulty of sporulation was detected when the high concentrations of plant extracts were applied.

The mixture of chili and pepper extracts inhibited all stages of fungus better than the use of each plant extract alone. The scared mycelium on media, the light color of spore rings on the colony, and abnormal mycelium was found. In addition, decomposed of mycelium tip of fungi grown in plant extract at concentration 1.5 and 3.0% were detected and obviously affected the fungus growth.

6.2 Effective trial of plant extracts on crucifer insect pests

The stomach poison trial by crucifer leaf dipping method found that all concentrations (0.5, 1, 2, 3, 4, 5%) of both chili and pepper extracts had no effect on larvae of *P. xylostella* and *S. litura*. However, the contact poison trial by direct spray of chili and pepper on larvae found that the chili extract at the concentration of 3, 4, and 5% was significantly effective and showed mortality rate at 63.33, 66.67, and 76.67%, respectively, with dermal LC_{50} at the concentration of 2.3372%. The trial on pepper extract was done twice. The first trial, only the concentration at 3% was conducted which presented 70% mortality on *P. xylostella* larvae; however, in the second trail, the mortality rate on *P. xylostella* larvae was significantly reduced. Although the pepper extract at the highest 5% concentration was used, only 36.67% mortality of *P. xylostella* larvae was found. This unpredicted result was probably caused by the effect of the long term storage of plant extracts.

The chili extract at concentration of 2, 3, 4, and 5% was high efficiency result to control common cutworm; however, their efficiency results could be divided into 2 groups: the lower concentrations (2 and 3%) controlled insects only 86.67% which less than the higher concentrations (4 and 5%) showed completely control result (100% mortality). The dermal LC_{50} for this insect was at the concentration of 0.4295%. The efficiency of pepper extract was very low on the common cutworm. Although the high concentration (5%) was used, only 16.67% mortality was determined.

When the mixture of chili and pepper at concentration of 0.5, 1, 2, 3, 4 and 5% was used on larvae of *P. xylostella* and *S. litura*, no effect was found on the oral trail and better control was found on the dermal trial. The mortality of *P. xylostella* larvae at 56.67 and 63.33% were determined, when concentration of extract at 4 and 5% had been applied. The trial result on common cutworm was as likely as the result of chili extract alone. The mortality rate of insects was insignificant difference among the concentration rates at 3, 4, 5% and the highest mortality (96.67%) was found from the concentration at 5%.

The comparison on the efficiency of pepper, chili and the mixture of Indian long pepper and derris on larvae of *P. xylostella* and *S. litura* by direct spray technique found that chili extract at concentration of 4% was fare control of *P. xylostella* larvae (66.67%); however, better control result found on common cutworm (86.67% mortality) at the concentration of 3%. The mixture of Indian long pepper and derris was well control *P. xylostella* larvae (93.33% mortality after application 24 hours) but lower toxic on common cutworm (23.33% mortality). The pepper showed very low mortality rate on both insects.

6.3 Phytotoxicity trial of plant extracts on crucifer crop

No severe phytotoxic evident occurred on crucifer crop after application of both plant extracts at all concentrations especially leaf bright. Only decoloration and dewaxation were determined on the leaf. The stingy smell of the plant extracts on crucifer leaf may unpreferable for the farmers, although it was gone from the leaf after 3 days of application. The taste of treated crucifer leaves was as the same as normal.

บทคัดย่อ
ABSTRACT

ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกและพริกไทยในการควบคุมโรคและ แมลงศัตรูพืชผักตระกูลกะหล่ำ

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกและพริกไทยในการควบคุมโรคและแมลงศัตรูที่สำคัญของพืชผักตระกูลกะหล่ำ ได้ดำเนินการ ณ ห้องปฏิบัติการของภาควิชาโรคพืชและภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2548 – ธันวาคม 2549 ผลการทดสอบสารสกัดจากพริกและพริกไทยในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* สาเหตุโรคเน่าดำของกะหล่ำ พบว่า การบ่มเชื้อในสารสกัดได้ผลดี โดยที่สารสกัดจากพริก ระดับความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดปริมาณของโคโลนีของเชื้อได้ถึง 99.73 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ระดับความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งได้ 87.33 เปอร์เซ็นต์ สำหรับสารสกัดจากพริกไทยนั้น นอกจากจะสามารถทำให้เชื้อเจริญได้ช้ากว่าปกติ 12-24 ชั่วโมง เช่นเดียวกับสารสกัดจากพริกแล้ว ยังพบว่าให้ผลยับยั้งการเจริญของเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพมากเท่าเทียมกันทั้งระดับความเข้มข้น 3.0, 1.5 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ โดยสามารถยับยั้งเชื้อได้ 99.99, 99.95 และ 99.16 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เช่นเดียวกับสารสกัดผสมของพริกและพริกไทยทั้ง 3 ความเข้มข้นที่ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีมากถึง 100 เปอร์เซ็นต์

สำหรับผลของการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดของกะหล่ำ โดยวิธีแช่ culture disc ในสารสกัดแล้วเลี้ยงบนอาหาร PDA และวัดขนาดของโคโลนีนั้น พบว่าสารสกัดจากพริก และสารสกัดจากพริกไทย ทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ในช่วง 3-5 วันแรกของการทดลอง แต่เมื่อเลี้ยงนาน 15 วัน จะมีเพียงระดับความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้นที่ยังได้ผล อย่างไรก็ตามการทดลองด้วยสารผสมของสารสกัดจากพริกและพริกไทยให้ผลการยับยั้งที่ดีกว่าการใช้สารสกัดเพียง 1 ชนิด โดยพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ทุกระยะเวลาของการทดลอง โดยที่ระดับความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลการยับยั้งสูงสุด รองลงมาได้แก่ 1.5 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบลักษณะการเจริญของโคโลนีของเชื้อมีการเจริญของเส้นใยบนผิวอาหารบาง ไม่นหนาแน่น และยังพบวงสีเข้มของการสร้างสปอร์น้อยลงอย่างเห็นได้ชัดเจน เมื่อตรวจสอบการเจริญของเชื้อได้กล้องจุลทรรศน์พบการเจริญผิดปกติของเส้นใยโดยเฉพาะสามารถตรวจพบการสลายตัวของปลายเส้นใยของเชื้อราที่เจริญในสารสกัดผสมที่ระดับความเข้มข้น 1.5 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นจำนวนมากซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เชื้อลดการเจริญลงอย่างชัดเจน

ในการทดสอบกับแมลงศัตรูพืช พบว่า สารสกัดจากพริกและพริกไทยเมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพกับหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผักโดยวิธีจุ่มใบพืช แล้วนำมาให้หนอนกินเป็นอาหารเพื่อทดสอบฤทธิ์ทางการกิน พบว่า สารสกัดจากพริกและพริกไทยทุกระดับความเข้มข้น ไม่มีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนทั้งสองชนิด แต่เมื่อทดสอบฤทธิ์ทางสัมผัส พบว่า สารสกัดจากพริกที่ระดับความเข้มข้น 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนใยผักดีไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยการตายของหนอน 63.33 - 76.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีค่า LC_{50} (ทางสัมผัส) เท่ากับ 2.3372 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารสกัดจากพริกไทยที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ฆ่าหนอนใยผักได้สูงสุดเพียง 36.67 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการทดสอบกับหนอนกระทู้ผัก พบว่า สารสกัดจากพริกมีประสิทธิภาพดีเยี่ยม โดยที่ความเข้มข้น 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถฆ่าหนอนกระทู้ผักตายได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับสารสกัดจากพริกที่ความเข้มข้น 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ที่มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนเท่ากันคือ 86.67 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 12 ชั่วโมงหลังการพ่นสาร โดยมีค่า LC_{50} (ทางสัมผัส) เท่ากับ 0.4295 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารสกัดจากพริกไทยไม่มีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนกระทู้ผัก โดยที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ฆ่าหนอนได้สูงสุดเพียง 16.67 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำสารสกัดผสมระหว่างสารสกัดพริกกับพริกไทย ไปทดสอบประสิทธิภาพกับหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผัก พบว่า ผลการทดสอบเป็นไปในลักษณะเดียวกับการใช้สารสกัดจากพริกแต่เพียงลำพัง

เมื่อนำสารสกัดจากพริกและพริกไทยไปพ่นต้นคะน้าเพื่อทดสอบความเป็นพิษกับพืช พบว่า สารสกัดทุกความเข้มข้นที่ทดสอบไม่ทำให้คะน้าแสดงอาการผิดปกติเกิดขึ้น โดยเฉพาะอาการใบไหม้ และเมื่อพ่นสารสกัดไปแล้ว 3 วัน ใบคะน้าไม่มีกลิ่นของสารสกัด และรสชาติก็ไม่ต่างไปจากใบคะน้าปกติ

Efficacy of Chili and Pepper Extracts in Controlling Disease and Insect Pests of Crucifer Crop

Abstract

The efficacy tests of chili and pepper extracts in controlling crucifer diseases and insect pests were carried out at the laboratory of Plant Pathology Department and Entomology Department, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University during November 2005 – December 2006.

The antibacterial and antifungal effects of chili and pepper extracts on black rot pathogen (*Xanthomonas campestris*) and leaf spot pathogen (*Alternaria brassicicola*) were performed with the colony counting and culture disc soaking methods respectively. Evaluations of the chili extract activity indicated significant inhibition at high concentration of 3.0 % on both pathogens but the lower concentration at 1.5 % still active only on the bacteria. While chili extract was very active against bacteria even the concentration was decreased to 0.75 %. Therefore, mixture of the extracts were improved antifungal activities. In addition, microscopic observation on fungal growth performed on slide culture of WA supplemented with each extract and the mixture showed the same clearly results of morphological disorder of mycelia and conidia germ tube developments.

The efficacy test on crucifer insect pests revealed that oral toxicity test of chili and pepper extracts on larvae of diamondback moth (DBM) (*Plutella xylostella*) and common cutworms (*Spodoptera litura*) by leaf dipping method indicated that all concentrations of chili and pepper extracts had no efficiency in controlling the both larvae. In dermal toxicity test on DBM larvae, chili extract at concentrations of 3, 4 and 5 % gave the same control efficiency with mortality of 63.33 – 76.67 % and dermal LC_{50} value was 2.3372 %. Pepper extract had less efficiency than chili extract, with maximum mortality of 33.67 % at 5 % concentration. For common cutworm, chili extract showed excellent efficiency at concentrations of 4 and 5 % giving 100 % larval mortality, but were not significant difference from 2 and 3 % concentration which resulted in 86.67 % larval mortality at 12 hours after applying the extract. Dermal LC_{50} value of chili extract was 0.4295 %. Pepper

(4)

extract had no efficiency giving only 16.67 % at the maximum concentration (5%). In addition, mixture of chili and pepper extracts were also tested on both larvae by oral and dermal toxicity test methods. The results indicated that the efficacy of the mixture was in the same way of chili extract.

Chili and pepper extracts were sprayed on Chinese kale for phytotoxicity test and the result revealed that both extracts did not cause phytotoxicity on the plant. Three days after spraying, no odor of the plant extracts on tested plants and plant taste was usual.

เนื้อหางานวิจัย

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 1 : บทนำ	1
บทที่ 2 : การทดสอบกับเชื้อสาเหตุโรคพืช	3
บทที่ 3 : การทดสอบกับแมลงศัตรูพืช	20
บทที่ 4 : การทดสอบความเป็นพิษกับพืช	46
บทที่ 5 : สรุปและข้อเสนอแนะ	52
ภาคผนวก	54
ตารางเปรียบเทียบกิจกรรมที่วางแผนไว้ และกิจกรรมที่ดำเนินการมา และผลที่ได้รับตลอดโครงการ	55
กิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับการนำผลจากโครงการไปใช้ประโยชน์	59

บทที่ 1 : บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญ

อุปสรรคสำคัญประการหนึ่งของการปลูกพืชในประเทศไทย คือความเสียหายอันเนื่องมาจากการเข้าทำลายของศัตรูพืช ซึ่งได้แก่ โรคและแมลง เกษตรกรมักแก้ปัญหาเหล่านี้ด้วยการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช ดังจะเห็นจากสถิติปริมาณนำเข้าสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้เพิ่มขึ้นทุกปี จากข้อมูลล่าสุดในปี พ.ศ. 2546 มีการนำเข้ามาเป็นปริมาณ 95,760.71 ตัน คิดเป็นมูลค่า 12,896.72 ล้านบาท (กรมวิชาการเกษตร, 2550) ถึงแม้ว่าจะสามารถใช้ได้อย่างสะดวกและเห็นผลของการควบคุมรวดเร็วก็ตาม แต่ปัญหาที่เกิดขึ้นก็คือสารเคมีเหล่านี้เป็นอันตรายต่อผู้ใช้ ตกค้างอยู่ในผลิตผลทางการเกษตรซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคโดยตรง อีกทั้งยังสามารถสะสมอยู่ในสภาพแวดล้อม ก่อให้เกิดผลกระทบทางนิเวศวิทยานานัปการ

พืชผักตระกูลกะหล่ำ เช่น คะน้า กะหล่ำปลี ผักกาดขาวปลี เป็นต้น เป็นพืชผักที่ประชาชนนิยมบริโภคกันมาก ในการผลิตพืชผักเหล่านี้ เกษตรกรต้องใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชบ่อยครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดโรคและแมลงที่ระบาดทำความเสียหายแก่พืชผัก นอกจากนี้ มีเกษตรกรบางรายไม่ปฏิบัติตามคำแนะนำของฉลากทั้งอัตราที่ใช้และความถี่ของการฉีดพ่น และการไม่ทิ้งระยะเวลาก่อนการเก็บเกี่ยว ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้พบพิษตกค้างของสารฆ่าแมลงในพืชผักชนิดต่าง ๆ เป็นจำนวนมากและในปริมาณสูง ดังรายงานของ จินตนา และคณะ (2545) ที่ได้สุ่มเก็บตัวอย่างพืชผักตระกูลกะหล่ำ 7 ชนิดจากแหล่งจำหน่ายทุกภาคทั่วประเทศ ระหว่างปี พ.ศ. 2543-2544 พบสารพิษตกค้างชนิดต่าง ๆ คิดเป็น 41% จากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด โดยคะน้าเป็นผักที่พบสารพิษตกค้างถึง 14 ชนิด และเกินค่า Maximum residue limit (MRL) มากที่สุด และสารพิษตกค้างที่ตรวจพบมากที่สุด ได้แก่ สารฆ่าแมลง methamidophos, cypermethrin และ chlorpyrifos ตามลำดับ

การนำสารสกัดจากพืชที่มีคุณสมบัติเป็นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชมาใช้ควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืช ก็เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบัน เนื่องจากสารสกัดจากพืชเหล่านี้ค่อนข้างปลอดภัยต่อผู้ใช้และผู้บริโภค รวมทั้งเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม หากสามารถหาสารสกัดจากพืชมาใช้ควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืชผักตระกูลกะหล่ำอย่างได้ผลดีและมีประสิทธิภาพแล้ว เกษตรกรก็จะมีทางเลือกเพิ่มมากขึ้นในการที่จะใช้สารสกัดเหล่านี้แทนการใช้สารเคมีฆ่าแมลง ซึ่งสอดคล้องกับนโยบายของรัฐบาลที่ต้องการให้ประชาชนบริโภคอาหารที่ปลอดภัยและทำให้ชีวิตปลอดภัย นอกจากนี้ ยังช่วยประหยัดเงินตราของรัฐในการนำเข้าสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชจากต่างประเทศอีกด้วย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกและพริกไทยในการควบคุมโรคเน่าดำ (black rot) ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* และโรคใบจุด (leaf spot) ที่เกิดจากเชื้อ *Alternaria brassicicola* ในระดับห้องปฏิบัติการ
2. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกและพริกไทยในการควบคุมหนอนใยผัก (diamondback moth, *Plutella xylostella* L.) และหนอนกระทู้ผัก (common cutworm, *Spodoptera litura* (F.)) ในระดับห้องปฏิบัติการ

บทที่ 2 : การทดสอบกับเชื้อสาเหตุโรคพืช

การตรวจเอกสาร

การนำส่วนต่าง ๆ ของพืชมาใช้เป็นยารักษาโรคของมนุษย์นั้น เป็นที่รู้จักกันมาแต่โบราณกาล แต่การนำมาใช้ประโยชน์เพื่อการควบคุมโรคพืชนั้นเกิดขึ้นในภายหลัง เช่น สารสกัดจากใบสะเดา อินเดีย (*Azadirachta indica*) สามารถยับยั้งการงอกของ urediospore ของเชื้อ *Ceratium fici* สาเหตุโรคราสนิมของหม่อนได้ 91.2% (Sarvamangala *et al.*, 1993) หรือ สารสกัดจากवानไพ ชมันเครือ กังคิน้อย หัวข่า สิง ไตตุน พะยอม หัวไพล แก่นคลี ดีปลีเชือก และประดู่ สามารถควบคุม การเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 12 ชนิด จาก 10 สกุล ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (วิชัย และชัยณรงค์, 2536) สำหรับการนำสารสกัดจากพริกไทยในการควบคุมเชื้อโรคพืชนั้น สุมาลี และคณะ (2540) รายงานว่า สารพิเมอรินจากเมล็ดพริกไทยดำสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกของ สปอร์ของเชื้อรา *Alternaria brassicicola* Schuw. สาเหตุโรคใบจุดของคะน้า ได้ดีที่สุด รองลงมา ได้แก่ น้ำมันเมล็ด ส่วนสารสกัดจากใบกระต่ายและผลมะคำดีควาย มีผลในการยับยั้งน้อยที่สุด ส่วนสารสกัดจากพริกยังไม่พบรายงานว่ามีผลนำไปใช้ควบคุมโรคของพืชตระกูลกะหล่ำ

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมเชื้อสาเหตุโรคพืช

1. เชื้อสาเหตุโรคเน่าดำ

เก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการโรคเน่าดำ นำมาแยกเชื้อ *Xanthomonas campestris* และนำเชื้อที่ได้ไปเลี้ยงบนอาหาร NA โดยการ streak plate เมื่อพบโคโลนีเดี่ยว (single colony) เจริญบน ผิวน้ำอาหาร ใช้ loop ย้ายโคโลนีเดี่ยวที่มีลักษณะกลมเป็นมัน สีเหลืองอ่อนไปเลี้ยงในอาหารใหม่ โดยการวิธี streak plate อีกครั้ง และเมื่อได้โคโลนีเดี่ยวเช่นเดียวกับครั้งแรก จึงนำเชื้อที่ได้ไปเก็บไว้ใน น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ ในหลอดทดลอง เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2. เชื้อสาเหตุโรคใบจุด

นำใบคะน้าที่เป็นโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อ *Alternaria brassicicola* มาแยกเชื้อสาเหตุของโรค จากนั้นนำเชื้อที่แยกได้ไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เมื่อเชื้อเจริญ แยกเชื้อบริสุทธิ์ โดยใช้ capillary ตัดปลายเส้นใย (hyphal tip isolation) เลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อบน PDA ซึ่งเป็นอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช

1. การเตรียมสารสกัดจากพริก พริกไทย และสารผสมของสารสกัดพริกและพริกไทย

1) เตรียมสารสกัดจากพริก 3 ความเข้มข้น คือ 3.0, 1.5 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ น้ำเป็น ตัวทำละลาย

2) เตรียมสารสกัดจากพริกไทย 3 ความเข้มข้น คือ 3.0, 1.5 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้เอทิล แอลกอฮอล์ 99 เปอร์เซ็นต์ ทำละลายก่อน แล้วจึงจะผสมน้ำกลั่นเพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ

3) เตรียมสารผสมของสกัดจากพริกและพริกไทย โดยเตรียมเช่นเดียวกับข้อ 1) และ 2) แต่เพิ่มความเข้มข้นแต่ละสารเป็น 6.0 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำสารสกัดทั้งสองชนิดในปริมาตรที่เท่ากัน มารวมกัน แล้วจึงเจือจางด้วยน้ำกลั่นมาเพื่อให้ได้สารสกัดผสมตามต้องการที่ความเข้มข้น 3.0, 1.5 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ก่อนการทดลองนำสารสกัดทั้ง 3 ชนิด ที่เตรียมได้ตามข้อ 1), 2) และ 3) ไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave เพื่อใช้ในการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดผสมต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช โดยแต่ละความเข้มข้น จะทดลอง 4 ซ้ำ และใช้น้ำกลั่นในกรณีกรรมวิธีเปรียบเทียบ

