วิจัยการใช้หนอนตายหยากและหางไหลเพื่อกำจัดหนูศัตรูพืช

Study on Effect of *Stemona* sp.and *Derris* sp. on Animal Pests

วิจัยการใช้หนอนตายหยากและหางไหลเพื่อกำจัดหนูศัตรูพืช

กรแก้ว เสือสะอาด ปราสาททอง พรหมเกิด ดาราพร รินทะรักษ์
ทรงทัพ แก้วตา รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธา [1/] พรรณีกา อัตตนนท์ [1/]
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหนอนตายหยากและหางไหลอัตราต่างๆกับหนูพุกใหญ่ หนูพุกเล็กและหนูท้องขาวบ้านตามวิธีการของASTM(1977)และEPPO(1975) โดยให้สารละลายสารสกัดทางปากอัตราต่างๆกับหนูกลุ่มละ10ตัว บันทึกอาการและการตายของหนูภายใน 14 วัน วิเคราะห์หาค่าความเป็นพิษของหนอนตายหยากและหางไหลตามวิธีการของFinney,1971 ผลปรากฏว่าค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากของสารสกัดหนอนตายหยากที่มีต่อหนูพุกใหญ่ 142.6มก./กก. หนูพุกเล็ก 365.35มก./กก.และหนูท้องขาวบ้าน388.54มก./กก.ตามลำดับ และค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากของสารสกัดหางไหลที่มีต่อหนูพุกใหญ่ 3.69มก./กก. และ หนูท้องขาวบ้าน 31.66 มก./กก ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % สำหรับ การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหนอนตายหยากและหางไหลกับหนูท้องขาวบ้าน วางแผนการทดลองแบบCRDโดยสุ่มให้เหยื่อหนอนตายหยากอัตรา 0.1%, 3% เป็นเวลา 2 วันและเหยื่อหางไหลอัตรา 0.3%, 1%, 2% เป็นเวลา 1 วัน กับหนูท้องขาวบ้าน ผลปรากฏว่าหนูกินเหยื่อหนอนตายหยากเฉลี่ย 98.74 มก./กก.และ 474.90มก./กก. และเหยื่อหางไหลเฉลี่ย190.34มก./กก.330.42มก./กก.และ385.30มก/กก. ปริมาณเหยื่อพิษทั้ง2 ชนิดที่หนูกินไม่มีผลทำให้หนูตาย การศึกษาผลกระทบของสารสกัดหนอนตายหยากและหางไหลกับปลานิล อายุ 1 เดือน โดยให้สารสกัดอัตราความเข้มข้นต่างๆกับปลานิลทั้งในตู้กระจกและบ่อซิเมนต์ที่มีดินก้นบ่อตามวิธีการของASTM (1980) โดยวางแผนการทดลองแบบCRDให้สารสกัดอัตราต่างๆกับปลานิลอัตราละ3 ซ้ำๆละ 10 ตัว บันทึกอาการ และการตายของปลา ภายใน 96 ชั่วโมงและหาค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน(LC_{50})ด้วยโปรแกรมโพรบิท ผลการศึกษาพบว่าปลาที่ได้รับสารพิษมีอาการเลือดออกทางเหงือก ว่ายน้ำช้าอยู่ก้นตู้กระจก เสียการทรงตัวก่อนตาย และ สารสกัดหางไหลมีผลต่อเนื้อเยื่อเหงือกปลา และเมื่อทดสอบในตู้กระจกค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน(LC_{50})ของสารสกัดหนอนตายหยากต่อปลานิล106.84พีพีเอ็ม และค่าLC_{50}ของสารสกัดหางไหลต่อปลานิล0.3774พีพีเอ็ม สำหรับค่าLC_{50}ของสารสกัดหางไหลที่มีต่อปลานิลมีค่า0.9472พีพีเอ็มเมื่อทดสอบในบ่อซิเมนต์ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

รหัสการทดลอง 07-01-49-05-01-01-13-51 (การทดลองย่อยที่ 1)

Abstracts

The investigation on toxicity of *Stemona phyllantha* (3.18%alkaloid) and *Derris elliptica* (5.93%rotenone) root extracts were investigated on 3 species of rats by method of ASTM(1977) and EPPO(1975). Different doses of plant extracts were orally given to each group of rats through gastric tubing.The symptom and mortality of rats were observed in 14 days. The results showed that the acute oral LD_{50} value of *Stemona* against *B.indica*, *B.savilei* and *R.rattu* were 142.6mg/kg,365.35mg/kg, 388.54mg/kg and the acute oral LD_{50} value of *Derris* against *B. indica* and *R. rattus* were 3.69 mg/kg and 31.66 mg/kg at 95% confidence limits. Efficacy test of *Stemona* and *Derris* Baits against *R. rattus* were investigated by using CRD experimental design. After feeding 0.1% and 3% *Stemona* baits continuous for 2 days and feeding 0.3%,1% and 2% *Derris* baits for 1 day,*R. rattus* consumed *Stemona* averaged only 98.74 mg/kg and 474.90 mg/kg and consumed *Derris* averaged only 190.34 mg/kg,330.42 mg/kg and 385.30 mg/kg,they were not effected to the rats.

The study on impact of *Stemona* and *Derris* root extracts against Tilapia,*Oreochromis niloticus* L. was investigated in glass aquarium and in cement tanks under laboratory condition by method of ASTM(1980) and by using CRD experimental design to determine the LC_{50} for *O. niloticus*. Different concentrations of plant extracts given to each group of Tilapia.The symptom and mortality of Tilapias were observed in 96-hours. The LC_{50} was analysed by probit analysis.The results showed that the 96-hour LC_{50} value of *Stemona* and *Derris* against *O. niloticus* in glass aquarium were 106.84 ppm 0.3774 ppm and 0.9472 ppm of *Derris* in cement tanks at 95%confidence limits.Toxic reaction exhibited by the fish includes discouration gulping for air,erratic swimming,loss of reflex,slow opercular movement and settling at the bottom motionless. Histological examination of *O. niloticus* show some pathological changes. Damage became severe with increasing concentration of plant extracts.

คำนำ

หนู เป็นศัตรูพืชเศรษฐกิจที่สำคัญในพืชหลายชนิด เช่น ข้าว ข้าวโพด ไม้ผล ธัญพืชต่างๆ มะพร้าวและปาล์มน้ำมัน เป็นต้น มูลค่าความเสียหายของพืชผลเหล่านี้ปีละไม่ต่ำกว่า1,000 ล้านบาท เกษตรกรส่วนใหญ่ใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช เช่น ซิงฟอสไฟด์กำจัดหนูนาเล็ก (กรแก้วและคณะ,2539) โฟลคูมาเฟนกำจัดหนูในสวนปาล์มน้ำมันและนาข้าว (พวงทอง และคณะ, 2532 ; เสริมศักดิ์ และคณะ

, 2534)ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม ปัจจุบันนโยบายการเกษตรเน้นการลดการใช้สารเคมี เพื่อลดการปนเปื้อนในพืชอาหาร เพื่อทดแทนสารเคมีที่ใช้ป้องกันกำจัดสัตว์ศัตรูพืช ปัจจุบันเกษตรกรไทยหันมาใช้สารธรรมชาติป้องกันกำจัศัตรูพืชมากขึ้น ซึ่งหนอนตายหยากและหางไหลเป็นพืชสมุนไพรที่เมื่อนำรากมาสกัดจะได้สารออกฤทธิ์ alkaloid,rotenone และสารประกอบอื่นที่มีฤทธิ์ฆ่าแมลงและสัตว์อื่นๆ สารเหล่านี้สลายตัวเร็ว ไม่มีพิษตกค้าง หางไหล (*Derris elliptica*) วงศ์ Leguminosae ที่ส่วนรากมีสาร rotenone ซึ่งเป็นสารที่สลายตัวได้เมื่อถูกความร้อนและแสงจึงไม่มีพิษตกค้าง สารนี้มีฤทธิ์ทั้งโดยการกินและสัมผัสใช้เป็นสารฆ่าแมลงในแปลงผักหรือผลไม้และเกษตรกรสามารถสกัดด้วยน้ำใช้เอง หนอน ตายหยาก(*Stemona* spp.:Stemonaceae) ชื่ออื่นๆได้แก่ โป่งมดง่าม ปงช้าง กระเพียด รากหนอนตายหยากประกอบด้วยสารพวกอัลคาลอยด์และสารroteniods (เทพ, 2520) แต่มิได้ระบุว่าตัวใดเป็นสารออกฤทธิ์ใช้เป็นยาฆ่าแมลงฉีดป้องกันแมลงฆ่าหนอนที่เกิดในบาดแผล ใส่ปากไหปลาร้าฆ่าหนอน(วีรพล และคณะ,2536) สารสกัดหนอนตายหยากเข้มข้น50% ฆ่าเห็บในระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยได้100%และ93.33% ตามลำดับ(Areekul et al.,2531) การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดจากหนอนตายหยาก และหางไหลที่สกัดโดยกลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ กลุ่มวิจัยวัตถุ มีพิษการเกษตร กรมวิชาการเกษตร เพื่อหาอัตราความเข้มข้นของสารสกัดที่มีความเป็นพิษต่อหนูศัตรูพืช เช่น หนูพุกใหญ่ หนูพุกเล็กและหนูท้องขาวบ้าน ชนิดเหยื่อพิษที่มีประสิทธิภาพกำจัดหนูศัตรูพืช รวมทั้งผลกระทบของสารสกัดหนอนตายหยากและหางไหลที่มีต่อสัตว์น้ำ เช่น ปลานิล เพื่อประโยชน์ในการคัดเลือกสารสกัดจากพืชที่มีความเป็นพิษมีประสิทธิภาพ ในการนำไปทดสอบในสภาพไร่ เพื่อขยายผลสู่เกษตรกรและผู้สนใจต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1.1 สารสกัดหางไหล (5.93% rotenone) และสารสกัดหนอนตายหยาก (3.18%alkaloid และ 4.78% alkaloid)ที่สกัดโดยกลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ

1.2 หนูพุกใหญ่(*Bandicota indica*) หนูพุกเล็ก (*Bandicota savilei*) และหนูท้องขาวบ้าน (*Rattus rattusi*) และกรงทดลองขนาด10 x 13 x 13 นิ้ว และ 8 x 9 x14 นิ้ว

1.3 กรงดักหนู กรงเลี้ยงหนู อาหารเลี้ยงหนู เหยื่อพิษ ประกอบด้วย ข้าวโพดป่น ปลายข้าว รำ น้ำตาลทราย แป้งสาลี น้ำมันพืช ปลายข้าว ปลาย่าง ผสมสารสกัดหางไหล อัตราต่างๆ

1.4 พาราฟิน สไลด์ แผ่นปิดสไลด์ กระบอกตวง ขวดดอง beaker, petri dish , blood

1.5 เครื่องชั่งไฟฟ้า กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope และหลอดฉีดยาที่มีเข็มปลายทู่

1.6 สารเคมี เช่น alcohol ,diethyl ether,xyline, dioxan, และอุปกรณ์ที่จำเป็น

1.7 ปลานิลอายุ1-2 เดือน และบ่อซิเมนต์ทรงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 94 เซนติเมตร และตู้เลี้ยงปลาขนาด 24.8 x 40.2 x 26 เซ็นติเมตร

2 แผนการทดลอง(Experimental Design) : CRD(Completely Randomized Design)

กรรมวิธี(Treatment)

ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหนอนตายหยากกับหนูพุกใหญ่ หนูพุกเล็กและหนูท้องขาวบ้าน มี 3 การทดลอง

การทดลองที่ 1ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหนอนตายหยากกับหนูพุกใหญ่ มี 6 กรรมวิธีๆละ 10 ซ้ำ (เพศผู้ 5 ตัวและเพศเมีย 5 ตัว)

กรรมวิธีที่ 1.1-1.5 สารสกัดหนอนตายหยาก DOA(4.78%alkaloid) อัตรา 100 mg/kg, 120 mg/kg,140 mg/kg,180 mg/kg,240 mg/kg

กรรมวิธีที่ 1.6 น้ำกลั่น เป็นตัวเปรียบเทียบ

การทดลองที่2 ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหนอนตายหยากกับหนูพุกเล็ก มี 6 กรรมวิธีๆละ 10 ซ้ำ (เพศผู้5 ตัวและเพศเมีย5 ตัว)

กรรมวิธีที่ 2.1-2.5 สารสกัดหนอนตายหยาก DOA(3.18%alkaloid) อัตรา 150mg/kg, 300 mg/kg,500 mg/kg,650 mg/kg,900 mg/kg

กรรมวิธี 2.6 น้ำกลั่น เป็นตัวเปรียบเทียบ

การทดลองที่ 3 ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหนอนตายหยากกับหนูท้องขาวบ้าน มี 7 กรรมวิธีๆละ 10 ซ้ำ (เพศผู้ 5 ตัวและเพศเมีย 5 ตัว)

กรรมวิธีที่ 3.1-3.6 สารสกัดหนอนตายหยาก DOA(4.78%alkaloid) อัตรา 150 mg/kg, 300 mg/kg,500 mg/kg,700 mg/kg, 850 mg/kg,1000 mg/kg

กรรมวิธีที่ 3.7 น้ำกลั่น เป็นตัวเปรียบเทียบ

ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหางไหลกับหนูพุกใหญ่และหนูท้องขาวบ้าน มี 2การทดลอง

การทดลองที่ 4 ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหางไหลกับหนูพุกใหญ่ มี 9 กรรมวิธี ละ 10 ซ้ำ (เพศผู้ 5 ตัวและเพศเมีย 5 ตัว)

กรรมวิธีที่ 4.1-4.8 หางไหล(5.93% rotenone) อัตรา 0.5 mg/kg,1.0 mg/kg,3.0 mg/kg, 6.0 mg/kg,10.0mg/kg,15.0 mg/kg,25.0 mg/kg,30.0 mg/kg

กรรมวิธีที่ 4.9 น้ำกลั่น เป็นตัวเปรียบเทียบ

การทดลองที่ 5 ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหางไหลกับหนูท้องขาวบ้าน มี 8 กรรมวิธีๆละ 10 ซ้ำ (เพศผู้5ตัวและเพศเมีย 5 ตัว)

กรรมวิธีที่5.1-5.7หางไหล(5.93%rotenone)อัตร10mg/kg,15mg/kg,20mg/kg,31mg/kg 62 mg/kg,125 mg/kg,250 mg/kg

กรรมวิธีที่ 5.8 น้ำกลั่น เป็นตัวเปรียบเทียบ

ศึกษาผลของเหยื่อพิษหนอนตายหยากและหางไหลในรูปแบบต่างๆที่มีประสิทธิภาพกำจัดหนูท้องขาวบ้าน มี 2 การทดลอง

การทดลองที่ 6 ทดสอบเหยื่อพิษหนอนตายหยากกับหนูท้องขาวบ้าน มี 3 กรรมวิธีๆละ10 ซ้ำ (เพศผู้ 5 ตัวและเพศเมีย 5 ตัว)

กรรมวิธีที่ 6.1-6.2 เหยื่อพิษหนอนตายหยาก(3.18%alkaloid)อัตรา 0.1%และ3.0 %

กรรมวิธีที่ 6.3 อาหารหนู เป็นตัวเปรียบเทียบ

การทดลองที่ 7 ทดสอบเหยื่อพิษหางไหลกับหนูท้องขาวบ้าน มี 4 กรรมวิธีๆละ 10 ซ้ำ (เพศผู้5 ตัว และเพศเมีย 5 ตัว)

กรรมวิธีที่ 7.1-7.3 เหยื่อพิษหางไหล (5.93% rotenone)อัตรา 0.3 %,1.0 %,2.0 %

กรรมวิธีที่ 7.4 อาหารหนู เป็นตัวเปรียบเทียบ

ศึกษาผลกระทบของสารสกัดหางไหลและหนอนตายหยากกับปลานิล มี 3 การทดลอง

การทดลองที่ 8 ทดสอบสารสกัดหนอนตายหยากกับปลานิลในตู้กระจก ขนาด 24.8 x 40.2 x 26 ซม.มี 8 กรรมวิธีๆละ 3 ซ้ำละ 10 ตัว

กรรมวิธีที่8.1-8.7 สารสกัดหนอนตายหยาก30พีพีเอ็ม,50พีพีเอ็ม,100พีพีเอ็ม,150 พีพีเอ็ม 200 พีพีเอ็ม,250 พีพีเอ็ม,300 พีพีเอ็ม

กรรมวิธีที่ 8.8 ไม่ใส่สารสกัดหนอนตายหยาก เป็นตัวเปรียบเทียบ

การทดลองที่9 ทดสอบสารสกัดหางไหลกับปลานิลในตู้กระจก24.8 x 40.2 x 26 ซม.มี 6 กรรมวิธีๆ ละ 3 ซ้ำละ 10 ตัว

กรรมวิธีที่9.1-9.5สารสกัดหางไหล0.2พีพีเอ็ม,0.4พีพีเอ็ม,0.6พีพีเอ็ม,0.8พีพีเอ็ม,1.0พีพีเอ็ม

กรรมวิธีที่ 9.6 ไม่ใส่สารสกัดหางไหล เป็นตัวเปรียบเทียบ

การทดลองที่ 10 ทดสอบสารสกัดหางไหลกับปลานิลในบ่อซิเมนต์เส้นผ่าศูนย์กลาง94 ซม.มี 8 กรรมวิธีๆละ 3 ซ้ำละ 10 ตัว

