บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของสารสกัดจากใบสาบเสือที่มีต่อการตายและระดับเอนไซม์ขจัดพิษ 3 ชนิด คือ esterase, glutathione S-transferase และ monooxygenase ของหนอนใยผัก ซึ่งในการศึกษาขั้นแรกเป็นการทดสอบเบื้องต้น คือ ผลของสารสกัดจากใบสาบเสือที่มีต่อการตายของหนอนใยผัก โดยทำการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบสาบเสือที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ คือ วิธีการหมักซึ่งมีน้ำเป็นตัวทำละลาย วิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ และวิธีการสกัดซอกซ์เลตซึ่งมี ethanol และ hexane เป็นตัวทำละลายที่มีต่อการตายของหนอนใยผักเพื่อเลือกวิธีการสกัดที่เหมาะสมที่สุด

จากการศึกษาพบว่า สารสกัดจากใบสาบเสือโดยวิธีการหมักซึ่งมีน้ำเป็นตัวทำละลายมีผลต่อการตายของหนอนใยผักน้อยโดยพบว่าสารสกัดจากใบสาบเสือความเข้มข้น 100% ทำให้หนอนตาย 20.83% เช่นเดียวกับสารสกัดจากใบสาบเสือโดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำก็มีผลต่อการตายของหนอนใยผักน้อยมากพบว่าสารสกัดจากใบสาบเสือความเข้มข้น 100% ทำให้หนอนตาย 16.33% เป็นเพราะน้ำไม่ใช่ตัวทำละลายที่แท้จริงจึงไม่สามารถสกัดสารเคมีในใบสาบเสือที่มีฤทธิ์ในการทำให้หนอนใยผักตายออกมาได้

สารสกัดจากใบสาบเสือโดยวิธีการสกัดซอกซ์เลตซึ่งมี ethanol และ hexane เป็นตัวทำละลาย พบว่ามีผลต่อการตายของหนอนใยผักได้ถึง 100% โดยพบว่าความเข้มข้นของสารสกัดจากใบสาบเสือซึ่งมี hexane เป็นตัวทำละลายที่ทำให้หนอนใยผักตาย 100% คือ ความเข้มข้น 1.50% (w/v) ส่วนความเข้มข้นของสารสกัดจากใบสาบเสือซึ่งมี ethanol เป็นตัวทำละลายที่ทำให้หนอนตาย 100% คือ ความเข้มข้น 2.00% (w/v) แสดงว่าวิธีการสกัดสารจากใบสาบเสือโดยวิธีการสกัดซอกซ์เลตซึ่งมี ethanol และ hexane เป็นตัวทำละลาย เป็นวิธีการที่สกัดสารเคมีที่มีฤทธิ์ในการทำให้หนอนใยผักตายออกมาได้ และจากการศึกษาพบว่าสารสกัดจากใบสาบเสือโดยวิธีการสกัดซอกซ์เลตซึ่งมี hexane เป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการทำให้หนอนตายดีกว่าการใช้ ethanol เป็นตัวทำละลาย แต่ในการศึกษาผลของสารสกัดในด้านการศึกษาผลของสารสกัดจากใบสาบเสือที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ขจัดพิษของหนอนใยผัก ได้เลือกวิธีการสกัดซอกซ์เลตซึ่งมี ethanol แทนการใช้ hexane เป็นตัวทำละลาย เนื่องจาก ethanol มีความเป็นพิษน้อยกว่า hexane และในการนำมาใช้สามารถหาได้ง่ายกว่า hexane และพบว่าปริมาณของสารสกัดจากใบสาบเสือที่มี ethanol เป็นตัวทำละลายมีมากกว่าเมื่อใช้ hexane เป็นตัวทำละลาย จากเหตุผลที่กล่าวมาจึงเลือกใช้สารสกัดจากใบ

สาบเสือโดยวิธีการสกัดซอกซ์เลตซึ่งมี ethanol เป็นตัวทำละลายเพื่อนำมาศึกษาผลของสารสกัดจากใบสาบเสือต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ชจัดพิษของหนอนใยผัก

ในด้านการศึกษาผลของสารสกัดจากใบสาบเสือที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ชจัดพิษของหนอนใยผัก พบว่าสารสกัดจากใบสาบเสือมีผลทำให้ระดับเอนไซม์ชจัดพิษ 3 ชนิด คือ esterase, glutathione S-transferase และ monooxygenase ของหนอนใยผักมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น