2. ตรวจวัดการเจริญของเชื้อ *Xanthomonas campestris*

2.1 การตรวจนับโคโลนีของเชื้อหลังการบ่มเชื้อในสารสกัด

นำเชื้อแบคทีเรียที่เก็บในน้ำกลั่นมาเชื้อมาเลี้ยงโดยวิธี streak plate บนอาหาร NA เลี้ยง นาน 48 ชั่วโมง เพื่อเตรียม cell suspension ของเชื้อ โดยใช้ loop ตะ เชื้อ 1 โคโลนี มาใส่ในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร เขย่าเชื้อให้กระจายทั่ว แล้วจึงนำ cell suspension ของเชื้อที่เตรียมได้ จำนวน 0.1 มิลลิลิตร มาใส่ลงหลอดแก้วที่บรรจุ 1 มิลลิลิตร ของสารสกัดพริก พริกไทย และสารผสม บ่มเชื้อไว้ นาน 5 นาที จากนั้นนำเชื้อ 0.1 มิลลิลิตร ที่ผ่านการบ่มในสารสกัดพริก พริกไทย และสารผสม ไปเลี้ยง โดยวิธี spread plate บนอาหาร NA เลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 48 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่ เจริญบนผิวหน้าอาหาร เปรียบเทียบกับกรรมวิธีเปรียบเทียบ

2.2 การตรวจผลของการสกัดต่อความงอก และการควบคุมโรคของเมล็ด

นำเมล็ดค่น้ำมาแช่ในสารสกัดจากพริก และสารสกัดจากพริกไทย ความเข้มข้น 3, 1.5 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำเมล็ดวางผึ่งให้แห้ง ย้ายเมล็ดวางบนกระดาษชั้นในจาน และวางในจานอาหาร WA บ่มจานเพาะเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ตรวจดูความงอก ของเมล็ดค่น้ำ โดยนับจำนวนเมล็ดค่น้ำที่มีการเจริญเปรียบเทียบกับกรรมวิธีเปรียบเทียบที่ใช้น้ำ กลั่น แต่ละกรรมวิธีทำ 2 ซ้ำ ๆ ละ 100 เมล็ด

กรณีการทดสอบผลของการควบคุมโรคที่ติดมากับเมล็ดนั้นทดลองโดยนำเมล็ดคะน้ามาฆ่าเชื้อที่ผิวโดยแช่ใน Clorox 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที แล้วล้างเมล็ดด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ผึ่งเมล็ดให้แห้ง จากนั้นนำไปแช่ในสารแขวนลอย ของเชื้อ *X. campestris* ผึ่งเมล็ดให้แห้ง แล้วนำไปแช่ในสารสกัดจากพริกที่ความเข้มข้น 3 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดจากพริกไทยที่ความเข้มข้น 3, 1.5 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ ย้ายเมล็ดไปเพาะบน WA ตรวจนับต้นกล้าที่งอกที่มีการเข้าทำลายของเชื้อ สำหรับกรรมวิธีเปรียบเทียบหลังจากฆ่าเชื้อที่ผิวของเมล็ดจะแช่เมล็ดในสารแขวนลอยแบคทีเรียโดยไม่ได้ผ่านการแช่ในสารสกัด ทดลองกรรมวิธีละ 50 เมล็ด ทำ 2 ซ้ำ

3. การตรวจวัดการเจริญของเชื้อ *Alternaria brassicicola*

3.1 ขนาดโคโลนีของเชื้อหลังแช่ culture disc ในสารสกัด

นำ culture disc ของเชื้อ *A. brassicicola* มาแช่ในสารสกัดแต่ละชนิด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ นาน 10 นาที แล้วจึงใช้ loop ย้าย culture disc มาวางบนอาหาร PDA ทำอย่างละ 4 ซ้ำ ตรวจดูและวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ บันทึกผลเปรียบเทียบกับกรรมวิธีเปรียบเทียบที่ใช้ culture disc ของเชื้อที่แช่ในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแทนสารสกัด

3.2 ลักษณะการเจริญของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เลี้ยงเชื้อรา *A. brassicicola* โดยวิธี slide culture บนชิ้นวุ้น WA (water agar) ที่เตรียมโดยการผสมสารสกัดจากพริก พริกไทย และสารสกัดผสม ความเข้มข้น 3.0, 1.5 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ โดยการตัดชิ้นวุ้นดังกล่าวให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตรวางบนสไลด์ นำเชื้อมาแตะที่ขอบทั้ง 4 ของชิ้นวุ้น ปิดทับด้วย cover slip บ่มเชื้อในสภาพปลอดเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ตรวจดูการเจริญของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีเปรียบเทียบที่ไม่ได้ผสมสารสกัดลงใน WA

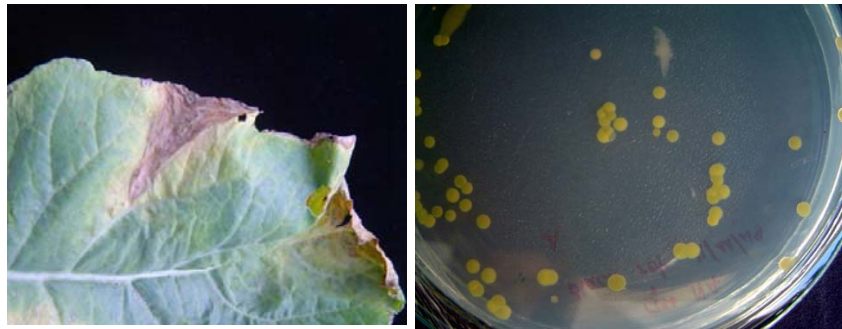
ผลการทดลองและวิจารณ์

การเตรียมเชื้อสาเหตุ

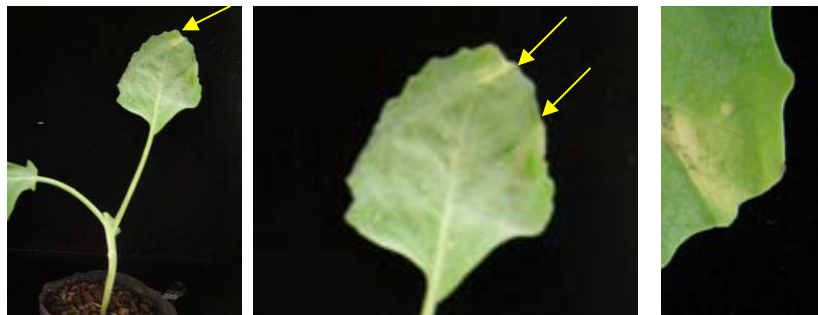
1. เชื้อสาเหตุโรคเน่าดำ

จากการนำตัวอย่างใบกะหล่ำที่แสดงอาการโรคเน่าดำ ที่มีลักษณะแผลเป็นสีน้ำตาลรูปตัว V ลามจากขอบใบ ปลายแหลมชี้เข้าสู่เส้นกลางใบ มีแถบสีเหลืองล้อมรอบแผล เมื่อนำมา แยกเชื้อพบโคโลนีของแบคทีเรียหลายแบบ เลือกโคโลนีเดี่ยวๆ ที่มีลักษณะกลม นูน ขอบเรียบ เป็นมัน สีเหลือง ซึ่งเป็นลักษณะของเชื้อ *Xanthomonas campestris* ที่เจริญบนอาหาร NA ที่ผสมน้ำตาลกลูโคส (ภาพที่ 2.1) แยกเชื้อบริสุทธิ์ให้ได้โคโลนีเดี่ยวเช่นเดิมอีกครั้ง แล้วเพิ่มปริมาณ และนำไปปลูกเชื้อลง

บนกล้าคะน้าเพื่อยืนยันสาเหตุโรค ซึ่งพบว่าเชื้อที่แยกได้สามารถทำให้ต้นกล้าแสดงอาการแผลโรคเน่าดำของกะหล่ำเช่นเดียวกับตัวอย่างโรคที่นำมาศึกษา (ภาพที่ 2.2)



ภาพที่ 2.1 อาการแผลรูปตัว V ของโรคเน่าดำกะหล่ำ (ซ้าย) ที่เกิดจากเชื้อ *Xanthomonas campestris* ที่มีโคโลนีเดี่ยว ๆ ลักษณะกลม นูน ขอบเรียบ เป็นมัน สีเหลืองบนอาหาร NA (ขวา)

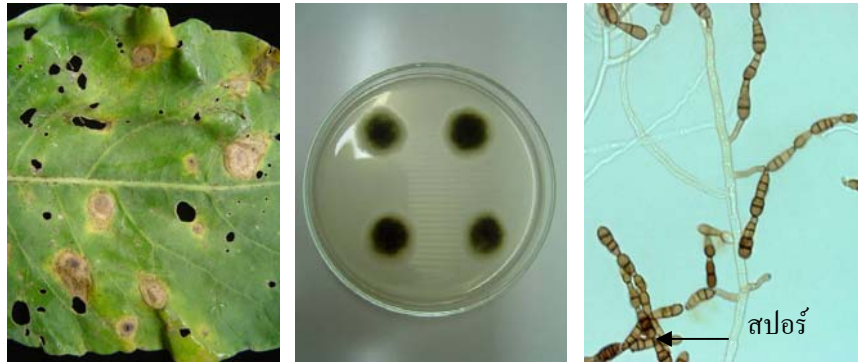


ภาพที่ 2.2 แผลรูปตัว V ของต้นกล้าคะน้า หลังการปลูกเชื้อ *Xanthomonas campestris* 10 วัน

2. เชื้อสาเหตุโรคใบจุด

ลักษณะของอาการโรคใบจุดของคะน้าที่เกิดจากเชื้อ *Alternaria brassicicola* พบแผลลักษณะเป็นวงซ้อนกัน สีน้ำตาล มีผงสีดำของสปอร์เชื้อรากระจายอยู่บนแผล เมื่อนำมาแยกเชื้อโดยวิธีแยกสปอร์เดี่ยวจากแผลโรคโดยตรง (Direct single spore isolation) เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เมื่อเชื้อเจริญ แยกเชื้อบริสุทธิ์ โดยใช้ capillary ตัดปลายเส้นใย (hyphal tip isolation) เพิ่มปริมาณเชื้อบน PDA ซึ่งเป็นอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา พบว่าโคโลนีของเชื้อมีสีเขียวมะกอกอมเทา เมื่อตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบเส้นใยมีผนังกันตามขวาง สร้างก้านชูสปอร์สีน้ำตาล สปอร์สีน้ำตาลเข้ม ผนังหนา มีผนังกันตามขวาง เกิดต่อกันเป็นลูกโซ่ ไม่พบผนังกัน

ตามยาวของสปอร์ (ภาพที่ 2.3) การศึกษาความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อ *A. brassicicola* โดยการปลูกเชื้อ ด้วยการฉีดพ่น spore suspension เข้มข้น 1×10^4 สปอร์/มิลลิลิตร ลงบนใบกล้าคะหน้าอายุ 2 สัปดาห์ หลังการปลูกเชื้อ 7 วัน พบอาการใบจุดเนื้อเยื่อตาย และแผลมีลักษณะคล้ายเป่ากระสุน มีจุดสีดำบริเวณกลางแผลเช่นเดียวกับสภาพแผลโรคที่พบในธรรมชาติ (ภาพที่ 2.4)



ภาพที่ 2.3 แผลแบบเป่ากระสุนของโรคใบจุดกะหล่ำ (ซ้าย) ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA (กลาง) เส้นใยและสปอร์ (ขวา) ของเชื้อ *Alternaria brassicicola* ที่เลี้ยงได้จากแผลโรค



ภาพที่ 2.4 อาการแผลคล้ายเป่ากระสุนบนใบกล้าคะหน้า หลังปลูกเชื้อ *Alternaria brassicicola* 7 วัน

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรผสมต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช

1. การเตรียมสารสกัดพริก พริกไทย และสารสกัดผสม

สารสกัดจากผลพริกซึ่งซื้อมาจากองค์การเภสัชกรรม กรุงเทพฯ และสารสกัดจากพริกไทยได้รับความอนุเคราะห์จากโครงการ “การพัฒนามลิตภัณฑ์เพื่อใช้เป็นยาฆ่าแมลง” ของสำนักงานโครงการสมุนไพร สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

การเตรียมสารสกัดจากพริก ซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลดำและมีของเหลวสีส้มแดงลอยเป็นชั้นบาง ๆ อยู่ข้างบน พบว่าสามารถใช้น้ำเป็นตัวทำละลายได้โดยง่ายและมีสารแขวนลอยขนาดเล็กจำนวนมากทำให้สารสกัดที่เตรียมได้ทั้ง 3 ความเข้มข้น มีลักษณะค่อนข้างขุ่น

การเตรียมสารสกัดจากพริกไทยซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีดำและมีของเหลวสีเขียวคล้ำลอยเป็นชั้นบาง ๆ อยู่ข้างบน พบว่าไม่สามารถใช้น้ำเป็นตัวทำละลายได้ จึงใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 99 เปอร์เซ็นต์ ทำละลายก่อน การละลายค่อนข้างช้า จากนั้นผสมน้ำกลั่นเพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ พบว่า เมื่อเติมน้ำกลั่นลงไปสารสกัดจะมีลักษณะสีขาวคล้ายน้ำมันและจะเกิดชั้นของน้ำมันสีเขียวคล้ำลอยอยู่ด้านบนเป็นจำนวนมาก จึงได้กรองเอาชั้นของน้ำมันสีเขียวคล้ำออกไป

การเตรียมสารสกัดผสมโดยการนำสารสกัดทั้งสองชนิดที่เตรียมไว้ที่มีความเข้มข้น 6.0 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาตรที่เท่ากันมารวมกัน พบว่าสารสกัดทั้งสองชนิดสามารถรวมเป็นเนื้อเดียวกันได้ดี

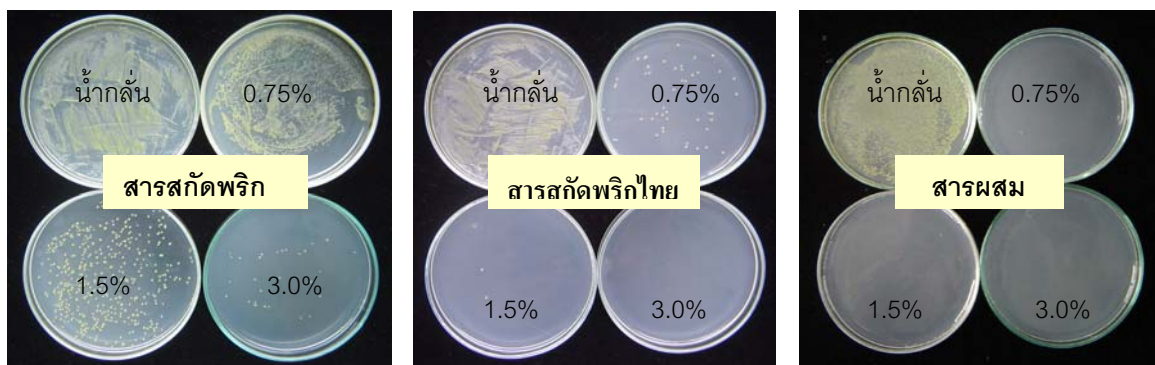
เมื่อนำสารสกัดทั้ง 3 ชนิดไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยวิธี autoclave เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่น พบว่าลักษณะทั่วไปของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด ไม่เปลี่ยนแปลง

2. ตรวจวัดการเจริญของเชื้อ *Xanthomonas campestris*

2.1 การตรวจนับโคโลนีของเชื้อหลังการบ่มเชื้อในสารสกัด

จากการบ่มเชื้อ *X. campestris* ในสารสกัดจากพริก พริกไทย และสารผสม โดยเตรียม cell suspension ของเชื้อ ในน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 1 โคโลนีต่อน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร จากนั้น จึงนำ cell suspension ของเชื้อที่เตรียมได้มา 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงหลอดแก้วที่บรรจุ 1 มิลลิลิตร ของสารสกัดผสม เข้มข้น 3.0, 1.5 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ บ่มเชื้อไว้นาน 5 นาที แล้วจึงนำ 0.1 มิลลิลิตร ของ cell suspension ของเชื้อที่ผ่านการบ่มในสารสกัดผสมมาเลี้ยงบนอาหาร NA โดยวิธี spread plate เลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 48 ชั่วโมง พบว่า เริ่มตรวจพบการเจริญของโคโลนีขนาดเล็กของเชื้อในกรรมวิธีเปรียบเทียบ (check) ภายใน 12 ชั่วโมง และเพิ่มความหนาแน่นของโคโลนีขึ้นจนเต็มผิวหน้าอาหารภายใน 24 ชั่วโมง แต่ไม่สามารถตรวจพบการเจริญของเชื้อที่บ่มในสารสกัดจากพริก หรือพริกไทยในทุกความเข้มข้นได้ แต่เมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 36 ชั่วโมง พบว่าเริ่มมีการเจริญของเชื้อบนผิวหน้า

ของอาหารในกรรมวิธีที่บ่มเชื้อในสารสกัดจากพริกความเข้มข้น 0.75 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเลี้ยงนาน 48 ชั่วโมง สามารถตรวจพบโคโลนีของเชื้อในกรรมวิธีที่บ่มในสารสกัดจากพริก หรือพริกไทยทุกความเข้มข้น โดยจำนวนโคโลนีของเชื้อที่ผ่านการบ่มในสารสกัดจากพริกไทย จะมีจำนวนน้อยกว่าเชื้อที่ผ่านการบ่มในสารสกัดจากพริกอย่างเห็นได้ชัดเจน แต่เมื่อบ่มเชื้อในสารผสม พบว่า ไม่สามารถตรวจพบการเจริญของโคโลนีของเชื้อ แม้จะบ่มเชื้อไว้เป็นเวลานานถึง 1 สัปดาห์ก็ตาม (ภาพที่ 2.5)



ภาพที่ 2.5 ลักษณะการเจริญ และความหนาแน่นของโคโลนีของเชื้อ *Xanthomonas campestris* ที่บ่มเชื้อในสารสกัดจากพริก หรือพริกไทย และสารสกัดผสมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ก่อนนำมาเลี้ยงบนอาหาร NA นาน 48 ชั่วโมง

เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของจำนวนโคโลนีของเชื้อ *X. campestris* ที่ผ่านการบ่มในสารสกัดจากพริก พบว่า ที่ความเข้มข้น 3.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดจำนวนโคโลนีของเชื้อ ได้แตกต่างจากกรรมวิธีเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่ความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้สูงสุด รองลงมาได้แก่ ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ความเข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ มีผลยับยั้งไม่แตกต่างจากกรรมวิธีเปรียบเทียบ สำหรับการจำนวนโคโลนีของเชื้อหลังบ่มในสารสกัดจากพริกไทยนั้น พบว่า สารสกัดจากพริกไทยแต่ละระดับความเข้มข้น สามารถลดจำนวนโคโลนีของเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน แต่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้แตกต่างจากกรรมวิธีเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 จำนวนโคโลนีเฉลี่ยของเชื้อ *Xanthomonas campestris* ที่บ่มเชื้อในสารสกัดจาก
พริกหรือพริกไทย ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วเลี้ยงบนอาหาร NA นาน 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของ สารสกัด (%)	จำนวนโคโลนีเฉลี่ยของเชื้อ <i>X. campestris</i> (โคโลนี) ^{1/}	
	พริก	พริกไทย
3.00	16.50 ^a	0.25 ^a
1.50	772.00 ^b	3.00 ^a
0.75	5,922.00 ^c	51.00 ^a
check	6,093.00 ^c	6,093.00 ^b

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ
ทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยวิธี LSD

อย่างไรก็ตามเพื่อเป็นการตรวจหาระดับความเข้มข้นของสารผสมที่น้อยที่สุดที่จะสามารถ
ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *X. campestris* จึงได้ทดสอบโดยการแช่เชื้อลงในสารผสมที่ลดปริมาณความ
เข้มข้นลงจากเดิมเป็น 0.4, 0.2 และ 0.1 เปอร์เซนต์ ก่อนนำไปเลี้ยงบนอาหาร NA เช่นเดียวกับวิธีที่ได้
กล่าวข้างต้น แต่ก็ยังพบว่า ที่ระดับความเข้มข้นทั้ง 3 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้แตกต่างจาก
กรรมวิธีเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยแต่ละความเข้มข้นให้ค่าการยับยั้งไม่แตกต่างกัน
(ตารางที่ 2.2)

