

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การทดสอบยืนยันฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากค้ำควาดำและคิปลี

4.1.1 ลักษณะของสารสกัดหยาบจากค้ำควาดำและคิปลี

จากการนำลำต้นใต้ดินค้ำควาดำสดมาสกัดด้วยเอทานอล 95 % และผลคิปลีแห้งมาสกัดด้วยเฮกเซน ได้สารสกัดหยาบซึ่งมีลักษณะและปริมาณ ดังแสดงไว้ในตาราง 1 และ ภาพที่ 10

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะและปริมาณของสารสกัดหยาบจากค้ำควาดำและคิปลี

พืช	ตัวทำละลาย	ลักษณะของสารสกัดที่ได้	ร้อยละของสารสกัดที่ได้ต่อน้ำหนักวัตถุดิบ
ค้ำควาดำสด	เอทานอล 95 %	ของเหลวข้นหนืด สีน้ำตาลเข้ม	5.59
คิปลีแห้ง	เฮกเซน	ของเหลวใส สีแดงเข้มเกือบดำ	5.26



ภาพที่ 10 ลักษณะของสารสกัดหยาบจากคิปลีและค้ำควาดำ

4.1.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการกินของสารสกัดหยาบ

ฤทธิ์ยับยั้งการกินของหนอนกระพู่ผักของสารสกัดหยาบจากค้ำควาดำและคี้ป्ली ณ ความเข้มข้นต่าง ๆ แสดงไว้ในตารางที่ 2 และ 3 โดยมีค่า AFI แตกต่างกันตั้งแต่ 3.56 ถึง 50 จากเกณฑ์การตัดสินใจที่มีฤทธิ์ยับยั้งการกินของ Escoubas *et al.* (1993) ที่ AFI น้อยกว่า 20 พบว่าสารสกัดหยาบจากค้ำควาดำมีฤทธิ์ยับยั้งการกินที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 % ซึ่งมีค่า AFI เท่ากับ 28.51 และ 17.26 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบจากคี้ป्लीมีฤทธิ์ยับยั้งการกินที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 % เช่นกัน โดยมีค่า AFI ที่ 12.44 และ 3.56 ตามลำดับ

ตารางที่ 2 ค่า AFI ของสารสกัดหยาบจากค้ำควาดำที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

กรรมวิธี	ความเข้มข้น				
	ควบคุม	0.01 %	0.1%	0.5%	1%
สารสกัดหยาบค้ำควาดำ	50a	50a	42.56a	28.51ab	17.26b

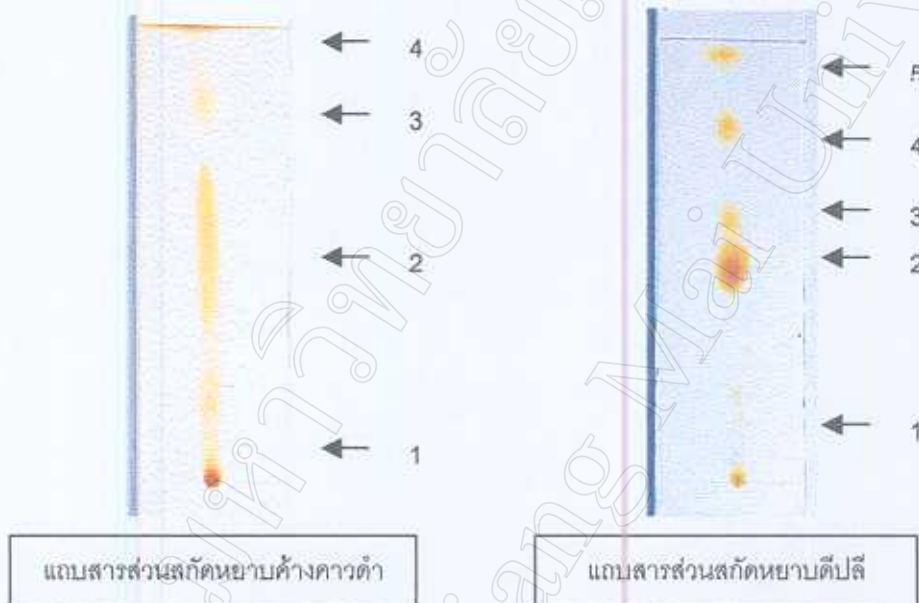
ตารางที่ 3 ค่า AFI ของสารสกัดหยาบจากคี้ป्लीที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

กรรมวิธี	ความเข้มข้น				
	ควบคุม	0.01 %	0.1%	0.5%	1%
สารสกัดหยาบคี้ป्ली	50a	42.98a	44.02a	12.44b	3.56b

4.2 การแยกสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์จากสารสกัดหยาบที่ได้จากค้างคาวดำและคิปตี

4.2.1 การแยกสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์จากสารสกัดหยาบที่ได้จากคิปตีและค้างคาวดำ โดยการทำให้โครมาโทกราฟีผิวนาง (เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการทำโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์)

นำสารสกัดหยาบจากค้างคาวดำจากการทดลองที่ 4.1.1 ที่โครมาโทกราฟีผิวนางโดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ (TLC Silica gel 60G ขนาด 5 x 20 และ 20 x 20 ซม.) และใช้สารละลายผสมของ เฮกเซน : เอธิลอะซิเตท : เมทานอล ในอัตราส่วนต่าง ๆ เป็นเฟสเคลื่อนที่ จนได้อัตราส่วนที่เหมาะสม ที่ทำให้สารแต่ละ fraction มีการแยกดีที่สุด พบว่า ใช้ตัวทำละลายเคลื่อนที่ในอัตราส่วน 80:20:5 ของคิปตี และ 70:20:5 ของค้างคาวดำ มีการแยกสารออกจากกันชัดเจน ดังภาพที่ 11



หมายเหตุ : ระยะเวลาวิ่งของเฟสเคลื่อนที่ 15.0 เซนติเมตร

ภาพที่ 11 แถบสารที่แยกได้ของส่วนสกัดหยาบค้างคาวดำ และคิปตี หลังจากการอบด้วยไอของไอโอดีน

ตารางที่ 4 ค่า R_f ของ spots ที่แยกได้จากการทดสอบหาอัตราส่วนตัวทำละลายที่เหมาะสม เพื่อใช้ในการแยกองค์ประกอบของสารสกัดหยาบจากคิปลี

อัตราส่วน			spots	R_f
เฮกเซน : เอทิล อะซิเตท : เมทานอล				
100	: 0	: 0	สารไม่เกิดการแยก	0.13 – 0.23
0	: 100	: 0	สารไม่เกิดการแยก	0.95 – 0.98
0	: 0	: 100	สารไม่เกิดการแยก	0.68 – 0.91
50	: 50	: 1	สารไม่เกิดการแยก	0.91 – 0.98
50	: 50	: 5	สารไม่เกิดการแยก	0.9 – 0.98
60	: 40	: 1	1	0.07 – 0.12
			2	0.6 – 0.78
			3	0.87 – 1.00
			4	0.96 – 1.00
70	: 30	: 5	1	0.58 – 0.67
			2	0.68 – 0.73
			3	0.87 – 0.93
			4	0.96 – 1.00
70	: 30	: 10	1	0.77 – 0.87
			2	0.89 – 0.93
			3	0.93 – 0.96
			4	0.96 – 0.98
80	: 20	: 5	1	0.08 – 0.14
			2	0.29 – 0.37
			3	0.4 – 0.45
			4	0.69 – 0.78
			5	0.95 – 1.00
80	: 20	: 10	1	0.61 – 0.7
			2	0.9 – 0.97
			3	0.99 – 1.00

ตารางที่ 5 ค่า Rf ของ spots ที่แยกได้จากการทดสอบหาอัตราส่วนตัวทำละลายที่เหมาะสม เพื่อให้ใช้ในการแยกองค์ประกอบของสารสกัดหยาบจากค้ำดาวดำ

อัตราส่วน			spots	Rf
เฮกเซน : เอทิล อะซิเตท : เมทานอล				
100	: 0	: 0	สารไม่เกิดการแยก	0.00 – 0.07
0	: 100	: 0	1	0.30 – 0.33
			2	0.98 – 1.00
0	: 0	: 100	1	0.2 – 0.37
			2	1.00
50	: 50	: 5	สารไม่เกิดการแยก	0.39 – 0.58
60	: 40	: 1	1	0.03 – 0.07
			2	0.07 – 0.22
			3	0.97 – 1.00
70	: 30	: 5	1	0.10 – 0.27
			2	1.00
70	: 20	: 5	1	0.00 – 0.27
			2	0.30 – 0.70
			3	0.80 – 0.90
			4	0.99 – 1.00
70	: 30	: 10	1	0.00 – 0.24
			2	0.32 – 0.57
			3	0.65 – 0.75
			4	0.91 – 1.00
80	: 20	: 1	1	0.05 – 0.09
			2	0.09 – 0.28

