

บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การทดสอบยืนยันฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากค้างคาวดำและคิปลี

จากการนำลำต้นใต้ดินค้างคาวดำสดมาสกัดด้วย เอทานอล 95 % ได้สารสกัดหยาบที่มีลักษณะเป็นของเหลวขุ่นหนืด สีน้ำตาลเข้ม มีปริมาณ 5.59 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัตถุดิบสด ส่วนผลคิปลีแห้งนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ได้สารสกัดหยาบที่มีลักษณะเป็นของเหลวใส มีสีแดงเข้มเล็กน้อย มีปริมาณ 5.26 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัตถุดิบแห้ง ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ สารสกัดหยาบดังกล่าวคิดความเข้มข้นเป็น 100 เปอร์เซ็นต์

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการกินของสารสกัดหยาบจากค้างคาวดำที่มีต่อหนอนกระทู้ผัก โดยวิธีเลือกกิน ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 % - 1% จากเกณฑ์การตัดสินใจที่มีฤทธิ์ยับยั้งการกินของ Escoubas *et al.* (1993) ที่ AFI น้อยกว่า 20 พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 % และ 1 % มีค่า AFI เท่ากับ 28.51 และ 17.26 ตามลำดับ สอดคล้องกับ คันธรส (2544) ซึ่งรายงานไว้ว่า สารสกัดหยาบลำต้นใต้ดินค้างคาวดำด้วยอะซิโตนที่ระดับความเข้มข้น 1 % มีค่า AFI เท่ากับ 16.86 และ รัตติยา (2542) ที่รายงานไว้ว่า ส่วนของลำต้นใต้ดินค้างคาวดำมีฤทธิ์ยับยั้งการกินของหนอนกระทู้ผักได้ค่อนข้างดี เช่นเดียวกับกับ เอมอร (2536) ซึ่งรายงานไว้ว่า พืชตระกูลเดียวกับเหี้ยยาม่อม มีสารออกฤทธิ์ยับยั้งการกินของหนอนกระทู้ผักได้

สารสกัดหยาบจากลำต้นใต้ดินค้างคาวดำมีฤทธิ์ยับยั้งการกินของหนอนกระทู้ผักได้ดี แต่ไม่มีฤทธิ์สัมผัสตัวตายต่อหนอนกระทู้ผัก และจากเกณฑ์การแบ่งประเภทของสารสกัดจากพืชที่ใช้ในการควบคุมแมลง ออกเป็น 2 ประเภท ตามฤทธิ์ที่มีต่อแมลง ของเขาวัว (2536) อาจกล่าวได้ว่า สารสกัดหยาบจากลำต้นใต้ดินค้างคาวดำเป็นสารประเภทที่มีฤทธิ์ต่อแมลงโดยทางอ้อม มากกว่าทางตรงที่ออกฤทธิ์เฉียบพลัน โดยเมื่อแมลงได้รับสารแล้วตายทันที เช่น สารไพรีทรัมและสารนิโคตินจากยาสูบที่มีฤทธิ์สัมผัสตัวตาย สารสกัดจากค้างคาวดำเป็นสารที่เป็นพิษต่อแมลงโดยทางอ้อมในลักษณะยับยั้งการกินของแมลง (antifeedant) มากกว่า ซึ่งเมื่อแมลงรับเข้าไปแล้วมีผลกระทบต่อระบบสรีระของแมลง ทำให้แมลงกินใบพืชน้อยลงหรือไม่กินเลย และอาจมีผลต่อวงจรชีวิตของแมลง ทำให้หนอนเข้าคักแต่ไม่สมบูรณ์หรือผิดปกติและผีเสื้อมีลักษณะผิดปกติ ทำให้การขยายพันธุ์ของแมลงลดน้อยลงได้