จากผลการทดลองพบว่าระดับ esterase มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดจากใบสาบเสือ คือเพิ่มขึ้นจากความเข้มข้น 0.05, 0.25 และ 0.50% ตามลำดับ การที่ esterase เพิ่มขึ้นเพราะเมื่อแมลงได้รับสารสกัดจากใบสาบเสือเข้าไปในร่างกาย แมลงจะมีการสร้าง esterase เพื่อเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารสกัดจากใบสาบเสือให้มีความสามารถในการละลายน้ำเพื่อง่ายแก่การกำจัดออกจากร่างกาย esterase เป็นเอนไซม์ที่อยู่ในขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระยะที่ 1 (phase I) ซึ่งอยู่ในกลไกการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่ใช้เอนไซม์โดยตรง esterase มีความสามารถในการ metabolized สารพิษ โดยจะทำหน้าที่ในการ hydrolyzed สารในกลุ่ม ester ให้กลายเป็นสารพิษตัวใหม่ที่เป็น carboxy และ alcohol เป็นต้น (ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว, 2539) ดังนั้นเมื่อหนอนใยผักได้รับสารสกัดจากใบสาบเสือซึ่งก็คือสารแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย จึงมีการสร้าง esterase เพิ่มขึ้นเพื่อทำลายพิษ ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ Yu and Nguyen (1992) พบว่าเมื่อหนอนใยผักได้รับสารเคมีในกลุ่มpyrethroid และ สารเคมีในกลุ่ม organophosphate จะมีการสร้าง esterase เพิ่มขึ้น และยังสอดคล้องกับ Mackness et al. (1984) มีรายงานว่า ใน *Tribolium castaneum* ที่ต้านทานต่อสาร malathion พบระดับเอนไซม์ esterase เพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ เมื่อแมลงได้รับสาร malathion พบว่า esterase คือ carboxyesterase จะเร่งปฏิกิริยา hydrolysis สาร malathion ให้มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเป็น α - monoacid γ - monoacid และ ethanol เพื่อง่ายแก่การกำจัดออกจากร่างกาย (Dauterman 1983; Kao et al., 1984) เช่นเดียวกับผลการทดลองของ Konno et al. (1989) ตรวจพบ esterase ของ *Heliothis virescens* มีระดับสูงขึ้นเมื่อมีการต้านทานต่อสาร methyl parathion

ในขณะเดียวกันจากการศึกษาพบว่าสารสกัดจากใบสาบเสือมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ monooxygenase โดยระดับเอนไซม์มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นที่ความเข้มข้น 0.025 และ 0.50% ตามลำดับ การที่ monooxygenase เพิ่มขึ้นเมื่อได้รับสารสกัดจากใบสาบเสือ เพราะ monooxygenase เป็นเอนไซม์เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษให้มีความสามารถในการละลายน้ำเพิ่มขึ้นเพื่อกำจัดออกจากร่างกาย โดย monooxygenase จะอยู่ในขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระยะที่ 1 (phase I) เช่นเดียวกับ esterase จากผลการศึกษาสอดคล้องกับผลของ Yu and Nguyen (1992) ตรวจพบ

monooxygenase เพิ่มขึ้นในหนอนใยผัก *Plutella xylostella* ที่ต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่ม pyrethroid และ organophosphate และการศึกษาของ ธารี วัฒนสมบัติ (2538) พบว่า monooxygenase ของหนอนใยผักเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับสารสกัดจากข่า นอกจากนี้มีรายงานพบว่าใน *Oryzaephilus surinamensis* ที่ต้านทานต่อ fenitrothion พบ monooxygenase มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น (Rose and Wallbank, 1986) และจากการศึกษาของ Brattsten et al. (1977) ได้ทำการเลี้ยง *Spodoptera eridania* ด้วยสารสกัดจากพืช พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของ monooxygenase จากรายงานของ Rose (1985) กล่าวว่าสารประกอบจากพืชจะมีบทบาทในการเพิ่มการทำงานของ monooxygenase โดยจะไปกระตุ้นให้มีการสร้าง monooxygenase ซึ่งตรงกับการศึกษาของ Nebert et al. (1981) ได้อธิบายว่า monooxygenase จะถูกเหนี่ยวนำให้เกิดขึ้นด้วยสารพิษหรือสารแปลกปลอมที่เข้าไปในเซลล์ และเมื่อได้รับสารพิษในปริมาณเพิ่มขึ้น ปริมาณและการทำงานของ monooxygenase ก็จะเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองพบว่าหนอนใยผักที่ได้รับสารสกัดจากใบสาบเสือซึ่งเป็นสารสกัดจากพืชมีการสร้าง monooxygenase เพิ่มขึ้นตามลำดับความเข้มข้น