ตารางที่ 6 ค่า Rf ของแถบสารที่แยกได้จากส่วนสกัดหยาบของคิปลี ภายใต้ระบบตัวทำละลายเคลื่อนที่ เฮกเซน : เอทิล อะซิเตท : เมทานอล ในอัตราส่วน 80 : 20 : 5 ที่อบด้วยไอของไอโอดีน

แถบสาร	ระยะที่สารเคลื่อนที่ (เซนติเมตร)	Rf
5	14.3-15.0	0.95-1.00
4	10.4-11.7	0.69-0.78
3	6.00-6.80	0.40-0.45
2	4.20-5.60	0.28-0.37
1	1.20-2.10	0.08-0.14

หมายเหตุ : ระยะตัวทำละลายเคลื่อนที่ 15.0 เซนติเมตร

4.2.2 การตรวจสอบหาสารออกฤทธิ์ โดยวิธี insect feeding bioassay

นำแผ่น TLC ที่ได้มาฉาบด้วยอาหารเทียม แล้วปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิ 3 จำนวน 15 ตัว ลงในกล่องที่มีแผ่น TLC ที่ไว้ที่มืด 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นแยกหนอนออก พบว่าค่า Rf ของแถบที่ยับยั้งการกินของหนอน จากบริเวณที่หนอนไม่กิน ของสารสกัดจากคิปลีและค้างคาวคามีค่าเท่ากับ 0.143 – 1 และ 0 – 0.167 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับแผ่นควบคุม (ภาพที่ 12, 13 และ 14)



ก่อนทดสอบ



หลังทดสอบ

ภาพที่ 12 แผ่น TLC ควบคุมที่ฉาบอาหารเทียม ก่อนและหลังทดสอบ



ก่อนทดสอบ



บริเวณที่หนอนไม่กิน

 R_f

0.413 - 1

หลังทดสอบ

ภาพที่ 13 แผ่นTLC สารสกัดหยาบจากคิปติ ที่ฉาบอาหารเทียม ก่อนและหลังทดสอบ



ก่อนทดสอบ



บริเวณที่หนอนไม่กิน

 R_f

0 - 0.167

หลังทดสอบ

ภาพที่ 14 แผ่นTLC สารสกัดจากค้างคาวดำที่ฉาบอาหารเทียม ก่อนและหลังทดสอบ

หมายเหตุ : ระยะตัวทำละลายเคลื่อนที่ 15.0 เซนติเมตร

4.2.3 การทำโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

จากการตรวจสอบค่า R_f บนแผ่น TLC ได้สารสกัดมา 4 ส่วนซึ่งมีลักษณะและปริมาณดังในตารางที่ 7 และภาพที่ 15

ตารางที่ 7 ลักษณะและปริมาณผลผลิตสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์ของคิปติ

ส่วนสกัด	ลักษณะของสารสกัดที่ได้	น้ำหนักของสารสกัดที่ได้ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์สารสกัดต่อสารสกัดหยาบ (%)	เปอร์เซ็นต์สารสกัดต่อน้ำหนักวัตถุดิบแห้ง (%)
D1	สีแดงขุ่นและใสลอยอยู่ชั้นบน	0.327	10.9	0.57
D2	สีแดงขุ่น	0.721	24.0	1.26
D3	สีแดงใส	0.446	14.9	0.78
D4	สีแดงใส	0.049	1.62	0.09



ภาพที่ 15 ลักษณะของสารสกัดหยาบจากคิปติและสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์ทั้ง 4 ส่วน

4.2.4 การแยกสารตั้งบริสุทธิ์จากสารสกัดหยาบที่ได้จากลำต้นใต้ดินค้างคาวดำ

นำสารสกัดหยาบจากลำต้นใต้ดินค้างคาวดำ 100 กรัม มาแยกสารสกัดตั้งบริสุทธิ์ด้วยตัวทำละลายต่างๆ ดังในภาพที่ 16 มีลักษณะและปริมาณของสารสกัดบริสุทธิ์จากค้างคาวดำในตารางที่ 8



ส่วนสกัดเฮกเซนด้านบน



ส่วนสกัดคลอโรฟอร์มด้านล่าง



ส่วนสกัดอีเทอร์ด้านบน

ภาพที่ 16 ลักษณะการแยกชั้นของสารสกัดจากค้างคาวดำที่ตัวทำละลายต่างๆ กัน

ตารางที่ 8 แสดงลักษณะและปริมาณของสารสกัดตั้งบริสุทธิ์จากค้างคาวดำ

ส่วนสกัด	ลักษณะของสารสกัดที่ได้	น้ำหนักของสารสกัดที่ได้ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์สารสกัดต่อสารสกัดหยาบ (%)	เปอร์เซ็นต์สารสกัดต่อน้ำหนักวัตถุดิบ (%)
ชั้นเฮกเซน	เหนียวหนืด สีน้ำตาลขุ่น	43.52	2.43	0.0243
ชั้นคลอโรฟอร์ม	หนืด สีน้ำตาลใส	8.12	0.45	0.0045
ชั้นอีเทอร์	สีน้ำตาลใส	4.54	0.25	0.0025
ชั้นน้ำ	ของเหลวสีน้ำตาลไหม้	165	9.22	0.0922

4.3 การทดสอบยืนยันฤทธิ์ของสารสกัดหยาบกิ่งบริสุทรีจากค้างคาวดำและคิปลีในระดับห้องปฏิบัติการโดยวิธีเลือกกิน (two-choice leaf disk bioassay)

4.3.1 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการกินของสารสกัดหยาบกิ่งบริสุทรีจากค้างคาวดำและคิปลี โดยวิธีการเลือกกิน

ฤทธิ์ยับยั้งการกินของหนอนกระพุ่มักของสารสกัดหยาบกิ่งบริสุทรีจากค้างคาวดำ ฅ ความเข้มข้นต่าง ๆ แสดงไว้ในตารางที่ 9 โดยมีค่า AFI แดกต่างกันตั้งแต่ 6.43 ถึง 48.28 จากเกณฑ์การตัดสินพืชมีฤทธิ์ยับยั้งการกินของ Escoubas *et al.* (1993) ที่ AFI น้อยกว่า 20 พบว่าส่วนสกัดคลอโรฟอร์มมีฤทธิ์ยับยั้งการกินที่ความเข้มข้น 0.5-1.0 % ซึ่งมีค่า AFI เท่ากับ 13.92 และ 6.43 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบจะมีฤทธิ์ยับยั้งการกินที่ระดับความเข้มข้น 1 % เท่านั้น โดยมีค่า AFI เท่ากับ 17.26

ส่วนสารสกัดหยาบกิ่งบริสุทรีจากคิปลีทั้ง 4 ส่วน คือ D1, D2, D3 และ D4 จากการแยกด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการกินของหนอนกระพุ่มัก ฅ ความเข้มข้นต่างๆ แสดงไว้ในตารางที่ 10 โดยมีค่า AFI แดกต่างกันตั้งแต่ 3.13 ถึง 60.42 จากเกณฑ์การตัดสินพืชมีฤทธิ์ยับยั้งการกินของ Escoubas *et al.*, (1993) ที่ AFI น้อยกว่า 20 พบว่าส่วนสกัด D3 มีฤทธิ์ยับยั้งการกินดีที่สุดที่ความเข้มข้น 0.1 % โดยมีค่า AFI เท่ากับ 21.83

ส่วนฤทธิ์ยับยั้งการกินของหนอนกระพุ่มักของส่วนผสมของสารสกัดหยาบจาก ค้างคาวดำและคิปลี ฅ ความเข้มข้นต่าง ๆ แสดงไว้ในตารางที่ 11 โดยมีค่า AFI แดกต่างกันตั้งแต่ 0 ถึง 39.64 จากเกณฑ์การตัดสินพืชมีฤทธิ์ยับยั้งการกินของ Escoubas *et al.* (1993) ที่ AFI น้อยกว่า 20 พบว่าส่วนผสมของสารสกัดหยาบจากค้างคาวดำและคิปลี มีฤทธิ์ยับยั้งการกินที่อัตราส่วน 1:1 ความเข้มข้น 0.1-1.0 % ซึ่งมีค่า AFI เท่ากับ 13.51 และ 0 ตามลำดับ และที่อัตราส่วน 5:1 ความเข้มข้น 0.5 - 1% มีค่า AFI ที่ 9.92 และ 0 ตามลำดับ และ ที่อัตราส่วน 50 : 1 ความเข้มข้น 1 % มีค่า AFI เท่ากับ 14.82

ตารางที่ 9 ค่า AFI ของสารสกัดกิ่งบริสุทธิ จากลำต้นไต้ดินค้างควาคว่า

กรรมวิธี	AFI
ส่วนสกัดหยาบ 1 %	17.26ab
ส่วนสกัดเฮกเซน 1%	26.73ab
ส่วนสกัดคลอโรฟอร์ม 1%	6.43b
ส่วนสกัดบิวทานอล 1 %	43.53a
ส่วนสกัดน้ำ	39.64a