ส่วนการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการกินของสารสกัดหยาบจากดีปลี ที่ระดับความเข้มข้น 0.5% และ 1% มีค่า AFI เท่ากับ 12.44 และ 3.56 ตามลำดับ และจากการทดสอบของจันทร์ทิพย์ (2535) พบว่าส่วนสกัดหยาบของผลดีปลีมีฤทธิ์ฆ่าหนอนกระทู้ผักทางสัมผัส (contact poison) ซึ่งจากการทดลอง สารสกัดหยาบจากผลดีปลีมีฤทธิ์ฆ่าหนอนกระทู้ผักและควบคุมการเจริญเติบโต โดยเห็นได้จากที่ระดับความเข้มข้น 0.01 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ หนอนกินใบคะน้าแต่ยังไม่ตายทันที แต่หนอนมีอาการอ่อนแอ ขับน้ำสีแดงออกจากลำตัว ไม่เคลื่อนไหว และตายในที่สุด หลังจากทดสอบ 48 ชั่วโมง มีค่าเปอร์เซ็นต์ตายของหนอนกระทู้ผัก เท่ากับ 82.5 และ 65 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ตายของหนอนกระทู้ผักในชั่วโมงที่ 2 เท่ากับ 27.5 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ โดยหนอนตายในลักษณะขับน้ำสีแดงออกจากลำตัว ลำตัวหดย่น ไม่เคลื่อนไหว ไม่กินใบพืช ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.1 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบเปอร์เซ็นต์คักแต่ผิดปกติ เท่ากับ 5, 2.5 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งผลที่เกิดเหล่านี้ อาจเกิดเนื่องมาจากสารในส่วนสกัดหยาบดีปลีด้วยเฮกเซนมีลักษณะคล้ายน้ำมัน เมื่อใช้ในความเข้มข้นสูง อาจเคลือบใบพืชอาหารมากจนทำให้หนอนไม่กิน จึงอดตายในที่สุด หรือ อาจสัมผัสถูกตัวหนอนจนหนอนต้องขับน้ำออกจากลำตัวเพื่อลดความเป็นพิษของสารสกัดลง หนอนจึงตายในที่สุด

5.2 การแยกสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์จากสารสกัดหยาบที่ได้จากค้ำควาคำและคิปลี

เมื่อทำการแยกองค์ประกอบของสารสกัดหยาบจากคิปลีและค้ำควาคำ โดยวิธี TLC (Thin layer chromatography) และตรวจสอบด้วยการอบด้วยไอของไอโอดีน พบว่าสามารถแยกสารออกได้ 5 แถบ และ 4 แถบ จากนั้นนำไปทำการตรวจสอบด้วยวิธี insect feeding bioassay พบแถบที่สามารถยับยั้งการกินของหนอนได้ 4 แถบ และ 1 แถบ ตามลำดับ ซึ่งแถบที่ยับยั้งการกินของหนอน มีค่า R_f อยู่ในช่วง 0.41 – 1 และ 0- 0.167 ตามลำดับ หลังจากนั้นนำสารสกัดหยาบจากคิปลีและค้ำควาคำมาแยกสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์ โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ เพื่อเพิ่มปริมาณสารให้มากขึ้น พบว่า สารสกัดหยาบจากคิปลี สามารถแยกสารสกัดออกมาได้ 4 fractions คือ D1, D2, D3 และ D4

ส่วนสารสกัดหยาบจากค้ำควาคำนั้น เมื่อนำไปแยกสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ พบว่า หลังจากใส่สารสกัดหยาบลงไปแล้วชะด้วยตัวทำละลายเคลื่อนที่ (developing solvent) สารละลายที่ไหลออกมาแทบไม่มีปริมาณสารออกฤทธิ์เลย เนื่องจาก สารสกัดหยาบจากค้ำควาคำยังคงค้างอยู่ในซิลิกาเจล อาจเป็นเพราะสารสกัดหยาบจากค้ำควาคำมีลักษณะข้นหนืดและมีอนุภาคขนาดใหญ่ จึงทำให้ตัวทำละลายเคลื่อนที่ที่ไม่สามารถชะสารออกฤทธิ์ที่อยู่ในสารสกัดหยาบจากค้ำควาคำออกมาได้ จึงได้ทำการแยกสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์จากสารสกัดหยาบจากค้ำควาคำโดยวิธี solvent / solvent precipitation พบว่าสามารถแยกสารสกัดกึ่งบริสุทธิ์ได้ 4 fractions คือ ส่วนสกัดเฮกเซน, ส่วนสกัดคลอโรฟอร์ม, ส่วนสกัดบิวทานอล และ ส่วนของน้ำ

การตรวจสอบหาสารออกฤทธิ์โดยวิธี Insect feeding bioassay โดยสารสกัดหยาบจากคิปลีและค้ำควาคำ จากการทำการแยกสารออกฤทธิ์ด้วยวิธี TLC แล้วฉาบบอาหารหนอนเทียม ทับ แล้วพบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับแผ่น TLC ควบคุม (ไม่มีสารสกัด) แผ่น TLC ที่ฉาบด้วยอาหารหนอนเทียมของสารสกัดหยาบจากคิปลีและค้ำควาคำ พบว่า แผ่น TLC ของสารสกัดจากคิปลี มีบริเวณแถบอาหารที่หนอนไม่กิน มีค่า R_f เท่ากับ 0.413 – 1.00 ส่วนแผ่น TLC ของสารสกัดหยาบจากค้ำควาคำ มีบริเวณแถบอาหารที่หนอนไม่กินมีค่า R_f เท่ากับ 0.00-0.167