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดจากใบสาบเสือมีผลต่อระดับ glutathione S-transferase ของหนอนใยผักเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.50% การที่ glutathione S-transferase มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย อาจเป็นเพราะ glutathione S-transferase เป็นเอนไซม์ที่อยู่ในขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระยะที่ 2 (phase II) กล่าวคือสารพิษที่ยังไม่ได้มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างแล้วจะเกิดปฏิกิริยาการรวมตัว (conjugation) กับสารที่มีอยู่ภายในเซลล์ให้เป็นสารที่มีขั้ว มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดีขึ้น โดยมี glutathione S-transferase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว, 2539) ดังนั้นเมื่อหนอนใยผักได้รับสารสกัดจากใบสาบเสือพบการเปลี่ยนแปลงของ glutathione S-transferase เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น อาจเป็นเพราะสารสกัดจากใบสาบเสือถูกเปลี่ยนแปลงโครงสร้างให้มีความเป็นพิษน้อยและถูกกำจัดออกจากร่างกายตั้งแต่ขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระยะที่ 1 (phase I) โดยมี esterase และ monooxygenase เป็นเอนไซม์ในการทำลายพิษของสารสกัดจากใบสาบเสือ และอาจเป็นเพราะปริมาณของสารสกัดจากใบสาบเสือไม่มากพอที่จะกระตุ้นให้มีการสร้าง glutathione S-transferase ออกมาช่วยในการขจัดพิษ แต่อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองเห็นได้ว่า glutathione S-transferase มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับสารกัดจากใบสาบเสือซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ สุรพล วิเศษสรรค์ (2536) ได้เลี้ยงหนอนใยผักด้วยสารสกัดจากสะเดา และพบว่าระดับ glutathione S-transferase เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย Yu and Nguyen (1992) ตรวจพบระดับ glutathione S-transferase เพิ่มขึ้นในหนอนใยผักที่ต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่ม pyrethroid และ organophosphate นอกจากนี้ Kao and Sun (1991) รายงานว่าในหนอนใยผักที่ได้รับสารเคมีในกลุ่ม organophosphate คือ สาร parathion และ methyl parathion พบระดับของ glutathione S-

transferase เพิ่มขึ้น และยังตรงกับรายงานการศึกษาของ Walls, Rock , and Dauterman (1983) ว่า glutathione S-transferase เป็นเอนไซม์สำคัญที่ทำให้เกิดการต้านทานของแมลงต่อสารในกลุ่ม organophosphate โดยพบว่า glutathione S-transferase จะเร่งปฏิกิริยาการรวมตัวของสารเคมีในกลุ่ม organophosphate กับ glutathione (GSH) ให้เกิดเป็นสารชนิดใหม่ที่สามารถละลายน้ำได้มากขึ้นเพื่อง่ายแก่การกำจัด

จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากใบสาบเสือซึ่งเป็นสารสกัดจากพืช มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ขจัดพิษ คือ esterase, glutathione S-transferase และ monooxygenase โดยพบว่าเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น Yu (1983, 1984) ได้กล่าวว่าเมื่อแมลงได้รับสารสกัดจากพืชจะทำให้แมลงมีการสร้างเอนไซม์ขจัดพิษ เช่น esterase, glutathione S-transferase และ monooxygenase เป็นต้น ในปริมาณที่เหมาะสมเพื่อทำลายพิษจากสารสกัดจากพืชซึ่งเป็นสารแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกายให้มีความเป็นพิษน้อยลงหรือไม่มีพิษเลย และการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ขจัดพิษในแมลงแต่ละชนิดต่อสารพิษจะมีระดับที่แตกต่างกัน หรือในแมลงชนิดเดียวกันถ้าได้รับสารพิษคนละชนิดการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ขจัดพิษก็จะแตกต่างกันด้วย (Rose, 1985; Rose and Terier, 1980)

จากการศึกษาผลของ *synergists* 3 ชนิด คือ diethyl maleate , piperonyl butoxide และ triphenyl phosphate ซึ่ง *synergists* แต่ละชนิดใช้ความเข้มข้น 0.1% ผสมกับสารสกัดจากใบสาบเสือความเข้มข้น 0.00, 0.05, 0.25 และ 0.50% ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ขจัดพิษ คือ esterase, glutathione S-transferase และ monooxygenase ของหนอนใยผัก พบว่า synergist แต่ละชนิดมีผลต่อเอนไซม์แต่ละชนิดแตกต่างกันอย่างชัดเจน

diethyl maleate มีผลต่อเอนไซม์ glutathione S-transferase โดยทำให้เอนไซม์ glutathione S-transferase มีการเปลี่ยนแปลงลดลงที่ระดับความเข้มข้น 0.25 และ 0.50% และพบว่า diethyl maleate ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ esterase และ monooxygenase จากการศึกษาแสดงว่า diethyl maleate ยับยั้งการทำงานของ glutathione S-transferase ทำให้ glutathione S-transferase ลดลง ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับ Kao and Sun (1991) มีการใช้ diethyl maleate ผสมลงไปในสารเคมีกลุ่ม organophosphate พบว่า glutathione S-transferase ของหนอนใยผัก *Plutella xylostella* ลดลง และยังสอดคล้องกับ Prabhaker, Coudriet, and Toscano (1988) พบว่า glutathione S-transferase ของ *Bemistia tabaci* ที่ต้านทานต่อ DDT ลดลงเมื่อใช้ diethyl maleate