กรรมวิธี	AFI
ส่วนสกัดหยาบ 0.5 %	28.51ab
ส่วนสกัดเฮกเซน 0.5%	28.81ab
ส่วนสกัดคลอโรฟอร์ม 0.5%	13.92b
ส่วนสกัดบิวทานอล 0.5 %	47.40a
ส่วนสกัดน้ำ	43.68a

กรรมวิธี	AFI
ส่วนสกัดหยาบ 0.1 %	42.56ab
ส่วนสกัดเฮกเซน 0.1%	42.31ab
ส่วนสกัดคลอโรฟอร์ม 0.1%	31.81b
ส่วนสกัดบิวทานอล 0.1 %	35.48b
ส่วนสกัดน้ำ	48.28a

ตารางที่ 10 ค่า AFI ของสารสกัดกิ่งบริสุทธ์ จากผลคิปติ

กรรมวิธี	AFI
ส่วนสกัดหยาบ 1 %	3.56b
D1 1%	35.24a
D2 1%	22.43ab
D3 1%	3.13b
D4 1%	7.67b

กรรมวิธี	AFI
ส่วนสกัดหยาบ 0.5 %	12.44bc
D1 0.5 %	12.29bc
D2 0.5 %	22.84ab
D3 0.5 %	3.64c
D4 0.5 %	34.33a

กรรมวิธี	AFI
ส่วนสกัดหยาบ 0.1 %	44.02a
D1 0.1%	47.88a
D2 0.1%	50.00a
D3 0.1 %	21.83b
D4 0.1%	44.85a

กรรมวิธี	AFI
ส่วนสกัดหยาบ 0.01 %	42.98 ^{ns}
D1 0.01%	60.42
D2 0.01%	54.79
D3 0.01 %	46.46
D4 0.01%	50.11

ตารางที่ 11 ค่า AFI ของส่วนผสมจากค่างคาวค้ำและคิปลีที่อัตราส่วนต่าง ๆ กัน

ส่วนผสมค่างคาวค้ำและคิปลี	AFI
อัตราส่วน 1:1 เข้มข้น 0.01%	29.30 ^{ns}
อัตราส่วน 5:1 เข้มข้น 0.01%	30.99
อัตราส่วน 50:1 เข้มข้น 0.01%	39.64

ส่วนผสมค่างคาวค้ำและคิปลี	AFI
อัตราส่วน 1:1 เข้มข้น 0.1%	13.51b
อัตราส่วน 5:1 เข้มข้น 0.1%	28.41ab
อัตราส่วน 50:1 เข้มข้น 0.1%	37.65a

ส่วนผสมค่างคาวค้ำและคิปลี	AFI
อัตราส่วน 1:1 เข้มข้น 0.5%	0b
อัตราส่วน 5:1 เข้มข้น 0.5%	9.92ab
อัตราส่วน 50:1 เข้มข้น 0.5%	27.08a

ส่วนผสมค่างคาวค้ำและคิปลี	AFI
อัตราส่วน 1:1 เข้มข้น 1%	0b
อัตราส่วน 5:1 เข้มข้น 1%	0b
อัตราส่วน 50:1 เข้มข้น 1%	14.82a

4.3.2 การทดสอบฤทธิ์ควบคุมการเจริญเติบโตของหนอนกระทู้ผัก

ภายหลังการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการกินของหนอนกระทู้ผัก พบว่าหนอนที่ใช้ศึกษาบางส่วนตาย หรือมีความผิดปกติของการเข้าดักแด้ ผีเสื้อบางตัวมีรูปร่างผิดปกติ แสดงแนวโน้มว่า สารสกัดหยาบและกึ่งบริสุทธิ์จากค้ำควาดำและคิปลีเหล่านี้ มีฤทธิ์ต่อหนอนกระทู้ผักในด้านอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ฤทธิ์ยับยั้งการกินด้วย ดังนั้นจึงนำหนอนกระทู้ผักที่รอดตายจากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการกินมาเลี้ยงต่อประมาณ 15 วัน เพื่อศึกษาความเป็นพิษและผลในระยะยาวของสารสกัดหยาบและกึ่งบริสุทธิ์จากค้ำควาดำและคิปลี ผลเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้ผักที่ 2, 24 และ 48 ชั่วโมง เปรอ์เซ็นต์ดักแด้ผิดปกติ และผีเสื้อผิดปกติ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 เปรอ์เซ็นต์ตายของหนอนกระทู้ผักที่ 2, 24 และ 48 ชั่วโมง, ดักแด้ผิดปกติและผีเสื้อผิดปกติ เนื่องจากฤทธิ์ของสารสกัดหยาบและกึ่งบริสุทธิ์จากค้ำควาดำ

กรรมวิธี	ความเข้มข้น	%ตาย			%ผิดปกติ	
		2ชม.	24ชม.	48ชม.	ดักแด้	ผีเสื้อ
ควบคุม		0	0	2	0	0
สารสกัดหยาบค้ำควาดำ	0.10%	0	32.5	62.5	5	0
	0.50%	0	32.5	65	5	0
	1.00%	0	20	65	0	0
เฮกเซน	0.10%	0	42.5	72.5	0	0
	0.50%	0	0	10	7.5	0
	1.00%	0	0	27.5	5	0
คลอโรฟอร์ม	0.10%	0	40	60	0	0
	0.50%	0	20	72.5	0	0
	1.00%	0	0	68	1	0
บิวทานอล	0.10%	0	22.5	67.5	0	0
	0.50%	0	5	60	2.5	0
	1.00%	0	5	47.5	2.5	0
น้ำ	0.10%	2.5	40	62.5	0	0
	0.50%	0	15	70	0	0
	1.00%	0	4	68	1	0

เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์หนอนตายที่ 48 ชั่วโมง ร่วมกับ เปอร์เซ็นต์คักแค้ผิดปกติ พบว่า ส่วนสกัดคลอโรฟอร์มและส่วนสกัดน้ำ ที่ความเข้มข้น 0.1 – 1.0 % แสดงฤทธิ์ฆ่าและควบคุมการเจริญเติบโตของหนอนกระทู้ผักได้ค่อนข้างดี เทียบเท่ากับการใช้สารสกัดหยาบ โดยส่วนสกัดคลอโรฟอร์มมีเปอร์เซ็นต์ตายของหนอนกระทู้ผักที่ 48 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 0.1 – 1.0 % มีค่าเท่ากับ 60 , 72.5 และ 68 % ตามลำดับ และส่วนสกัดน้ำ มี เปอร์เซ็นต์ตายของหนอนกระทู้ผัก ที่ 48 ชั่วโมง ความเข้มข้น 0.1 – 1.0 % เท่ากับ 62.5, 70 และ 68 % ตามลำดับ

ส่วนการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดกิ่งบริสุทธิ์จากคิปลี โดยเปรียบเทียบ เปอร์เซ็นต์หนอนตายที่ 48 ชั่วโมง ร่วมกับ เปอร์เซ็นต์คักแค้ผิดปกติและผีเสื้อผิดปกติพบว่า สารสกัดกิ่งบริสุทธิ์ D3 และ D1 ที่ความเข้มข้น 0.01 – 1.0 % แสดงฤทธิ์ฆ่าและควบคุมการเจริญเติบโตของหนอนกระทู้ผักได้ดีมากกว่าการใช้สารสกัดหยาบ โดยสารสกัดกิ่งบริสุทธิ์ D3 มีเปอร์เซ็นต์ตายของหนอนกระทู้ผักที่ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 92.5, 67.5, 95 และ 95 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และสารสกัดกิ่งบริสุทธิ์ D1 มีเปอร์เซ็นต์ตายของหนอนกระทู้ผักที่ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 87.5, 35, 75 และ 90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ(ตารางที่ 13)

ตารางที่ 13 เปอร์เซนต์ตายของหนอนกระทู้ผักที่ 2, 24 และ 48 ชั่วโมง, ตักแต่้ผิปกติและผิ่ลือผิปกติ เนื่องจกฤทธิขงสารสกัดหยาบและกิ่งบริสุทธิจากตีปติ

กรรมวิธี	ความเข้มข้น	%ตาย			%ผิปกติ	
		2ชม.	24ชม.	48ชม.	ตักแต่้	ผิ่ลือ
ควบคุม		0	0	2	0	0
สารสกัดหยาบตีปติ	0.01%	0	32.5	82.5	5	0
	0.10%	0	7.5	65	2.5	5
	0.50%	27.5	42.5	47.5	5	2.5
	1.00%	7.5	37.5	92.5	0	0
D1	0.01%	2.5	30	87.5	5	0
	0.10%	2.5	17.5	35	0	0
	0.50%	32.5	47.5	75	0	0
	1.00%	55	65	90	0	0
D2	0.01%	0	30	87.5	0	0
	0.10%	0	22.5	82.5	0	0
	0.50%	0	27.5	52.5	2.5	0
	1.00%	0	40	90	0	0
D3	0.01%	0	40	92.5	5	0
	0.10%	10	30	67.5	0	0
	0.50%	57.5	90	95	0	0
	1.00%	35	75	95	0	0
D4	0.01%	0	32.5	75	2.5	0
	0.10%	0	32.5	65	0	0
	0.50%	7.5	17.5	55	0	0
	1.00%	7.5	25	82.5	0	0