5.3 การทดสอบยืนยันฤทธิ์ของสารสกัดหยาบกิ่งบริสุทธิ์จากค้างคาวดำและคิปลี

การทำสารสกัดกิ่งบริสุทธิ์จากค้างคาวดำและคิปลี ทั้ง 8 ส่วน มาทดสอบยืนยันฤทธิ์ยับยั้งการกินของหนอนกระทู้ผักและผลกระทบต่อการเจริญเติบโต ที่ระดับความเข้มข้น 0.01% 0.1%, 0.5% และ 1% พบว่า ส่วนสกัดคลอโรฟอร์มของค้างคาวดำมีฤทธิ์ยับยั้งการกินที่ความเข้มข้น 0.5-1% โดยมีค่า AFI เท่ากับ 13.92 และ 6.43 ตามลำดับและส่วนสกัด D3 ของคิปลี มีฤทธิ์ยับยั้งการกินที่ความเข้มข้น 0.1%, 0.5% และ 1% ซึ่งมีค่า AFI เท่ากับ 3.64 และ 3.13 ตามลำดับและเมื่อนำสารสกัดหยาบค้างคาวดำและคิปลี มาผสมกันในอัตราส่วน 1:1 5:1 และ 50:1 ที่ระดับความเข้มข้น 0.01-1% พบว่าส่วนผสมค้างคาวดำและคิปลี ในอัตราส่วน 1:1 ที่ความเข้มข้น 0.1-1% มีค่า AFI เท่ากับ 13.51 และ 0 ตามลำดับ และที่อัตราส่วน 5:1 ความเข้มข้น 0.5-1% มีค่า AFI เท่ากับ 9.92 และ 0 ตามลำดับ และที่อัตราส่วน 50:1 ความเข้มข้น 1% มีค่า AFI เท่ากับ 14.82

จากการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่า ส่วนสกัดคลอโรฟอร์มจากค้างคาวดำและส่วนสกัด D3 ของคิปลีมีฤทธิ์ยับยั้งการกินที่ความเข้มข้น 0.1-1.0% มีประสิทธิภาพในการป้องกันและควบคุมหนอนกระทู้ผักได้ดีเทียบเท่ากับสารสกัดหยาบ แต่สารสกัดที่ได้มีปริมาณน้อยและความเข้มข้นสูงมาก รวมทั้งมีวิธีการสกัดที่ยุ่งยาก ไม่ละลายน้ำ อีกทั้งสารที่แยกได้ในแต่ละส่วนมีฤทธิ์ในการฆ่าหนอนกระทู้ผักมากน้อยแตกต่างกันตามลักษณะ โครงสร้างทางเคมีเฉพาะตัวของสาร เมื่อรวมสารเหล่านี้เข้าด้วยกันสามารถเพิ่มฤทธิ์ในการฆ่าหนอนกระทู้ผักได้ดียิ่งขึ้น (จันทร์ทิพย์, 2535) จึงกล่าวได้ว่า สารสกัดแต่ละส่วนเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกัน และในด้านการเลือกใช้สารสกัดหยาบในอัตราส่วนของค้างคาวดำมากกว่าคิปลีนั้นเนื่องจาก สารสกัดหยาบจากคิปลีมีฤทธิ์ในการฆ่าหนอนกระทู้ผักสูงมาก อีกทั้งคุณสมบัติของสารสกัดหยาบไม่สามารถละลายได้ในน้ำ และมีรายงานว่าการใช้สารสกัดหยาบด้วยเมธานอลและด้วยน้ำจากผลคิปลีในความเข้มข้นสูง ทำให้เกิดพิษต่อใบคะน้า คือ มีอาการใบหยิก รูปร่างบิดเบี้ยว จนถึงใบแห้ง เนื้อใบหนาด้านเป็นแห่งๆ ซึ่งมีผลเสียดต่อคุณภาพผลผลิต (รัตติยา, 2542) และ จากการตรวจสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากคิปลี, สารสกัดกิ่งบริสุทธิ์ D3 ของคิปลี และ สารผสมระหว่างสารสกัดหยาบจากคิปลีและค้างคาวดำ ที่มีต่อหนอนกระทู้ผัก แสดงค่า oral LC₅₀ ที่ 24 ชั่วโมง เท่ากับ 1.621 เปอร์เซ็นต์, 0.063 เปอร์เซ็นต์ และ 1.887 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงว่าระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากคิปลีและสารผสมระหว่างค้างคาวดำและคิปลีที่ทำให้หนอนกระทู้ผักตายร้อยละ 50 ภายในเวลา 24 ชั่วโมง อยู่ที่ต่ำกว่า 2 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารสกัดกิ่งบริสุทธิ์ D3 ของคิปลีนั้น อยู่ที่ประมาณ 0.06 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ต่ำแต่สารสกัดที่ได้มีปริมาณน้อย และ ขั้นตอนการแยกสารยุ่งยากและสิ้นเปลืองตัวทำละลาย อีกทั้งยังไม่ละลายในน้ำ

