บทคัดย่อ

โครงการวิจัยเรื่อง "**งานวิจัยและพัฒนาพืชป่าบางชนิดเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศ**" นี้ มีเป้าหมายในการสนับสนุน กระตุ้น และรวมกลุ่มนักวิจัยรุ่นเยาว์ เพื่อดำเนินโครงการวิจัยซึ่งมุ่งเน้นการศึกษาประโยชน์ของพืชป่าบางชนิดเพื่อการควบคุมศัตรูพืช การยับยั้งจุลินทรีย์และประโยน์ด้านโภชนเภสัช ข้อมูลที่ได้จะเป็นฐานสำคัญในการพัฒนาพืชป่าให้เป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศต่อไปได้ นอกจากนั้นโครงการยังมีวัตถุประสงค์ในเสาะหาและพัฒนาศัตรูธรรมชาติ เช่น ตัวห้ำ ไส้เดือนฝอย ศัตรูแมลง และจุลินทรีย์เพื่อการกำจัดศัตรูพืชอีกด้วย โครงการวิจัยนี้จึงประกอบด้วยโครงการย่อย 3 โครงการ ได้แก่ 1) การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชต่อแมลง ไรและเชื้อสาเหตุโรคพืช 2) การศึกษาศัตรูธรรมชาติและผลของสารสกัดจากพืชต่อศัตรูธรรมชาติ และ3) การศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและสารอื่นๆ เพื่อประโยชน์ทางโภชนบำบัดและผลของสารสกัดจากพืชต่อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับอาหาร

<u>งานด้านสารสกัดจากพืช</u>

การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชป่า เช่น สาบเสือ (*Eupatorium odoratum* L.), ตะไคร้ต้น (*Litsea cubeba* (Lour.) Persoon), หมีบัง (*Litsea salicifolia* Roxb. ex Wall.), เสม็ดขาว (*Melaleuca cajuputi* Powell), ส้มจี้ (*Embelia ribes* Burm.f.), เสนียด (*Justicia adhatoda* L.), ก้นจ้ำขาว (*Bidens pilosa* L.), สาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides* L.), ลำพูป่า (*Duabanga grandiflora* (Roxb. ex DC)), ท้าวแสนปม (*Diospyros cauliflora* Blume), ข่าลิง (*Alpinia conchigera* Griff.), กระทือดวาย (*Zingiber zerumbet* Smitt) และว่านขมิ้น (*Curcuma zedoaria* (Berg) Roscoe) ในการกำจัดแมลงและไรศัตรูพืช เช่น ไรแมงมุมสองจุด ด้วงงวงข้าว ด้วงงวงข้าวโพด มอดแป้ง หนอนกระทู้ผัก หนอนใยผัก และยุง พบว่า สารจากพืชหลายชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการกินอาหารของหนอนใยผักและหนอนกระทู้ผัก ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากพืชบางชนิดมีประสิทธิภาพในการไล่แมลง หรือมีคุณสมบัติในการเป็นสารรมหรือสารฆ่าแมลงโดยออกฤทธิ์แบบถูกตัวตาย ทั้งนี้ฤทธิ์ของสารขึ้นอยู่กับวิธีการสกัดและสารอินทรีย์ที่ใช้ในสกัดรวมถึงวิธีการสกัด นอกจากนี้ได้ทำการวิเคราะห์ชนิดของสารสำคัญที่ปะปนอยู่ในน้ำมันหอมระเหยของข่าลิง กระทือดวายและว่านขมิ้น และทำการผสมน้ำมันหอมระเหยขึ้นมาใหม่ โดยใช้อัตราส่วนสารออกฤทธิ์ในพืชเป็นหลักในการผสมสูตรน้ำมันหอมระเหย พบว่าสูตรที่ผสมขึ้นมาใหม่นี้บางสูตร มีฤทธิ์ในการไล่หรือฆ่าแมลงได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากธรรมชาติ นอกจากนั้นพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืชป่าและพืชสมุนไพรบางชนิด มีฤทธิ์ในการฆ่าไรฝุ่น สารบางชนิดมีฤทธิ์ในการไล่ยุง จึงเหมาะที่จะนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ไล่ยุง เช่น โลชั่นไล่ยุง สเปรย์ไล่ยุง เป็นต้น สารสกัดจากพืชบางชนิดมีฤทธิ์ในการลดปริมาณเชื้อสาเหตุของโรคพืชหรือเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จึงควรที่นำไปพัฒนาใช้ประโยชน์ต่อไป