ตารางที่ 14 เปอร์เซนต์ตายของหนอนกระทู้ฝักที่ 2, 24 และ 48 ชั่วโมง, ดักแด้ผิดปกติและผีเสื้อผิดปกติ เนื่องจากฤทธิ์ของสารผสมระหว่างค้ำควาดำและดีปรีในอัตราส่วนต่าง ๆ กัน

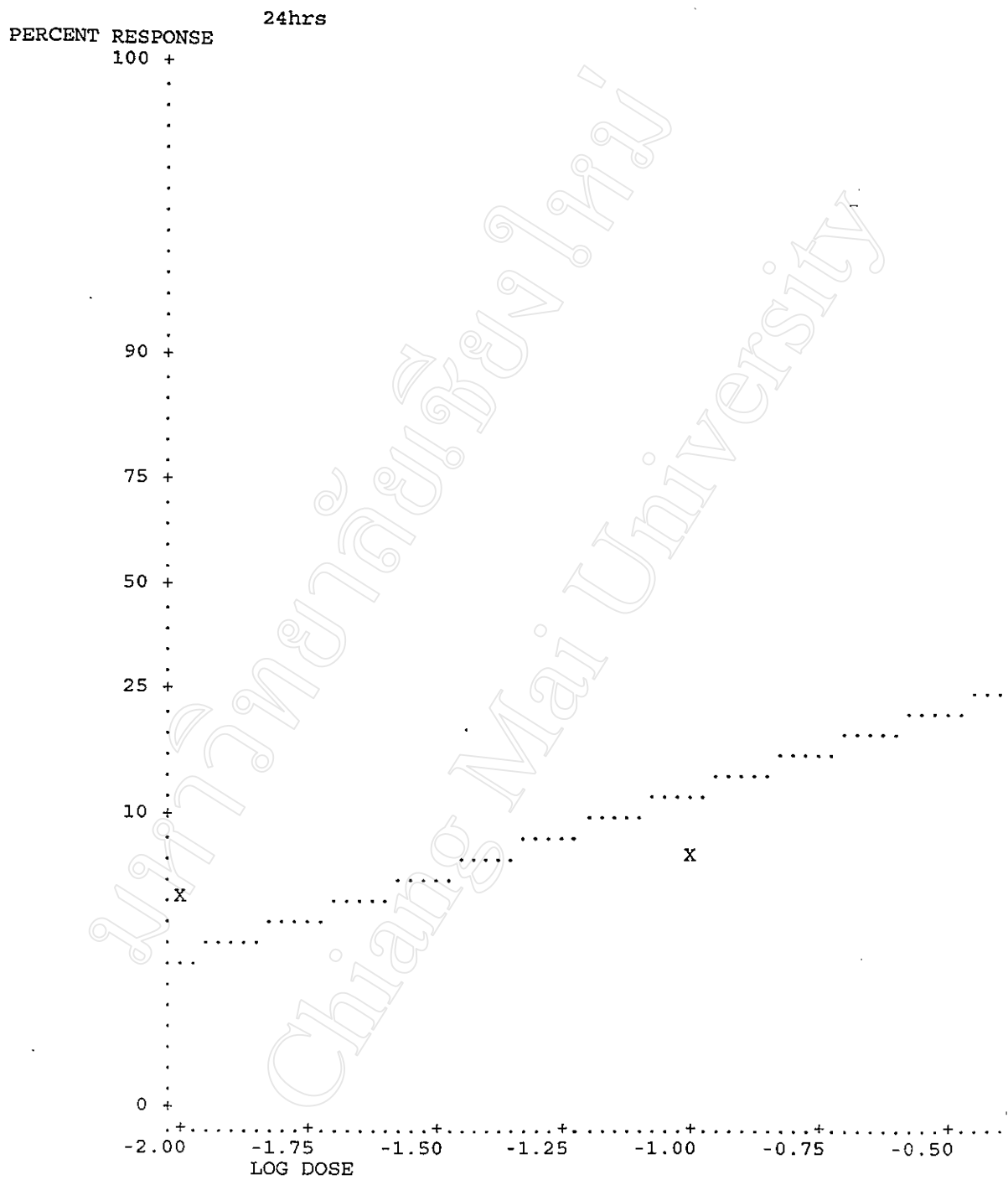
กรรมวิธี	ความเข้มข้น	%ตาย			%ผิดปกติ	
		2ชม.	24ชม.	48ชม.	ดักแด้	ผีเสื้อ
1:1	0.01%	0	7.5	37.5	2.5	0
	0.10%	2.5	10	45	2.5	0
	0.50%	2.5	37.5	60	0	0
	1.00%	7.5	40	67.5	5	0
5:1	0.01%	0	45	90	0	0
	0.10%	0	22.5	82.5	0	0
	0.50%	0	12.5	97.5	0	0
	1.00%	2.5	7.5	82.5	0	0
50:1	0.01%	2.5	20	82.5	0	0
	0.10%	0	20	90	0	0
	0.50%	0	17.5	92.5	0	0
	1.00%	0	20	95	0	0

สารผสมระหว่างค้ำควาดำและดีปรีในอัตราส่วน 5 : 1 และ 50 : 1 ที่ความเข้มข้น 0.01 - 1.0 % แสดงฤทธิ์ฆ่าแมลงและควบคุมการเจริญเติบโตของหนอนกระทู้ฝักได้ดี โดยมีเปอร์เซนต์ตายของหนอนกระทู้ฝักที่ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 90, 82.5, 97.5, 82.5, 82.5, 90, 92.5 และ 95 % ตามลำดับ (ตารางที่ 14)

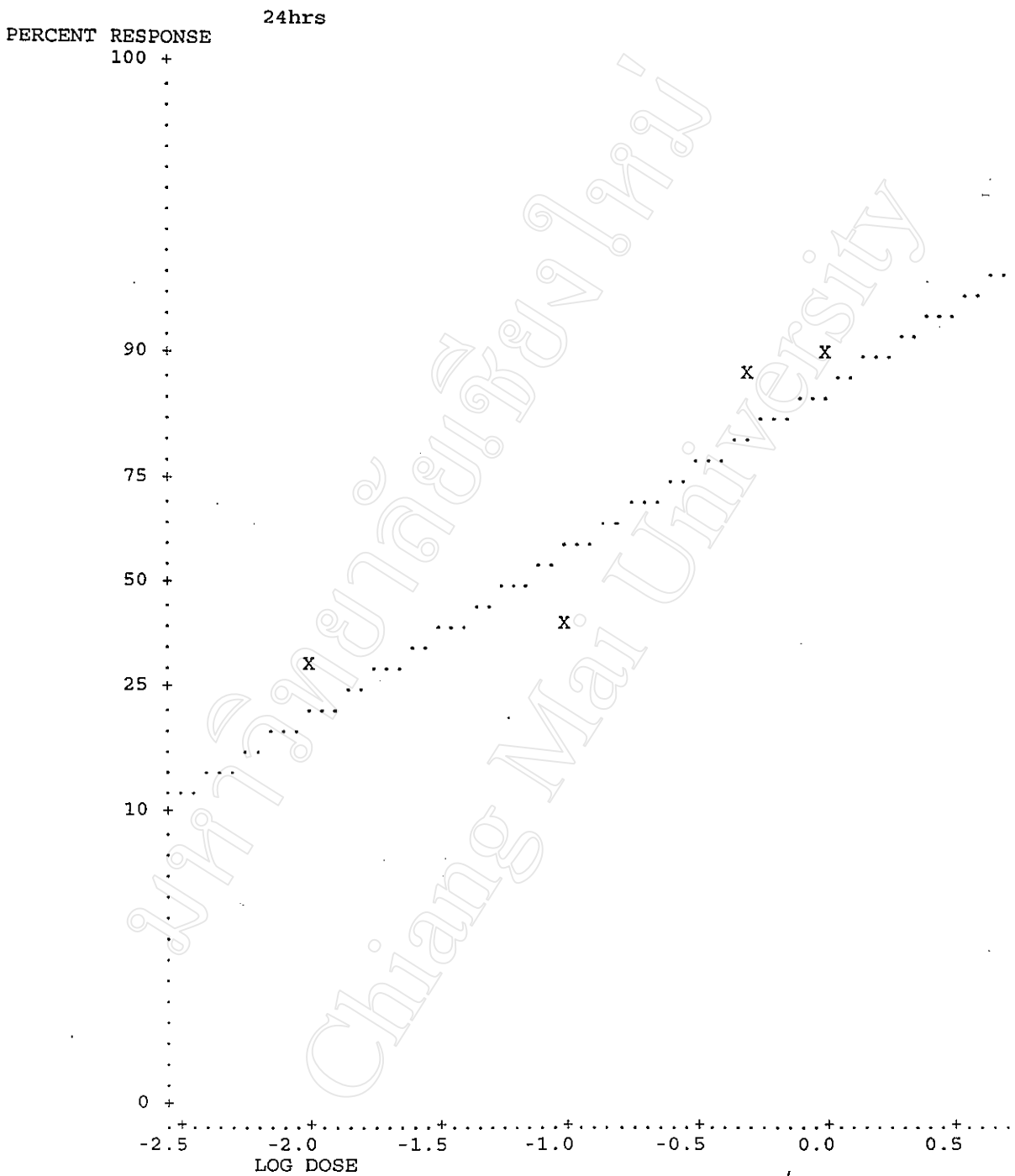
จากการนำข้อมูลเปอร์เซ็นต์ตายของหนอนกระทู้ผักที่เวลา 24 ชั่วโมงมาคำนวณหาค่า oral LC₅₀ และ oral LC₉₀ ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงระดับความเข้มข้นของสารทดลองที่จะทำให้หนอนตายร้อยละ 50 และร้อยละ 90 ตามลำดับ พบว่าสารสกัดหยาบจากคิปลีที่ความเข้มข้น 1.621 เปอร์เซ็นต์ และ 37.73 เปอร์เซ็นต์ ทำให้หนอนกระทู้ผักตายร้อยละ 50 และร้อยละ 90 ที่ 24 ชั่วโมงตามลำดับ และสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์ D3 ที่ระดับความเข้มข้น 0.063 เปอร์เซ็นต์ และ 1.550 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนในสารสกัดหยาบและสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์ทั้ง 4 ส่วนจากค้างคาวดำไม่มีฤทธิ์ฆ่าหนอนกระทู้ผักในทุกระดับความเข้มข้น และในส่วนของสารสกัดหยาบจากค้างคาวดำผสมสารสกัดหยาบจากคิปลีในอัตราส่วน 1:1 พบว่า ความเข้มข้นที่ทำให้หนอนกระทู้ผักตายร้อยละ 50 และ ร้อยละ 90 ที่ 24 ชั่วโมง เท่ากับ 1.887 เปอร์เซ็นต์ และ 97.580 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 15 และภาพที่ 17, 18 และ 19)