กรรมวิธีที่10.1-10.7 สารสกัดหางไหล 0.2 พีพีเอ็ม,0.4 พีพีเอ็ม,0.6 พีพีเอ็ม,0.8 พีพีเอ็ม 1.0 พีพีเอ็ม,1.2 พีพีเอ็ม,2.4 พีพีเอ็ม

กรรมวิธีที่ 10.8 ไม่ใส่สารสกัดหางไหล เป็นตัวเปรียบเทียบ

3 .วิธีปฏิบัติการทดลอง (Methods or cultural Practice)

ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหนอนตายหยากกับหนูพุกใหญ่ หนูพุกเล็กและหนูท้องขาวบ้าน

ดักจับหนูพุกใหญ่ หนูพุกเล็กและหนูท้องขาวบ้านจากนาข้าวและสวนเกษตรกร ในเขตจังหวัดนครปฐมนำมาเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการเป็นเวลาประมาณ2สัปดาห์ คัดเลือกหนูที่โตเต็มวัย แข็งแรง มีขนาดและน้ำหนักใกล้เคียงกันทั้ง2เพศ ก่อนการทดลองให้หนูอดอาหารเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำการทดลองดังนี้

การทดลองที่1 ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหนอนตายหยากDOA(4.78%alkaloid) กับหนูพุกใหญ่ ตามวิธีการของ ASTM(1977) และ EPPO(1975)โดยวางแผนการทดลองแบบCRD มี 6 กรรมวิธีๆละ10ซ้ำ สุ่มให้สารละลายสารสกัดหนอนตายหยากอัตราความเข้มข้น 100ppm,120ppm,140 ppm,180 ppm,240 ppm และน้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบกับหนูพุกใหญ่

ทางปากอัตราละ10 ตัว (เพศผู้5ตัวและเพศเมีย 5 ตัว)หลังจากนั้นให้อาหารและน้ำตามปกติ บันทึกอาการ และการตายของหนู ภายในระยะเวลา14วัน เพื่อหาเปอร์เซ็นต์ตายของหนูในอัตราความเข้มข้นต่างๆ นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์หาค่าความเป็นพิษ ของหนอนตายหยากตามวิธีการของ Finney, 1971

การทดลองที่2 ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหนอนตายหยากDOA(3.18%alkaloid) กับหนูพุกเล็กตามวิธีการของASTM(1977)และEPPO(1975)โดยวางแผนการทดลองแบบCRDมี 6กรรมวิธีๆละ 10 ซ้ำโดยให้สารสกัดหนอนตายหยากอัตราความเข้มข้น150mg/kg, 300 mg/kg, 500 mg/kg, 650 mg/kg, 900 mg/kg และ น้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบกับหนูพุกเล็ก ดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

การทดลองที่3 ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหนอนตายหยากDOA(4.78%alkaloid)กับหนูท้องขาวบ้านตามวิธีการของ ASTM (1977) และ EPPO(1975) โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 7 กรรมวิธีๆละ10ซ้ำ คือ สารสกัดหนอนตายหยากอัตราความเข้มข้น150 mg/kg, 300 mg/kg ,500 mg/kg, 700 mg/kg, 850 mg/kg, 1000 mg/kg และน้ำกลั่น เป็นตัวเปรียบเทียบ ดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่1

ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหางไหล กับหนูพุกใหญ่ และหนูท้องขาวบ้าน

การทดลองที่ 4 ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหางไหล DOA(5.93%rotenone)กับหนูพุกใหญ่ตามวิธีการของ ASTM (1977)และEPPO(1975) โดยวางแผนการทดลองแบบCRDมี 9 กรรมวิธีๆละ 10ซ้ำ โดยให้สารละลายสารสกัดหางไหลหางไหลอัตรา 0.5 mg/kg, 1.0mg/kg,3.0 mg/kg, 6.0 mg/kg, 10.0mg/kg, 15.0 mg/kg, 25.0 mg/kg, 30.0 mg/kg และน้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบกับหนูพุกใหญ่ทางปากอัตราละ10ตัว(เพศผู้ 5ตัว และ เพศเมีย 5ตัว)หลังจากนั้นให้อาหารและน้ำตามปกติ บันทึกอาการ และการตายของหนูภายในระยะเวลา 14 วัน เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การตายของหนูในอัตราความเข้มข้นต่างๆ นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์หาค่าความเป็นพิษของหางไหล ตามวิธีการของ Finney, 1971

การทดลองที่5 ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหางไหลDOA (5.93% rotenone) กับหนูท้องขาวบ้าน ตามวิธีการของASTM(1977)และEPPO(1975) โดยวางแผนการทดลองแบบCRD มี 9 กรรมวิธีๆละ10 ซ้ำ คือ หางไหลอัตรา 10mg/kg,15mg/kg, 20mg/kg, 31 mg/kg,62 mg/kg,125 mg/kg,250 mg/kg และน้ำกลั่น เป็นตัวเปรียบเทียบ ดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 4

ศึกษาผลของเหยื่อพิษหนอนตายหยากและหางไหลในรูปแบบที่มีประสิทธิภาพ กำจัดหนูท้องขาวบ้าน

การทดลองที่6 ประสิทธิภาพเหยื่อหนอนตายหยากกับหนูท้องขาวบ้าน โดยวิธีไม่ให้หนูมีโอกาสเลือกอาหารมี 3กรรมวิธีๆละ10ซ้ำ โดยให้เหยื่อหนอนตายหยาก(เหยื่อประกอบด้วย ข้าวโพดป่น15% ปลาย ข้าว15% รำข้าว15% น้ำตาลทราย 5% แป้งสาลี15% น้ำมันพืช5% ปลาย่างป่น20% แป้งมัน10%) ผสมสารสกัดหนอนตายหยากอัตรา0.1%,3% และเหยื่อไม่ผสมสารสกัดเป็นตัวเปรียบเทียบกับหนู

ท้องขาวบ้าน เป็นเวลา 1วัน บันทึกน้ำหนักเหยื่อที่หนูกินเป็นเวลา 2 วันอาการและการตายของหนูภายในระยะเวลา 3 สัปดาห์

การทดลองที่7 ทดสอบประสิทธิภาพเหยื่อหางไหลกับหนูท้องขาวบ้าน โดยวิธีไม่ให้หนูมีโอกาสเลือกอาหาร มี 4 กรรมวิธีๆละ10 ซ้ำโดยให้เหยื่อหางไหลอัตรา 0.3% ,1%, 2% และเหยื่อไม่ผสมสารสกัดเป็นตัวเปรียบเทียบเป็นเวลา1วัน บันทึกน้ำหนักเหยื่อที่หนูกิน อาการและการตายของหนูภายในระยะเวลา 3 สัปดาห์

การศึกษาผลกระทบของสารสกัดหนอนตายหยากและหางไหลกับปลานิล

เตรียมปลานิลอายุประมาณ1เดือน นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการให้อาหารตาม ปกติ เป็นเวลา 1 สัปดาห์ คัดเลือกปลานิลที่แข็งแรง ใส่ในตู้เลี้ยงปลา ขนาด 24.8 x 40.2 x 26 เซ็นต์ติเมตร ตู้ละ10ตัว และบ่อซิเมนต์ เส้นผ่าศูนย์กลาง 94 เซ็นต์ติเมตร บ่อๆละ 10 ตัว นำมาทดสอบกับสารสกัดหนอนตายหยากและหางไหลของกรมวิชาการเกษตร ดังนี้

การทดลองที่ 8 ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหนอนตายหยากกับปลานิล อายุ 1 เดือนที่เลี้ยงในตู้กระจกขนาด 24.8 x 40.2 x 26 ซม. ตามวิธีการของ ASTM (1980) โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 8 กรรมวิธีๆ ละ3 ซ้ำๆละ10ตัวโดย ให้สารสกัดหนอนตายหยากอัตราความเข้มข้น 30ppm,50ppm,100ppm,150ppm,200ppm,250ppm,300 ppm และน้ำไม่ใส่สารเป็นตัวเปรียบเทียบกับปลานิลอัตราละ3ตู้(ตู้ละ10ตัว) บันทึกอาการและการตายของปลานิลภายใน 96 ชั่วโมง ศึกษาความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับ ไต และเหงือกของปลานิลโดยวิธีไมโครเทคนิค หาค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน(LC_{50})ที่ 96 ชั่วโมง (50% lethal concentration at 96 hours) ด้วยโปรแกรมโพรบิท(probit analysis)