ตารางที่ 2.2 จำนวนโคโลนีเฉลี่ยของเชื้อ *Xanthomonas campestris* ที่บ่มเชื้อในสารผสมของ
สารสกัดจากพริกและพริกไทยความเข้มข้นต่าง ๆ เลี้ยงบนอาหาร NA นาน 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารผสม (%)	จำนวนโคโลนีเฉลี่ยของเชื้อ <i>X. campestris</i> (โคโลนี) ^{1/}
0.1	585.50 ^b
0.2	574.00 ^b
0.4	547.75 ^b
check	893.50 ^a

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ
ทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยวิธี LSD

2.2 การตรวจผลของการสกัดต่อความงอก และการควบคุมโรคของเมล็ด

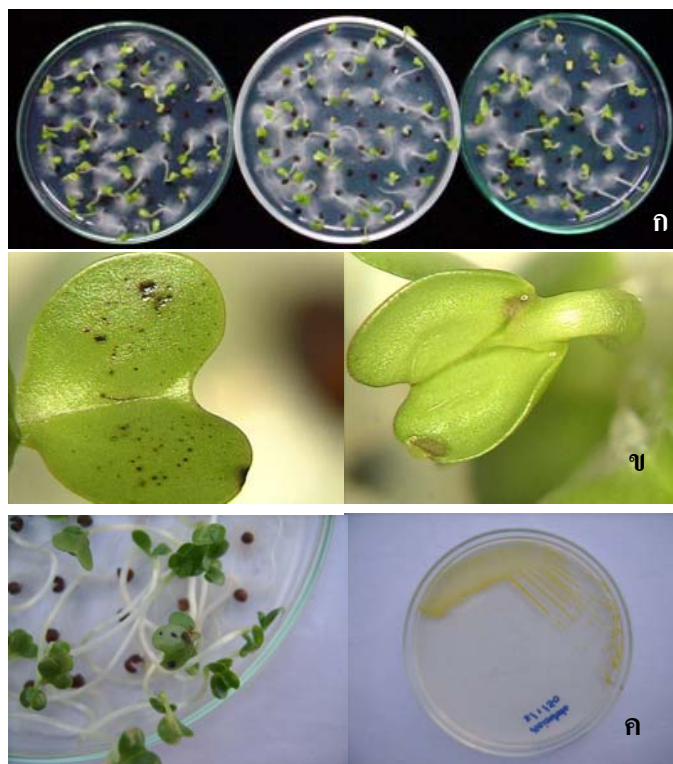
จากการเพาะเมล็ดค่น้ำที่ผ่านการแช่ในสารสกัดจากพริกและพริกไทยบนกระดาษขึ้น และเพาะเมล็ดบนอาหาร WA พบว่าความงอกของเมล็ดค่น้ำที่ผ่านการแช่ในสารสกัดจากพริกความเข้มข้น 3 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดเท่ากับ 89 และ 90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากพริกไทยที่ความเข้มข้น 3, 1.5 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเท่ากับ 91, 87 และ 92 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งพบว่ามีค่าใกล้เคียงกับกรรมวิธีเปรียบเทียบที่มีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดเท่ากับ 93 เปอร์เซ็นต์ ทำนองเดียวกันเดียวกับการเพาะเมล็ดบน WA ที่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด เท่ากับ 78, 80 และ 87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่กรรมวิธีเปรียบเทียบมีเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดเท่ากับ 88 เปอร์เซ็นต์

ในการทดลองการควบคุมโรคที่ติดมากับเมล็ด พบว่า เมื่อนำเมล็ดค่น้ำที่ได้รับการปลูกเชื้อ *X. campestris* มาแช่ในสารสกัดจากพริกความเข้มข้น 3 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดจากพริกไทย ความเข้มข้น 3, 1.5 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดี แล้วจึงย้ายเมล็ดไปเพาะบนอาหาร WA เมื่อเมล็ดค่น้ำงอกอายุ 1 สัปดาห์ จะพบแผลบนใบเลี้ยงลักษณะเป็นจุดสีเหลืองต่อมาแผลจะเปลี่ยนเป็นสีดำ ในสัปดาห์ที่ 2 แผลจะขยายใหญ่ขึ้น สามารถมองเห็นเนื้อเยื่อใบเลี้ยงบริเวณที่ถูกทำลายเป็นแผลสีดำชัดเจน จากการตรวจนับเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของต้นที่งอก พบว่าเมล็ดค่น้ำที่ทดสอบด้วยสารสกัดจากพริกความเข้มข้น 3 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของต้นที่งอกเท่ากับ 64.28 และ 52.38 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนเมล็ดที่ทดสอบด้วยสารสกัดจากพริกไทยความเข้มข้น 3 1.5 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของต้นที่งอกเท่ากับ 83.78, 57.50 และ 73.17 ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีเปรียบเทียบที่ปลูกเชื้อพบการเข้าทำลายของเชื้อ 100 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อแยกเชื้อจากแผลโรคอีกครั้ง (re-isolation) พบว่าสามารถแยกได้เฉพาะเชื้อบริสุทธิ์ของเชื้อ *X. campestris* เท่านั้น (ภาพที่ 2.6)

3. การตรวจวัดการเจริญของเชื้อ *Alternaria brassicicola*

3.1 การวัดขนาดโคโลนีของเชื้อบนอาหาร PDA หลังแช่ culture disc ของเชื้อในสารสกัด

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อ *A. brassicicola* โดยนำ culture disc ของเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร มาแช่ในสารสกัดจากพริก พริกไทย และสารผสม ความเข้มข้นต่าง ๆ นาน 5 นาที (โดยประมาณว่าเป็นเวลาน้อยที่สุดที่สารสกัดจะสามารถเคลือบอยู่บนใบหรือแผลโรคก่อนจะแห้งหรือถูกชะล้างไป ซึ่งหากไม่พบความแตกต่างของประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อ จึงจะเพิ่มระยะเวลาในการแช่ culture disc ของเชื้อให้เป็นไปตามวิธีการทดลองที่ระบุไว้) โดยที่กรรมวิธี



ภาพที่ 2.6 ลักษณะการเจริญของกล้าคะน้ำเพาะจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในสารสกัด (ก)
 แผลจากการเข้าทำลายของเชื้อ *Xanthomonas campestris* บนใบเลี้ยง
 ของต้นกล้า (ข) และลักษณะเชื้อที่แยกได้จากแผล (ค)

เปรียบเทียบจะแช่ culture disc ในน้ำกลั่นหนึ่งชาม้าเชื้อ แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA วัดขนาดของโคโลนีที่ระยะเวลาต่าง ๆ พบว่า สารสกัดจากพริกที่ระดับความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุดโดยทำให้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของโคโลนีของเชื้อมีค่าน้อยที่สุด แตกต่างจากกรรมวิธีเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกระยะการเจริญ สำหรับความเข้มข้น 1.5 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์นั้น พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ในช่วง 3-5 วันแรก หลังจากนั้นจะไม่มี ความแตกต่างจากกรรมวิธีเปรียบเทียบ (ตารางที่ 2.3)

จากการวัดขนาดโคโลนีของเชื้อที่แช่ในสารสกัดจากพริกไทยความเข้มข้น 3.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 3, 5, 7 และ 10 วัน มีค่าเฉลี่ยแตกต่างจากกรรมวิธีเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าที่ระยะเวลา 3 วัน ระดับความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด (ไม่มีเชื้อเจริญออกมาจากชิ้น culture disc เลย) ได้แก่ ระดับความเข้มข้น 3.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ยโคโลนีไม่แตกต่างทางสถิติ รองลงมาได้แก่ความเข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ และ

ตารางที่ 2.3 ขนาดโคโลนีของเชื้อ *Alternaria brassicicola* อายุต่าง ๆ ที่เลี้ยงในอาหาร PDA หลังการแช่ culture disc ในสารสกัดจากพริกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของ สารสกัดจากพริก (%)	ขนาดโคโลนี <i>A. brassicicola</i> เฉลี่ย (ซม.) ^{1/}			
	3 วัน	5 วัน	7 วัน	10 วัน
3.00	1.68 ^a	3.16 ^a	3.65 ^a	3.95 ^a
1.50	1.78 ^a	3.21 ^a	4.20 ^b	4.57 ^b
0.75	1.82 ^b	3.21 ^a	4.41 ^b	4.76 ^b
check	2.07 ^c	3.48 ^b	4.42 ^b	5.03 ^b

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยวิธี LSD

เมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 5, 7 และ 10 วัน พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.75 เปอร์เซนต์ ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้อีกต่อไปโดยมีค่าเฉลี่ยขนาดโคโลนีไม่แตกต่างจากกรรมวิธีเปรียบเทียบ และเมื่อเวลา 15 วันเชื้อสามารถเจริญได้ไม่แตกต่างกันในทุกกรรมวิธี ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 ขนาดโคโลนีของเชื้อ *Alternaria brassicicola* อายุต่าง ๆ ที่เลี้ยงในอาหาร PDA หลังการแช่ culture disc ในสารสกัดจากพริกไทยที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของสารสกัด จากพริกไทย (%)	ขนาดโคโลนี <i>A. brassicicola</i> เฉลี่ย (ซม.) ^{1/}			
	3 วัน	5 วัน	7 วัน	10 วัน
3.00	0.50 ^a	1.49 ^a	2.13 ^a	3.24 ^a
1.50	0.50 ^a	1.36 ^a	2.04 ^a	3.18 ^a
0.75	0.85 ^c	1.68 ^b	2.34 ^b	3.51 ^b
check	0.78 ^b	1.73 ^b	2.50 ^b	3.64 ^b

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยวิธี LSD

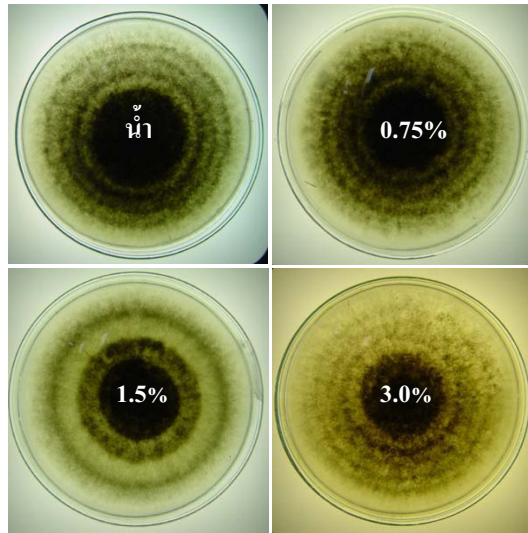
จากการวัดขนาดโคโลนีของเชื้อที่แช่ในสารสกัดผสมความเข้มข้น 3.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 3, 5, 7 และ 10 วัน มีค่าเฉลี่ยแตกต่างจากกรรมวิธีเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าที่ระยะเวลา 7 วัน ระดับความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด ได้แก่ระดับความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเลี้ยงนาน 10 วัน พบว่า ค่าเฉลี่ยโคโลนีที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ไม่แตกต่างจากที่ระดับความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 ขนาดโคโลนีของเชื้อ *Alternaria brassicicola* อายุต่าง ๆ ที่เลี้ยงในอาหาร PDA หลังการแช่ culture disc ในสารสกัดผสมของพริกและพริกไทยที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของสารผสม (%)	ขนาดโคโลนี <i>A. brassicicola</i> เฉลี่ย (ซม.) ^{1/}			
	3 วัน	5 วัน	7 วัน	10 วัน
3.00	0.75 ^b	2.63 ^b	3.18 ^c	5.08 ^c
1.50	0.70 ^b	2.63 ^b	3.55 ^b	5.50 ^c
0.75	0.75 ^b	2.80 ^b	3.45 ^b	6.50 ^b
check	1.25 ^a	3.43 ^a	4.25 ^a	7.55 ^a

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

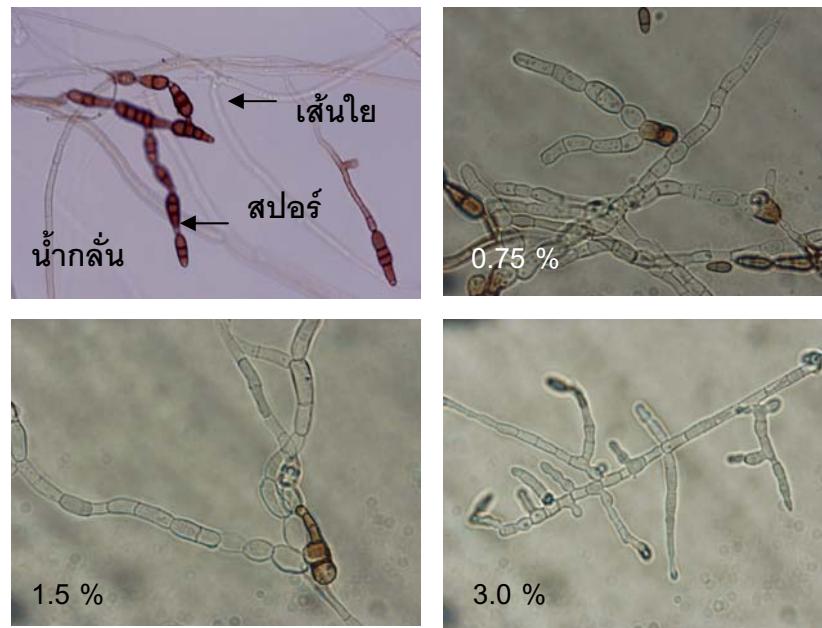
จากการสังเกตลักษณะการเจริญของ culture disc เชื้อรา ที่ผ่านการแช่ในสารผสม หลังการทดลอง 15 วัน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อในทุกความเข้มข้นจะมีค่าใกล้เคียงกัน แต่การเจริญของเส้นใยบนผิวหน้าอาหารจะมีลักษณะแตกต่างกัน โดยพบว่าการเจริญของเชื้อที่ระดับความเข้มข้น 3.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ มีรอบวงสีเข้มของการสร้างสปอร์น้อยกว่าที่ความเข้มข้น 0.75 และ กรรมวิธีเปรียบเทียบอย่างชัดเจน (ภาพที่ 2.7)



ภาพที่ 2.7 การเจริญที่มีลักษณะวงสีเข้ม ของ culture disc เชื้อรา *Alternaria brassicicola* ที่แช่ในสารผสมของสารสกัดจากพริกและพริกไทย ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA นาน 15 วัน

3.2 การศึกษาลักษณะการเจริญของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์

จากการเลี้ยงเชื้อรา *A. brassicicola* โดยวิธี slide culture บนชิ้นวุ้น WA (water agar) ที่ผสมสารสกัดจากพริก พริกไทย และสารสกัดผสม ความเข้มข้น 3.0, 1.5 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ โดยการตัดชิ้นวุ้นดังกล่าวให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตรวางบนสไลด์ นำเชื้อมาแตะที่ขอบทั้ง 4 ของชิ้นวุ้น ปิดทับด้วย cover slip บ่มเชื้อในสภาพปลอดเชื้อ ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบการเจริญของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีเปรียบเทียบที่ไม่ได้ผสมสารสกัดลงไปใน WA พบว่า การเจริญของเชื้อบน WA ผสมสารสกัดจากพริก พริกไทย และสารสกัดผสม ในทุกความเข้มข้น มีลักษณะการเจริญที่ผิดปกติ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีเปรียบเทียบ พบว่าในช่วง 3-5 วัน แรกของการทดลอง เชื้อที่เลี้ยงบน WA ผสมสารสกัดทุกความเข้มข้นเจริญได้ค่อนข้างช้า เมื่อเลี้ยงนาน 7 วัน พบการสร้างเส้นใยที่ผิดปกติ โดยมีผนังกันตามขวางถี่มากขึ้น ผนังเส้นใยหนา มีลักษณะบวมพองเป็นปม แตกต่างอย่างชัดเจนจากกรรมวิธีเปรียบเทียบ ที่ผนังเส้นใยเรียบสม่ำเสมอจะพบผนังกันตามขวางถี่ขึ้นเฉพาะช่วงที่จะมีการสร้างสปอร์เท่านั้น ไม่พบเส้นใยลักษณะบวมพองหรือเป็นปม (ภาพที่ 2.8 และ 2.9)

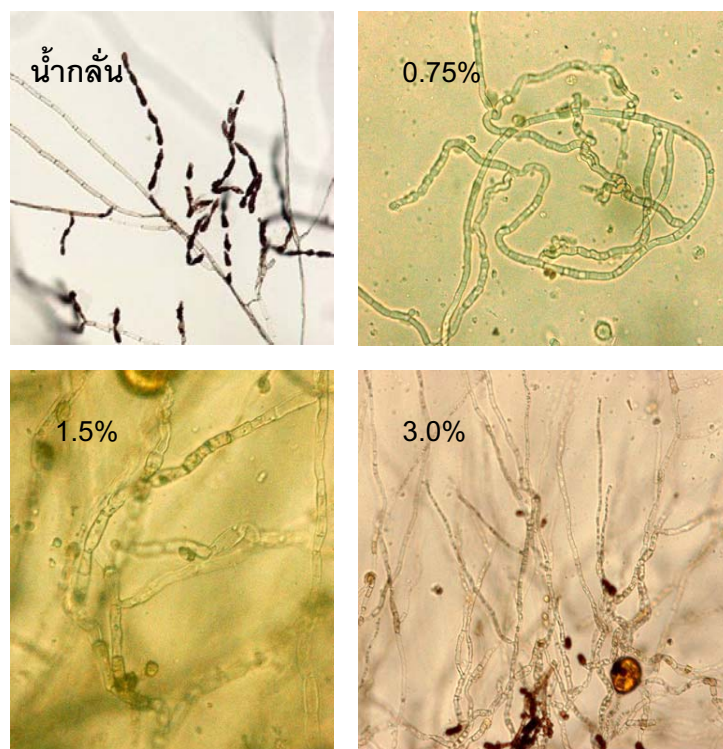


ภาพที่ 2.8 ลักษณะของเส้นใยเชื้อรา *Alternaria brassicicola* ที่เจริญบน WA ที่ผสมสารสกัดจากพริกความเข้มข้นต่างๆ หลังเลี้ยงนาน 1 สัปดาห์



ภาพที่ 2.9 ลักษณะของเส้นใยเชื้อรา *Alternaria brassicicola* ที่เจริญบน WA ที่ผสมสารสกัดจากพริกไทยความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเลี้ยงนาน 1 สัปดาห์

สำหรับการสร้างสปอร์นั้น พบว่า เชื้อที่เลี้ยงในสารสกัดเข้มข้น 0.75 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถสร้างสปอร์ได้โดยรวมไม่แตกต่างจากกรรมวิธีเปรียบเทียบนัก แต่พบสปอร์บางส่วนที่มีลักษณะบิดเบี้ยว ลักษณะของ germ tube ที่ออกจากสปอร์มีลักษณะบวมพองผิดปกติ แต่ในระดับความเข้มข้น 1.5 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ พบการสร้างสปอร์จำนวนน้อยลงอย่างเห็นได้ชัดเจน นอกจากนี้ยังพบว่าการเจริญของเส้นใยเชื้อราที่เลี้ยงบนสารผสมนาน 3-5 วัน มีปลายเส้นใยพอมบางลีบและสลายตัวเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 2.10)



ภาพที่ 2.10 ลักษณะของเส้นใยเชื้อรา *Alternaria brassicicola* ที่เลี้ยงบน WA ที่ผสมสารผสมของสารสกัดจากพริกและพริกไทยความเข้มข้นต่าง ๆ นาน 1 สัปดาห์

สรุป

ผลในการยับยั้งเชื้อ *Xanthomonas campestris*

สารสกัดจากพริกและพริกไทยเมื่อนำไปทดสอบผลของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* สาเหตุโรคเน่าดำของกะหล่ำ พบว่า การทดลองโดยใช้วิธีให้สารซึมผ่าน รูนไม่ได้ผล แต่จะได้ผลดีเมื่อทดลองโดยการบ่มเชื้อในสารสกัด โดยที่สารสกัดจากพริก ระดับความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลดีที่สุด สามารถลดปริมาณของโคโลนีของเชื้อได้ถึง 99.73 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ระดับความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งได้ 87.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วน ระดับความเข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ ใช้ไม่ได้ผล เนื่องจากยับยั้งเชื้อได้เพียง 2.81 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น และยังพบว่าสารสกัด ทุกความเข้มข้นทำให้เชื้อเจริญได้ช้ากว่าปกติ 12-24 ชั่วโมง สำหรับสารสกัดจากพริกไทยนั้น นอกจากจะสามารถทำให้เชื้อเจริญได้ช้ากว่าปกติ 12-24 ชั่วโมง เช่นเดียวกับสารสกัดจากพริกแล้ว ยังพบว่า ให้ผลยับยั้งการเจริญของเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพมากเท่าเทียมกันทั้งระดับความเข้มข้น 3.0, 1.5 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ โดยสามารถยับยั้งเชื้อได้ 99.99, 99.95 และ 99.16 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เช่นเดียวกับสารสกัดผสมของพริกและพริกไทยทั้ง 3 ความเข้มข้นที่ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ ได้ดีมากถึง 100 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อทดลองโดยลดระดับความเข้มข้นของสารสกัดผสมลงมาเป็น 0.4 0.2 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ก็ยังมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้แตกต่างจากกรรมวิธีเปรียบเทียบที่ ประมาณ 61.3-65.5 เปอร์เซ็นต์