ตารางที่ 15 ค่า oral LC₅₀ และ oral LC₉₀ ของสารสกัดหยาบจากคิปลี, สารสกัดกึ่งบริสุทธิ์ D3 และ สารผสมระหว่างค้างคาวดำและคิปลีในอัตราส่วน 1:1 ที่ 24 ชั่วโมง

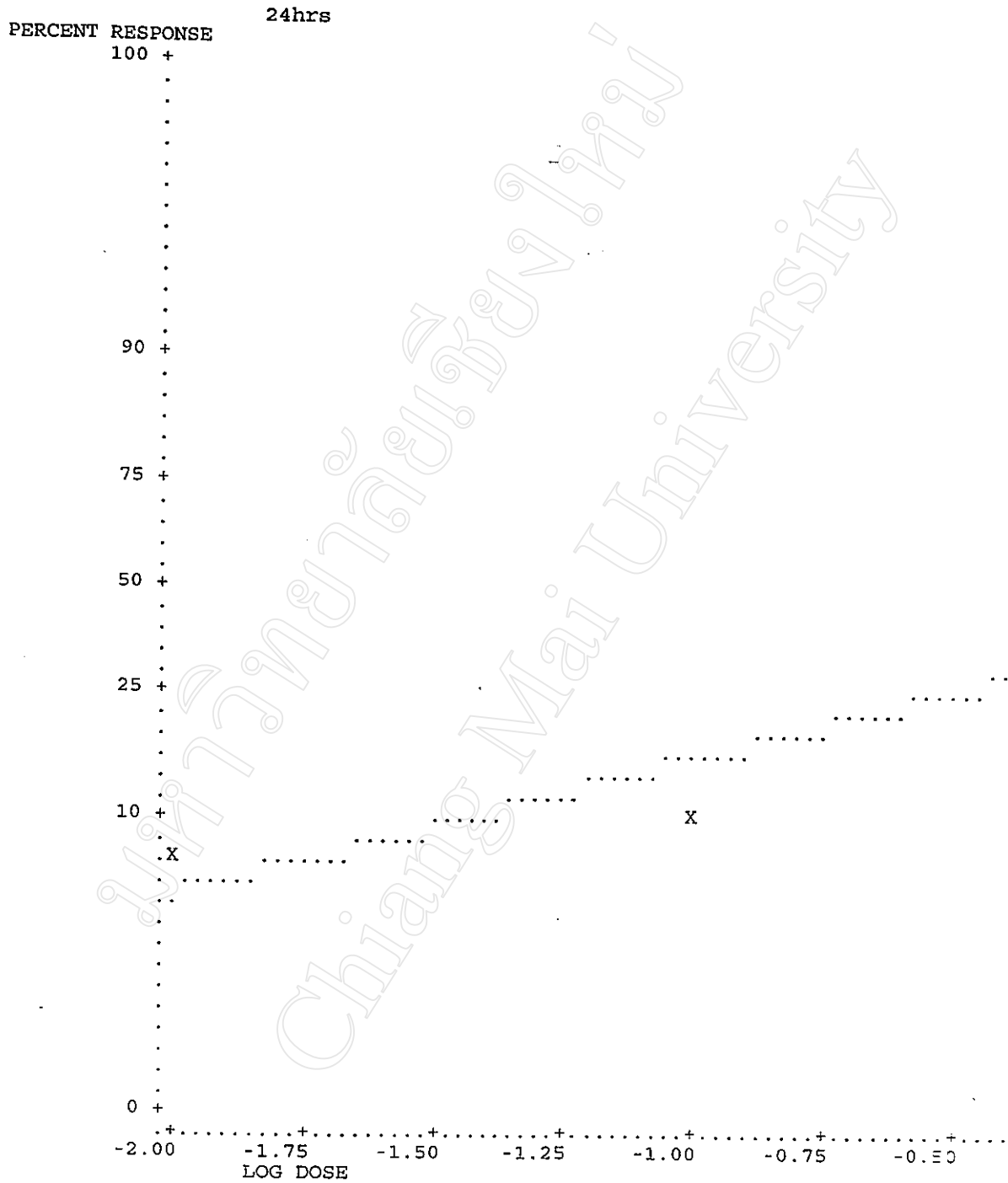
กรรมวิธี	oral LC ₅₀		oral LC ₉₀	
	เปอร์เซ็นต์	สคต.	เปอร์เซ็นต์	สคต.
สารสกัดหยาบคิปลี	1.62	16,211	37.73	377,320
สารสกัดกึ่งบริสุทธิ์ D3	0.06	628	1.55	15,504
สารผสมอัตราส่วน 1: 1	1.89	18,866	97.58	975,795



ภาพที่ 17 ค่า oral LC_{50} = 1.62 % และ oral LC_{90} = 37.73 % ของสารสกัดหยาบจากคิงปี้ที่เวลา 24 ชั่วโมง เมื่อวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Logit PC



ภาพที่ 18 ค่า oral $LC_{50} = 0.06\%$ และ oral $LC_{90} = 1.55\%$ ของสารสกัดกิ่งบริสุทธ์ D3 ของคิปติ
ที่เวลา 24 ชั่วโมง เมื่อวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Logit PC



ภาพที่ 19 ค่า oral $LC_{50} = 1.89\%$ และ oral $LC_{90} = 97.58\%$ ของสารผสมระหว่างค้ำกาวดำและ
 ดิปตีในอัตราส่วน 1:1 ที่เวลา 24 ชั่วโมง เมื่อวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Logit PC

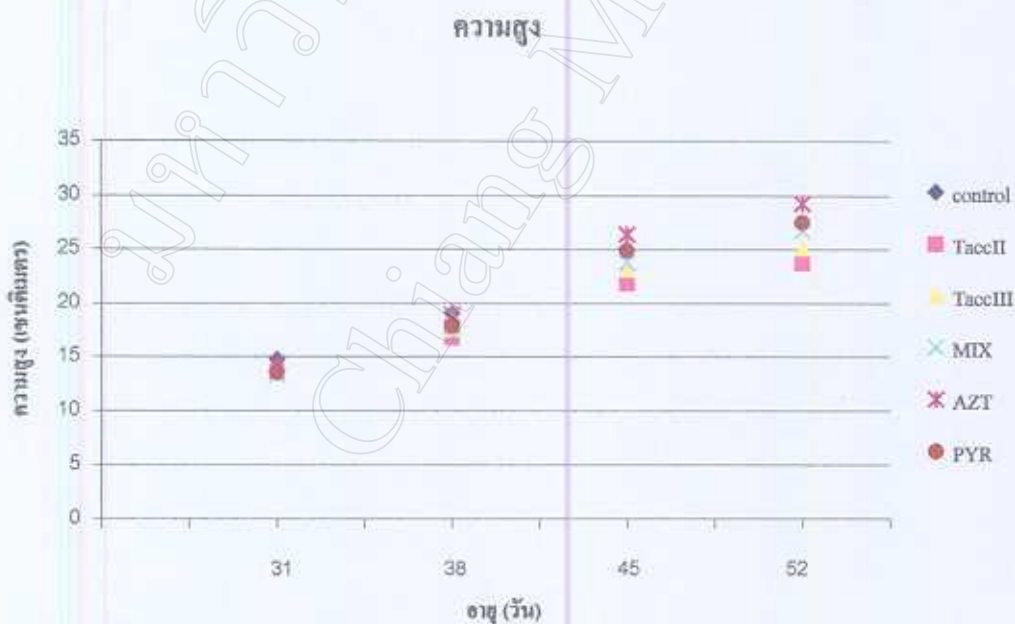
4.4 การทดสอบประสิทธิภาพและผลกระทบของสารสกัดจากค้ำควาด้าและคิปลีในสภาพแปลงปลูก