การทดลองที่ 9 ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหางไหลกับปลานิลอายุประมาณ 1 เดือนที่เลี้ยงในตู้กระจกขนาด 24.8 x 40.2 x 26 ซม. ตามวิธีการของ ASTM (1980) โดยวางแผนการทดลองแบบ CRDมี6กรรมวิธีคือ 0.2ppm,0.4ppm,0.6ppm,0.8ppm,1.0ppm และน้ำไม่ใส่สารเป็นตัวเปรียบเทียบกับปลานิล อัตราๆละ3 ซ้ำๆละ10ตัว โดยดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 8

การทดลองที่ 10 ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหางไหลกับปลานิลอายุประมาณ 1 เดือน ที่เลี้ยงในในบ่อซิเมนต์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 94 ซม. ที่มีดินอยู่ก้นบ่อและมีน้ำสูงจากดิน 10 ซม. ตามวิธีการของ ASTM (1980) โดยวางแผน การทดลองแบบ CRD มี 8 กรรมวิธี คือ0.2 ppm, 0.4 ppm, 0.6 ppm, 0.8 ppm, 1.0 ppm, 1.2 ppm, 2.4 ppm และน้ำไม่ใส่สารเป็นตัวเปรียบเทียบกับปลานิล อัตราๆละ3 ซ้ำๆละ10ตัว โดยโดยดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 8

การบันทึกข้อมูล(Observation or Measurements)การทดลองที่ 8,9,10

1.บันทึกความผิดปกติและอัตราการตายของปลานิลที่ได้รับสารสกัดหางไหลและหนอนตายหยาก ทั้งในตู้ปลา และ บ่อซิเมนต์ เป็นเวลา12 ชม., 24ชม., 48 ชม. และ 96 ชั่วโมง

2.เก็บตัวอย่างปลานิลที่ได้รับสารสกัดหางไหลและหนอนตายหยากในอัตราต่างๆ นำมาศึกษาความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับ ไต และ เหงือกของปลานิล โดยวิธีไมโครเทคนิค เปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อของปลานิลกลุ่มควบคุม

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการ : เริ่มต้น ตุลาคม 2548 สิ้นสุด กันยายน2553 รวม 5 ปี

สถานที่ดำเนินการ : ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหนอนตายหยากกับหนูพุกใหญ่ หนูพุกเล็กและหนูท้องขาวบ้าน

การทดลองที่ 1 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหนอนตายหยากกับหนูพุกใหญ่ตาม วิธีการของASTM(1977) และEPPO(1975) ปรากฏตาม Table1 ค่า Chi-squareจากการคำนวน= 3.939822 มีค่าน้อยกว่าค่าChi-squareจากตาราง(7.81 ที่ p = 0.05) ดังนั้นค่าที่ได้จากการทดลอง (observed) และค่าที่คาดหวัง(expected)มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยคัญทางสถิติ และเมื่อวิเคราะห์ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปาก(Acute Oral LD_{50}) ด้วยโปรแกรมโพรบิท(probit analysis)(Figure1) ได้ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากของหนอนตายหยากต่อหนูพุกใหญ่142.6±(112.957-176.311) มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

Table 1 Percent kill of the bandicoot rat(*Bandicota indica*),observed mortality,r and expected mortality,nP after *Stemona phyllantha* Gagnep as administered by stomach tube

Dose of *Stemona* (mg/kg)	Log dose (x)	Expected probits (y)	No of rat (n)	%Kill	Probability (P)	No. affected		r-nP	X^2=(r-nP)2/nP(1-P)
						Observed (r)	Expected (nP)		
100	2.0000	2.245	10	30	0.2245	3	2.245	0.7550	0.3363028
120	2.0792	3.564	10	40	0.3564	4	3.564	0.4360	0.0828741
140	2.1461	4.843	10	40	0.4843	4	4.843	-0.8430	0.2845401
180	2.2553	6.903	10	50	0.6903	5	6.903	-1.9030	1.6939418
240	2.3802	8.666	10	100	0.8666	10	8.666	1.3340	1.5421632

Pool $X^2_{(3)}$=3.939822

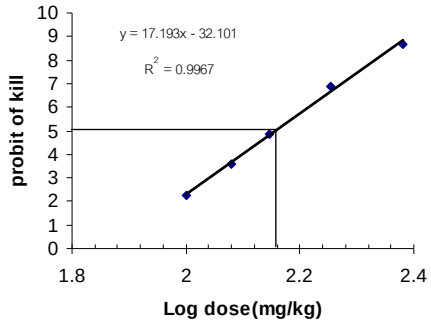


Figure 1 Dose-effect curve of *Stemona phyllantha* extract against the bandicoot rat (*Bandicota indica*)

การทดลองที่ 2 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหนอนตายหยากกับหนูพุกเล็ก ตามวิธีการของ ASTM(1977)และEPPO(1975)ปรากฏตาม Table2 ค่า Chi-square จากการคำนวน = 2.02718 มีค่าน้อยกว่าค่าChi-squareจากตาราง(3.182ที่p=0.05) ดังนั้นค่าที่ได้จากการทดลอง (observed)และค่าที่คาดหวัง(expected) มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและเมื่อวิเคราะห์ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปาก(AcuteOral LD_{50}) ด้วยโปรแกรมโพรบิท(probit analysis) (Figure2) ได้ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากของหนอนตายหยากที่มีต่อหนูพุกเล็ก 365.35±(266.0199-463.6228)มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

Table 2 Percent kill of the lesser bandicoot rat(*Bandicota salivei*),observed mortality,r and expected mortality,nP after *Stemona phyllantha* extract as administered by stomach tube

Dose of *Stemona* (mg/kg)	Log dose (x)	Expected probits (y)	No of rat (n)	%Kill	Probability (P)	No. affected		r-nP	X^2=(r-nP)2/nP(1-P)
						Observed (r)	Expected (nP)		
150	2.1761	3.356	10	10	0.5010	1	5.010	0.499	0.52322
300	2.4771	4.636	10	30	0.3580	3	3.580	-0.580	0.14636
500	2.6990	5.579	10	60	0.7188	6	7.188	-1.188	0.69825
650	2.8129	6.064	10	90	0.8563	9	8.563	8.563	0.15519
900	2.9542	6.665	10	100	0.9520	10	9.520	9.520	0.50416

Pool $X^2_{(3)}$ =2.02718

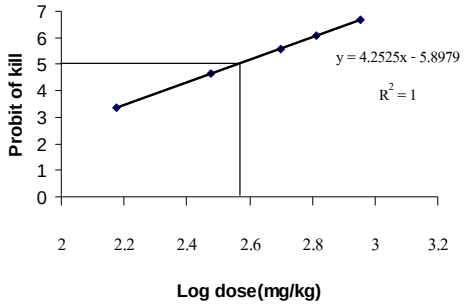


Figure2 Dose effect curve of *Stemona phyllantha* extract against the lesser bandicoot rat(*Bandicota savilei*)

การทดลองที่ 3 ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหนอนตายหยาก กับหนูท้องขาวบ้าน ตามวิธีการของASTM(1977)ปรากฏตามTable3 ค่าChi-squareจากการคำนวน= 1.2250 มีค่าน้อยกว่าค่าChi-square จากตาราง(9.488 ที่ p=0.05) ดังนั้นค่าที่ได้จากการทดลอง(observed)และค่าที่คาดหวัง (expected) มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อวิเคราะห์ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากด้วยโปรแกรมโพรบิท (Figure3) ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากของหนอนตายหยากที่มีต่อหนูท้องขาวบ้าน 388.54± (277.83-493.77)มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

Table3 Percent kill of the roof rat(*Rattus rattus*),observed mortality,r and expected mortality,nP after *Stemona phyllantha* extract as administered by stomach tube

Dose of *Stemona* (mg/kg)	Log dose (x)	Expected probits (y)	No of rat (n)	%Kill	Probability (P)	No. affected		r-nP	X^2=(r-nP)2/nP(1-P)
						Observed (r)	Expected (nP)		
150	2.1761	0.602	10	10	0.0602	10	0.602	0.3980	0.2800
300	2.4771	3.365	10	30	0.3365	30	3.365	-0.3650	0.0597
500	2.6990	6.597	10	60	0.6597	60	6.597	-0.5970	0.1588
700	2.8451	8.317	10	80	0.8317	80	8.317	-0.3170	0.0718
850	2.9294	8.993	10	90	0.8993	90	8.993	0.0070	0.0005
1000	3.0000	9.386	10	100	0.9386	100	9.386	0.6140	0.6542