นักวิจัยได้ตีพิมพ์ผลการค้นพบสารทุติยภูมิ 11 ชนิดจากกิ่งของลำพูป่า (*Duabanga grandiflora* (Roxb. ex DC)) ได้แก่ (1) *p*-hydroxybenzaldehyde, (2) vanillic acid, (3) 6H-dibenzo [*b,d*] pyran-3,9-dihydroxy-6-one, (4) 3-*0*-α-rhamnopyranosyl-4'-methoxy-ellagic acid, (5)

acacetin, (6) apigenin, (7) acacetin 7-*0*–glucoside, (8) betulinic acid, (9) oleanolic acid, (10) arjunolic acid และ (11) β-sitosterol glucoside ซึ่งเป็นรายงานการพบสารครั้งแรกในต้นลำพูป่าจากประเทศไทย นอกจากนั้นยังพบสารชนิดใหม่ของโลกจากรากของเท้าแสนปม (*Diospyros cauliflora* Blume) คือสาร 3,4-Dihydro-4β,6-dihydroxy-5-methoxy-2α-methyl-1(2*H*)-naphthalenone และยังพบสารทุติยภูมิจากพืชชนิดนี้อีก 6 สาร คือ () lupeol, (2) betulinic acid, (3) 7-hydroxy-4'-methoxyflavone, (4) 2,5-dimethyl-7-hydroxychromone, (5) vanillic acid และ (6) nicotinamide ซึ่งเป็นรายงานการพบสารครั้งแรกในเท้าแสนปมจากประเทศไทยเช่นกัน

<u>งานด้านไส้เดือนฝอยกำจัดศัตรูพืช</u>

จากการเก็บตัวอย่างดินจำนวน 283 ตัวอย่างในพื้นที่หลายจังหวัดเพื่อหาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง พบไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเพียง 12 สายพันธุ์จากตัวอย่างดินในจังหวัดกาญจนบุรี ขอนแก่น กระบี่ ชุมพร และสุราษฎร์ธานี ประกอบด้วย ไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ใหม่ของโลก 4 สายพันธุ์ ได้ทำการตีพิมพ์แล้ว 1 สายพันธุ์คือ *Steinernema minutum* Maneesakorn, Grewal and Chandrapatya ส่วนอีก 3 สายพันธุ์กำลังอยู่ในระหว่างการเตรียมต้นฉบับ สายพันธุ์อื่นๆ ที่พบได้แก่ *Heterorhabditis indica* 7 สายพันธุ์และ *Heterorhabditis baujardi* ซึ่งเป็นการพบครั้งแรกในประเทศไทยอีก 1 สายพันธุ์ ไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ *Steinernema* # K8 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ใหม่ มีประสิทธิภาพของในการทำลายแมลงศัตรูพืชหลายชนิดสูงกว่า *Heterorhabditis bacteriophora, Steinernema glaseri* และ *S. riobrave* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่นำเข้ามาในประเทศไทยเป็นเวลาหลายปี

นอกจากการใช้ไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงศัตรูพืชโดยตรงแล้ว ยังได้ทำการแยกแบคทีเรียร่วมอาศัยจากไส้เดือนฝอยเพื่อนำมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการและทดสอบประสิทธิภาพในการทำลายไรศัตรูเห็ด (*Luciaphorus* sp.) พบว่า ทั้งตัวเซลล์ของแบคทีเรียและส่วนใสที่ผ่านการกรองเซลล์แบคทีเรียออกแล้ว สามารถฆ่าไรไข่ปลาได้กว่า 85% และลดปริมาณการออกไข่ของไรไข่ปลาได้เป็นอย่างดี งานวิจัยที่กำลังดำเนินการคือการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากแบคทีเรียเพื่อใช้กำจัดไรไข่ปลาและเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา

<u>งานด้านเชื้อราและแบคทีเรียกำจัดศัตรูพืช</u>

สารทุติยภูมิซึ่งได้จากการแช่เมล็ดข้าวที่ใช้เลี้ยงเชื้อราร่วมอาศัยในพืช เชื้อราโรคพืช และเชื้อราทำลายแมลงและไรศัตรูพืชใน ethyl acetate มีประสิทธิภาพในการกำจัดไรแมงมุมสองจุด (*Tetranychus urticae* (Koch)) รวมทั้งลดปริมาณการออกไข่ด้วย ส่วนแบคทีเรีย *Serratia* macescens ซึ่งพบทั่วไปในห้องปฏิบัติการนั้น ทั้งตัวแบคทีเรียและส่วนใสที่ผ่านการกรองแบคทีเรียออกแล้ว สามารถกำจัดหนอนผีเสื้อหลายชนิด เช่น หนอนกระทู้ผัก หนอนหลอดหอม รวมทั้งหนอนหัวดำ โดยจะทำให้หนอนทุกชนิดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ภายในเวลา 12-24 ชั่วโมง จึงนับว่าเป็นจุลินทรีย์ที่น่าสนใจสำหรับนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์กำจัดแมลงต่อไป