การศึกษาประสิทธิภาพและผลกระทบของสารสกัดจากค้ำควาด้าและคิปลีในสภาพแปลงปลูกผักคะน้า ในครั้งนี้ได้ทำการศึกษาใน 3 ประเด็น ได้แก่ ผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของคะน้า ประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดแมลง และผลกระทบต่อปริมาณและคุณภาพผลผลิต ปรากฏผลการทดลองดังต่อไปนี้

4.4.1 ผลต่อการเจริญเติบโตของคะน้า

ก. ความสูง

ความสูงของต้นคะน้าในการทดลองนี้เริ่มบันทึกเมื่อต้นคะน้าตั้งตัวได้ภายหลังจากย้ายปลูกต้นกล้าคะน้า ซึ่งรวมอายุได้ 31 วัน หลังจากวันเพาะเมล็ด หลังจากนั้นทำการวัดความสูงครั้งต่อไป เมื่อเวลาผ่านไป ทุก ๆ 1 สัปดาห์ แสดงในภาพที่ 20 ภายหลังจากคะน้าตั้งตัวได้มีการเจริญเติบโตทางความสูงอย่างต่อเนื่อง อย่างไรก็ตามเมื่อนำค่าความสูงของแต่ละสัปดาห์มาวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติระหว่างต้นที่ได้รับสารสกัดหยาบผสมจากคิปลีและค้ำควาด้า 2 สูตร (Tacc II, Tacc III), สารสมุนไพรรวม, สาร azadirachtin และสาร permethrin พบว่าสารที่ใช้ในการทดลองทุกชนิดไม่ทำให้ความสูงของต้นคะน้าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



ภาพที่ 20 ความสูงของต้นคะน้าเมื่ออายุ 24-60 วัน เปรียบเทียบระหว่างเมื่อได้รับ สารสกัดหยาบผสมจากคิปลีและค้ำควาด้า 2 สูตร สารสกัดสมุนไพรรวม สาร azadirachtin และ สาร permethrin

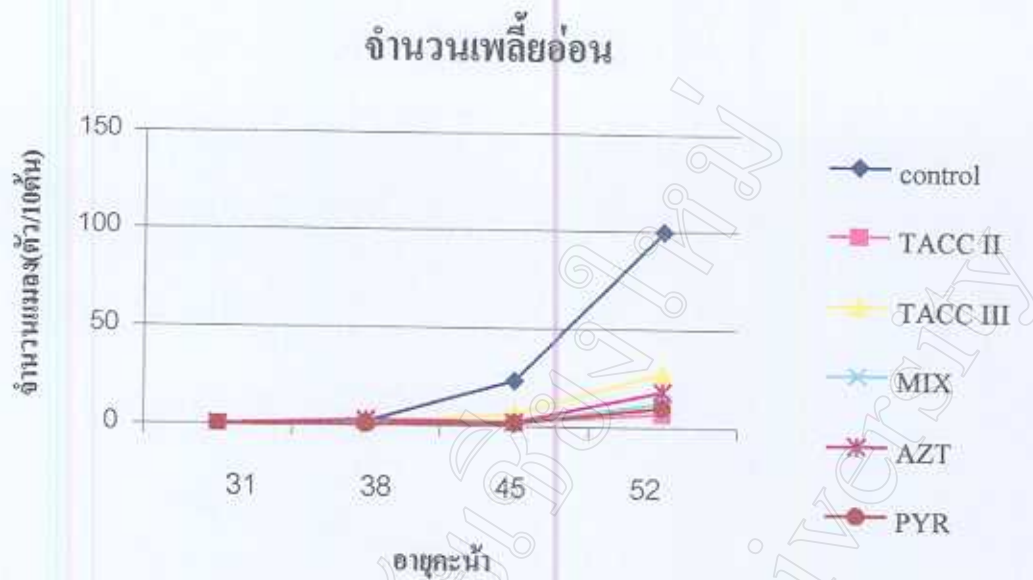
4.4.2 ประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดแมลง

จากการศึกษาถึงการระบาดของแมลงในสภาพแปลงปลูก โดยการตรวจนับจำนวนแมลงในแปลงปลูกคะน้า ที่พ่นด้วยสารสกัดผสมจากคิงคาวดำและคิปที 2 สูตร สารสมุนไพรรวม สาร azadirachtin สาร permethrin และ แปลงควบคุม ตลอดระยะเวลาการเจริญเติบโตของพืช แมลงที่เข้าทำลายได้แก่ หนอนกระทู้ผัก เพลี้ยอ่อน และหนอนชอนใบ โดยสุ่มนับจากต้นคะน้า 10 ต้นต่อแปลง แสดงไว้ในภาพที่ 21 , 22 และ 23 ตามลำดับ



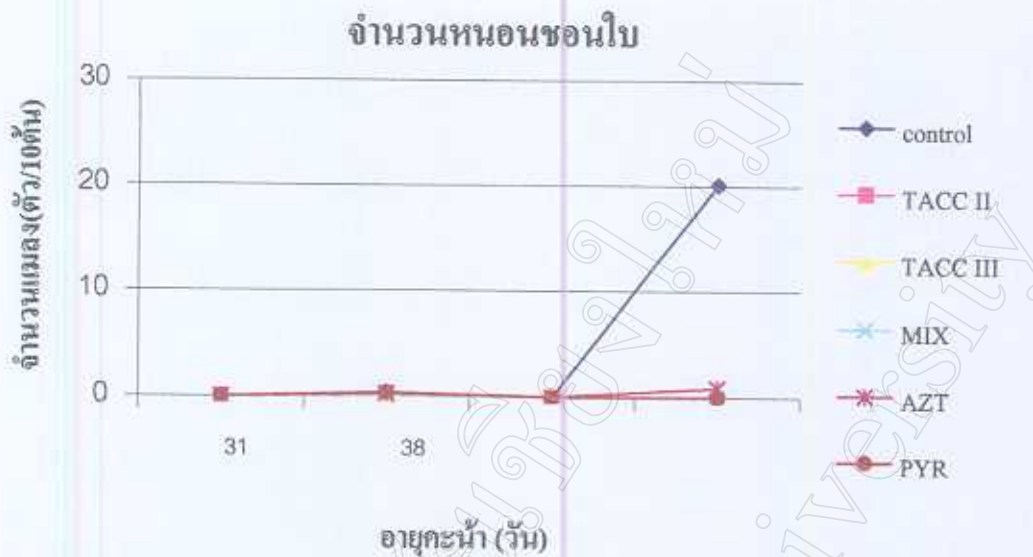
ภาพที่ 21 จำนวนหนอนกระทู้ผัก เปรียบเทียบระหว่างเมื่อได้รับ สารสกัดหยาบผสมจากคิปที และคิงคาวดำ 2 สูตร สารสกัดสมุนไพรรวม สาร azadirachtin และ สาร permethrin

จำนวนหนอนกระทู้ผักในผักคะน้าที่ไม่ได้รับสารทดลอง(แปลงควบคุม) มีจำนวนมากที่สุด เฉลี่ย 2ตัว/ต้น ซึ่งตรวจพบหนอนระบาดอยู่ 2 ระยะ คือ ระยะที่คะน้าอายุ 45 และ 52 วัน ส่วนจำนวนหนอนกระทู้ผักในคะน้าที่ได้รับสารทดลองทุกกรรมวิธีมีจำนวนน้อยมากและคงที่ตลอดฤดูกาลปลูกโดยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



ภาพที่ 22 จำนวนเพลี้ยอ่อน เปรียบเทียบระหว่างเมื่อได้รับ สารสกัดหยาบผสมจากคิปติและ ก้างควาดำ 2 สูตร สารสกัดสมุนไพรรวม สาร azadirachtin และ สาร permethrin