Pool $X^2_{(4)}$ = 1.2250

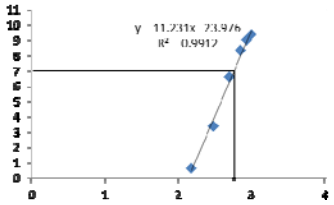


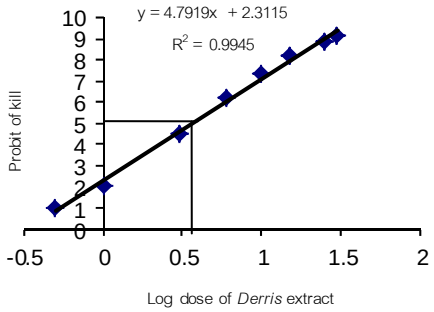
Figure 3 Dose-effect curve of *Stemona phyllantha* extract against *Rattus rattus*

การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหางไหลกับหนูพุกใหญ่ และหนูท้องขาวบ้าน

การทดลองที่ 4 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากหางไหลกับหนูพุกใหญ่ ตามวิธีการของ ASTM(1977) และ EPPO(1975) ปรากฏตาม Table 4 ค่าChi-squareจากการคำนวน= 2.418735719 มีค่าน้อยกว่าค่า Chi-squareจากตาราง(12.59 ที่ p = 0.05) ดังนั้นค่าที่ได้จากการทดลอง(observed) และค่าที่คาดหวัง(expected)มีค่าแตก ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปาก(Acute Oral LD_{50}) ด้วยโปรแกรมโพรบิท (probit analysis)(Figure 4) ได้ค่าความเป็นพิษเฉียบ พลันทางปากของหางไหลที่มีต่อหนูพุกใหญ่ 3.69±(1.9527-6.0653) มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

Table 4 Percent kill of the bandicoot rat(*Bandicota indica*),observed mortality,r and expected mortality,nP after *Derris elliptica* extract as administered by stomach tube

Dose of *Derris* (mg/kg)	Log dose (x)	Expected probits (y)	No. of rats (n)	%Kill	Probability (P)	No. affected		r-nP	X^2=(r-nP)2/nP(1-P)
						Observed (r)	Expected (nP)		
0.5	-0.3010	1.003	10	10	0.1003	1	1.003	-0.003	0.0000079973
1.0	0.0000	2.017	10	30	0.2017	3	2.017	0.983	0.6001157260
3.0	0.4771	4.476	10	40	0.4476	4	4.476	-0.476	0.091636851
6.0	0.7782	60225	10	50	0.6225	5	6.225	-1.225	0.638580813
10.0	1.0000	7.387	10	70	0.7387	7	7.387	-0.387	0.077591548
15.0	1.1761	8.157	10	80	0.8157	8	8.157	-0.157	0.016396211
25.0	1.3979	8.900	10	90	0.8900	9	8.900	0.100	0.010214504
30.0	1.477	9.104	10	100	0.9104	10	9.104	0.896	0.984182776



Pool $X^2_{(6)}$ = 2.418735719

Figure 4 Dose-effect curve of *Derris elliptica* extract against the bandicoot rat (*Bandicota indica*)

การทดลองที่5 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากหางไหลกับหนูท้องขาวบ้านตามวิธีการของASTM (1977) และEPPO(1975) ปรากฏตามTable5 ค่าChi-square จากการคำนวน = 0.3783 มีค่าน้อยกว่าค่าChi-squareจากตาราง(11.07ที่ p = 0.05) ดังนั้น ค่าที่ได้จากการทดลอง(observed) และค่าที่คาดหวัง(expected) มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปาก(Acute Oral LD_{50}) ด้วยโปรแกรมโพรบิท(Figure5) ได้ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากของหางไหลที่มีต่อหนูท้องขาวบ้าน31.66±(22.3517-45.8516)มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมที่ระดับความเชื่อมั่น95%

Table 5 Percent kill of the roof rat *(Rattus rattus),* observed mortality,r and expected *mortality,nP* after *Derris elliptica* extract as administered by stomach tube

Dose of *Derris* (mg/kg)	Log dose (x)	Expected probits (y)	No of rat (n)	%Kill	Probability (P)	No. affected		r-nP	X^2=(r-nP)2/nP(1-P)
						Observed (r)	Expected (nP)		
10	1.0000	3.723	10	10	0.1007	1	1.007	-0.007	0.0001
15	1.1761	4.172	10	20	0.2039	2	2.039	-0.039	0.0009
20	1.3010	4.491	10	30	0.3054	3	3.054	-0.054	0.0014
31	1.4948	4.977	10	50	0.4907	5	4.907	0.0930	0.0034
62	1.7959	5.745	10	80	0.7719	8	7.719	0.2810	0.0449
125	2.0969	6.522	10	90	0.9360	9	9.360	-0.360	0.2164
250	2.3979	7.290	10	100	0.9890	10	9.890	0.110	0.1112

Pooled$X^2_{(5)}$= 0.3783

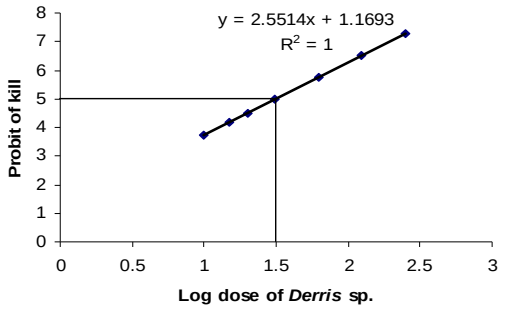


Figure 5 Dose-effect curve of *Derris elliptica* extract against the roof rat(*Rattus rattus*)

จากTable6 จะเห็นได้ว่าค่าAcute Oral LD_{50} ของสารสกัดหางไหลมีค่าน้อยกว่า สารสกัดหนอนตายหยากกับหนูศัตรูพืชที่ทดสอบแสดงว่าความเป็นพิษของหางไหลมีความเป็นพิษสูงกว่า หนอนตายหยากสอดคล้องกับการรายงานว่าหนูถีบจักรที่ให้หนอนตายหยากทางปากอัตรา0.25-80กรัม/กก14วันหนูไม่มีความผิดปกติไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่ออวัยวะต่างๆ(Pundeeและคณะ, 2003)และไม่มีผลต่อพฤติกรรมการสืบพันธุ์ของหนูขาวเพศผู้เมื่อได้รับสารสกัดหนอนตายหยาก2, 10,50มก./กก.(Apiriและคณะ,1990) แต่หางไหลมีความเป็นพิษสูงต่อหนูตะเภาเช่นกันและความเป็นพิษเรื้อรัง90วัน หนูโตช้า เบื่ออาหาร ลูกหนูจะตายในครรภ์แม่หรือหนูที่รอดมีน้ำหนักน้อยแสดงว่าโรติโนนในหางไหลเป็นพิษกับตับอ่อนเมื่อเริ่มปฏิสนธิและยังเพิ่มเซล,ม้เร็งในหนูขาว (กลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษ,2547)

Table 6 Acute oral toxcicity for *Derris elliptica* and *Stemona phyllantha* extract against 3 species of rat

Plant species	Rat species	Sex	Strain	Acute Oral LD_{50}(95 % C.L.) (mg/kg)
Derris elliptica 5.93 %Rotenone	*B.indica*	male and female	wild	3.68
Derris elliptica 5.93 % Rotenone	*R. rattus*	male and female	wild	31.66
Stemona phyllantha 3.18 % Alkaloid	*B.indica*	male and female	wild	142.6
Stemona phyllantha 3.18 % Alkaloid	*B.savilei*	male and female	wild	365.35
Stemona phyllantha 3.18 % Alkaloid	*R. rattus*	male and female	wild	388.54

การศึกษาผลของเหยื่อพิษหนอนตายหยากและหางไหลในรูปแบบที่มีประสิทธิภาพกำจัดหนูศัตรูพืช

การทดลองที่ 6 ผลการทดสอบประสิทธิภาพเหยื่อหนอนตายหยากไม่มีหนูท้องขาวบ้านตายทั้ง 2 กลุ่ม เมื่อได้รับสารพิษหนอนตายหยาก เฉลี่ย 98.74 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ474.9มิลลิกรัม/กิโลกรัมตามลำดับ และไม่มีหนูตายในกลุ่มเปรียบเทียบ(Table 7)

การทดลองที่ 7 ผลการทดสอบประสิทธิภาพเหยื่อหางไหลไม่มีหนูท้องขาวบ้านตายทั้ง 3 กลุ่ม อัตราเมื่อได้รับสารพิษหางไหลเฉลี่ย 190.34 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, 330.42มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ 385.3 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ และไม่มีหนูตายในกลุ่มเปรียบเทียบ(Table8)

จากผลการศึกษาเหยื่อผสมสารสกัดหนอนตายหยากและหางไหล ยังไม่ประสบผลสำเร็จในการผสมเหยื่อที่หนูยอมรับได้เนื่องจากสารสกัดหนอนตายหยากและหางไหลมีกลิ่นและรสชาติที่หนูไม่ชอบเหยื่อที่ให้ได้ซึ่งจำเป็นต้องมีการวิจัยและพัฒนาเหยื่อต่อไป