ผลในการยับยั้งเชื้อ *Alternaria brassicicola*

สารสกัดจากพริกและพริกไทยเมื่อนำไปทดสอบผลของการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดของกะหล่ำ โดยวิธีแช่ culture disc ในสารสกัดแล้วเลี้ยงบนอาหาร PDA ก่อนวัดขนาดของโคโลนีที่ระยะเวลาต่าง ๆ พบว่า สารสกัดจากพริกทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ในช่วง 3-5 วันแรกของการทดลองเท่านั้น เมื่อนานไป ถึง 15 วันจะมีเพียง ระดับความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์เท่านั้นที่ยังได้ผล ส่วนสารสกัดพริกไทยนั้น พบว่า ทุกความเข้มข้นจะสามารถยับยั้งเชื้อได้ใน 3 วันแรกเช่นกัน ต่อมาระดับความเข้มข้นสูงขึ้นจึงจะได้ผล แต่เมื่อเลี้ยงนาน 15 วัน พบว่าสารสกัดทุกความเข้มข้นไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองตรวจดูการเจริญของเชื้อราที่เลี้ยงบน slide culture WA ที่ผสมสารสกัด ที่พบว่าการเจริญของเชื้อในสภาพที่สัมผัสกับสารสกัดช่วงแรกเป็นไปได้ช้า ทั้งนี้เนื่องจากเส้นใยมีการเจริญผิดปกติ รวมถึงที่ระดับความเข้มข้นสูงมีการสร้างสปอร์จำนวนน้อยลง

สำหรับการทดลองด้วยสารผสมของสารสกัดจากพริกและพริกไทย ให้ผลการยับยั้งที่ดีกว่าการใช้สารสกัดจากพริกหรือพริกไทยเพียงอย่างเดียว โดยพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ทุกระยะเวลาของการทดลอง โดยที่ระดับความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลการยับยั้งสูงสุด รองลงมาได้แก่ 1.5 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะการเจริญของโคโคนีของเชื้อที่ผ่านการแช่ในสารผสมแล้วนำมาเลี้ยงบน PDA จะมีการเจริญของเส้นใยบนผิวอาหาร บาง ไม่หนาแน่น และยังพบวงสีเข้มของการสร้างสปอร์น้อยลงอย่างเห็นได้ชัดเจน และการตรวจสอบการเจริญของเชื้อบน WA ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่พบการเจริญผิดปกติของเส้นใยโดยเฉพาะสามารถตรวจพบการสลายตัวของปลายเส้นใยของเชื้อราที่เจริญในสารสกัดผสมที่ระดับความเข้มข้น 1.5 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นจำนวนมากซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เชื้อลดการเจริญลงอย่างชัดเจน

เอกสารอ้างอิง

- วิชัย ก่อประดิษฐ์สกุล และ ชัยณรงค์ รัตนกรีกากุล. 2536. ประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์จากพืชในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 สกุล. รายงานการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 31. วันที่ 3-6 กุมภาพันธ์ 2536, กรุงเทพฯ.
- สุมาลี เลี่ยมทอง, เสาวลักษณ์ พงษ์ไพจิตร, วชิรินทร์ รุกขไชยศิริกุล และ เสมอใจ ชื่นจิตร. 2540. การศึกษาสารสกัดสมุนไพรบางชนิดเพื่อใช้ควบคุมโรคใบจุดของคะน้า. วารสารโรคพืช 12(7):154-160.
- Sarvamangala, H.S., R.K. Covindiah, and Datta. 1993. Evaluation of plant extracts for the control of fungal diseases of mulberry. Indian Phytopath. 46: 398-400.

บทที่ 3 : การทดสอบกับแมลงศัตรูพืช

ในช่วงก่อนสงครามโลกครั้งที่สอง สารสกัดจากพืชที่ใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงมีเพียง pyrethrum, rotenone, nicotine, sabadilla และ quassin เท่านั้นที่มีใช้กันอย่างแพร่หลายในซีกโลกตะวันตก (Jacobson, 1989) หลังจากนั้นเป็นต้นมา มีการศึกษาวิจัยหาสารสกัดจากพืชชนิดอื่น ๆ เพิ่มขึ้นมากมาย เพื่อประโยชน์ทั้งใช้สกัดสารเพื่อการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยตรง และเพื่อเป็นต้นแบบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สังเคราะห์ ปัจจุบันมีการรายงานพบพืชประมาณ 200 ชนิด มีสารที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูทางการเกษตรเป็นองค์ประกอบ พืชส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มพืชสมุนไพรและพืชหอม (ณรงค์, 2536) และสารสกัดจากพืชที่รู้จักกันดีก็คือ สารสกัดจากสะเดา ซึ่งถูกนำไปใช้ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชชนิดต่าง ๆ อย่างแพร่หลาย (Saxena, 1989) นอกจากนี้การใช้สารสกัดจากสะเดากับหนอนไผ่ผักแล้ว ยังมีการใช้สารสกัดจากพืชอื่น ๆ อีกด้วย เช่น ดอกรัก, ขมิ้นชัน, ดอกบัวตอง, ยี่โถ, โล้ดิน, ดีปลี, *Abrus* sp., *Acurus* sp., *Duranta* sp., *Annona* sp., *Stemona* sp., และ *Andrographis* sp. (วีรเทพ, 2536) Wiriyaichitra (1990) ได้ทำการคัดเลือกสารสกัดจากพืชหลายชนิด ซึ่งรวมถึงพริกและพริกไทยด้วย โดยทดสอบกับแมลงศัตรูพืชหลายชนิด รวมทั้งหนอนไผ่ผักและหนอนกระทุ้งผัก พบว่า สารสกัดจากพริกมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงทั้งสองชนิดน้อยกว่าพริกไทย นอกจากนี้ มยุรา และคณะ (2538) รายงานว่า สารสกัดจากดอกและใบฟอร์เกตมินอด (*Myosotis scropiodes*) มีผลทำให้หนอนกระทุ้งผักตายมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากพืชอื่น ๆ อีก 45 ชนิด

อุปกรณ์และวิธีการ

การเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลง

1. พืชอาหารสำหรับเลี้ยงแมลง

ทำการปลูกผักคะน้าในโรงเรือนตาข่าย โดยปลูกในแปลงขนาดเล็กและในกระถาง (ภาพที่ 3.1) เพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงขยายปริมาณหนอนไผ่ผักและหนอนกระทุ้งผัก รวมไปถึงเพื่อนำไปทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากพริกและพริกไทยที่มีต่อผักคะน้าด้วย ทำการปลูกผักคะน้าอย่างต่อเนื่องเป็นระยะ ๆ เพื่อให้มีผักคะน้าเพียงพอต่อการใช้เลี้ยงหนอนทั้งสองชนิดได้อย่างเพียงพอตลอดเวลา



ภาพที่ 3.1 โรงเรือนตาข่ายปลูกผักคะน้า และแปลงปลูกผักในโรงเรือน

2. การเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณหนอนใยผัก

เก็บรวบรวมหนอนใยผัก (ภาพที่ 3.2) จากแหล่งปลูกผักตระกูลกะหล่ำของเกษตรกรในเขตอำเภอ สารภี และ แมริม จังหวัดเชียงใหม่ มาเลี้ยงต่อในห้องปฏิบัติการของภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยเลี้ยงในกล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด 18x25x9 เซนติเมตร ให้ใบคะน้าเป็นอาหาร จนกระทั่งหนอนเข้าดักแด้ จึงรวบรวมดักแด้ไปไว้ในจานแก้ว เมื่อดักแด้ใกล้ฟักออกเป็นตัวเต็มวัย จึงนำดักแด้ไปใส่ไว้ในกล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมที่มีต้นคะน้าปักอยู่ในน้ำ (เพื่อไม่ให้ต้นคะน้าเหี่ยวเฉา) เมื่อผีเสื้อออกจากดักแด้ ผีเสื้อมีการผสมพันธุ์และวางไข่บนใบคะน้า และข้างผนังกล่อง (ภาพที่ 3.3) ให้น้ำผึ้งความเข้มข้น 10% เป็นอาหารของผีเสื้อ เมื่อผีเสื้อวางไข่ จึงทำการเปลี่ยนกล่องและต้นคะน้าทุกวัน เพื่อให้ได้ไข่ที่มีอายุเดียวกัน และพัฒนาต่อไปเป็นตัวหนอนวัย



ภาพที่ 3.2 ลักษณะไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยของผีเสื้อหนอนใยผัก



ภาพที่ 3.3 กล่องเลี้ยงผีเสื้อหนอนใยผักเพื่อให้ผสมพันธุ์และวางไข่

ที่ 3 ที่มีอายุเท่ากัน และขนาดใกล้เคียงกัน สำหรับใช้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช ดำเนินการในลักษณะเช่นนี้หมุนเวียนไปจะทำให้ได้หนอนใยผักในปริมาณที่เพียงพอต่อการใช้งาน ตลอดเวลา

นอกจากนี้ ทำการเก็บรวบรวมหนอนใยผักจากแปลงปลูกผักตระกูลกะหล่ำของเกษตรกร เพิ่มเติมทุกเดือน และนำเลี้ยงปนกับหนอนใยผักที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ ทั้งนี้เพื่อไม่ให้แมลงที่เลี้ยงอยู่ อ่อนแอลง ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการผสมพันธุ์ในกลุ่มประชากรที่รวบรวมมาจากแหล่งเดียวกันมากเกินไป

3. การเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณหนอนกระทู้ผัก

ทำการเก็บรวบรวมหนอนกระทู้ผัก (ภาพที่ 3.3) จากแปลงผักตระกูลกะหล่ำของเกษตรกร จากนั้นดำเนินการเพาะเลี้ยงในลักษณะเดียวกันกับการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณหนอนใยผัก แต่เมื่อ หนอนกระทู้ผักเข้าดักแด้ภายในกล่องพลาสติกแล้ว จึงทำการเก็บรวบรวมดักแด้ไปใส่ไว้ในกล่อง



ภาพที่ 3.3 ลักษณะกลุ่มไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยของผีเสื้อหนอนกระทู้ผัก

พลาสติกขนาดเล็ก เพื่อนำไปใส่ไว้ในกรงเลี้ยงแมลงเพื่อรอการฟักออกเป็นผีเสื้อ ซึ่งจะทำให้การผสมพันธุ์และวางไข่ในกรงนี้ต่อไป ให้น้ำผึ้งความเข้มข้น 10% แก่ผีเสื้อ และนำกลุ่มต้นหญ้าที่ปักแช่น้ำอยู่ในภาชนะหรือต้นคะน้ำที่ปลูกอยู่ในกระถาง ใส่ไว้ในกรงเพื่อให้ผีเสื้อใช้เป็นสถานที่วางไข่ด้วย (ภาพที่ 3.4) เมื่อผีเสื้อเริ่มวางไข่ ทำการเก็บกลุ่มไข่ทุกวันเพื่อนำไปรอฟักเป็นตัวหนอนในกล่องพลาสติกต่อไป การดำเนินการในลักษณะนี้หมุนเวียนกันไป จะทำให้ได้หนอนกระทู้ผักวัย 3 สำหรับใช้ทดสอบกับสารสกัดจากพริกและพริกไทยได้ต่อเนื่องตลอดเวลา



ภาพที่ 3.4 กรงตาข่ายเลี้ยงผีเสื้อหนอนกระทู้ผักเพื่อให้ผสมพันธุ์และวางไข่

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัด

1. การเตรียมสารสกัด

สารสกัดจากพริกสั่งซื้อมาจากสถาบันวิจัยและพัฒนา องค์การเภสัชกรรม กรุงเทพฯ และสารสกัดจากพริกไทยได้รับความอนุเคราะห์จากโครงการ “การพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อใช้เป็นยาฆ่าแมลง” ของสำนักประสานงานชุดโครงการสมุนไพร สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

ทำการเตรียมสารสกัดจากพริกและพริกไทย ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน โดยสารสกัดจากพริกใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย (ภาพที่ 3.4) ส่วนสารสกัดจากพริกไทยใช้เอทิล แอลกอฮอล์ 99 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลายก่อน แล้วจึงผสมน้ำกลั่นเพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ สารสกัดแต่ละความเข้มข้นและกรรมวิธีเปรียบเทียบ (น้ำกลั่น) ผสมสารจับใบ ซี. ตอล เจอาร์ (C. Trol JR) ในอัตรา 10 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร ลงไปด้วย



ภาพที่ 3.4 การเตรียมสารสกัดจากพริกในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

2. การทดสอบกับหนอน

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกและพริกไทยที่มีต่อหนอนใยผักและหนอนกระทุ้งในห้องปฏิบัติการ ดำเนินการทดสอบความเป็นพิษ 2 วิธีการ คือ 1) ทดสอบพิษทางการกิน (Oral toxicity test) โดยการจุ่มใบพืช (leaf dipping method) ในสารสกัด ปลอ่ยให้สารสกัดแห้ง (ภาพที่ 3.5) แล้วจึงนำมาให้หนอนกิน เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางการกิน (stomach poison) และ 2) ทดสอบพิษทางผิวหนัง (Dermal toxicity test) โดยการพ่นสารสกัดโดยตรง (direct spray method) บนตัวหนอนด้วย air brush sprayer (ภาพที่ 3.6) เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางสัมผัส (contact poison)

สารสกัดแต่ละความเข้มข้นหรือกรรมวิธี (treatment) รวมทั้งกรรมวิธีเปรียบเทียบ (check) ที่ใช้ ดำเนินการ 3 ซ้ำ (replications) โดยแต่ละซ้ำใช้หนอนเพื่อการทดสอบจำนวน 10 ตัว ทำการบันทึกการตายของหนอนที่เวลา 3, 6, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมงหลังให้สารสกัดกับหนอน



ภาพที่ 3.5 การจุ่มใบคะน้าในสารสกัด (ก) และการเขียนหนอน (ข)



ภาพที่ 3.6 การพ่นสารสกัดบนตัวหนอน (ก) และการเขี่ยหนอน (ข)

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนโดยวิธี Least Significant Difference (LSD) นอกจากนี้ นำข้อมูลที่ได้มาหาค่า LC_{50} ของสารสกัดจากพริกและพริกไทยที่มีต่อหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผัก ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Logit PC

ผลการทดลองและวิจารณ์

การเพาะเลี้ยงขยายปริมาณแมลง

การเพาะเลี้ยงขยายปริมาณหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผักในระยะ 3 เดือนแรก (พฤศจิกายน 2548 – มกราคม 2549) ดำเนินการไปด้วยดี สามารถขยายปริมาณหนอนทั้งสองชนิดได้ในปริมาณมาก แต่ก็ยังไม่สามารถทดสอบกับสารสกัดจากพริกและพริกไทยได้ เนื่องจากสารสกัดที่ใช้ทดสอบไม่สามารถจัดหามาได้ทัน และเมื่อเข้าสู่เดือนกุมภาพันธ์ การเลี้ยงหนอนเริ่มประสบปัญหาและอุปสรรค เช่น 1) ผักคะน้าที่ปลูกอยู่ในแปลงเพื่อใช้เป็นอาหารของหนอนถูกเพลี้ยอ่อนกะหล่ำลงทำลายอย่างรุนแรง ทำให้ผักคะน้าที่ปลูกไว้แคระแกร็น ไม่ค่อยเจริญเติบโต (ภาพที่ 3.6) อย่างไรก็ตาม คณะผู้วิจัยได้ใช้โอกาสการแพร่ระบาดของเพลี้ยอ่อนในครั้งนี้ ทำการทดสอบเบื้องต้นโดยการนำสารสกัดจากพริกและพริกไทยความเข้มข้น 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ฟ่นไปที่เพลี้ยอ่อน และสังเกตในเวลาต่อมา พบว่า สารสกัดจากพริกและพริกไทย ไม่สามารถลดประชากรของเพลี้ยอ่อนได้เลย และ 2) หนอนที่เลี้ยงในช่วงฤดูร้อนและฤดูฝน เป็นโรคตายเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะหนอนกระทู้ผัก ทำให้ต้องเริ่มต้นเพาะเลี้ยงใหม่หมุนเวียนหลายรอบ เป็นต้น ดังนั้น เมื่อได้สารสกัดมาในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ การดำเนินการจึงประสบอุปสรรคอยู่บ้างสำหรับจำนวนหนอนที่ใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกและพริกไทย

การเพาะเลี้ยงขยายปริมาณหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผักประสบความสำเร็จด้วยดีเมื่อเข้าสู่ช่วงเดือนตุลาคม-ธันวาคม 2549 ทำให้มีหนอนทั้งสองชนิดเพียงพอที่จะดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกและพริกไทยที่มีต่อหนอนทั้งสองชนิดตามแผนงานที่วางไว้



ภาพที่ 3.6 เพลี้ยอ่อนกะหล่ำ (ก) และลักษณะการทำลาย (ข)

ประสิทธิภาพของสารสกัดต่อหนอนใยผัก

1. สารสกัดจากพริก

1.1 ทดสอบพิษทางการกิน (Oral Toxicity Test)

ในการทดสอบเบื้องต้น ได้แบ่งระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากพริกออกเป็น 7 ระดับ คือ 0.25, 0.5, 0.75, 1.5, 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปค่น้ำไปจุ่มในสารสกัดแต่ละความเข้มข้น ปล่อยให้สารแห้งแล้วจึงนำมาให้หนอนใยผักวัยที่ 3 กินเป็นอาหาร พบว่า สารสกัดจากพริกทุกความเข้มข้นไม่มีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนใยผักเลย มีเพียงที่เวลา 72 ชั่วโมง ที่มีการตายเกิดขึ้นในทุกกรรมวิธี แต่ค่าเฉลี่ยการตายที่เกิดขึ้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมีค่าการตายสูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 6.67 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น (ตารางที่ 3.1) การตายของหนอนที่เกิดขึ้นเมื่อได้รับสารสกัดจากพริกในความเข้มข้นต่าง ๆ ส่วนใหญ่เกิดขึ้นเมื่อหนอนได้รับสารสกัดไปแล้ว 72 ชั่วโมง ซึ่งไม่น่าจะเป็นผลมาจากสารสกัดจากพริก เนื่องจากในกรรมวิธีเปรียบเทียบ (check) มีการตายเกิดขึ้นในลักษณะนี้ด้วยเช่นกัน

ตารางที่ 3.1 ร้อยละของหนอนใยผักที่ตายหลังจากได้รับสารสกัดจากพริก โดยวิธีจุ่มใบพืช

ความเข้มข้นของ สารสกัดจากพริก (%)	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนใยผักที่ตาย ภายหลังได้รับสารเป็นเวลา (ชั่วโมง) ^{1/}					
	3	6	12	24	48	72
3.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.33 ^a	3.33 ^a
2.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00 ^a	3.33 ^a
1.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00 ^a	6.67 ^a
1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00 ^a	3.33 ^a
0.75	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00 ^a	6.67 ^a
0.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00 ^a	3.33 ^a
0.25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00 ^a	6.67 ^a
check	0.00	0.00	0.00	0.00	3.33 ^a	3.33 ^a

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสมมุติเดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

ได้ทำการทดสอบเพิ่มเติมอีกครั้งหนึ่งโดยเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจากพริกสูงสุดเป็น 5 เปอร์เซ็นต์ โดยความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบครั้งนี้ คือ 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ผลการทดสอบที่ได้ไม่แตกต่างไปจากการทดสอบครั้งแรก โดยที่สารสกัดจากพริกที่ระดับความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำให้หนอนตายสูงสุดได้เพียง 16.67 เปอร์เซ็นต์ เมื่อหนอนได้รับสารไปแล้ว 72 ชั่วโมง (ตารางที่ 3.2) จากผลการทดสอบเห็นได้ชัดเจนว่าสารสกัดจากพริกไม่มีผลทำให้หนอนใบผักตายได้เมื่อกินสารสกัดจากพริกเข้าไป

ตารางที่ 3.2 ร้อยละของหนอนใบผักที่ตายหลังจากได้รับสารสกัดจากพริก โดยวิธีจุ่มใบพืช

ความเข้มข้นของ สารสกัดจากพริก (%)	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนใบผักที่ตาย ภายหลังได้รับสารเป็นเวลา (ชั่วโมง) ^{1/}					
	3	6	12	24	48	72
5.00	0.00	0.00	0.00	6.67 ^a	13.33 ^a	16.67 ^a
4.00	0.00	0.00	0.00	3.33 ^{ab}	6.67 ^{ab}	6.67 ^{ab}
3.00	0.00	0.00	0.00	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b
2.00	0.00	0.00	0.00	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b
1.00	0.00	0.00	0.00	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b
0.50	0.00	0.00	0.00	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b
check	0.00	0.00	0.00	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสมมุติเดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

1.2 ทดสอบพิษทางผิวหนัง (Dermal Toxicity Test)

เมื่อทดสอบสารสกัดจากพริกกับหนอนใบผักโดยการพ่นไปที่ตัวหนอนโดยตรง แล้วนำหนอนมาเลี้ยงด้วยใบคะน้าที่ไม่ได้จุ่มสาร พบว่า ให้ผลที่ต่างไปจากการจุ่มใบคะน้าแล้วให้หนอนกิน โดยมีการตายของหนอนเกิดขึ้นในหลายความเข้มข้นของสารสกัดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 3 หลังจากได้รับสารสกัด และการตายเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาที่ได้รับสาร โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 2.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยสูงสุดไม่แตกต่างกันทางสถิติในทุกเวลาที่ตรวจสอบ แต่ที่เวลา 72 ชั่วโมง สารสกัดจากพริกที่ระดับความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าเฉลี่ยการตายของหนอนสูงสุดคือ 76.67 เปอร์เซ็นต์ และแตกต่างจากจากความเข้มข้นอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

(ตารางที่ 3.3) เมื่อนำข้อมูลการตายของหนอนใยผักที่เวลา 72 ชั่วโมงภายหลังได้รับสารสกัดจากพริก โดยวิธีพ่นไปที่ตัวหนอน มาคำนวณหาอัตราความเข้มข้นของสารสกัดที่ฆ่าหนอนให้ตายได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Logit PC พบว่า LC_{50} (พิษทางผิวหนัง) ของสารสกัดจากพริกมีค่าเท่ากับ 2.2062 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3.3 ร้อยละของหนอนใยผักที่ตายหลังจากได้รับสารสกัดจากพริก โดยวิธีพ่นที่ตัวหนอน

ความเข้มข้นของ สารสกัดจากพริก (%)	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนใยผักที่ตาย ภายหลังได้รับสารเป็นเวลา (ชั่วโมง) ^{1/}					
	3	6	12	24	48	72
3.00	26.67 ^a	30.00 ^a	33.33 ^a	36.67 ^a	46.67 ^a	76.67 ^a
2.00	20.00 ^a	26.67 ^a	30.00 ^a	36.67 ^a	36.67 ^a	43.33 ^b
1.50	3.33 ^b	6.67 ^b	10.00 ^b	10.00 ^b	13.33 ^{bc}	16.67 ^{cd}
1.00	3.33 ^b	6.67 ^b	6.67 ^b	13.33 ^b	16.67 ^b	20.00 ^c
0.75	3.33 ^b	3.33 ^b	3.33 ^b	3.33 ^b	3.33 ^{cd}	13.33 ^{cd}
0.50	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	3.33 ^b	6.67 ^{bcd}	6.67 ^{cd}
0.25	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	3.33 ^b	3.33 ^{cd}	3.33 ^d
check	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^d	3.33 ^d

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสมมติเดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

ในการทดสอบเบื้องต้น ที่ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดสูงสุดเป็น 3 เปอร์เซ็นต์ และให้ผลการตายของหนอนสูงสุดที่ 76.67 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังได้รับสารสกัด 72 ชั่วโมง (ตารางที่ 3.3) นั้น หากกำหนดความเข้มข้นให้สูงขึ้นไปถึง 5 เปอร์เซ็นต์ อาจทำให้หนอนใยผักตายเพิ่มขึ้นก็เป็นได้ จึงได้ทำการทดสอบอีกครั้ง โดยกำหนดความเข้มข้นเป็น 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลการทดสอบปรากฏว่าหนอนใยผักไม่ได้ตายเพิ่มขึ้นตามสมมุติฐานที่ตั้งไว้ โดยหนอนใยผักเมื่อได้รับสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมงภายหลังได้รับสาร (ตารางที่ 3.4) จากผลการทดลองนี้ สรุปได้ว่า หากต้องการนำสารสกัดจากพริกไปใช้ควบคุมหนอนใยผัก ความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดคือ 3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสามารถทำให้หนอนตาย 63.33-76.67 เปอร์เซ็นต์ที่เวลา 72 ชั่วโมงภายหลังได้รับสาร

เมื่อนำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนไผ่ที่เวลา 72 ชั่วโมงของการทดสอบครั้งที่สอง ไปหาค่า LC_{50} โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Logit PC พบว่า LC_{50} (พิษทางผิวหนัง) ของสารสกัดจากพริก มีค่าเท่ากับ 2.3372 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงกว่าการทดสอบครั้งแรก ($LC_{50} = 2.2062$) เพียงเล็กน้อย เท่านั้น

ตารางที่ 3.4 ร้อยละของหนอนไผ่ที่ตายหลังจากได้รับสารสกัดจากพริก โดยวิธีพ่นที่ตัวหนอน

ความเข้มข้นของ สารสกัดจากพริก (%)	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนไผ่ที่ตาย ภายหลังได้รับสารเป็นเวลา (ชั่วโมง) ^{1/}					
	3	6	12	24	48	72
5.00	16.67 ^a	30.00 ^a	56.67 ^a	60.00 ^a	73.33 ^a	76.67 ^a
4.00	10.00 ^{ab}	13.33 ^b	30.00 ^b	33.33 ^b	56.67 ^{ab}	66.67 ^{ab}
3.00	3.33 ^{bc}	13.33 ^b	16.67 ^{bc}	23.33 ^b	53.33 ^{ab}	63.33 ^{ab}
2.00	0.00 ^c	10.00 ^{bc}	13.33 ^{bc}	20.00 ^{bc}	43.33 ^b	50.00 ^b
1.00	3.33 ^{bc}	6.67 ^{bc}	10.00 ^c	13.33 ^{bc}	20.00 ^c	26.67 ^c
0.50	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	6.67 ^{cd}
check	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	3.33 ^d

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

2. สารสกัดจากพริกไทย

2.1 ทดสอบพิษทางการกิน (Oral Toxicity Test)

การทดสอบสารสกัดจากพริกไทยกับหนอนไผ่ ประสพปัญหาเรื่องปริมาณของสารสกัดจากพริกไทย ซึ่งมีอยู่อย่างจำกัด จึงจำเป็นต้องทำการปรับระดับอัตราความเข้มข้นของสารสกัดให้เป็น 0.1625, 0.375, 0.75, 1.50 และ 3.00 เปอร์เซ็นต์ ประกอบกับขณะนั้นจำนวนหนอนไผ่ที่เพาะเลี้ยงอยู่มีไม่เพียงพอสำหรับใช้ทดสอบในความเข้มข้นหลายระดับกว่านี้ ผลการทดสอบ พบว่าการตายของหนอนไผ่ที่เกิดขึ้นเป็นไปในลักษณะเดียวกันกับหนอนไผ่ที่ได้รับสารสกัดจากพริก กล่าวคือ การตายของหนอนไผ่เกิดขึ้นในเวลา 48 และ 72 ชั่วโมงภายหลังได้รับสาร โดยมีเปอร์เซ็นต์การตายเพียง 3.33 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น และค่าเฉลี่ยการตายที่เกิดขึ้นในแต่ละเวลา ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 3.5) และเช่นเดียวกัน การตายของหนอนไผ่ที่เกิดขึ้นไม่นาน

เป็นผลมาจากสารสกัดจากพริกไทย เนื่องจากในกรรมวิธีเปรียบเทียบ (check) ก็มีการตายเกิดขึ้นในระดับเดียวกันเช่นกัน

สำหรับการทดสอบในครั้งที่สอง โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดพริกไทยเป็น 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสารสกัดจากพริกไทยทุกความเข้มข้นไม่สามารถทำให้หนอนใบผักตายแม้แต่ตัวเดียว

ตารางที่ 3.5 ร้อยละของหนอนใบผักที่ตายหลังจากได้รับสารสกัดจากพริกไทย โดยวิธีจุ่มใบพืช

ความเข้มข้นของสารสกัดจากพริกไทย (%)	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนใบผักที่ตาย ภายหลังได้รับสารเป็นเวลา (ชั่วโมง) ^{1/}					
	3	6	12	24	48	72
3.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00 ^a	3.33 ^a
1.50	0.00	0.00	0.00	0.00	3.33 ^a	3.33 ^a
0.75	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00 ^a	0.00 ^a
0.375	0.00	0.00	0.00	0.00	3.33 ^a	3.33 ^a
0.1625	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00 ^a	0.00 ^a
check	0.00	0.00	0.00	0.00	3.33 ^a	3.33 ^a

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสมมุติเดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

2.2 ทดสอบพิษทางผิวหนัง (Dermal Toxicity Test)

ในการทดสอบครั้งแรกที่ใช้สารสกัดจากพริกไทยความเข้มข้น 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเฉพาะสารสกัดความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ในการทดสอบนี้คือ 3.0 เปอร์เซ็นต์ที่สามารถฆ่าหนอนได้ และให้ค่าเฉลี่ยการตายของหนอนสูงถึง 70 เปอร์เซ็นต์ ที่ 72 ชั่วโมงภายหลังได้รับสาร (ตารางที่ 3.6) ซึ่งเมื่อนำข้อมูลการตายของหนอนใบผักที่เวลา 72 ชั่วโมงภายหลังได้รับสารสกัดจากพริกไทยโดยวิธีพ่นไปที่ตัวหนอน มาคำนวณหาค่า LC_{50} โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Logit PC พบว่า LC_{50} (พิษทางผิวหนัง) ของสารสกัดจากพริกไทยที่มีต่อหนอนใบผักมีค่าเท่ากับ 2.6134 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3.6 ร้อยละของหนอนใยผักที่ตายหลังจากได้รับสารสกัดจากพริกไทย โดยวิธีพ่นที่ตัวหนอน

ความเข้มข้นของสารสกัดจากพริกไทย (%)	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนใยผักที่ตาย ภายหลังได้รับสารเป็นเวลา (ชั่วโมง) ^{1/}					
	3	6	12	24	48	72
3.00	36.67 ^a	43.33 ^a	50.00 ^a	53.33 ^a	60.00 ^a	70.00 ^a
1.50	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	3.33 ^b	3.33 ^b
0.75	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	3.33 ^b
0.375	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b
0.1625	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	3.33 ^b
check	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสมมติเดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

ในการทดสอบครั้งที่สอง ได้ใช้สารสกัดจากพริกไทยความเข้มข้นสูงสุดเป็น 5 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ประกอบด้วย 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลการทดสอบพบว่า สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ที่เคยฆ่าหนอนใยผักได้สูงถึง 70 เปอร์เซ็นต์ในการทดสอบครั้งแรก แต่กลับพบว่าในการทดสอบครั้งที่สองนี้ สารสกัดที่ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ไม่สามารถฆ่าหนอนได้เลย และที่ความเข้มข้น 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ฆ่าหนอนได้สูงสุดเพียง 6.67 และ 36.67 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 3.7) การที่เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนในการทดสอบครั้งที่สองต่ำกว่าการทดสอบครั้งแรก อาจมีสาเหตุมาจากสารสกัดจากพริกไทยที่ใช้มีฤทธิ์ลดลงเนื่องมาจากการเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นนานหลายเดือนก่อนนำมาใช้ในการทดสอบครั้งที่สอง ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว สารออกฤทธิ์หรือสารสำคัญในสารสกัดจากพืชสลายตัวได้ง่าย (สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร, 2549) จึงทำให้ประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนของสารสกัดจากพริกไทยด้อยลงไป

ตารางที่ 3.7 ร้อยละของหนอนใยผักที่ตายหลังจากได้รับสารสกัดจากพริกไทย โดยวิธีพ่นที่ตัวหนอน

ความเข้มข้นของ สารสกัดจากพริกไทย (%)	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนใยผักที่ตาย ภายหลังได้รับสารเป็นเวลา (ชั่วโมง) ^{1/}					
	3	6	12	24	48	72
5.00	30.00 ^a	33.33 ^a	33.33 ^a	33.33 ^a	33.33 ^a	36.67 ^a
4.00	6.67 ^b	6.67 ^b	6.67 ^b	6.67 ^b	6.67 ^b	6.67 ^b
3.00	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c
2.00	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c
1.00	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c
0.50	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c
check	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

3. สารสกัดจากพริกผสมพริกไทย

3.1 ทดสอบพิษทางการกิน (Oral Toxicity Test)

เมื่อนำสารสกัดจากพริกและพริกไทยมาผสมปนกันที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำไปค่น้ำมาชุบในสกัดความเข้มข้นต่าง ๆ เหล่านี้แล้วนำไปให้หนอนใยผักกิน เป็นอาหาร พบว่า สารสกัดจากพริกผสมพริกไทยทุกระดับความเข้มข้น ไม่มีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนใยผักแม้แต่ตัวเดียว เช่นเดียวกับเมื่อใช้สารสกัดจากพริกหรือพริกไทยแต่เพียงลำพัง

3.2 ทดสอบพิษทางผิวหนัง (Dermal Toxicity Test)

สารสกัดจากพริกผสมพริกไทยที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันกับที่ใช้ในการทดสอบพิษทางการกิน เมื่อนำมาพ่นที่ตัวหนอนใยผัก พบว่า สารสกัดผสมนี้ให้ผลการตายของหนอนใยผักไปในลักษณะเดียวกับการใช้สารสกัดพริกอย่างเดียว แต่เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักในแต่ละความเข้มข้นต่ำกว่าเล็กน้อย โดยสารสกัดที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีการตายของหนอนใยผักเกิดขึ้นสูงสุด 63.33 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 72 ชั่วโมงหลังหนอนใยผักได้รับสาร (ตารางที่ 3.8) แสดงให้เห็นว่าการใช้สารสกัดจากพริกผสมรวมกับสารสกัดจากพริกไทยไม่ช่วยให้สารสกัดผสมมีฤทธิ์เพิ่มขึ้นแต่อย่างใด ค่า LC₅₀ (พิษทางผิวหนัง) ของสารสกัดผสมที่คำนวณได้มีค่าเท่ากับ 3.8167 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3.8 ร้อยละของหนอนใยผักที่ตายหลังจากได้รับสารสกัดจากพริกผสมพริกไทย โดยวิธีพ่นที่
ตัวหนอน

ความเข้มข้นของ สารสกัดจากพริก ผสมพริกไทย (%)	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนใยผักที่ตาย ภายหลังจากได้รับสารเป็นเวลา (ชั่วโมง) ^{1/}					
	3	6	12	24	48	72
5.00	16.67 ^a	26.67 ^a	50.00 ^a	53.33 ^a	60.00 ^a	63.33 ^a
4.00	6.67 ^b	16.67 ^a	33.33 ^{ab}	43.33 ^a	56.67 ^a	56.67 ^{ab}
3.00	3.33 ^{bc}	3.33 ^b	16.67 ^{bc}	16.67 ^b	33.33 ^b	43.33 ^b
2.00	0.00 ^c	0.00 ^b	0.00 ^c	3.33 ^{bc}	13.33 ^c	26.67 ^c
1.00	0.00 ^c	0.00 ^b	0.00 ^c	0.00 ^c	3.33 ^c	13.33 ^{cd}
0.50	0.00 ^c	0.00 ^b	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	6.67 ^d
check	0.00 ^c	0.00 ^b	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	6.67 ^d

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสมมติเดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

ประสิทธิภาพของสารสกัดต่อหนอนกระทุ้งผัก

1. สารสกัดจากพริก

1.1 ทดสอบพิษทางการกิน (Oral Toxicity Test)

สารสกัดจากพริกเมื่อนำมาทดสอบกับหนอนกระทุ้งผักโดยวิธีการจุ่มใบคะน้าในสารสกัด แล้วนำมาให้หนอนกิน พบว่า สารสกัดจากพริกในทุกระดับความเข้มข้นที่ใช้คือ 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ไม่สามารถทำให้หนอนกระทุ้งผักตายได้เลยเช่นเดียวกับสารสกัดจากพริกความเข้มข้น 5, 4, 3, 2, 1 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ใช้ทดสอบในครั้งที่สอง

1.2 ทดสอบพิษทางผิวหนัง (Dermal Toxicity Test)

สารสกัดจากพริกที่พ่นไปบนตัวหนอนกระทุ้งผักโดยตรง ให้ประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนเป็นที่น่าพอใจโดยเฉพาะความเข้มข้นระดับสูง คือ 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ยการตายสูงเกิน 50 เปอร์เซ็นต์ ในแต่ละเวลาภายหลังจากได้รับสารสกัด และไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 3.9) เมื่อนำข้อมูลการตายของหนอนกระทุ้งผักที่เวลา 24 ชั่วโมงภายหลังจากได้รับสารสกัดจากพริก โดยวิธี

พ่นไปที่ตัวหนอน มาคำนวณหาค่า LC_{50} โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Logit PC พบว่า LC_{50} (พิษทางผิวหนัง) ของสารสกัดจากพริกที่มีต่อหนอนกระทู้ผักมีค่าเท่ากับ 1.8098 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3.9 ร้อยละของหนอนกระทู้ผักที่ตายหลังจากได้รับสารสกัดจากพริก โดยวิธีพ่นที่ตัวหนอน

ความเข้มข้นของ สารสกัดจากพริก (%)	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนใยผักที่ตาย ภายหลังได้รับสารเป็นเวลา (ชั่วโมง) ^{1/}					
	3	6	12	24	48	72
3.00	60.00 ^a	60.00 ^a	60.00 ^a	63.33 ^{ab}	63.33 ^{ab}	63.33 ^{ab}
2.00	56.67 ^{ab}	63.33 ^a	66.67 ^a	70.00 ^a	70.00 ^a	70.00 ^a
1.50	23.33 ^{cd}	30.00 ^{bc}	30.00 ^b	30.00 ^{cd}	30.00 ^{cd}	30.00 ^{cd}
1.00	33.33 ^{bc}	33.33 ^b	33.33 ^b	40.00 ^{bc}	40.00 ^{bc}	40.00 ^{bc}
0.75	6.67 ^d	6.67 ^{cd}	6.67 ^c	6.67 ^{de}	6.67 ^{de}	6.67 ^{de}
0.50	3.33 ^d	3.33 ^d	3.33 ^c	3.33 ^e	3.33 ^e	3.33 ^e
0.25	0.00 ^d	0.00 ^d	0.00 ^c	0.00 ^e	0.00 ^e	0.00 ^e
check	0.00 ^d	0.00 ^d	0.00 ^c	0.00 ^e	0.00 ^e	0.00 ^e

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

เมื่อดำเนินการทดสอบในครั้งที่สอง ความเข้มข้นของสารสกัดจากพริกที่ใช้คือ 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ที่ความเข้มข้น 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ทำให้หนอนกระทู้ผักตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่ 3 ชั่วโมงภายหลังได้รับสาร การตายของหนอนเกิดขึ้นในทุกความเข้มข้นที่ใช้และมีเปอร์เซ็นต์การตายค่อนข้างสูงโดยเฉพาะความเข้มข้นต่ำ ๆ (ตารางที่ 3.10) เมื่อเปรียบเทียบกับทดสอบครั้งแรกในระดับความเข้มข้นที่เท่ากัน พบว่า การทดสอบในครั้งหลังนี้มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงกว่ามาก ทั้งนี้เนื่องจากในการทดสอบครั้งที่สอง เมื่อพ่นสารสกัดจากพริกไปที่ตัวหนอนแล้ว ไม่ได้เขี่ยหนอนไปไว้บนใบคะน้าในทันทีเหมือนการทดสอบครั้งแรก แต่ยังคงปล่อยหนอนให้อยู่ในสภาพลำตัวเปียกชุ่มไปด้วยสารสกัดเป็นเวลานาน 5 นาที เพื่อเลียนแบบในสภาพธรรมชาติ เพราะถ้าหากนำสารสกัดจากพริกไปพ่นกำจัดหนอนในแปลงปลูกผักของเกษตรกรแล้ว หนอนก็จะเปียกชุ่มไปด้วยสารสกัดตลอดเวลาจนสารสกัดแห้งไปเองตามธรรมชาติ

จากผลการทดสอบในครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากพริกมีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนกระทู้ผักเป็นอย่างดีในระยะเวลาอันสั้น ถ้าหากต้องการจะนำสารสกัดจากพริกไปใช้กำจัดหนอนกระทู้ผัก ความเข้มข้นที่เหมาะสมก็คือ 2 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนที่ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) กับเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนเมื่อใช้ความเข้มข้น 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ การใช้สารสกัดที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ นอกจากจะเป็นการประหยัด ยังอาจไม่มีผลกระทบอันเนื่องมาจากกลิ่นและสีของสารสกัดจากพริกที่ติดอยู่บนใบพืชด้วย

เมื่อนำข้อมูลการตายของหนอนกระทู้ผักที่เวลา 24 ชั่วโมงภายหลังได้รับสารสกัดจากพริก โดยวิธีฟันไปที่ตัวหนอน มาคำนวณหาค่า LC_{50} โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Logit PC พบว่า LC_{50} (พิษทางผิวหนัง) ของสารสกัดจากพริกที่มีต่อหนอนกระทู้ผักมีค่าเท่ากับ 0.4295 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งหมายถึงการใช้สารสกัดจากพริกในระดับความเข้มข้นเพียง 0.4295 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำให้หนอนกระทู้ผักตายได้ 50 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3.10 ร้อยละของหนอนกระทู้ผักที่ตายหลังจากได้รับสารสกัดจากพริก โดยวิธีฟันไปที่ตัวหนอน

ความเข้มข้นของ สารสกัดจากพริก (%)	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนกระทู้ผักที่ตาย ภายหลังได้รับสารเป็นเวลา (ชั่วโมง) ^{1/}					
	3	6	12	24	48	72
5.00	100.00 ^a	100.00 ^a	100.00 ^a	100.00 ^a	100.00 ^a	100.00 ^a
4.00	100.00 ^a	100.00 ^a	100.00 ^a	100.00 ^a	100.00 ^a	100.00 ^a
3.00	86.67 ^{ab}	86.67 ^a	86.67 ^{ab}	90.00 ^a	90.00 ^{ab}	90.00 ^{ab}
2.00	80.00 ^b	86.67 ^a	86.67 ^{ab}	93.33 ^a	93.33 ^{ab}	93.33 ^{ab}
1.00	43.33 ^c	53.33 ^b	73.33 ^b	73.33 ^b	83.33 ^b	83.33 ^b
0.50	50.00 ^c	50.00 ^b	56.67 ^c	60.00 ^c	60.00 ^c	63.33 ^c
check	0.00 ^d	0.00 ^c	0.00 ^d	0.00 ^d	0.00 ^d	0.00 ^d

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

2. สารสกัดจากพริกไทย

2.1 ทดสอบพิษทางการกิน (Oral Toxicity Test)

สารสกัดจากพริกไทยเมื่อทดสอบกับหนอมนกระทุ้ฝึกแล้ว ให้ผลไปในทิศทางเดียวกันกับสารสกัดจากพริก โดยที่สารสกัดจากพริกไทยทุกระดับความเข้มข้นที่ใช้ครั้งแรกคือ 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ และความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบในครั้งที่สองคือ 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ไม่สามารถฆ่าหนอนแม้แต่ตัวเดียว เมื่อใช้วิธีชุปใบค่น้ำในสารสกัดแล้วนำมาให้หนอนกินเป็นอาหาร

2.2 ทดสอบพิษทางผิวหนัง (Dermal Toxicity Test)

ประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนกระทุ้ฝึกเกิดขึ้นเมื่อพ่นสารสกัดจากพริกไทยไปบนตัวของหนอนโดยตรง แต่ก็มีประสิทธิภาพไม่มากนัก โดยในการทดสอบครั้งแรกที่ใช้ความเข้มข้นสูงสุดเป็น 3 เปอร์เซ็นต์ และในระดับความเข้มข้นนี้ให้ค่าเฉลี่ยการตายสูงสุดในทุกเวลาที่ตรวจวัดผลเมื่อเทียบกับความเข้มข้นระดับอื่น ๆ และค่าเฉลี่ยสูงสุดมีเพียง 23.33 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น (ตารางที่ 3.11) สำหรับการทดสอบครั้งที่สองที่ใช้ความเข้มข้นสูงสุดเป็น 5 เปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนไม่แตกต่างกันมากนัก โดยการตายสูงสุดมีค่าเท่ากับ 16.67 เปอร์เซ็นต์ที่ระดับความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังหนอนได้รับสารสกัดไปแล้ว 72 ชั่วโมง (ตารางที่ 3.12) โดยภาพรวมแล้วดูเหมือนว่าประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกไทยลดลงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับระดับความเข้มข้นเดียวกัน

เมื่อนำผลการทดสอบสารสกัดจากพริกไทยไปเปรียบเทียบกับสารสกัดจากพริกแล้ว พบว่าสารสกัดจากพริกไทยมีประสิทธิภาพต่ำกว่า ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Wiriyaichitra (1990) ที่ระบุว่าสารสกัดจากพริกไทยมีประสิทธิภาพน้อยกว่าสารสกัดจากพริกไทย สาเหตุที่เป็นไปได้ประการหนึ่งที่ทำให้สารสกัดจากพริกไทยมีประสิทธิภาพลดลงไป เนื่องจากในขั้นตอนการเตรียมสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ได้ใช้เอธิล แอลกอฮอล์ 99% เป็นตัวทำละลาย แทนการใช้เฮกเซน หรือปิโตรเลียมอีเทอร์ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการละลายสารสกัดได้ดีกว่า อย่างไรก็ตาม การใช้สารทำละลายดังกล่าวไม่สามารถดำเนินการได้ เนื่องจากสารทั้งสองชนิดมีพิษต่อแมลงและพืชที่ใช้ทดสอบ นอกจากนี้ในการละลายสารสกัดพริกไทยด้วยเอธิล แอลกอฮอล์ นั้น เมื่อเติมน้ำกลั่นลงไปเพื่อให้ได้สารสกัดตามความเข้มข้นที่ต้องการ พบว่า มีการแยกชั้นของของเหลวเกิดขึ้น โดยมีของเหลวสีเข้มคล้ายน้ำมันลอยอยู่ชั้นบน (ภาพที่ 3.7) จึงทำการกรองน้ำมันส่วนนี้ออกก่อน แล้วจึงนำของเหลวชั้นล่างที่ได้ไปทดสอบกับแมลง ซึ่งเป็นไปได้ว่า สารออกฤทธิ์ของพริกไทยบางส่วนอาจปนอยู่กับส่วนของน้ำมันที่ถูกกรองออกไป จึงทำให้ประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนกระทุ้ฝึกลดลงไปก็เป็นได้

ตารางที่ 3.11 ร้อยละของหนอนกระทุ้งที่ตายหลังจากได้รับสารสกัดจากพริกไทย โดยวิธีพ่นที่ตัว
หนอน

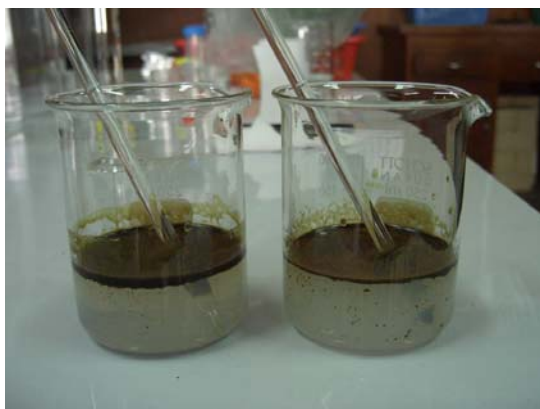
ความเข้มข้นของสาร สกัดจากพริกไทย (%)	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนกระทุ้งที่ตาย ภายหลังได้รับสารเป็นเวลา (ชั่วโมง) ^{1/}					
	3	6	12	24	48	72
3.00	20.00 ^a	23.33 ^a	23.33 ^a	23.33 ^a	23.33 ^a	23.33 ^a
2.00	10.00 ^{ab}	10.00 ^{bc}	10.00 ^{bc}	10.00 ^{bc}	10.00 ^{bc}	10.00 ^{bc}
1.50	10.00 ^{ab}	13.33 ^{ab}	13.33 ^{ab}	13.33 ^{ab}	13.33 ^{ab}	13.33 ^{ab}
1.00	0.33 ^b	0.33 ^{bc}	0.33 ^{bc}	0.33 ^{bc}	0.33 ^{bc}	0.33 ^{bc}
0.75	0.33 ^b	0.33 ^{bc}	0.33 ^{bc}	0.33 ^{bc}	0.33 ^{bc}	0.33 ^{bc}
0.50	0.00 ^b	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c
0.25	0.00 ^b	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c
check	0.00 ^b	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

ตารางที่ 3.12 ร้อยละของหนอนกระทุ้งที่ตายหลังจากได้รับสารสกัดจากพริกไทย โดยวิธีพ่นที่ตัว
หนอน

ความเข้มข้นของ สารสกัดจากพริกไทย (%)	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนกระทุ้งที่ตาย ภายหลังได้รับสารเป็นเวลา (ชั่วโมง) ^{1/}					
	3	6	12	24	48	72
5.00	0.00	3.33 ^a	6.67 ^a	10.00 ^a	13.33 ^a	16.67 ^a
4.00	0.00	0.00 ^a	6.67 ^a	6.67 ^{ab}	10.00 ^{ab}	10.00 ^b
3.00	0.00	0.00 ^a	3.33 ^{ab}	3.33 ^{bc}	6.67 ^b	6.67 ^b
2.00	0.00	0.00 ^a	0.00 ^b	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c
1.00	0.00	0.00 ^a	0.00 ^b	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c
0.50	0.00	0.00 ^a	0.00 ^b	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c
check	0.00	0.00 ^a	0.00 ^b	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD



ภาพที่ 3.7 สารสกัดจากพริกไทยเมื่อผสมน้ำแล้วมีการแยกชั้นเกิดขึ้น

3. สารสกัดจากพริกผสมพริกไทย

3.1 ทดสอบพิษทางการกิน (Oral Toxicity Test)

การใช้สารสกัดจากพริกผสมรวมกับสารสกัดจากพริกไทยในระดับความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ทดสอบพิษทางการกินกับหนูนกระทุ้ผัก พบว่า สารสกัดผสมทุกความเข้มข้นไม่สามารถฆ่าหนูนกระทุ้ผักได้เลยเช่นเดียวกับสารสกัดจากพริกและสารสกัดจากพริกไทย

3.2 ทดสอบพิษทางผิวหนัง (Dermal Toxicity Test)

สารสกัดผสมของพริกกับพริกไทยที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำไปพ่นใส่ตัวหนูนกระทุ้ผัก พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ให้เปอร์เซ็นต์การตายของหนูนไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ทุกระยะเวลาที่ตรวจสอบการตายของหนูน ยกเว้นที่ 72 ชั่วโมงภายหลังหนูนได้รับสาร สารสกัดความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์เท่านั้นที่ให้เปอร์เซ็นต์การตายต่ำกว่า (ตารางที่ 3.13) ค่า LC_{50} (พิษทางผิวหนัง) ของสารสกัดผสมที่คำนวณได้มีค่าเท่ากับ 3.8167 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพิจารณาโดยรวมแล้วสารสกัดผสมนี้มีประสิทธิภาพในการฆ่าหนูนกระทุ้ผักได้ต่ำกว่าเมื่อใช้สารสกัดจากพริกแต่เพียงลำพัง ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากพริกและสารสกัดจากพริกไทยเมื่อนำมาผสมรวมกันแล้วไม่ได้มีการเสริมฤทธิ์กันเพื่อให้ได้พิษเพิ่มขึ้น การตายของหนูนที่เกิดขึ้นเป็นผลมาจากสารสกัดจากพริกเพียงอย่างเดียว และความเข้มข้นของสารสกัดจากพริกในทุกความเข้มข้นของสารผสมก็ถูกเจือจางลงด้วยสารสกัดจากพริกไทย จึงเป็นสาเหตุให้เปอร์เซ็นต์การตายของหนูนที่ได้ต่ำลงเมื่อเปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์การตายเมื่อใช้สารสกัดจากพริกเพียงอย่างเดียว

ตารางที่ 3.13 ร้อยละของหนอนกระทุ้งที่ตายหลังจากได้รับสารสกัดจากพริกผสมพริกไทย โดยวิธีพ่นที่ตัวหนอน

ความเข้มข้นของ สารสกัดจากพริกผสม พริกไทย (%)	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนกระทุ้งที่ตาย ภายหลังได้รับสารเป็นเวลา (ชั่วโมง) ^{1/}					
	3	6	12	24	48	72
5.00	76.67 ^a	76.67 ^a	80.00 ^a	83.33 ^a	83.33 ^a	96.67 ^a
4.00	70.00 ^a	73.33 ^a	76.67 ^a	80.00 ^a	83.33 ^a	83.33 ^{ab}
3.00	73.33 ^a	73.33 ^a	73.33 ^a	73.33 ^a	83.33 ^a	86.67 ^{ab}
2.00	73.33 ^a	73.33 ^a	73.33 ^a	76.67 ^a	76.67 ^a	76.67 ^b
1.00	36.67 ^b	36.67 ^b	43.33 ^b	43.33 ^b	46.67 ^b	46.67 ^c
0.50	3.33 ^c	6.67 ^c	6.67 ^c	6.67 ^c	10.00 ^c	10.00 ^d
check	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^d

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสมมติเดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยวิธี LSD

เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชชนิดต่างๆ

การศึกษาในหัวข้อนี้ไม่ได้บรรจุอยู่ในแผนการดำเนินงานของโครงการ แต่เป็นเพราะผู้ทรงคุณวุฒิภายหลังจากที่พิจารณารายงานความก้าวหน้าผลการวิจัย ครั้งที่ 1 แล้ว มีความเห็นว่าจะต้องทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกและพริกไทยกับสารสกัดจากพืชชนิดอื่น ๆ ที่ได้ผลิตเป็นการค้าแล้วหรือที่หน่วยงานต่าง ๆ ผลิตขึ้นมาใช้ ผู้วิจัยจึงได้เลือกสารสกัดผสมระหว่างดีปลีกับหางไหลมาใช้ทดสอบร่วมด้วย ซึ่งสารสกัดดังกล่าวได้รับความอนุเคราะห์จากโครงการผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพร ของมูลนิธิโครงการหลวง สำหรับสารสกัดจากพริกและพริกไทยที่ใช้ในการทดสอบเปรียบเทียบในครั้งนี้ ได้เลือกใช้ระดับความเข้มข้นที่ให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการฆ่าหนอนที่ได้จากการทดสอบประสิทธิภาพที่ผ่านมา การทดสอบได้ดำเนินการเฉพาะวิธีพ่นไปที่ตัวหนอนโดยตรงเท่านั้น เนื่องจากวิธีการชุบใบพืชในสารสกัดแล้วนำมาให้หนอนกิน สารสกัดจากพริกและพริกไทยไม่มีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนนั่นเอง

1. หนอนใยผัก

เมื่อนำสารสกัดทั้งหมดมาทดสอบกับหนอนใยผักโดยวิธีพ่นสารไปที่ตัวหนอน ซึ่งพบว่า สารสกัดผสมระหว่างดีปลีกับหางไหลมีประสิทธิภาพสูงสุด สามารถฆ่าหนอนได้สูงสุด 93.33 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 24 ชั่วโมงภายหลังจากหนอนได้รับสาร รองลงมาคือสารสกัดจากพริกที่ระดับความเข้มข้น 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งให้ผลการตายไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วนสารสกัดพริกไทยให้ประสิทธิภาพต่ำ ไม่ต่างไปจากชุดควบคุม (check) เมื่อเปรียบเทียบกับทางสถิติ (ตารางที่ 3.14)

ตารางที่ 3.14 ร้อยละของหนอนใยผักที่ตายหลังจากได้รับสารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ โดยวิธีพ่นที่ตัวหนอน

สารสกัดจากพืช และความเข้มข้น	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนใยผักที่ตาย ภายหลังจากได้รับสารเป็นเวลา (ชั่วโมง) ^{1/}					
	3	6	12	24	48	72
พริก (4 %)	13.33 ^b	26.67 ^b	46.67 ^b	53.33 ^b	63.33 ^b	66.67 ^b
พริก (3 %)	3.33 ^{bc}	10.00 ^c	23.33 ^c	43.33 ^b	46.67 ^c	50.00 ^b
พริกไทย (4 %)	0.00 ^c	3.33 ^c	3.33 ^d	6.67 ^c	10.00 ^d	13.33 ^c
พริกไทย (3 %)	3.33 ^{bc}	3.33 ^c	3.33 ^d	3.33 ^c	3.33 ^d	3.33 ^c
ดีปลี+หางไหล (150 มล./น้ำ 20 ล.)	83.33 ^a	83.33 ^a	90.00 ^a	93.33 ^a	93.33 ^a	93.33 ^a
check	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^d	0.00 ^c	0.00 ^d	0.00 ^c

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสมมุติเดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

การที่สารสกัดผสมระหว่างดีปลีกับหางไหลมีประสิทธิภาพสูงสุดในการฆ่าหนอนใยผักนั้น อาจเป็นผลมาจากสารสกัดจากดีปลีที่ผสมอยู่ด้วยแต่เพียงอย่างเดียว ซึ่งศูนย์วิจัยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (2537) รายงานว่าสารสกัดจากผลดีปลี สามารถฆ่าแมลงได้หลายชนิดโดยเฉพาะกับหนอนใยผัก ให้ผลในการควบคุมเป็นอย่างดีทั้งในห้องปฏิบัติการและในแปลงปลูกผักของเกษตรกร ส่วนสารสกัดจากหางไหลนั้น ในฉลากผลิตภัณฑ์สารสกัดจากพืชกำจัดแมลง “ดี 1” ซึ่งเป็นสารสกัดจากหางไหลผลิตโดยสถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ไม่ระบุว่าสารสกัดจากหางไหลมีคุณสมบัติในการฆ่าหนอนใยผักแต่อย่างใด

2. หนอนกระทุ้ง

สารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ ดังกล่าวเมื่อนำมาทดสอบกับแมลงศัตรูผักอีกชนิดหนึ่งคือ หนอนกระทุ้ง พบว่า สารสกัดจากพริกที่ความเข้มข้น 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยสามารถฆ่าหนอนให้ตายได้ 76.67 และ 83.33 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ที่เวลา 24 ชั่วโมงภายหลังหนอนได้รับสาร ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) หลังจากนั้นสารสกัดจากพริกที่ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์มีประสิทธิภาพสูงสุด ฆ่าหนอนได้ 86.67 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3.15) ส่วนสารสกัดผสมระหว่างดีปลีกับหางไหล มีประสิทธิภาพต่ำ การตายของหนอนเกิดขึ้นสูงสุดเพียง 23.33 เปอร์เซ็นต์ สำหรับสารสกัดจากพริกไทยมีประสิทธิภาพต่ำที่สุดเทียบเคียงได้กับชุดควบคุม (check) ที่ใช้เฉพาะน้ำกลั่นเท่านั้น

ตารางที่ 3.15 ร้อยละของหนอนกระทุ้งที่ตายหลังจากได้รับสารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ โดยวิธีพ่นที่ตัวหนอน

สารสกัดจากพืช และความเข้มข้น	ร้อยละเฉลี่ยของหนอนกระทุ้งที่ตาย ภายหลังได้รับสารเป็นเวลา (ชั่วโมง) ^{1/}					
	3	6	12	24	48	72
พริก (3 %)	70.00 ^a	76.67 ^a	80.00 ^a	83.33 ^a	86.67 ^a	86.67 ^a
พริก (2 %)	63.33 ^a	66.67 ^a	73.33 ^a	76.67 ^a	76.67 ^b	76.67 ^b
พริกไทย (4 %)	0.00 ^b	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	6.67 ^d	6.67 ^d
พริกไทย (3 %)	0.00 ^b	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^d	0.00 ^d
ดีปลี+หางไหล (150 มล./น้ำ 20 ล.)	10.00 ^b	13.33 ^b	20.00 ^b	23.33 ^b	23.33 ^c	23.33 ^c
check	0.00 ^b	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^d	0.00 ^d