จำนวนเพลี้ยอ่อนในผักคะน้ำที่ไม่ได้รับสารทดลอง(แปลงควบคุม) ตรวจพบเพลี้ยอ่อนระบาดอยู่ 2 ระยะ คือ ระยะที่คะน้ำอายุ 45 และ 52 วัน ซึ่งมีจำนวนมากที่สุด เฉลี่ย 10 ตัว/ต้น ส่วนจำนวนเพลี้ยอ่อนในคะน้ำที่ได้รับสารทดลองทุกกรรมวิธีมีจำนวนน้อยมาก และเพิ่มขึ้นช่วงก่อนเก็บเกี่ยวเพียงเล็กน้อย



ภาพที่ 23 จำนวนหนอนชอนใบ เปรียบเทียบระหว่างเมื่อได้รับ สารสกัดหยาบผสมจากคิปลีและค้างคาวดำ 2 สูตร สารสกัดสมุนไพรรวม สาร azadirachtin และ สาร permethrin

จำนวนหนอนชอนใบ ในผักคะน้าที่ไม่ได้รับสารทดลอง(แปลงควบคุม) มีจำนวนมากที่สุด เฉลี่ย 2 ตัว/ต้น ซึ่งตรวจพบหนอนระบาดอยู่ระยะเดียว คือ ระยะที่คะน้าอายุ 52 วัน ส่วนจำนวนหนอนชอนใบในคะน้าที่ได้รับสารทดลองทุกกรรมวิธีมีจำนวนน้อยมาก และเพิ่มขึ้นช่วงก่อนเก็บเกี่ยวเพียงเล็กน้อย

ตาราง ที่ 16 จำนวนหนอนกระทู้ผัก เพลี้ยอ่อน และหนอนชอนใบ ตลอดฤดูปลูก (ตัว/10ต้น)

กรรมวิธี	หนอนกระทู้ผัก	เพลี้ยอ่อน	หนอนชอนใบ
control	30.1a	124.5a	20.3a
TACC II	0.0b	9.2b	0.1b
TACC III	0.4b	34.5b	0.0b
MIX	0.3b	15.8b	0.1b
AZT	1.7b	22.7b	1.2b
PYR	0.5b	11.9b	0.4b

4.4.3 ผลต่อปริมาณผลผลิตคะน้ำ

ก. ผลผลิตสด

ผลกระทบของสารสกัดหยาบจากคิปลีผสมค้ำควาดำ 2 สูตร, สารสมุนไพรรวม, สาร azadirachtin และ สาร permethrin ที่มีผลต่อน้ำหนักสดส่วนเหนือดิน ราก น้ำหนักรวมทั้งต้น น้ำหนักส่วนที่บริโภคได้และเปอร์เซ็นต์ส่วนที่บริโภคได้ต่อน้ำหนักส่วนเหนือดิน พบว่า การใช้สาร permethrin ทำให้ต้นคะน้ำมีปริมาณผลผลิตสูงสุดในทุกลักษณะ ซึ่งแตกต่างจากการใช้ สาร azadirachtin, สารสมุนไพรรวม, สารสกัดผสม 2 สูตร และคะน้ำในแปลงควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ดังในตารางที่ 17

ตารางที่ 17 ผลผลิตสดของต้นคะน้ำหลังเก็บเกี่ยว เปรียบเทียบระหว่างเมื่อได้รับ สารสกัดหยาบผสมจากคิปลีและค้ำควาดำ 2 สูตร สารสกัดสมุนไพรรวม สาร azadirachtin และ สาร permethrin

กรรมวิธี	น้ำหนักสด ส่วนเหนือดิน (กรัม)	น้ำหนักสด ราก (กรัม)	น้ำหนักสดรวม ทั้งต้น(กรัม)	น้ำหนักส่วนที่ บริโภคได้ (กรัม)	ส่วนที่บริโภคได้ ต่อน้ำหนักสด ส่วนเหนือดิน (%)
control	37.58b	3.83ab	47.4b	20.79b	53.96 ^{ns}
TaccII	22.48c	2.93b	25.4c	12.55c	55.84
TaccIII	36.46b	3.26b	38.64b	21.78b	56.69
MIX	38.97b	4.36a	43.33b	23.67ab	60.72
AZT	42.70ab	4.70a	47.40ab	23.63ab	55.33
PYR	50.67a	4.69a	55.35a	30.31a	59.82

ข. ผลผลิตแห้ง

ผลกระทบของการใช้สารสกัดหยาบคิปีลีผสมค้ำควาค้า 2 สูตร , สารสมุนไพรรวม , สาร azadirachtin และสาร permethrin ต่อผลผลิตแห้งของต้นคะน้าพบว่า การใช้สาร permethrin จะทำให้น้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินสูงสุด 5.23 กรัมต่อต้น ซึ่งแตกต่างจากกรรมวิธีอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในส่วนของน้ำหนักแห้งราก สารจาก permethrin จะทำให้น้ำหนักแห้งรากสูงสุด 0.72 กรัมต่อต้น แต่ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

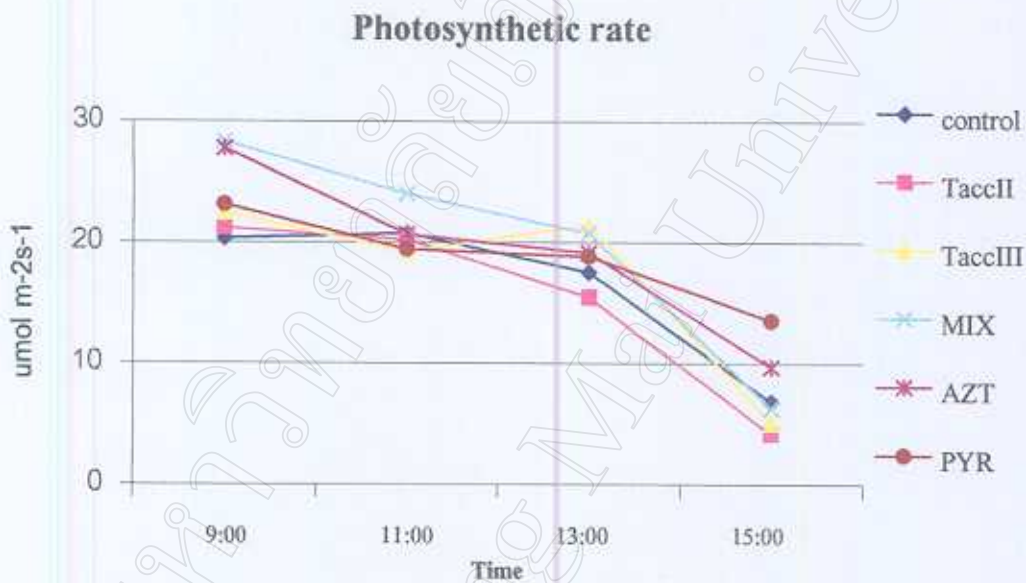
ตารางที่ 18 ผลผลิตแห้งของต้นคะน้า เปรียบเทียบระหว่างเมื่อได้รับ สารสกัดหยาบผสมจาก คิปีลีและค้ำควาค้า 2 สูตร สารสกัดสมุนไพรรวม สาร azadirachtin และ สาร permethrin

กรรมวิธี	น้ำหนักแห้งส่วนเหนือดิน (กรัม)	น้ำหนักแห้งราก(กรัม)	สัดส่วนน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดิน: ราก
control	4.41ab	0.58 ^{as}	7.53
TaccII	3.32b	0.49	6.77
TaccIII	4.48ab	0.52	8.59
MIX	3.99b	0.55	7.29
AZT	4.45ab	0.65	6.88
PYR	5.23a	0.72	7.23

4.4.4 ผลต่อสรีรวิทยาของน้ำ

ก. ผลกระทบต่ออัตราการสังเคราะห์แสง

อัตราการสังเคราะห์แสง เปรียบเทียบระหว่างเมื่อได้รับ สารสกัดหยาบผสมจากคิปลีและ ค้างคาวดำ 2 สูตร สารสกัดสมุนไพรรวม สาร azadirachtin และ สาร permethrin พบว่า ในช่วง เวลา 9:00 น. ต้นค่น้ำที่ได้รับสารสมุนไพรรวมมีค่าความต้านทานปากใบสูงสุด เท่ากับ $28.33 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ โดยภาพรวมต้นค่น้ำทุกกรรมวิธี มีแนวโน้มลดลงในช่วง 11:00 -15:00 น. ดังนั้นทุกกรรมวิธี ไม่มีผลทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังภาพที่ 24

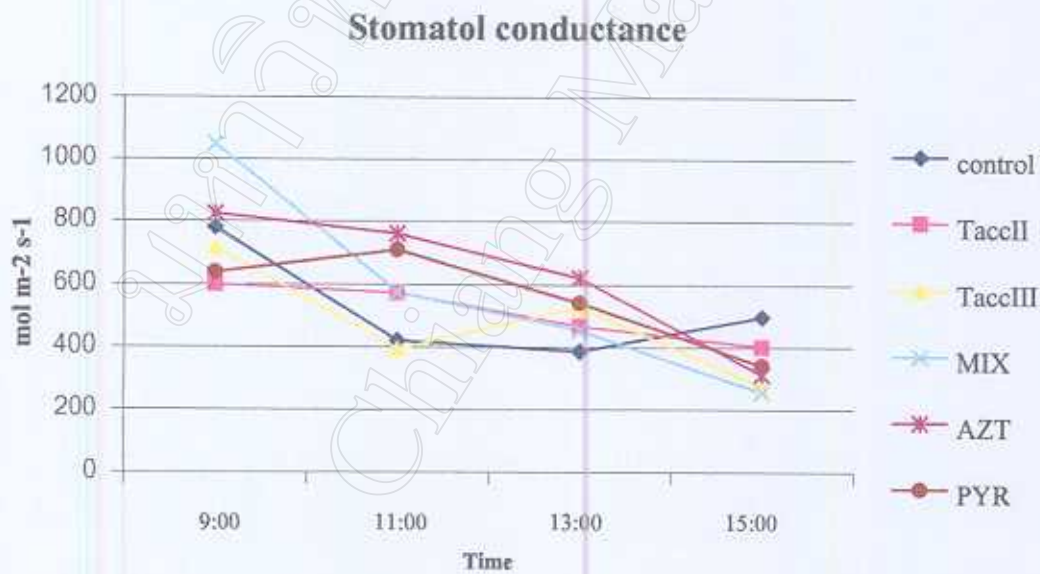


ภาพที่ 24 อัตราการสังเคราะห์แสงของค่น้ำเปรียบเทียบระหว่างใบที่ได้รับสารสกัด หยาบผสมคิปลีและค้างคาวดำ 2 สูตร, สารสมุนไพรรวม, สาร azadirachtin และ สาร permethrin กับค่น้ำที่ไม่ได้รับสารทดลอง (แปลงควบคุม)

ข. ผลกระทบต่อค่าความต้านทานปากใบ

ค่าความต้านทานปากใบ เปรียบเทียบระหว่างเมื่อได้รับ สารสกัดหยาบผสมจากคีปรีลี และค้ำงควาดำ 2 สูตร สารสมุนไพรรวม สาร azadirachtin และ สาร permethrin พบว่าในช่วงเวลา 9:00 น. ต้นคะน้าที่ได้รับสารสมุนไพรรวมมีค่าความต้านทานปากใบสูงสุด เท่ากับ $1049.75 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ โดยภาพรวมต้นคะน้าที่ไม่ได้รับสารทดลอง (แปลงควบคุม) , สารสกัดหยาบผสมค้ำงควาดำและคีปรีลี 2 สูตร, สารสมุนไพรรวม, สาร azadirachtin มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องในช่วง 11:00 – 15:00 น. ยกเว้นสาร permethrin ที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วง 11:00 น. และในช่วง 13:00 – 15:00 น. ต้นคะน้าที่ได้รับสารสกัดหยาบผสมค้ำงควาดำและคีปรีลี สูตร ที่ 2 (TaccIII) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ส่วนกรรมวิธีอื่นมีแนวโน้มลดลง

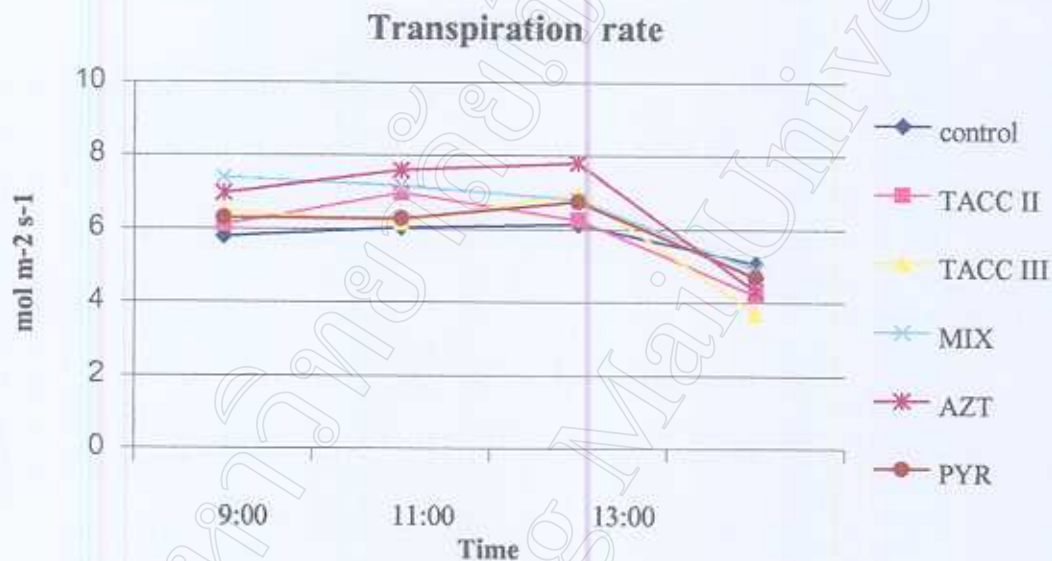
และในช่วง 11:00 – 13:00 น. สารสกัดหยาบผสมค้ำงควาดำสูตร I (TaccII), สารสมุนไพรรวม, สาร azadirachtin และสาร permethrin มีแนวโน้มค่าความต้านทานปากใบสูงกว่าต้นควบคุม ส่วนที่เวลา 15:00 น. ทุกกรรมวิธีมีแนวโน้มค่าความต้านทานปากใบต่ำกว่าต้นควบคุม เมื่อดูโดยรวมแล้วทุกกรรมวิธี ไม่มีผลทำให้ความต้านทานปากใบแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังภาพที่ 25



ภาพที่ 25 ผลกระทบต่อค่าความต้านทานปากใบคะน้า เปรียบเทียบระหว่างเมื่อได้รับ สารสกัดหยาบผสมจากคีปรีลีและค้ำงควาดำ 2 สูตร สารสกัดสมุนไพรรวม สาร azadirachtin และ สาร permethrin

ค. ผลกระทบต่ออัตราการคายน้ำ

อัตราการคายน้ำในกะน้ำปกติมีค่าเท่ากับ $5.79 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ พบว่าการใช้สารสกัดหยาบจากดีปทีและค้ำควาดำ 2 สูตร, สารสมุนไพรรวม, สาร azadirachtin และ สาร permethrin มีแนวโน้มของการคายน้ำสูงกว่าต้นกะน้ำควบคุม ตั้งแต่เวลา 9:00-13:00 น. ส่วนที่เวลา 15:00 น. ต้นกะน้ำควบคุมมีแนวโน้มอัตราการคายน้ำสูงกว่าทุกกรรมวิธี แต่เมื่อดูโดยรวมแล้วการใช้สารสกัดหยาบจากดีปทีและค้ำควาดำ 2 สูตร สารสมุนไพรรวม สาร azadirachtin และ สาร permethrin ไม่มีผลทำให้อัตราการคายน้ำแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังภาพที่ 26



ภาพที่ 26 ผลกระทบต่ออัตราการคายน้ำ เปรียบเทียบระหว่างเมื่อได้รับ สารสกัดหยาบผสมจาก ดีปทีและค้ำควาดำ 2 สูตร สารสกัดสมุนไพรรวม สาร azadirachtin และ สาร permethrin

ง. ผลกระทบต่อปริมาณคลอโรฟิลล์รวมและปริมาณ TNC

ปริมาณคลอโรฟิลล์รวมในคะน้าปกติมีค่าเท่ากับ 101.24 ± 5.4368 มิลลิกรัมต่อตารางเมตร พบว่า การใช้สารสกัดหยาบจากดีปทีและค้ำควาดำ 2 สูตร สารสมุนไพรรวม สาร azadirachtin และ สาร permethrin ไม่มีผลทำให้ค่าคลอโรฟิลล์รวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง (total nonstructural carbohydrate, TNC) ก็ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่การใช้สารสกัดหยาบจากดีปทีและค้ำควาดำ สูตรที่ 2 ทำให้คะน้ามีค่าปริมาณ TNC สูงสุด คือ 0.083 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 19)

ตารางที่ 19 ผลของสารสกัดหยาบผสมดีปทีและค้ำควาดำ 2 สูตร , สารสมุนไพรรวม , สาร azadirachtin และ สาร permethrin ที่มีต่อปริมาณคลอโรฟิลล์รวมและปริมาณ total nonstructural carbohydrate ในใบคะน้า เมื่อเก็บเกี่ยว (อายุ 60 วันหลังจากเพาะเมล็ด)

กรรมวิธี	คลอโรฟิลล์รวม (มิลลิกรัมต่อตารางเมตร)	TNC (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)
Control	101.24 ^{as}	0.069 ^{as}
TACC II	100.92	0.070
TACC III	115.36	0.083
MIX	108.94	0.059
AZT	99.24	0.051
PYR	110.84	0.042