Table 7 Laboratory efficacy test of *Stemona* bait 0.1% and 3.0% against the roof rat (*Rattus rattus*) by no choice feeding test continuous for 2 days10 rats (5M,5F) for each group

Conc. Of *Stemona* bait (%)	Body weight(g)		Mortality (%)	Daily bait intake(g)		Lethal dose(mg/kg)		Sublethal dose (mg/kg)	
	Mean	Range		Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range
0.1	167.28	150.8-174.5	0	14.79	13.1-20.0	-	-	98.74	84.74-116.87
3.0	202.57	191.1-228.5	0	3.23	0.8 - 6.2	-	-	474.90	173.90-856.30

Table 8 Laboratory efficacy test of *Derris* bait 0.3%,1.0% and 2.0% against the roof rat(*Rattus rattus*) by no choice feeding test for 1 day10 rats (5M,5F) for each group

Conc. of *Derris* bait (%)	Body weight(g)		Mortality(%)	Daily bait intake(g)		Lethal dose(mg/kg)		Sublethal dose(mg/kg)	
	Mean	Range		Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range
0.3	187.21	179.8-194.3	0	11.88	9.3-15.4	-	-	190.34	152.88-250.00
1.0	172.08	119.8-182.0	0	5.70	2.1-10.4	-	-	330.42	127.58-438.40
2.0	191.00	164.8-208.1	0	3.70	1.8- 6.5	-	-	385.30	192.93-637.57

การศึกษาผลกระทบของสารสกัดหนอนตายหยากและหางไหลกับปลานิล

การทดลองที่8 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหนอนตายหยากกับปลานิลอายุ1เดือนที่เลี้ยงในตู้กระจกปรากฏตามTable9ค่าChi-squareจากการคำนวน= 6.444537 มีค่าน้อยกว่าค่าChi-square จากตาราง (11.07 ที่ p = 0.05) ดังนั้นค่าที่ได้จากการทดลอง(observed) และ ค่าที่คาดหวัง (expected)มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หาค่าLC_{50}ที่ 96 ชั่วโมง(ASTM,1980) และวิเคราะห์หาค่าLC_{50} ด้วยโปรแกรมโพรบิท(probit analysis) (Figure6) เมื่อประเมินค่าจากการคำนวณ ได้ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของหนอนตายหยากที่มีต่อปลานิล106.8451±(90.213-124.1639)ppm ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%และปลานิลที่ได้รับสารสกัดหนอนตายหยากอัตราต่างๆ การตายมีมากใน ช่วง24-96 ชั่วโมง(Figure7)

Table 9 Percent kill of the Tilapia (*Oreochromis niliticus* Linn.) observed mortality,r and expected mortality,nP after *Stemona phyllantha* extract was administered in aquarium 24.8 x 40.2 x 26 cm

Dose of *Stemona* (ppm)	Log dose (x)	Expected probits (y)	No of rat (n)	%Kill	Probability (P)	No. affected		r-nP	X^2=(r-nP)2/nP(1-P)
						Observed (r)	Expected (nP)		
30	1.4771	3.258	30	6.67	0.0408	2	1.224	0.776	0.512900
50	1.6990	3.959	30	20.00	0.1489	6	4.467	1.533	0.618141
100	2.0000	4.909	30	33.33	0.4638	10	13.915	-3.915	2.054251
150	2.1761	5.465	30	63.33	0.6791	19	20.373	-1.373	0.288380
200	2.3010	5.860	30	76.67	0.8050	23	24.150	-1.150	0.280830
250	2.3979	6.166	30	90.00	0.8781	27	26.343	0.657	0.134419
300	2.4771	6.416	30	100	0.9215	30	27.645	2.355	2.555616

Pooled$X^2_{(5)}$= 6.444537

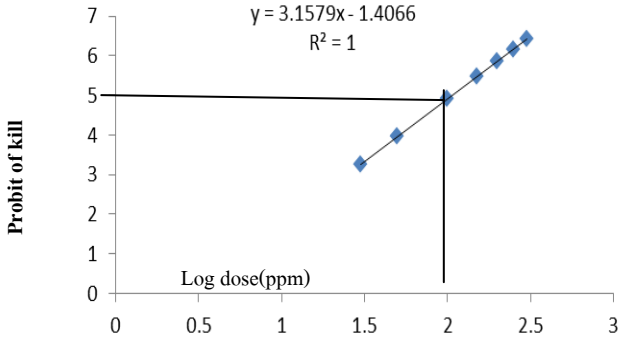


Figure6 Dose-effect curve of *Stemona phyllantha* extract against the Tilapia,*Oreochromis niliticus* in aquarium

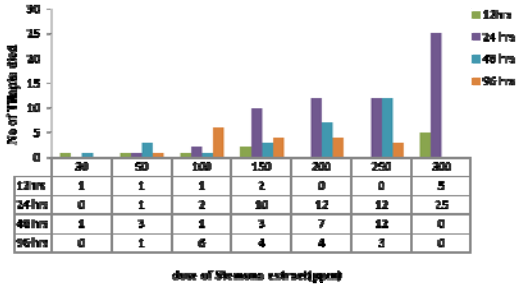


Figure7 Mortlity of Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.)after *Stemona phyllantha* extract treatment during 12hrs,24 hrs,48 hrs and 96 hrs in aquarium24.8x 40.2 x 26 cm

การทดลองที่ 9 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหางไหล กับปลานิลอายุ1 เดือนที่เลี้ยงใน ตู้กระจก ปรากฏตามTable 10 ค่า Chi-squareจากการคำนวน=4.4872 มีค่าน้อยกว่าค่าChi-square จากตาราง(7.815 ที่ p = 0.05)ดังนั้นค่าที่ได้จากการทดลอง(observed)และค่าที่คาดหวัง(expected) มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหาค่าLC_{50}ที่96ชั่วโมง(ASTM,1980) และวิเคราะห์หาค่าLC_{50} ด้วยโปรแกรมโพรบิท(Figure8)เมื่อประเมินค่าจากการคำนวณได้ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของหางไหลต่อปลานิล0.3774± (0.3189 -0.4323) ppmที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

Table 10 Percent kill of the Tilapia (*Oreochromis niliticus* Linn.) observed mortality,r and Expected mortality,nP after *Derris elliptica* extract was administered in aquarium 24.8 x 40.2 x 26 cm

Dose of *Derris elliptica* (ppm)	Log dose (x)	Expected probits (y)	No of rat (n)	%Kill	Probability (P)	No. affected		r-nP	X^2=(r-nP)2/nP(1-P)
						Observed (r)	Expected (nP)		
0.2	-0.6990	3.396	30	16.67	0.1132	5	3.3960	1.0640	0.8543
0.4	-0.3979	16.323	30	46.67	0.5441	14	16.3230	-2.2320	0.6694
0.6	-0.2218	24.344	30	73.33	0.8115	22	24.3450	-2.3450	1.1983
0.8	-0.0969	27.715	30	96.67	0.9238	29	27.7140	1.2860	0.7831
1.0	0.0000	29.049	30	100	0.9683	30	29.0490	0.9510	0.9821

Pooled$X^2_{(3)}$ = 4.4872

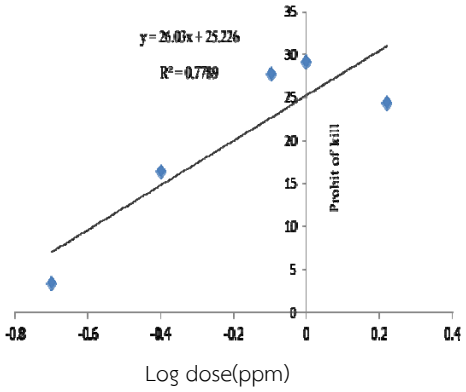
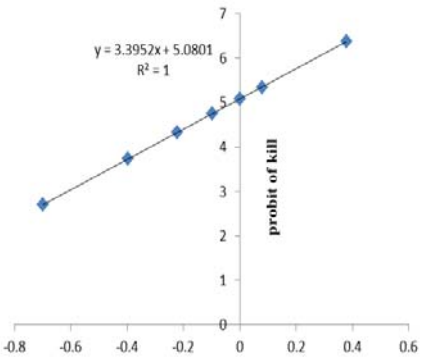


Figure 8 Dose effect curve of *Derris elliptica* extract against Tilapia(*Oreochromis niliticus* Linn.) in aquarium.