^{1/} ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

สรุป

สารสกัดจากพริกและพริกไทยเมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพกับหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผักโดยวิธีจุ่มใบพืช แล้วนำมาให้หนอนกินเป็นอาหารเพื่อทดสอบฤทธิ์ทางสารพิษ พบว่า สารสกัดจากพริกและพริกไทยทุกระดับความเข้มข้นคือ 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนทั้งสองชนิด โดยสารสกัดจากพริกที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำให้หนอนใยผักตายได้เพียง 16.67 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น ส่วนสารสกัดจากพริกไทยที่ทดสอบกับหนอนใยผัก และสารสกัดจากพริกและพริกไทยที่ทดสอบกับหนอนกระทู้ผักนั้น สารสกัดดังกล่าวทุกความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบไม่สามารถฆ่าหนอนให้ตายได้แม้แต่ตัวเดียว

เมื่อนำสารสกัดจากพริกและพริกไทยในความเข้มข้นระดับเดียวกับที่ใช้ทดสอบฤทธิ์ทางสารพิษ ไปพ่นใส่ตัวหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผักเพื่อทดสอบฤทธิ์ทางสัมผัส พบว่า สารสกัดจากพริกที่ระดับความเข้มข้น 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนใยผักดีไม่แตกต่างกันทางสถิติที่เวลา 72 ชั่วโมงหลังจากหนอนได้รับสารสกัด โดยทำให้หนอนมีค่าเฉลี่ยการตาย 63.33, 66.67 และ 76.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีค่า LC_{50} (ทางสัมผัส) เท่ากับ 2.3372 เปอร์เซ็นต์ สำหรับสารสกัดจากพริกไทยในการทดสอบครั้งแรกเฉพาะที่ความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการกำจัดหนอนใยผัก โดยสามารถฆ่าหนอนได้สูง 70.00 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในการทดสอบครั้งที่สอง ประสิทธิภาพของสารสกัดกลับลดลงทั้ง ๆ ที่ใช้ความเข้มข้นสูงกว่าครั้งแรก โดยที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ฆ่าหนอนใยผักได้สูงสุดเพียง 36.67 เปอร์เซ็นต์ อาจเนื่องมาจากสารสกัดเสื่อมฤทธิ์ลงเพราะเก็บไว้นานเกินไป สำหรับการทดสอบกับหนอนกระทู้ผัก พบว่า สารสกัดจากพริกมีประสิทธิภาพดีเยี่ยม โดยที่ความเข้มข้น 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถฆ่าหนอนกระทู้ผักตายได้ 100 เปอร์เซ็นต์ หลังจากพ่นสารสกัดไปแล้ว 3 ชั่วโมง ขณะที่สารสกัดจากพริกที่ความเข้มข้น 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ก็ให้เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนไม่ต่างกันทางสถิติกับสารสกัดที่ความเข้มข้น 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 12 ชั่วโมงหลังการพ่นสารให้หนอน โดยสารสกัดจากพริกที่ความเข้มข้น 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ มีการตายของหนอนเท่ากันคือ 86.67 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า LC_{50} (ทางสัมผัส) เท่ากับ 0.4295 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารสกัดจากพริกไทยมีประสิทธิภาพไม่ดีนักในการฆ่าหนอนกระทู้ผัก โดยที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ฆ่าหนอนได้สูงสุดเพียง 16.67 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 72 ชั่วโมงหลังพ่นสารให้หนอน

สารสกัดผสมระหว่างสารสกัดพริกกับสารสกัดพริกไทยในระดับความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำมาทดสอบพิษทางสารพิษกับหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผัก พบว่า สารสกัด

ผสมทุกความเข้มข้นไม่สามารถฆ่าหนอนทั้งสองชนิดแม้แต่ตัวเดียว ขณะที่การทดสอบพิษทางสัมผัสกลับให้ผลเป็นที่น่าพอใจ โดยสารสกัดผสมความเข้มข้น 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักไม่ต่างกันทางสถิติ คือมีการตายเท่ากับ 56.67 และ 63.33 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ที่เวลา 72 ชั่วโมงหลังจากหนอนได้รับสารสกัด ส่วนการทดสอบกับหนอนกระทู้ผัก พบว่า สารสกัดผสมมีประสิทธิภาพดีคล้ายกับการใช้สารสกัดจากพริกอย่างเดียว โดยสารสกัดผสมที่ความเข้มข้น 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนไม่ต่างกันทางสถิติในทุกเวลาทำการตรวจวัดผล สารสกัดผสมที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ให้เปอร์เซ็นต์การตายสูงสุดคือ 96.67 เปอร์เซ็นต์ที่เวลา 72 ชั่วโมงหลังจากหนอนได้รับสารสกัดผสม

จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริก พริกไทย และสารสกัดผสมระหว่างดีปลีกับหางไหล ที่มีต่อหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผักโดยวิธีพ่นสารไปบนตัวหนอน พบว่า สารสกัดจากพริกความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพพอใช้ในการควบคุมหนอนใยผัก โดยมีเปอร์เซ็นต์การตายเกิดขึ้นสูงสุด 66.67 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดจากพริกความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพดีมากในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงสุดเท่ากับ 86.67 เปอร์เซ็นต์ สำหรับสารสกัดผสมระหว่างดีปลีกับหางไหลให้ผลดีมากเมื่อใช้กับหนอนใยผัก ให้ผลการตายสูงสุดที่ 93.33 เปอร์เซ็นต์ตั้งแต่ 24 ชั่วโมงหลังจากให้สารแก่หนอน แต่มีประสิทธิภพต่ำกับหนอนกระทู้ผัก ซึ่งสามารถฆ่าหนอนได้เพียง 23.33 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น ส่วนสารสกัดจากพริกไทยมีประสิทธิภาพต่ำมากในการควบคุมหนอนทั้งสองชนิด

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2550. รายงานสรุปการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร ปี พ.ศ. 2549. (ระบบออนไลน์). แหล่งที่มา: <http://www.doa.go.th/ard/pdf/ImpPest49.pdf> (16 มกราคม 2550).
- จินตนา ภูมังกูญชัย พนิดา ไชยยันต์บุรณ์ และธีรพล ชุ่มจิตต์วรรณะ. 2543. การหาชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างในพืชผักตระกูลกะหล่ำ. หน้า 257-263. ใน: กองวัตถุมีพิษการเกษตร. การวิเคราะห์ วิจัย และควบคุมวัตถุอันตราย เป็นหัวใจของเกษตรที่ดีที่เหมาะสม. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- ณรงค์ โฉมเฉลา. 2536. การใช้พืชสมุนไพรและพืชหอมในการป้องกันกำจัดศัตรูทางการเกษตร. หน้า 12-15. ใน: รายงานการสัมมนา การใช้สารสกัดจากพืชเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูทางการเกษตร. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- มยุรา สุนย์วีระ มนตรี ทิพสร และ สุชิน เอี่ยมวิริยวัฒน์. 2538. แนวทางการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* (F.)) โดยใช้พืชสมุนไพรบางชนิด. หน้า 573-575. ใน: เอกสารการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 2, วันที่ 9-11 ตุลาคม 2538, จังหวัดเชียงใหม่.
- วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ. 2536. ทิศทางของการวิจัยเพื่อควบคุมหนอนใยผักในประเทศไทย. รายงานการวิจัย. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.
- ศุภชัยวิทย์ผลิตภรณ์ธรรมชาติ. 2537. สารสกัดควบคุมแมลงจากพืช. ข่าว มช. วิจัย 18(2): 3-4.
- สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. 2549. สารสกัดจากพืชเพื่อการควบคุมศัตรูพืช. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 35 หน้า.
- Jacobson, M. 1989. Botanical pesticides: Past, present, and future. pp. 1-10. In: J.T. Arnason, B.J.R. Philogene, and P. Moran (eds.). Insecticides of Plant Origin. American Chemical Society, Washington, D.C.
- Saxena, R.C. 1989. Insecticides from neem. pp. 110-135. In: J.T. Arnason, B.J.R. Philogene, and P. Moran (eds.). Insecticides of Plant Origin. American Chemical Society, Washington, D.C.
- Wiriyaichitra, P. 1990. Botanical pesticides. First Report. Research Centre for Natural Products, Chiang Mai University, Chiang Mai.

บทที่ 4 : การทดสอบความเป็นพิษกับพืช

การใช้สารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ปัญหาประการหนึ่งที่พบได้เสมอก็คือ เมื่อใช้สารสกัดจากพืชบางชนิดไปแล้ว อาจทำให้พืชแสดงอาการผิดปกติได้ เช่น การใช้สารสกัดจากสะเดาที่ได้จากการหมัก ฟ่นป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชเพื่อการปลูกผักให้ปลอดภัยจากสารพิษ มีข้อเสนอแนะว่า พืชปลูกบางชนิดเมื่อได้รับสารสกัดจากสะเดา อาจทำให้พืชเกิดอาการใบไหม้ เหี่ยวเฉา หรือแฉะแกร็นได้ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2549) ดังนั้น วัตถุประสงค์ของการศึกษาในบทนี้ก็เพื่อศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดจากพริกและพริกไทยที่มีต่อผักคะน้า ทั้งนี้หากสารสกัดทั้งสองมีประสิทธิภาพดีในการกำจัดหนอนศัตรูผัก แต่ทว่าเมื่อนำสารสกัดเหล่านี้ไปใช้ในแปลงเกษตรกรแล้วทำให้พืชผักผิดปกติไปจากปกติ เราก็ไม่สามารถใช้สารสกัดเหล่านี้เพื่อประโยชน์ในการกำจัดศัตรูพืชต่อไปได้

อุปกรณ์และวิธีการ

ได้ทำการทดสอบความเป็นพิษที่มีต่อพืช (phytotoxicity) ของสารสกัดจากพริกและพริกไทย โดยนำสารสกัดทั้งสองแต่ละความเข้มข้น ฟ่นไปบนต้นคะน้าที่มีอายุประมาณ 20 วันหลังย้ายปลูกในกระถางจนเปี่ยมชุ่ม โดยใช้ air brush sprayer (ภาพที่ 4.1) โดยแต่ละความเข้มข้น ทำการพ่นต้นคะน้าจำนวน 3 ต้น (3 ซ้ำ) หลังการพ่นสารสกัด ทำการตรวจดูการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นกับต้นคะน้าทุกวัน เป็นเวลา 7 วัน พร้อมบันทึกข้อมูล



ภาพที่ 4.1 การพ่นสารสกัดจากพริกที่ต้นคะน้าเพื่อทดสอบความเป็นพิษกับต้นพืช

ผลการทดลองและวิจารณ์

ในการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากพริกและพริกไทยที่มีต่อผักคะน้า ทำการทดสอบ 2 ครั้ง ครั้งแรกทำการพ่นสารสกัดทั้งสองที่ระดับความเข้มข้น 3.0, 2.0, 1.0 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ไปบนต้นคะน้าที่ปลูกไว้ในกระถางพลาสติกและอยู่ในโรงเรือนตาข่าย (screen house) ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดจากพริกและพริกไทยทุกความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบไม่ส่งผลกระทบต่อพืชทางด้านกายภาพ ยกเว้น สารสกัดจากพริกที่ระดับความเข้มข้น 2.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น ที่ทำให้ต้นคะน้าติดสีส้มอ่อนอันเนื่องมาจากสีของสารสกัดจากพริก (ภาพที่ 4.2) ซึ่งการให้น้ำแก่ต้นคะน้าในการทดสอบครั้งนี้ ให้น้ำเฉพาะที่โคนต้นเท่านั้น หากทำการรดน้ำที่ใบหลังจากพ่นสารสกัดไปแล้ว 1 วัน (รอให้สารสกัดออกฤทธิ์กับหนอนก่อน) แล้วจึงรดน้ำที่ใบ ก็อาจจะทำให้สีของสารสกัดหมดไปจากต้นคะน้าได้ นอกจากนี้ การนำต้นคะน้าไปไว้ในโรงเรือนตาข่ายซึ่งได้รับแสงแดดน้อยกว่าที่ปลูกในสภาพแปลงของเกษตรกร อาจทำให้การทดสอบผิดพลาดได้ เนื่องจากแสงแดดอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ช่วยส่งเสริมให้เกิดอาการใบไหม้ในพืชอันเนื่องมาจากสารสกัดได้



ภาพที่ 4.2 สภาพต้นคะน้าที่ได้รับสารสกัดจากพริกความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์

การทดสอบครั้งที่สอง ได้ทำการปลูกผักคะน้าในกระถางและนำไปตั้งไว้กลางแจ้งนอกโรงเรือนตาข่าย สารสกัดจากพริกและพริกไทยที่ใช้ในการทดสอบครั้งนี้ ใช้ที่ระดับความเข้มข้น 5, 4, 3 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดสอบพบว่า ภายหลังจากพ่นสารสกัดไปแล้ว 24 ชั่วโมง ต้นคะน้าที่ถูกพ่นด้วยสารสกัดจากพริกไทยทุกความเข้มข้น ไม่มีความแตกต่างไปจากกรรมวิธีเปรียบเทียบ (check) (ภาพที่ 4.3ก) ขณะที่ต้นคะน้าที่ถูกพ่นด้วยสารสกัดจากพริก หากพิจารณาอย่างผิวเผินแล้ว สีของใบ



ภาพที่ 4.3 สภาพต้นค่น้ำภายหลังพ่นสารสกัดไปแล้ว 24 ชั่วโมง

- ก. พ่นด้วยสารสกัดจากพริกไทย 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ เรียงลำดับจากแถวซ้ายมือตามลำดับ และแถวขวามือสุดคือกรรมวิธีเปรียบเทียบ (น้ำกลั่น)
- ข. พ่นด้วยสารสกัดจากพริก 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ เรียงลำดับจากแถวที่สองซ้ายมือตามลำดับ และแถวซ้ายมือสุดคือกรรมวิธีเปรียบเทียบ (น้ำกลั่น)

ของค่น้ำไม่ต่างไปจากใบค่น้ำในกรรมวิธีเปรียบเทียบ แต่ถ้าสังเกตอย่างละเอียดแล้ว ใบค่น้ำที่ถูกพ่นด้วยสารสกัดจากพริกที่ความเข้มข้นสูงจะมีสีเหลืองอ่อน ๆ และเห็นได้ชัดเจนมากขึ้นเมื่อพิจารณาที่ลำต้น โดยเห็นเป็นคราบสีเหลืองติดอยู่บริเวณลำต้น (ภาพที่ 4.3ข และ 4.4) จากนั้นทำการรดน้ำให้ต้นค่น้ำโดยรดให้เปียกทั่วต้น สามารถสังเกตเห็นความแตกต่างชัดเจนยิ่งขึ้น โดยใบของต้นค่น้ำที่ถูกพ่นด้วยสารสกัดจากพริกเปียกน้ำได้ง่ายขึ้น ทำให้เห็นต้นค่น้ำที่ถูกพ่นด้วยสารสกัดจากพริกมีสี



ภาพที่ 4.4 สภาพต้นค่น้ำภายหลังพ่นสารสกัดจากพริกความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ไปแล้ว 24 ชั่วโมง

เหลืองอ่อน ๆ (ภาพที่ 4.5 ก) แตกต่างจากต้นคะน้าที่พ่นด้วยสารสกัดจากพริกไทยและกรรมวิธีเปรียบเทียบอย่างชัดเจน (ภาพที่ 4.5 ข) เมื่อนำส่วนของใบมาเปรียบเทียบกัน พบว่า ใบคะน้าที่ถูกพ่นด้วยสารสกัดจากพริกไทยไม่เปียกน้ำ มีน้ำเกาะที่ใบบ้างเป็นจุดเล็ก ๆ ส่วนใบที่ถูกพ่นด้วยสารสกัดจากพริกมีสภาพเปียกน้ำโดยตลอด ขณะที่ใบคะน้าในกรรมวิธีเปรียบเทียบแทบจะไม่มีน้ำเกาะติดเลย (ภาพที่ 4.6)



ภาพที่ 4.5 สภาพต้นคะน้าเมื่อมีการรดน้ำที่ใบภายหลังพ่นสารสกัดไปแล้ว 24 ชั่วโมง

ก. คะน้า 4 แถวขวามือถูกพ่นด้วยสารสกัดจากพริก ส่วนแถวซ้ายมือสุดถูกพ่นด้วยน้ำกลั่น (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)

ข. คะน้า 4 แถวซ้ายมือถูกพ่นด้วยสารสกัดจากพริกไทย ส่วน 4 แถวขวามือถูกพ่นด้วยสารสกัดจากพริก และ แถวกลาง 1 แถวถูกพ่นด้วยน้ำกลั่น



ภาพที่ 4.6 สภาพใบคะน้าที่ถูกพ่นด้วยสารสกัดจากพริกไทย (ก) พริก (ข) และน้ำกลั่น (ค)

เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง ต้นค่น้ำที่เคยมีคราบสีเหลืองของสารสกัดจากพริกปรากฏอยู่บริเวณลำต้น หลังจากรดน้ำครั้งแรกไปแล้ว คราบสีเหลืองดังกล่าวได้หายไป อาจเนื่องมาจากถูกน้ำชะล้างออกไป ทำให้ต้นค่น้ำที่ถูกพ่นด้วยสารสกัดจากพริกดูไม่ต่างไปจากต้นค่น้ำที่ถูกพ่นด้วยสารสกัดจากพริกไทยและน้ำกลั่นในกรรมวิธีเปรียบเทียบ เว้นแต่ว่าเมื่อรดน้ำที่ใบ ใบค่น้ำจะเปียกน้ำได้ง่ายและมีสีเหลืองอ่อน ๆ เท่านั้น เมื่อทำการตรวจดูต้นค่น้ำในวันที่ 5 พบว่า ใบค่น้ำที่ถูกพ่นด้วยสารสกัดจากพริกและเปียกน้ำได้ง่ายนั้น มีบางส่วนเริ่มกลับคืนสู่สภาพเดิมคือไม่เปียกน้ำ มีเพียงหยดน้ำเล็ก ๆ เกาะอยู่ และเมื่อตรวจดูต้นค่น้ำครบ 7 วัน ค่น้ำที่ถูกพ่นด้วยสารสกัดจากพริก สารสกัดจากพริกไทย และค่น้ำในกรรมวิธีเปรียบเทียบที่พ่นด้วยน้ำกลั่น ไม่พบความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับสายตา

ในส่วนของกลิ่นของสารสกัดจากพริกและพริกไทยนั้น พบว่า ขณะทำการพ่นสารสกัด สารสกัดทั้งสองมีกลิ่นค่อนข้างแรง โดยเฉพาะสารสกัดจากพริก หากผู้พ่นไม่สวมหน้ากากแล้ว ทำให้ผู้พ่นสารสกัดระคายเคืองตา และจมูกโดยแสดงอาการจามออกมา และเมื่อพ่นสารสกัดไปที่ใบค่น้ำแล้ว กลิ่นของสารสกัดยังคงติดที่ใบอยู่บ้าง แต่เมื่อรดน้ำที่ใบพืช กลิ่นของสารสกัดค่อย ๆ จางลง จนไม่สามารถรับรู้ได้ เมื่อเวลาผ่านไป 3 วันหลังจากพ่นสาร

สำหรับรสชาติของค่น้ำที่ถูกพ่นด้วยสารสกัด ผู้ทดสอบและทีมงานได้ทำการเคี้ยวใบค่น้ำที่ผ่านการพ่นสารสกัดมาแล้วเป็นเวลา 3 วัน พบว่า ใบค่น้ำที่ถูกพ่นด้วยสารสกัดจากพริกความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดจากพริกไทยความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ และน้ำกลั่น ไม่มีความแตกต่างกันในเรื่องของรสชาติ