ดังนั้น จึงเลือกใช้สารสกัดหยาบจากค้ำควาดำเพื่อไปเสริมฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากคิปลี เนื่องจากมีคุณสมบัติละลายได้ในน้ำ และมีฤทธิ์ยับยั้งการกินของหนอนกระทู้ผัก โดยนำสารสกัดหยาบจากค้ำควาดำผสมคิปลีที่อัตราส่วนต่าง ๆ กันมาทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมแมลง ในสภาพแปลงปลูก เพื่อศึกษาและพัฒนาแนวทางการใช้ประโยชน์สารสกัดสำเร็จรูปจากพืชสมุนไพรเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืชในแปลงผักของเกษตรกรต่อไป

5.4 การทดสอบประสิทธิภาพและผลกระทบของสารสกัดจากค้ำควาดำและคิปลีในสภาพแปลงปลูก

การศึกษากการใช้สารสกัดหยาบจากค้ำควาดำผสมคิปลี 2 สูตรในสภาพแปลงปลูก ผักคะน้าโดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับสารอินทรีย์ป้องกันกำจัดแมลง 3 ชนิด คือ สารสมุนไพรรวม, สาร azadirachtin และ สาร permethrin ด้วย เนื่องจากสาร 2 ชนิดหลังเป็นสารอินทรีย์ที่จัดจำหน่ายในรูปการค้า ซึ่งเป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายและมีความปลอดภัยต่อผู้ใช้ (สุภาณี, 2540) เพื่อเป็นเกณฑ์การตัดสินประสิทธิภาพของสาร

ผลการทดลองครั้งนี้ไม่อาจยืนยันประสิทธิภาพการควบคุมแมลงในแปลงผักของสารสกัดหยาบค้ำควาดำผสมคิปลีได้อย่างชัดเจน เนื่องจากแปลงทดลองมีแมลงระบาดน้อยกว่าปกติเพราะฝนตกหนัก แต่เห็นแนวโน้มการป้องกันกำจัดแมลงในแปลงผักได้ดีในระยะก่อนเก็บเกี่ยวในช่วงหลังการพ่นสารครั้งที่ 3 และ 4 ซึ่งสารสกัดหยาบจากค้ำควาดำผสมคิปลี 2 สูตร มีประสิทธิภาพการควบคุมแมลงในแปลงผักได้ใกล้เคียงกับสาร azadirachtin และ สาร permethrin ซึ่งการที่สารสกัดดังกล่าวมีฤทธิ์ใกล้เคียงกับสารที่จำหน่ายทางการค้า แสดงถึงความเป็นไปได้ที่จะนำไปใช้ในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกร เช่นเดียวกับสารอินทรีย์ทางการค้า ดังรายงานของ รัตติยา (2542) พบว่าการใช้สารสกัดหยาบด้วยเมทานอลจากผลคิปลีที่ความเข้มข้น 10 และ 20 กรัมต่อลิตร และสารสกัดหยาบด้วยน้ำจากผลคิปลีความเข้มข้น 100 กรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูผักคะน้าได้ใกล้เคียงกับสาร azadirachtin และ สาร permethrin

ส่วนผลกระทบของสารสกัดต่ออัตราการสังเคราะห์แสง, ค่าความต้านทานปากใบ, อัตราการคายน้ำ, ปริมาณคลอโรฟิลล์รวมและปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่โครงสร้าง (total nonstructural carbohydrate, TNC) ของผักคะน้าในแปลงปลูก พบว่าทุกกรรมวิธีไม่มีผลกระทบทางสรีรวิทยาในคะน้าเมื่อเทียบกับคะน้าที่ไม่ได้รับสารทดลอง (แปลงควบคุม) แสดงว่าสารสกัดหยาบจากค้ำควาดำและคิปลีทั้ง 2 สูตร ไม่เป็นพิษต่อผักคะน้า เนื่องจากมีรายงานว่า การใช้สารสกัดหยาบจากผลคิปลีมีความเป็นพิษต่อต้นคะน้า ที่ระดับความเข้มข้นสูงถึง 20 และ 10 % มีเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติสูงที่สุดคือ 47.42 และ 35.69 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (รัตติยา, 2542)