งานด้านศัตรูธรรมชาติ

ทำการศึกษาประสิทธิภาพของไรตัวห้ำในการทำลายไรขาวศัตรูพริก พบว่า *Amblyseius cinctus* Corpuz and Rimando เป็นไรตัวห้ำที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายไรขาว (*Polyphagotarsonemus latus* (Bank)) ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและในแปลงเกษตรกร และสามารถพัฒนาวิธีการขยายพันธุ์ไรตัวห้ำให้มีปริมาณมากในห้องปฏิบัติการ และศึกษาผลกระทบของสารสกัดจากพืชต่อไรขาวและไรตัวห้ำ สำหรับตัวห้ำชนิดอื่นที่ได้ทำการศึกษาได้แก่ ด้วงตัวห้ำ และเพลี้ยไฟตัวห้ำในแปลงพริก

งานด้านสารต้านจุลินทรีย์

ทำการสกัดสารทุติยภูมิจากพืช 13 ชนิดด้วยสารอินทรีย์ 4 ชนิด คือ น้ำ แอลกอฮอล เอทีล อะซิเตทและเฮกเซน ก่อนที่จะนำมาทดสอบฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ 13 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis*, *Salmonella* spp. *Listeria innocua*, *Proteus mirabilis, Lactobacillus plantarum, Lactococcus lactis, Pichia anomala, Saccharomyces cerevisiae, Aspergillus niger* และ *Penicillium pinophilum* พบว่า สารทุติยภูมิ 6 ตัวอย่างจากพืช 3 ชนิดคือ มะระขี้นก (*Momordica charantia* Linn.), หมีเหม็น (*Litsea glutinosa* (Lour.) C.B. Rob.) และก้นจ้ำขาว (*Bidens pilosa* Linn.) สามารถต้านจุลินทรีย์ได้ โดยสารที่สกัดด้วยแอลกอฮอลยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารที่สกัดด้วยเอทีล อะซิเตท ส่วนสารที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำและเฮกเซนไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจิญเติบโตของจุลินทรีย์ นอกจากนั้นส่วนของพืชที่ใช้ก็มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์แตกต่างกันด้วย

ABSTRACT

The project entitled “Research and Development of Some Wild Plant Species for Their Economic Importance of the Country” was aimed at supporting, stimulating and gathering young researchers to do research dealing with wild plant species for economic purposes. The main objective of this project was to gain basic knowledge on the usefulness of each selected wild plant species for pest control, antimicrobial properties, nutritional and nutraceutical properties. Such information obtained would be served as guideline for further development of selected wild plant species for their economic importance of the country. Moreover, another purpose of this project was to find the effective biological control agents such as predators, entomopathogenic nematodes and microbes. Hence, there were 3 sub-projects involved in the main project which were: 1) Biological activities of plant crude extracts against insects, mites, plant microbes and their formulations, 2) Impact of plant crude extracts on natural enemies and 3) Micronutrient contents, nutraceutical property and antimicrobial activity of tested plant species.

Research on plant extract

Plant secondary metabolites from various wild plant species such as *Eupatorium odoratum* L., *Litsea cubeba* (Lour.) Persoon, *Litsea salicifolia* Roxb. ex Wall., *Melaleuca cajuputi* Powell, *Embelia ribes* Burm.f., *Justicia adhatoda* L., *Bidens pilosa* L., *Ageratum conyzoides* L., *Duabanga grandiflora* (Roxb. ex DC), *Diospyros cauliflora* Blume, *Alpinia conchigera* Griff., *Zingiber zerumbet* Smitt and *Curcuma* zedoaria (Berg) Roscoe were tested for their efficacy against plant pest such as two-spotted spider mite, rice weevil, maize weevil, flour beetle, common cutworm diamondback moth and mosquito. Several crude extracts were able to deter feeding or acting as antifeedant for diamondback moth and common cutworm larvae whereas some essential oils exhibited repellent, fumigant and toxicant properties. However, the efficacy depended on method of extraction and the solvents. Aside from these, the components of essential oils from *A. conchigera*, *Z. zerumbet* and C. *zedoaria* were also identified and synthetic essential oils were mixed abased on the proportions of major essential oils in each plant. Some synthetic essential oil formulas showed better results in repelling and killing insects than the natural essential oil. Some essential oils could control house dust mite and repel mosquito. These essential oils could, therefore, be added in some products such as spray and lotion for insect repellent. In addition, some crude extracts were found to contain anti-oxidant or exhibited anti-microbial properties needed to be investigated in more details for further use.