การทดลองที่10 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหางไหลกับปลานิลอายุ1เดือนที่เลี้ยงในบ่อซีเม็นต์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง94 ซม.ที่มีดินอยู่ก้นบ่อและมีน้ำสูงจากดิน10 ซม. จำนวน 24 บ่อ ปรากฏตามTable11 ค่าChi-square จากการคำนวน=8.401701มีค่าน้อยกว่าค่าChi-square จาก ตาราง (11.07ที่ p=0.05) ดังนั้นค่าที่ได้จากการทดลอง(observed)และค่าที่คาดหวัง(expected) มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหาค่าLC_{50}ที่96ชั่วโมง(ASTM,1980) และวิเคราะห์หาค่าLC_{50}ด้วยโปรแกรมโพรบิท(probit analysis)(Figure9) เมื่อประเมินค่าจากการคำนวณ ได้ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของหางไหลที่มีต่อปลานิล0.9472±(0.8257-1.1020) ppm ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และเมื่อสภาพทดสอบในตู้กระจก ปลานิลที่ได้รับสารสกัดหางไหลอัตราต่างๆการตายมีมากในช่วง 24-48 ชั่วโมง(Figure10) เมื่อทดสอบหางไหลในสภาพกึ่งแปลงทดลอง เป็นการทดสอบในบ่อเลี้ยงปลาที่มีดินอยู่ก้นบ่อและมีน้ำสูงจากดิน10ซม.อัตราการตายของปลานิลมีมากตั้งแต่ 24-96 ชั่วโมง (Figure11)

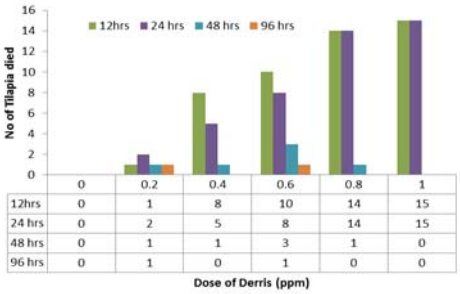
Table11 Percent kill of the Tilapia (*Oreochromis niliticus* Linn.) observed mortality,r and expected mortality,nP after *Derris elliptica* extract was administered in cement tank diameter 94 cm.

Dose of *Derris elliptica* (ppm)	Log dose (x)	Expected probits (y)	No of rat (n)	%Kill	Probability (P)	No. affected		r-nP	X^2=(r-nP)2/nP(1-P)
						Observed (r)	Expected (nP)		
0.2	-0.6990	2.707	30	3.33	0.0109	1	0.327	0.673	1.40036
0.4	-0.3979	3.729	30	16.67	0.1019	5	3.057	1.943	1.37507
0.6	-0.2218	4.327	30	23.33	0.2504	7	7.512	-0.512	0.04655
0.8	-0.0969	4.751	30	26.67	0.4017	8	12.051	-4.051	2.27605
1.0	0.0000	5.080	30	46.67	0.5319	14	15.957	-1.957	0.51273
1.2	0.0792	5.349	30	63.33	0.6364	19	19.092	-0.092	0.00121
2.4	0.3802	6.371	30	100	0.9148	30	27.444	2.556	2.79405



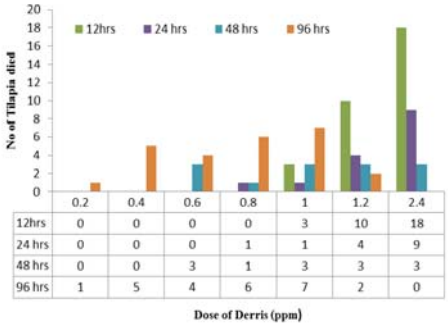
Pool $X^2_{(5)}$ = 8.40596

Figure 9 Dose-effect curve of *Derris elliptica* extract against the Tilapia (*Oreochromis niliticus* Linn.)In cement tank



	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1
12hrs	0	1	8	10	14	15
24 hrs	0	2	5	8	14	15
48 hrs	0	1	1	3	1	0
96 hrs	0	1	0	1	0	0

Figure10 Mortlity of Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.)after *Derris elliptica* extract treatment during 12hrs,24 hrs,48 hrs and 96 hrs in aquarium 24.8 x 40.2 x 26 cm.



	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2	2.4
12hrs	0	0	0	0	3	10	18
24 hrs	0	0	0	1	1	4	9
48 hrs	0	0	3	1	3	3	3
96 hrs	1	5	4	6	7	2	0

\

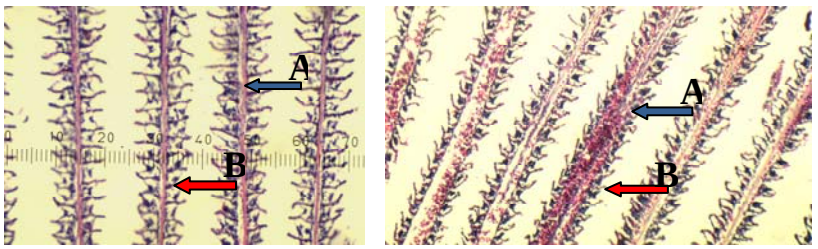
Figure 11 Mortlity of Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.)after *Derris elliptica* extrac treatment during 12 hrs, 24 hrs, 48 hrs and 96 hrs in cement tank diameter 94 cm.

Table12ค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน(Acute LC_{50})ของสารสกัดหางไหลมีค่าน้อยกว่าสารสกัดหนอนตายหยากแสดงว่าหางไหลมีความเป็นพิษสูงต่อปลานิลมากกว่าหางไหล มีการศึกษาว่าสารกำจัดแมลงชีวภาพที่มีส่วนผสมหนอนตาย หยากระดับ0.0864c]t0.0432มก/ลิตรไม่ทำให้ปลาตายใน 30 วัน แต่มีผลต่อการลดลงของเอนไซน์โคลีนเอสเทอเรสและ ไลโซไซม์ที่เป็นสารบ่งชี้ทางชีวภาพของระบบประสาทภูมิคุ้มกัน และพฤติกรรมของปลา เช่น ว่ายน้ำช้า ว่ายน้ำแบบควงสว่าน ว่ายอยู่ก้นตู้กระจก อัตราการกินอาหารต่ำ(ไพบูลย์,2551)แต่มีรายงานว่าหางไหลมีพิษตกค้างน้อยเมื่อนำไปใช้ กำจัดแมลง (Fukami และ Nakajima, 1971) เมื่อจะนำไปใช้ควรคำนึงถึงผลกระทบต่อสัตว์น้ำ และสิ่งแวด ล้อมด้วย

Table12 Acute $LC_{50}$for *Derris elliptica* and *Stemona phyllantha* extract against Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.)

Plant species	Location	LC_{50}(95 % C.L.) ppm
Derris elliptica 5.93 % Rotenone	Aquarium	0.91
Derris elliptica 5.93 % Rotenone	Cement tank	0.95
Stemona phyllantha 2.17 % Alkaloid	Aquarium	106.84

อาการปลานิลที่มีตายจากการได้รับสารสกัดหางไหล มีเลือดออกทางเหงือก เสียการทรงตัวก่อนตาย เมื่อเก็บตัวอย่างปลานิลที่ได้รับสารสกัดหางไหลและมีอาการผิดปกติมาศึกษาความผิดปกติของเนื้อเยื่อเหงือก ตับและไตโดยวิธีไมโครเทคนิคเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อของปลานิลกลุ่มควบคุม พบว่าปลานิลที่ได้รับหางไหลเกิดการคั่งของเม็ดเลือดแดงบริเวณ secondary lamellae ของเหงือก ปลาจนสามารถมองเห็นซี่เหงือกเชื่อมติดกัน แต่ไม่พบความผิดปกติของเนื้อเยื่อ secondary lamellae ของเหงือกในปลากลุ่มควบคุม (Figure 12) สำหรับเนื้อเยื่อของไตปลานิลที่ได้รับสารสกัดหางไหลไม่พบความผิดปกติของท่อไตและกลุ่มเส้นเลือดฝอย(glomerulus)ที่อยู่ภายใน Bowman's capsuleไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุม(Figure13) สำหรับเนื้อเยื่อตับปลานิลที่ได้รับสารสกัดหางไหลไม่มีความผิดปกติเช่นกัน สำหรับปลานิลที่ได้รับสารสกัดหนอนตายหยากไม่พบความผิด ปกติของเหงือก ตับและไต แต่ปลานิลที่ได้รับสารกำจัดแมลงชีวภาพที่มีส่วนผสมหนอนตายหยาก0.019มก./ลิตรพบว่ามีผลต่อเหงือกทำให้การเรียงตัวของ secondary lamellaeไม่เป็นระเบียบ หักลู่เข้าหากัน เชื่อมติดกันและโป่งพองส่วนปลายเซลล์ท่อไตมีช่องว่างแทรกอยู่และหลุดออกจากฐาน เลือดคั่งในเนื้อไต glomerurousหดตัว พบการตายของเซลล์ แสดงว่าปลานิลที่ได้รับสารสกัดพืชแบบเรื้อรังจะมีผลกระทบต่ออวัยวะต่างๆมากกว่าได้รับสารแบบเฉียบพลัน(Panase และคณะ, 2008)

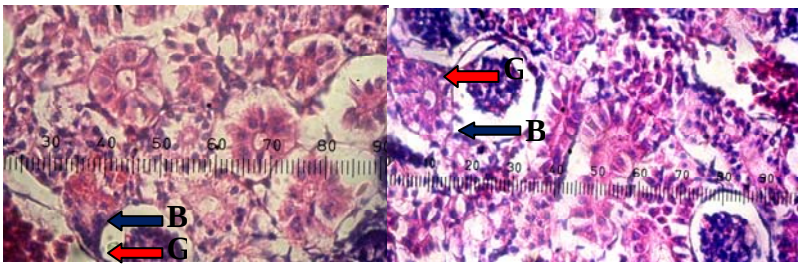


A = primary lamellae of gill

B = secondary lamellae of gill

***Tilapia*'s gill in control gr.** **Tilapia's gill after 10 ppm *Derris elliptica* administration**

Figure12 Histological changed of gill of Tilapia (*O. nilogicus*) exposed to *Derris elliptica* and control group.