สรุป

เมื่อนำสารสกัดจากพริกและพริกไทยไปพ่นต้นค่น้ำเพื่อทดสอบความเป็นพิษกับพืช พบว่า สารสกัดทุกความเข้มข้นที่ทดสอบไม่ทำให้ค่น้ำแสดงอาการผิดปกติเกิดขึ้น โดยเฉพาะอาการไหม้ของใบ ยกเว้นสารสกัดจากพริกเท่านั้น ที่เมื่อพ่นไปแล้วในระยะ 4-5 วันแรกเท่านั้นที่ทำให้ใบค่น้ำเปียกน้ำได้ง่าย เห็นเป็นสีเหลืองอ่อน ๆ นอกจากนี้ กลิ่นของสารสกัดจากพืชทั้งสองชนิดค่อนข้างแรง อาจส่งผลกระทบต่อผู้ปฏิบัติงานได้ ส่วนใบค่น้ำที่ผ่านการพ่นสารสกัดไปแล้ว 3 วัน พบว่า ใบค่น้ำไม่มีกลิ่นของสารสกัด และรสชาติไม่เปลี่ยนแปลงไปจากใบค่น้ำปกติ

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2549. การปลูกผักปลอดภัยจากสารพิษ. (ระบบออนไลน์). แหล่งที่มา:
http://www.eto.ku.ac.th/neweto/e-book/plant/herb_gar/save_veg.pdf
(2 พฤษภาคม 2549)

บทที่ 5 : สรุป และข้อเสนอแนะ

5.1 การทดสอบสารสกัดกับเชื้อสาเหตุโรคพืช

สารสกัดจากพริกและพริกไทยให้ผลดีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคเน่าดำของพืชผักตระกูลกะหล่ำที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* และเชื้อสาเหตุโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola* เมื่อเชื้อมีการสัมผัสกับสารสกัดโดยตรง และฤทธิ์ของสารสกัดมีความคงตัวในระยะสั้น ดังนั้น แนวโน้มการนำสารสกัดพริกและพริกไทยไปใช้เพื่อการป้องกันกำจัดเชื้อโรคพืชทั้งสองชนิด อาจดำเนินการได้ดังนี้

- สารสกัดจากพริก อาจเตรียมสารสกัดให้ได้ระดับความเข้มข้น 1.5-3.0 เปอร์เซ็นต์ ฉีดพ่นในช่วงที่การระบาดของโรค 3-5 วันต่อครั้ง
- สารสกัดจากพริกไทย อาจเตรียมสารสกัดให้ได้ระดับความเข้มข้น 0.75-1.5 เปอร์เซ็นต์ ฉีดพ่นในช่วงที่การระบาดของโรค 3-5 วันต่อครั้ง

ทั้งนี้จำเป็นต้องมีการทดสอบเพิ่มเติมเพื่อยืนยันผลการควบคุมโรคในสภาพแปลงทดลองอีกครั้งหนึ่ง

5.2 การทดสอบสารสกัดกับแมลงศัตรูพืช

สารสกัดจากพริกและพริกไทยไม่มีผลทำให้หนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) และหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) ตายได้เมื่อให้หนอนกินสารสกัดเข้าไป แต่สารสกัดให้ผลดีเมื่อฉีดพ่นไปที่ตัวหนอนโดยตรง โดยที่สารสกัดจากพริกและพริกไทยฆ่าหนอนใยผักได้ประมาณ 70 และ 36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และฆ่าหนอนกระทู้ผักได้ 100 และประมาณ 16 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จะเห็นว่า เฉพาะสารสกัดจากพริกเท่านั้นที่ให้ผลดีในการกำจัดหนอนใยผักและผลดีเยี่ยมในการกำจัดหนอนกระทู้ผัก ดังนั้น สารสกัดจากพริกจึงควรพิจารณานำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

ในสภาพห้องปฏิบัติการ สารสกัดจากพริกมีประสิทธิภาพเพียง 70 เปอร์เซ็นต์ในการฆ่าหนอนใยผัก เมื่อนำไปใช้ในสภาพแปลงปลูก ประสิทธิภาพของสารสกัดอาจลดลงไปอีกเนื่องจากปัจจัยต่าง ๆ ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เอื้ออำนวย เช่น แสงแดด การพ่นสารให้ถูกตัวหนอนซึ่งมักเกาะตามใต้ใบพืช เป็นต้น ดังนั้น การใช้สารสกัดจากพริกเพื่อกำจัดหนอนใยผักจึงควรเป็นเป้าหมายรองเท่านั้น เป้าหมายหลักก็คือการใช้สารสกัดจากพริกในการกำจัดหนอนกระทู้ผัก โดยที่สารสกัดจากพริกสามารถฆ่าหนอนกระทู้ผักได้ 100 เปอร์เซ็นต์

การใช้สารสกัดจากพริกกับหนอนกระทุ้งทำให้มีประสิทธิภาพ ควรเป็นสารสกัดที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ และต้องฉีดพ่นให้ถูกตัวหนอน แต่เนื่องจากหนอนกระทุ้งขนาดเล็กมักอยู่รวมกลุ่มกัน กัดกินใบพืช เห็นตัวได้ง่าย เมื่อหนอนโตขึ้นจะแยกย้ายออกจากกันและมีนิสัยหลบซ่อนตัวในเวลากลางวัน ออกกัดกินใบพืชในเวลากลางคืน จึงเป็นอุปสรรคพอสมควรที่จะฉีดพ่นให้ถูกตัวหนอน อาจดำเนินการได้โดยปรับเปลี่ยนเวลาฉีดพ่นสารสกัด โดยฉีดพ่นในตอนเช้ามีดหรือตอนพลบค่ำแทน ซึ่งในช่วงเวลาดังกล่าวหนอนยังไม่หลบซ่อนตัว

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 เปรียบเทียบกิจกรรมที่วางแผนไว้ กิจกรรมที่ดำเนินการมา และผลที่ได้รับตลอด
โครงการ (พฤษภาคม 2548 – ธันวาคม 2549)*

กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับ	ผลสำเร็จ
1. ปลูผักคะน้าในโรงเรือน ตาข่ายกันแมลง (screen house)	1. ปลูผักคะน้าในโรงเรือนตาข่าย อย่างต่อเนื่อง ทั้งที่อยู่ในแปลง ปลูขนาดเล็ก และอยู่ในกระถาง เพื่อใช้เป็นอาหารของหนอน และ การทดสอบความเป็นพิษของ สารสกัดต่อพืช	- ได้ผักคะน้าไว้เลี้ยงหนอนอย่างพอเพียง และใช้ในการทดสอบความเป็นพิษ ของสารสกัดต่อคะน้า - มีอุปสรรคอยู่บ้าง เนื่องจากมีเพลี้ยอ่อน เข้ามาระบาดในโรงเรือนตาข่าย ทำให้ ผักคะน้าเสียหายไปส่วนหนึ่ง	100 %
2. เตรียมเชื้อสาเหตุโรคเน่าดำ และโรคใบจุด	2. เตรียมเชื้อสาเหตุของโรคเน่าดำ และโรคใบจุดของกะหล่ำใน ห้องปฏิบัติการ	- ได้เชื้อแบคทีเรีย <i>Xanthomonas</i> <i>campestris</i> สาเหตุโรคเน่าดำ และ เชื้อรา <i>Alternaria brassicicola</i> สาเหตุโรคใบจุด สำหรับนำมาทำสอบ กับสารสกัดจากพริกและพริกไทย	100 %
3. เลี้ยงหนอนใยผักและหนอน กระทู้ผักในห้องปฏิบัติการที่ อุณหภูมิห้อง	3. เลี้ยงหนอนใยผักและหนอน กระทู้ผักในห้องปฏิบัติการให้ได้ ปริมาณมากเพื่อนำมาใช้ในการ ทดสอบประสิทธิภาพของสาร สกัด	- ได้หนอนใยผักและหนอนกระทู้ผัก จำนวนมากเพียงพอสำหรับใช้ทดสอบ กับสารสกัดจากพริกและพริกไทย - มีอุปสรรคบ้างระหว่างการเพาะเลี้ยง เนื่องจากหนอนที่เลี้ยงไว้เป็นโรคตาย เป็นจำนวนมาก ทำให้ต้องเริ่มต้น เพาะเลี้ยงใหม่หลายครั้ง	100 %
4. ทดสอบประสิทธิภาพของสาร สกัดจากพริกและในการ ควบคุมโรคเน่าดำและโรคใบ จุด	4. ทดสอบประสิทธิภาพของสาร สกัดจากพริกในการควบคุมโรค เน่าดำและโรคใบจุดใน ห้องปฏิบัติการ	- สารสกัดจากพริกเข้มข้น 3.0 % สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อ สาเหตุโรคทั้ง 2 ชนิดได้ดี แต่เมื่อลด ความเข้มข้นลง ทำให้ประสิทธิภาพ การยับยั้งเชื้อลดลงด้วย	100 %

กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับ	ผลสำเร็จ
5. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกไทยในการควบคุมโรคเน่าดำและโรคใบจุด	5. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกไทยในการควบคุมโรคเน่าดำและโรคใบจุดในห้องปฏิบัติการ	- สารสกัดจากพริกไทยเข้มข้น 3.0 1.5 และ 0.75 % มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคได้สูงถึง 99 % และสามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดได้แตกต่างกรรมวิธีเปรียบเทียบ และยังทำให้การเจริญของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อผิดปกติ	100 %
6. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดผสมระหว่างสารสกัดจากพริกและพริกไทยในการควบคุมโรคเน่าดำและโรคใบจุด	6. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดผสมระหว่างสารสกัดจากพริกและพริกไทยในการควบคุมโรคเน่าดำและโรคใบจุดในห้องปฏิบัติการ	- สารสกัดผสมสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกและพริกไทยในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคได้มากขึ้น และสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคใบจุดได้ทุกระยะการทดลอง และทำให้เชื้อราเจริญผิดปกติโดยพบการสลายตัวของเส้นใยเป็นจำนวนมาก	100 %
7. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกในการควบคุมหนอนเฝักและหนอนกระทุ้ง	7. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกในการควบคุมหนอนเฝักและหนอนกระทุ้งในห้องปฏิบัติการ	- สารสกัดจากพริกไม่มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนเฝักและหนอนกระทุ้งเมื่อนำไปพืชมารับสารสกัดจากพริกแล้วนำไปให้หนอนกิน - เมื่อพ่นสารสกัดจากพริกไปที่ตัวหนอนให้ผลการควบคุมเป็นที่น่าพอใจ โดยสารสกัดจากพริกความเข้มข้น 3% ฆ่าหนอนเฝักได้ 63.33% และที่ความเข้มข้น 2 % ฆ่าหนอนกระทุ้งได้ 86.67%	100 %

กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับ	ผลสำเร็จ
8. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกไทยในการควบคุมหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผัก	8. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกไทยในการควบคุมหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผักในห้องปฏิบัติการ	- เมื่อทดสอบด้วยวิธีการจุ่มใบพืช สารสกัดจากพริกไทยไม่มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผัก - เมื่อทดสอบด้วยวิธีการพ่นใส่ตัวหนอน สารสกัดจากพริกไทยไม่มีประสิทธิภาพกับหนอนกระทู้ผัก แต่สำหรับหนอนใยผักในการทดสอบครั้งแรก มีการตายเกิดขึ้น 70.0% ที่ความเข้มข้น 3% เมื่อทดสอบครั้งที่สอง มีการตายเกิดขึ้นสูงสุดเพียง 36.67% ที่ความเข้มข้น 5% ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารสกัดเสื่อม	100 %
9. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดผสมระหว่างสารสกัดจากพริกและพริกไทยในการควบคุมหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผัก	9. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดผสมระหว่างสารสกัดจากพริกและพริกไทยในการควบคุมหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผักในห้องปฏิบัติการ	- สารสกัดจากพืชทั้งสองชนิดเมื่อนำมาผสมรวมกันแล้วไม่มีการเสริมฤทธิ์กัน ทำให้ฤทธิ์ในการฆ่าหนอนเพิ่มขึ้น ผลการทดสอบที่ได้จึงคล้ายกับการใช้สารสกัดจากพริกแต่เพียงอย่างเดียว และประสิทธิภาพอาจด้อยกว่าเล็กน้อยเนื่องจากสารสกัดจากพริกถูกทำให้เจือจางลงด้วยสารสกัดจากพริกไทย	100 %
10. ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดที่มีต่อใบพืช	10. ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากพริกและพริกไทยที่มีต่อใบคะน้าทั้งในและนอกโรงเรือนตาข่าย	- สารสกัดจากพริกและพริกไทยทุกความเข้มข้นที่ใช้ ไม่มีผลทำให้คะน้าแสดงอาการใบไหม้ สภาพของต้นคะน้าที่พ่นด้วยสารสกัดทั้งสองไม่แตกต่างไปจากคะน้าปกติที่ใช้เปรียบเทียบ ยกเว้นคะน้าที่พ่นด้วยสารสกัดจากพริกที่ทำให้ใบคะน้าเปื่อยน้ำได้ง่ายขึ้น และติดสีเหลืองอ่อน ๆ ของสารสกัดจากพริก	100 %

กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับ	ผลสำเร็จ
	11. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของการสกัดจากพริก พริกไทย และ ดีปลี+หางไหล ในการควบคุม หนอนใยผักและหนอนกระทุ้ผัก (เป็นกิจกรรมที่ทำเพิ่มเติมตามที่ ผู้ทรงคุณวุฒิแนะนำ)	- กลิ่นและรสชาติของคะน้าเมื่อทดสอบ หลังจากพ่นสารสกัดไปแล้ว 3 วัน ไม่มีความแตกต่างไปจากคะน้าปกติแต่อย่างใด - เมื่อทดสอบโดยวิธีพ่นสารไปบนตัว หนอน พบว่า สารสกัดจากพริกความเข้มข้น 4% มีประสิทธิภาพพอใช้ในการควบคุมหนอนใยผัก และสารสกัดจากพริกความเข้มข้น 3% มีประสิทธิภาพดีมากในการควบคุมหนอนกระทุ้ ผัก สำหรับสารสกัดผสมระหว่างดีปลี กับหางไหลให้ผลดีมากเมื่อใช้กับ หนอนใยผัก แต่มีประสิทธิภาพต่ำกับ หนอนกระทุ้ผัก ส่วนสารสกัดจาก พริกไทยมีประสิทธิภาพต่ำมากในการ ควบคุมหนอนทั้งสองชนิด	100 %

* โครงการนี้ตามข้อเสนอโครงการวิจัยกำหนดไว้สิ้นสุดในเดือนตุลาคม 2549 แต่เนื่องจากผู้ทรงคุณวุฒิที่ได้อ่าน รายงานความก้าวหน้า ครั้งที่ 1 และได้เสนอแนะงานทดลองบางอย่างเพิ่มเติม คณะผู้วิจัยจึงได้ขอขยายเวลา ทำการวิจัยออกไปอีก 2 เดือน ให้ไปสิ้นสุดในเดือนธันวาคม 2549

กิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับการนำผลจากโครงการไปใช้ประโยชน์

ได้นำผลงานในช่วง 6 เดือนแรกไปเสนอในภาคโปสเตอร์ในงานแสดงผลภัณฑ์และผลการทดสอบผลิตภัณฑ์ จัดโดยสำนักงานประสานงานวิจัยและพัฒนา “สมุนไพรมุ่งเพื่อคุณภาพชีวิต” ระหว่างวันที่ 22-23 กุมภาพันธ์ 2550 ณ สโมสรกองทัพบก ถนนวิภาวดีรังสิต กรุงเทพฯ โปสเตอร์ (ฉบับยกวาง) ที่จะนำเสนอ มีรายละเอียดดังนี้

ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกและพริกไทยในการควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืชผักตระกูลกะหล่ำ

บทนำ

การนำสารสกัดจากพืชสมุนไพรมาใช้ควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืช เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่มีความสนใจ เนื่องจากมีปลอดภัยต่อผู้ใช้งานและผู้บริโภค หากสามารถหาสารสกัดจากพืชมาใช้ควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืชผักตระกูลกะหล่ำอย่างได้ผลดีแล้ว เกษตรกรก็จะมีความต้องการเพิ่มมากขึ้นในการที่จะใช้สารสกัดเหล่านี้แทนการใช้สารเคมีอันตราย

วัตถุประสงค์

เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกและพริกไทยในการควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของพืชผักตระกูลกะหล่ำในระดับห้องปฏิบัติการ

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรต่อเชื้อสาเหตุโรครักพืช



1. การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Xanthomonas campestris* สาเหตุโรครักดำ (black rot)

ทุกสารสกัดในทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีมาก โดยเฉพาะสารสกัดพริกไทยและพริกผสมพริกไทย

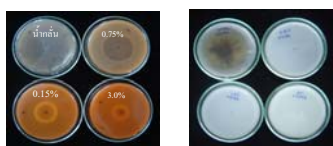


การเจริญของเชื้อ *X. campestris* ที่บ่มเชื้อในสารสกัดพริก พริกไทย และพริกผสมพริกไทย ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ก่อนนำมาเลี้ยงบนอาหาร NA บนาน 48 ชั่วโมง



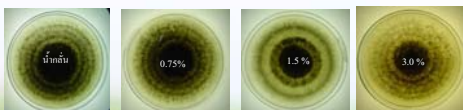
2. การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Alternaria brassicicola* สาเหตุโรคใบจุด (leaf spot)

1) เชื้อมีอัตราการเจริญลดลง เส้นไฮโดรเจนและขนาน โดยผลของสารสกัดพริกไทย สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด ไม่พบเชื้อเจริญออกมาจากริม culture disc เลย



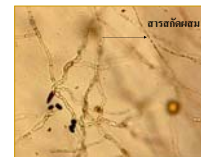
การเจริญของเชื้อ *A. brassicicola* บนอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดพริก พริกไทย ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังการเลี้ยงบนาน 15 วัน

2) การแช่ culture disc ในสารสกัดนั้นพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ในช่วง 3-5 วันแรก แต่พบว่าการเจริญของเชื้อที่แช่ในสารสกัดพริกผสมพริกไทยที่ความเข้มข้น 1.5 และ 3.0 % มีการสร้างเส้นไฮโดรเจนและสปอร์น้อยลง



การเจริญของเชื้อ *A. brassicicola* หลังแช่ culture disc ของเชื้อในสารสกัดพริกผสมพริกไทย ความเข้มข้นต่าง ๆ และนำไปเลี้ยงบน PDA บนาน 15 วัน

3) เมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า การเจริญของเชื้อบน WA ผสมสารสกัดทุกชนิดในทุกความเข้มข้น มีการเจริญที่ผิดปกติ โดยเส้นไฮโดรเจนและขนานบางส่วนหายไป พบเส้นไฮโดรเจน มีลักษณะบางและบางเป็นปม สร้างสปอร์ได้น้อยลง และพบเส้นไฮโดรเจนที่สั้นลงในสารสกัดพริกผสมพริกไทยที่ความเข้มข้น 3.0 % มีลักษณะสืบต่อมาและสายตัวจำนวนมาก



ลักษณะของเส้นไฮโดรเจน *A. brassicicola* ที่เจริญบน WA ที่ผสมสารสกัดพริก และพริกไทย ความเข้มข้น 3.0 % หลังเลี้ยงบนาน 1 สัปดาห์ พบเส้นไฮโดรเจน (ลูกศรชี้)

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดต่อแมลงศัตรูพืช

1. หนอนใยผัก (diamondback moth, *Plutella xylostella*)



สารสกัดพริกและพริกไทยไม่มีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนเมื่อทดสอบฤทธิ์ ทางกิน (oral toxicity test) แต่มีประสิทธิภาพดีเมื่อทดสอบฤทธิ์ทางผิวหนัง (dermal toxicity test) โดยสารสกัดพริกและพริกไทยที่ความเข้มข้น 3.0 % สามารถฆ่าหนอนได้ 76.67 และ 70.00 % ตามลำดับ ค่า LC₅₀ (ทางสัมผัส) ของสารสกัดพริกและพริกไทยที่มีต่อหนอนใยผักมีค่าเท่ากับ 2.2062 และ 2.6134 % ตามลำดับ

2. หนอนกระทุ้ง (common cutworm, *Spodoptera litura*)



สารสกัดพริกและพริกไทยสามารถทำให้หนอนตายได้เฉพาะเมื่อทดสอบฤทธิ์ทางผิวหนังเท่านั้น โดยสารสกัดพริกที่ความเข้มข้น 2.0 และ 3.0 % มีประสิทธิภาพสูงทำให้หนอนตาย 70.00 และ 63.33 % ตามลำดับ ส่วนค่า LC₅₀ (ทางสัมผัส) ของสารสกัดจากพริกที่มีต่อหนอนกระทุ้งมีค่าเท่ากับ 1.8098 %



การจุ่มใบพืชในสารสกัด (ก) และการพ่นสารสกัดบนตัวหนอน (ข)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สำนักประสานงานชุดโครงการสมุนไพร สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้