The new record of 11 secondary metabolites extracted from stem of *D. grandiflora* collected in Thailand were reported for the first time in the international journal. These were: (1) *p*-hydroxybenzaldehyde, (2) vanillic acid, (3) 6H-dibenzo [*b,d*] pyran-3,9-dihydroxy-6-one, (4) 3-*0*-α-rhamnopyranosyl-4'-methoxy-ellagic acid, (5) acacetin, (6) apigenin, (7) acacetin 7-*0*–glucoside, (8) betulinic acid, (9) oleanolic acid, (10) arjunolic acid and (11) β-sitosterol glucoside. Furthermore, a new compound (3,4-Dihydro-4β,6-dihydroxy-5-methoxy-2α-methyl-1(2*H*)-naphthalenone) from roof of *D. cauliflora* was also published along with 6 known compounds considered to be new records for Thailand. They were as follows: (1) lupeol, (2) betulinic acid, (3) 7-hydroxy-4'-methoxyflavone, (4) 2,5-dimethyl-7-hydroxychromone, (5) vanillic acid and (6) nicotinamide.

Research on entomopathogenic nematode

A total of 283 soil samples were collected from various areas in Thailand. Only 12 entomopathogenic nematodes (EPNs) were found from soil samples from Kanchanaburi, Khon Khaen, Kra Bi, Chumporn and Surat Thani provinces. Four new EPN were recorded from this study where *Steinernema minutum* Maneesakorn, Grewal and Chandrapatya had already been published and another 3 new EPNs were in the process of manuscript preparations. The other 7 EPNs were classified as *Heterorhabditis indica* and the last EPN identified as *Heterorhabditis baujardi* was a new record for Thailand. *Steinernema* # K8, a new EPN from Thailand, showed higher efficacy in controlling several agricultural pests as compared to *Heterorhabditis bacteriophora, Steinernema glaseri* and *S. riobrave* which had been introduced into the country for several years.

Several strains of symbiotic bacteria were isolated from EPNs, mass-produced in the laboratory and bio-assayed against the mushroom mite (*Luciaphorus* sp.). The result indicated that both cell suspension and supernatant were able to cause high mortality, over 85%, and to reduce mite fecundity as well. The on-going research was to develop the bacterial formulation for proper application and good shelf life.

Research on fungi and bacteria for pest control

Fungal secondary metabolites were prepared by soaking cooked rice covered with fungal endophytes, plant pathogenic fungi, entomopathogenic fungi and fungi infecting phytophagous mites in ethyl acetate. Several of these metabolites were able to kill and reduce fecundity of *Tetranychus urticae* (Koch). In addition, both bacterial suspension and supernatant of *Serratia macescens*, a common bacteria found in the laboratory, induced complete mortality (100%) of several insect larvae included *Spodoptera litura* (F.), *Spodoptera*

exique L. and *Opisina arenonosella* Walker within 12-24 hours. Hence, more research needed to be performed in order to make use of such bacteria for pest control.

Research on natural enemies

Research was conducted on the efficacy of predatory mite to control tarsonemid mite on chili plants. *Amblyseius cinctus* Corpuz and Rimando was found to be the best predatory mite for controlling (*Polyphagotarsonemus latus* (Bank)) both under laboratory and field conditions. *Amblyseius cinctus* could also be mass-produced easily in the laboratory. The effect of plant extracts on predator and plant mites were also performed. Other predators investigated in this project including lady beetle and predatory thrips in chili field.

Research on microbial activity of plant crude extracts

Four different solvent, aqueous, ethanolic alcohol, ethyl acetate and hexane, were used to extract secondary metabolites from 13 indigenous plant species before examined for antimicrobial activity against thirteen pathogenic and spoilage microorganisms using agar disc diffusion method. The microorganisms used to evaluate microbial activity included *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis*, *Salmonella* spp. *Listeria innocua*, *Proteus mirabilis, Lactobacillus plantarum, Lactococcus lactis, Pichia anomala, Saccharomyces cerevisiae, Aspergillus niger* and *Penicillium pinophilum*. The result showed that 6 extracts from 3 plant species; *Momordica charantia* Linn*., Litsea glutinosa* (Lour.) C.B. Rob. and *Bidens pilosa* Linn. had antimicrobial activities. The crude ethanolic extract exhibited the most inhibitory effect following by ethyl acetate extract while no inhibitory effects were observed in aqueous and hexane extracts. In addition, different parts of each plant had different antimicrobial activity.