B = Bowman's capsule
G = glomerulus กลุ่มเส้นเลือดฝอยในเนื้อเยื่อไตอยู่ภายใน Bowman's capsule

Tilapia's kidney after *Derris elliptica* administration Tilapia's kidney in control group

Figure13 Histological changed of kidney of Tilapia(*O. nilogicus*) exposed to *Derris elliptica* and control group.

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการวิจัยหนอนตายหยากและหางไหลเพื่อกำจัดหนูศัตรูพืช สรุปได้ว่าค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปาก(Acute Oral LD_{50})ของสารสกัดหนอนตายหยาก ที่มีต่อหนูพุกใหญ่ หนูพุกเล็ก และหนูท้องขาวมีค่า 142.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม, 365.35 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 388.54 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน(LC_{50})ต่อปลานิล106.84 พีพีเอ็มเมื่อทดสอบในตู้กระจก สำหรับค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปาก(Acute Oral LD_{50})ของสารสกัดหางไหล ที่มีต่อหนูพุกใหญ่และหนูท้องขาวมีค่า 3.68 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 31.66 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมีค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน(LC_{50})ต่อปลานิล 0.91 พีพีเอ็มและ0.95 พีพีเอ็มเมื่อทดสอบในตู้กระจกและบ่อซิเมนต์ที่มีดิน และสารสกัดหางไหลมีผลต่อเหงือกของปลานิล แสดงว่าสารสกัดหนอนตายหยากมีความเป็นพิษน้อยกว่าหางไหล เนื่องจากสารสกัดทั้ง2ชนิดมีกลิ่นและรสชาดที่หนูไม่ชอบ จึงควรพัฒนาหาเหยื่อที่มีกลิ่นที่หนูชอบต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณพรรณิกา อัตตนนท์ และ ดร.รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธาและเจ้าหน้าที่ของสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตสารธรรมชาติทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่กรุณาสกัดสารหางไหลและหนอนตายเพื่อใช้ในการวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณ คุณทัศวรรณ พุ่มกาหลง คุณสมเกียรติ

กล้าแข็ง และพนักงานทุกท่านของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา ที่ช่วยในงานวิจัยครั้งจนประสบผลสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรแก้ว เสือสะอาด ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ ปิยาณี หนูกาศ และทรงทัพ แก้วตา. 2539. การเข็ดขยาดสารซิงฟอสไฟด์ของหนูนาเล็ก, *Rattus losea*. รายงายผลการค้นคว้าและวิจัยกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตว-วิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 70-79.

กลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษจากสารธรรมชาติ กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร. 2547. หางไหลหรือโล่ติ๊น" สรุปรายงานผลการวิจัย สำนักวิจัยปัจจัยการผลิตทางการเกษตร(สปผ.) กรมวิชาการเกษตร. 5 หน้า.

ดาราพร รินทะรักษ์. 2545. ผลกึ่งเรื้อรังของสารสกัดใบยาสูบ *Nicotiana tabacum* Linn. ต่อตับและไตของปลานิล*Oreochromis niloticus*Linn. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย. 138 หน้า.

เทพ เชียงทอง และ วิจิตรา ภัคเกษม. 2520. สารประกอบเคมีบางอย่างที่มีในรากหนอนตายหยาก วารสารวิทยาศาสตร์ 31(11) : 33-34.

นนทวิทย์ อารีชน. 2540. การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของBayluscide ต่อสัตว์น้ำบางชนิดและการสลายตัวในสภาพการทดลอง ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหา วิทยาลัย เกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ 10900. 25 หน้า.

พวงทอง บุญทรง เสริมศักดิ์ หงส์นาค และ กรแก้ว เสือสะอาด. 2532. การแปลี่ยนแปลงประชากรหนูหลังการใช้สารกำจัดหนูโฟลคูมาเฟนในสวนปาล์มน้ำมัน. รายงายผลการค้นคว้าวิจัยกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพมหานคร หน้า 82-92.

ไพบูลย์ ปะนาเส. 2551. ผลของสารกำจัดแมลงชีวภาพจากหนอนตายหยาก(*Stemona curtisii* Hook.F.)และสารภี(*Mammea siamensis* Miq. T.) ต่อระดับอะซิทิลโคลีเอสเทอเรสและกิจกรรมไลโซไซม์ในปลานิล(*Oreochromis niloticus*). บทคัอย่อวิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต(ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ หน้า 1-2.

วีระพล จันทร์สวรรค์ สถาพร จิตตปาลพงค์ และ นงนุช จันทรราช. 2536. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากหนอนตายหยากต่อเห็บโค ว.เกษตรศาสตร์ (วิทย์) 27:336-340.

เสริมศักดิ์ หงส์นาค ทักษิณ อาชวาคม เกษม ทองทวี และ ชูเกียรติ สุวรรณชัย. 2534. ทดสอบสารกำจัดหนู. *ใน* เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว 7-9 สิงหาคม2534 อำเภอแม่สอดจังหวัดตาก.

อุดมลักษณ์ อุ่นจิตต์วรรธนะ และ สมนึก คชรัตน์. 2543 . ศึกษาผลกระทบของสารสกัดและผลิต

ภัณฑ์โล่ติ๊นต่อการเปลี่ยนแปลงเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในลูกปลานิล. รายงาผลการวิจัย สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตสารธรรมชาติทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร.12 หน้า.

America Society for esting and Materials. 1977. ASTM Standard on Vertebrate Control Agents. ASTM,Philadelphia. 54p.

_____. 1980. Standard practice for conducting toxicity tests with fishes macroinvertebrates and amphibians. ASTM E 729-80, Philadelphia:ASTM.

Apirit J., S. Pangjit,K. Seanphet, A. Jatisatienr and P. Sudwan. 1990. Effects of Stemona *curtisii* Hook.F. on sexual behavior of male rats. 33rd Congress on Science and Technology of Thailand.Chiang Mai Thailand. P. 1-3.

Areekul, S.; Sinchaisri, P. and Tigvatananon, S. 2531. Effect of Thai Plant Extracts on Oriental Fruit Fly l Repellency Test Kasetsart J. (*Nat.Sci.*) 22:56-61.

Cahn, P.H. 1975. The pathology of the liver and spleen in naturally stressed Atlantic European and Mediteranian Plant Protection Organization. 1975. Guide-line for the development and biological evaluation of rodenticides. EPPO Bull. 5(1):7-15.

Finney, D.J. 1971. Probit Analysis . 3 rd ed., Cambridge University Press, London. 333p.

Fukami H. and Nakajima M. 1971. Rotenone and the Rotenoids. In Naturally Occurring Insecticides. (Eds). M. Jacobson and D.G. Crosioy. Marcel Dekker, Inc. N.Y.

Panase, P., K. Saenphet, A. Jatisatienr and S. Saenphet. 2008. Microscopic Anatomy of Gill and Kidney of Nile Tilapia(Oreochromis niloticus L.) Treated with Bioinsecticide from Stemona curtisii Hook.F. and mamme siamensis Miq. T. in Comparison to Lannate. J. Fishtech. 2(2): 87-95.

Pundee, S, N.Sangjun and A. Jatisartienr. 2003.Toxicity study if *Stemona curtisii* Hk.f. Thai J. of Phytopharmacy. 10(2): 13-21.

Smart, E. 1976. The effects of ammonia exposed on the gill structure of rain trout (Salmo gairdneri). J. Fish. Res. Board Can. 328-32.