piperonyl butoxide มีผลทำให้ esterase ลดลงที่ความเข้มข้น 0.50% และ monooxygenase มีการเปลี่ยนแปลงลดลงที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.50% และพบว่า piperonyl butoxide ไม่มีผลต่อ การเปลี่ยนแปลงของ glutathione S-transferase แสดงว่า piperonyl butoxide ยับยั้งการทำงานของ esterase และ monooxygenase จึงทำให้ esterase และ monooxygenase ลดลง ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับ Lamaroux and Rusness (1987) พบว่า esterase และ monooxygenase ของแมลงวันบ้านลดลงเมื่อมีการใช้ piperonyl butoxide และยังสอดคล้องกับ Prabhaker, Co udriet, and Toscano (1988) พบว่า monooxygenase ของ *Bemisia tabaci* ในสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อ สาร malathion, methyl malathion, DDT และ permethrin ลดลงเมื่อใช้ piperonyl butoxide ผสมลงในสารเคมีที่กล่าวมา และจากการทดลองของ Rose and Terriere (1980) ซึ่งใช้ piperonyl butoxide ผสมกับ cabaryl พบว่า monooxygenase มีการเปลี่ยนแปลงลดลง เช่นเดียวกับการศึกษาของ Isamail and Wright (1991) พบว่า monooxygenase ของหนอนใยผัก *Plutella xylostella* ที่ต้านทานต่อ chlorfluazuronและ teflebenzuron ลดลงเมื่อใช้ piperonyl butoxide

triphenyl phosphate มีผลต่อ esterase โดยทำให้เอนไซม์ esterase ลดลงที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.50% และพบว่า triphenyl phosphate ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ glutathione S-transferase และ monooxygenase แสดงว่า triphenyl phosphate ยับยั้งการทำงานของ esterase จึงทำให้ esterase ลดลง ซึ่งผลการทดลองเป็นไปในทางเดียวกับ Prabhaker, Coudriet, and Toscano (1988) รายงานว่า esterase ของ *Bemisia tabaci* ที่ต้านทานต่อสาร malathion, methyl malathion, DDT และ permethrin ลดลงเมื่อใช้ triphenyl phosphate

จากการศึกษาพบว่า synergists แต่ละชนิดมีผลต่อเอนไซม์ต่างชนิดกัน โดยพบว่า synergists ที่ใช้ 3 ชนิด มีผลทำให้เอนไซม์ของหนอนใยผักลดลง กล่าวคือ synergists จะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยจะไปจับกับเอนไซม์จึงทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้ (Wilkinson, 1983) พบว่า diethyl maleate ยับยั้งการทำงานของ glutathione S-transferase ส่วน piperonyl butoxide ยับยั้งการทำงานของ esterase และ monooxygenase สำหรับ triphenyl phosphate ยับยั้งการทำงานของ monooxygenase

ในการศึกษาเอนไซม์ของหนอนใยผักรุ่นที่ 1 รุ่นที่ 2 และรุ่นที่ 3 เมื่อได้รับสารสกัดจากใบสาบเสือ และสารสกัดจากใบสาบเสือผสมกับ synergists เพื่อดูแนวโน้มการต้านทานของหนอนใยผักต่อสารสกัดจากใบสาบเสือ จากผลการทดลองพบว่า esterase, glutathione S-transferase และ monooxygenase ของหนอนใยผักทั้ง 3 รุ่น ไม่แตกต่างกัน การต้านทานของแมลงต่อสารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัดใช้เวลา

แตกต่างกัน และพบว่าสารเคมีในกลุ่ม pyrethroid เป็นสารที่แมลงสร้างความต้านทานได้เร็วที่สุด คือ 2 ปี การสร้างความต้านทานของแมลงต่อสารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัดต้องใช้เวลาหลายรุ่น(generation) เพราะการสร้างเอนไซม์ถูกควบคุมโดยยีนบนโครโมโซมที่ 2 (Metcalf, 1989) และสามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นต่อๆไป ซึ่งจะเป็นผลให้แมลงต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัด (Visetson, 1992) ดังนั้นจากผลการทดลองจึงยังไม่สามารถบอกได้ว่าหนอนใยผักต้านทานต่อสารสกัดจากใบสาบเสือหรือไม่

ดังนั้นจากผลการศึกษาจึงควรหันมาใช้สารสกัดจากใบสาบเสือในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักแทนการใช้สารเคมี และในกรณีที่หนอนใยผักต้านทานต่อสารสกัดจากใบสาบเสือควรใช้ diethyl maleate, piperonyl butoxide และ triphenyl phosphate เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย