ศึกษาความเป็นพิษของมะกล่ำตาหนูและกากเมล็ดชาเพื่อใช้เป็นสารกำจัดหนู

Study on the Toxicity of Crab's eye (*Abrus precatorius* L.) and tea seed cake(*Camelia oleifera* L.) as Rodenticide

กรแก้ว เสือสะอาด[1/] ปราสาททอง พรหมเกิด[1/] ดาราพร รินทะรักษ์[1/]

ทรงทัพ แก้วตา[1/] รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธา [2/]

[1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

การทดสอบความเป็นพิษของมะกล่ำตาหนูผง และสารสกัดกากเมล็ดชา (27.899% ซาโปนิน) อัตราต่างๆกับหนูพุกใหญ่ และหนูท้องขาวบ้าน ตามวิธีการของ ASTM(1977) และ EPPO(1975) โดยให้สารละลายของมะกล่ำตาหนูผงและสารสกัดกากเมล็ดชาทางปากอัตราต่างๆกับหนูกลุ่มละ 10 ตัว บันทึกอาการและการตายของหนูภายใน 21 วัน วิเคราะห์หาค่าความเป็นพิษของมะกล่ำตาหนูและสารสกัดกากเมล็ดชาตามวิธีการของ Finney,1971 ผลปรากฏว่าค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปาก (Acute Oral LD_{50}) ของมะกล่ำตาหนูที่มีต่อหนูพุกใหญ่ 201.83 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และหนูท้องขาวบ้าน 733.51 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากของสารสกัดกากเมล็ดชาที่มีต่อหนูพุกใหญ่ 114.93 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และหนูท้องขาวบ้าน 389.60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับที่ระดับความเชื่อมั่น 95% สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพเหยื่อกากเมล็ดชากับหนูท้องขาวบ้าน โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD โดยสุ่มให้เหยื่อกากเมล็ดชา อัตรา 4 % และ 8 % เป็นเวลา 2 วัน กับหนูท้องขาวบ้านอัตราละ 10 ตัว ผลปรากฏว่าหนูกินเหยื่อกากเมล็ดชาเฉลี่ย 3.77กรัม/กิโลกรัม ไม่มีผลทำให้หนูตายและเหยื่อกากเมล็ดชาอัตรา 8% ทำให้หนูตาย 10% ภายใน 5 วัน เมื่อได้รับสารพิษ 2 วัน เฉลี่ย 17.03 กรัม/กิโลกรัม

Abstracts

The investigation on toxicity of *Abrus precatorius* powder and *Camelia oleifera* (27.899% saponin) extract were investigated on 2 species of rats by method of ASTM (1977) and EPPO (1975). Different doses of *Abrus* powder and *Camelia* extract were orally given to each group of rats(10 rats/group) through gastric tubing. The symptom and mortality of rats were observed in 21 days. The results showed

---

รหัสการทดลอง 03-04-54-02-01-01-11-54

that the acute oral LD_{50} value of *Abrus precatorius* against *B. indica* and *R. rattus* were 201.83 mg/kg and 733.51 mg/kg and the acute oral LD_{50} value of *Camelia oleifera* against *B.indica* and *R.rattus* were 114.93 mg/kg ,389.60 mg/kg at 95% confidence limits. Efficacy test of *Camelia oleifera* baits against *R. rattus* were investigated by using CRD experimental design. After feeding 4% and 8% to each group of rats(10 rats/group) *Camelia* baits continuous for 2 days, *R. rattus* consumed *Camelia* averaged 3.77 g/kg , they were not effected to the rats, and 10% mortality of rats within 5 days after the rat consumed 8% *Camelia* baits averaged 17.03 g/kg.

คำนำ

หนู เป็นศัตรูพืชเศรษฐกิจที่สำคัญในพืชหลายชนิด เช่น ข้าว ข้าวโพด อ้อย ไม้ผล เป็นต้น เกษตรกรส่วนใหญ่มักจะใช้ สารเคมีกำจัดศัตรูพืชเหล่านี้ ซึ่งก่อให้เกิดกระทบต่อสุขอนามัยและระบบนิเวศน์ ศัตรูพืชสร้างความต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้ (Ankersmit,1953)จึงต้องหาวิธีการหรือเทคโนโลยีในการป้องกันกำจัดที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัย โดยเฉพาะการใช้สารธรรมชาติในการป้องกันกำจัดสัตว์ศัตรูพืช ระหว่างปี 2549-2553 พบว่าสารสกัดหนอนตายหยากและหางไหลมีความเป็นพิษกับหนูศัตรูพืชหลายชนิด แต่การผลิตเป็นเหยื่อพิษมีกลิ่นรุนแรงทำให้ไม่ได้ผลดีกับหนู จึงควรหาสารจากพืชชนิด อื่นโดยเฉพาะมะกล่ำตาหนูและกากเมล็ดชาว่ามีความเป็นพิษและมีประสิทธิภาพในการกำจัดหนูศัตรูพืชหรือไม่ โดยคำนึงถึงความปลอดภัยต่อมนุษย์ สัตว์ศัตรูธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มะกล่ำตาหนูเป็นพืชไม้เถาในพืชตระกูลถั่ว มักพบในเขตร้อนและใกล้เขตร้อน (นันทวัน และอรนุช 2542, Morton, 1970) เดิมใช้เป็นพืชสมุนไพร แก้ไอ เจ็บคอ แผลอักเสบ ใบมีรสหวาน แต่ในใบมีสารที่เป็นประโยชน์และโทษรวมกันอยู่หลายชนิด หากใช้นานๆอาจมีผลข้างเคียงกับ ตับ ไต ลำไส้ นอกจากนั้นมะกล่ำตาหนู ยังเป็นพืชพิษที่ในเมล็ดมีกรดเอบริค ซึ่งเป็นสารพิษที่คล้ายไรซินที่ เรียกว่า เอบริน ประกอบด้วยโปรตีนย่อย 2 ตัว คือ A และB สาย B ทำให้การแพร่เข้าสู่เซลล์ของเอบรินสะดวกขึ้นด้วยการพันเข้ากับโปรตีนขนส่งบนพลาสมาเมมเบรนซึ่งจะช่วยขนส่งพิษเข้าสู่เซลล์ ภายในเซลล์สาย A จะป้องกันการสังเคราะห์โปรตีน ด้วยการหยุดยั้งการทำงานของ 26 S ของไรโบโซม หนึ่งโมเลกุลของเอบรินสามารถหยุดการทำงานของไรโบโซมได้ถึง 1500 ไรโบโซมต่อวินาที และการสังเคราะห์โปรตีนมีผลทำให้เซลล์ตาย (Stripe และBarbieri,1986) อาการเป็นพิษ คือ ยับยั้งขบวนการสร้างโปรตีนของเซลล์และทำให้เลือดตกตะกอน กดศูนย์ควบคุมการหดและขยายตัวของหลอดเลือด ทำให้เกิดการอักเสบต่อทางเดินอาหารอย่างเฉียบพลัน เส้นเลือดฝอยถูกทำลายทำให้มีเลือดออกที่จอประสาทตา ตับอักเสบและการเป็นแผลที่ไตเนื่องจากเปลือกหุ้มเมล็ดแข็งมากถ้ากินเมล็ดที่ยังอ่อนเปลือกไม่แข็งทำให้เป็นอันตรายต่อชีวิตเมื่อรับประทานเข้าไปจำนวนมาก(กรมวิชาการเกษตร, 2548;นิจศิริ และพยอม,2534 นอกจากนั้นยังมีสารแอกกลูตินินซึ่งพบได้ในสารสกัดน้ำของเมล็ดมะกล่ำตาหนูมีฤทธิ์ทำให้เม็ดเลือดแดงในเลือดคนจับตัวกัน เอบริน สามารถทำให้ถึงตายได้เมื่อได้รับน้อยกว่า 3ไมโครกรัม ซึ่งเอบรินเอ-ดี อยู่ในกลุ่ม

เล็คติน ออกฤทธิ์โดยตรงต่อเซลล์พาเรนไคมาของ ตับ ไต และ เซลล์เม็ดเลือดแดง(Hart, 1963) มีการทดสอบน้ำมันเสตียรอยด์ (steroid oil) ที่สกัดจากเมล็ดมะกล่ำตาหนูด้วยปิโตเลียมอีเทอร์ว่ามีฤทธิ์คุมกำเนิด ทำให้หนูขาวและหนูตะเภาเป็นหมัน และให้ผลเช่นเดียวกันเมื่อหนูได้รับสารที่สกัดจากรากด้วยปิโตเลียมอีเทอร์และแอลกอลฮอล์ (สุรัตนา และโสภณ,2527)ส่วนกากเมล็ดชาเป็นส่วนที่เหลือจากการหีบน้ำมันจากเมล็ดชามีลักษณะเป็นก้อนแข็งในเมล็ดมีสารซาโปนินประมาณ 10% - 13% ซาโปนิน มีผลต่อศูนย์ประสาทที่ควบคุมการหายใจของสัตว์ชั้นต่ำ ทำให้ขาดออกซิเจน และเกิดการสลายตัวของเม็ด เลือดแดงในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ทำให้เกิดการระคายเคืองของเยื่อบุช่องจมูกทำให้น้ำมูกไหลจามและมึนงงเร็ว(http://www.budmgt.com) เป็นพืชสมุนไพรที่เมื่อนำมาสกัดได้สารออกฤทธิ์ซาโปนินรวมทั้งสารประกอบอื่นๆที่มีฤทธิ์ฆ่าแมลงและสัตว์อื่นๆสารเหล่านี้สลายตัวเร็ว ไม่มีพิษตกค้าง จึงควรศึกษาวิจัยมะกล่ำตาหนู และกากเมล็ดชากับหนูศัตรูพืช เพื่อใช้เป็นสารกำจัดหนูทดแทนสารเคมีกำจัดหนูและลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1.สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1.1 สารสกัดกากเมล็ดชา (27.899% ซาโปนิน) ที่สกัดโดยกลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

1.2 เมล็ดมะกล่ำตาหนูบดผง

1.3 หนูพุกใหญ่(*Bandicota indica*) และ หนูท้องขาวบ้าน(*Rattus rattus*)

1.4 กรงดักหนู กรงเลี้ยงหนู อาหารเลี้ยงหนู

1.5 กรงทดลองขนาด 10 x 13 x 13 นิ้ว และ 8 x 9 x14 นิ้ว

1.6 เครื่องชั่งไฟฟ้า กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope

1.7 หลอดฉีดยาที่มีเข็มปลายทู่(Feeding tube)

1.8 กระบอกตวง น้ำกลั่น beaker, petridish กรรไกร และมีดผ่าตัด เป็นต้น

1.9 สารเคมี เช่น alcohol 95%,diethyl ether เป็นต้น

2.แบบและวิธีการทดลอง

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

2.2 กรรมวิธี(Treatment)

ศึกษาความเป็นพิษของมะกล่ำตาหนูผงกับหนูพุกใหญ่ และหนูท้องขาวบ้าน มี 2 การทดลอง

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

การทดลองที่ 2 มี 6 กรรมวิธีๆละ 10 ซ้ำ (เพศผู้ 5 ตัวและเพศเมีย 5 ตัว)

การทดลองที่ 1 ทดสอบความเป็นพิษของมะกล่ำตาหนูผงกับหนูพุกใหญ่ มี 5 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 มะกล่ำตาหนู อัตรา 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
กรรมวิธีที่ 2 มะกล่ำตาหนู อัตรา 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
กรรมวิธีที่ 3 มะกล่ำตาหนู อัตรา 1000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
กรรมวิธีที่ 4 มะกล่ำตาหนู อัตรา 2000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
กรรมวิธีที่ 5 น้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบ

การทดลองที่ 2 ทดสอบความเป็นพิษของมะกล่ำตาหนูผงกับหนูท้องขาวบ้าน มี 6 กรรมวิธี
กรรมวิธีที่ 1 มะกล่ำตาหนู อัตรา 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
กรรมวิธีที่ 2 มะกล่ำตาหนู อัตรา 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
กรรมวิธีที่ 3 มะกล่ำตาหนู อัตรา 1500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
กรรมวิธีที่ 4 มะกล่ำตาหนู อัตรา 2000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
กรรมวิธีที่ 5 มะกล่ำตาหนู อัตรา 2500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
กรรมวิธีที่ 6 น้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบ

ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดกากเมล็ดชา(27.899%saponin)กับหนูพุกใหญ่และหนูท้องขาวบ้าน มี 2 การทดลอง

การทดลองที่ 3 มี 7 กรรมวิธีๆละ 10 ซ้ำ (เพศผู้ 5 ตัวและเพศเมีย 5 ตัว)
การทดลองที่ 4 มี 7 กรรมวิธีๆละ 10 ซ้ำ (เพศผู้ 5 ตัวและเพศเมีย 5 ตัว)

การทดลองที่ 3 ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดกากเมล็ดชากับหนูพุกใหญ่ มี 7 กรรมวิธี
กรรมวิธีที่ 1 กากเมล็ดชา อัตรา 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
กรรมวิธีที่ 2 กากเมล็ดชา อัตรา 80 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
กรรมวิธีที่ 3 กากเมล็ดชา อัตรา 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
กรรมวิธีที่ 4 กากเมล็ดชา อัตรา 150 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
กรรมวิธีที่ 5 กากเมล็ดชา อัตรา 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
กรรมวิธีที่ 6 กากเมล็ดชา อัตรา 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
กรรมวิธีที่ 7 น้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบ

การทดลองที่ 4 ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดกากเมล็ดชากับหนูท้องขาวบ้าน มี 7 กรรมวิธี
กรรมวิธีที่ 1 กากเมล็ดชา อัตรา 200 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
กรรมวิธีที่ 2 กากเมล็ดชา อัตรา 400 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
กรรมวิธีที่ 3 กากเมล็ดชา อัตรา 420 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
กรรมวิธีที่ 4 กากเมล็ดชา อัตรา 440 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
กรรมวิธีที่ 5 กากเมล็ดชา อัตรา 460 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
กรรมวิธีที่ 6 กากเมล็ดชา อัตรา 480 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
กรรมวิธีที่ 7 น้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบ

ศึกษาผลของเหยื่อกากเมล็ดชาที่มีประสิทธิภาพกำจัดหนูท้องขาวบ้าน มี 1 การทดลอง

การทดลองที่ 5 ทดสอบเหยื่อกากเมล็ดชากับหนูท้องขาวบ้าน มี 3 กรรมวิธีๆละ10 ซ้ำ

(เพศผู้ 5 ตัวและเพศเมีย 5 ตัว)

กรรมวิธีที่ 1-2 เหยื่อพิษกากเมล็ดชา(27.899% ซาโปนิน)อัตรา 4% และ 8 %

กรรมวิธีที่ 3 อาหารหนู เป็นตัวเปรียบเทียบ

วิธีการ

ดักจับหนูพุกใหญ่ และหนูท้องขาวบ้านจากนาข้าวและสวนของเกษตรกร ในเขตจังหวัดนครปฐม นำมาเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการเป็นเวลาประมาณ 2 สัปดาห์ คัดเลือกหนูที่โตเต็มวัย แข็งแรง มีขนาดและน้ำหนักใกล้เคียงกันทั้ง 2 เพศ แยกขังในกรงทดลองเดี่ยว กรงละ 1 ตัว ก่อนการทดลองให้หนูอดอาหาร เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำการทดลองดังนี้

ศึกษาความเป็นพิษของมะกล่ำตาหนูกับหนูพุกใหญ่และหนูท้องขาวบ้าน

การทดลองที่1 ทดสอบความเป็นพิษของมะกล่ำตาหนูผงกับหนูพุกใหญ่ตามวิธีการของ ASTM (1977) และ EPPO (1975) โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 5 กรรมวิธีๆละ 10 ซ้ำ สุ่มให้สารละลายมะกล่ำตาหนูอัตราความเข้มข้น60มิลลิกรัมกิโลกรัม,100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, 1000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, 2000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และน้ำกลั่น เป็นตัวเปรียบเทียบ กับหนูพุกใหญ่อายุ 4-5 เดือนที่มีน้ำหนักระหว่าง 400-500 กรัม จำนวน 50 ตัว โดยให้สารละลายมะกล่ำตาหนูทางปากกับหนู อัตราละ10 ตัว (เพศผู้ 5 ตัว และ เพศเมีย 5 ตัว) หลังจากนั้นให้อาหารและน้ำตามปกติ บันทึกอาการและการตายของหนูภายในระยะเวลา 21วัน เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การตายของหนูในอัตราความเข้มข้นต่างๆ นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ เพื่อหาค่าความเป็นพิษ (LD_{50}) ของมะกล่ำตาหนูผง ตามวิธีการของ Finney, 1971

การทดลองที่2 ทดสอบความเป็นพิษของมะกล่ำตาหนูผงกับหนูท้องขาวบ้าน ตามวิธีการของ ASTM (1977) และ EPPO(1975) โดยวางแผนการทดลองแบบCRDมี 6 กรรมวิธีๆละ10 ซ้ำ สุ่มให้สารละลายมะกล่ำตาหนูอัตราความเข้มข้น50มิลลิกรัม/กิโลกรัม,500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม,1500มิลลิกรัม/กิโลกรัม, 2000มิลลิกรัม/กิโลกรัม,2500 มิลลิกรัม/กิโลกรัมและน้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบ กับหนูท้องขาวบ้านอายุ 3-4 เดือนที่มีน้ำหนักระหว่าง150-250 กรัม จำนวน 60 ตัว โดยให้สารละลายมะกล่ำตาหนูทางปากกับหนูอัตราละ10 ตัว(เพศผู้ 5 ตัว และ เพศเมีย 5 ตัว) หลังจากนั้นให้อาหารและน้ำตามปกติ บันทึกอาการและการตายของหนูภายในระยะเวลา 21 วัน เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การตายของหนูในอัตราความเข้มข้นต่างๆ นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ เพื่อหาค่าความเป็นพิษ (LD_{50}) ของมะกล่ำตาหนูผง ตามวิธีการของ Finney, 1971

ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดกากเมล็ดชา (27.899% saponin) กับหนูพุกใหญ่ และหนูท้องขาวบ้าน

การทดลองที่ 3 ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดกากเมล็ดชา(27.899 % saponin) กับหนูพุกใหญ่ตามวิธีการของ ASTM(1977)และEPPO(1975) โดยวางแผนการทดลองแบบCRD มี 7กรรมวิธีๆละ10 ซ้ำ สุ่มให้สารละลายสารสกัดกากเมล็ดชา อัตราความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม,80 มิลลิกรัม/

กิโลกรัม,100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม,150 มิลลิกรัม/กิโลกรัม,300 มิลลิกรัม/กิโลกรัม 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัมและน้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบ กับหนูพุกใหญ่อายุ 4-5 เดือนที่มีน้ำหนักระหว่าง 400-500 กรัม จำนวน 70 ตัว โดยให้สารละลายทางปากกับหนู อัตราละ10 ตัว(เพศผู้ 5 ตัวและเพศเมีย 5 ตัว) หลังจากนั้นให้อาหารและน้ำตามปกติ บันทึกอาการและการตายของหนูภายในระยะเวลา21 วัน เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การตายของหนูในอัตราความเข้มข้นต่างๆ นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์เพื่อหาค่าความเป็นพิษ(LD_{50})ของสารสกัดกากเมล็ดชาตามวิธีการของ Finney, 1971

การทดลองที่4 ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดกากเมล็ดชา(27.899%saponin)กับหนูท้องขาวบ้านตามวิธีการของ ASTM(1977)และ EPPO (1975) โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 7 กรรมวิธีๆละ 10 ซ้ำ สุ่มให้สารละลายสารสกัดกากเมล็ดชาอัตราความเข้มข้น200มิลลิกรัม/กิโลกรัม, 400 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, 420 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, 440 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, 460 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, 480 มิลลิกรัม/กิโลกรัมและน้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบกับหนูท้องขาวบ้านอายุ 3-4เดือนที่มีน้ำหนักระหว่าง150-250 กรัม จำนวน 70 ตัว โดยให้สารละลายทางปากกับหนู อัตราละ10 ตัว(เพศผู้ 5 ตัวและ เพศเมีย 5 ตัว) หลังจากนั้นให้อาหารและน้ำตามปกติบันทึกอาการและการตายของหนูภายในระยะเวลา 21 วัน เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การตายของหนูในอัตราความเข้มข้นต่างๆ นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์เพื่อหาค่าความเป็นพิษ(LD_{50})ของสารสกัดกากเมล็ดชา ตามวิธีการของ Finney, 1971

ศึกษาผลของเหยื่อกากเมล็ดชาในรูปแบบที่มีประสิทธิภาพกำจัดหนูท้องขาวบ้าน

การทดลองที่ 5 ทดสอบประสิทธิภาพเหยื่อกากเมล็ดชากับหนูท้องขาวบ้าน โดยวิธีไม่ให้หนูมีโอกาสเลือกอาหาร มี 3 กรรมวิธีๆละ 10 ซ้ำ โดยให้เหยื่อกากเมล็ดชา(เหยื่อเป็นอาหารหนู 086/15 ของบริษัทเพอร์เฟค คอมพาเนียน กรุ๊ป จำกัด) ผสมสารสกัดกากเมล็ดชา(27.899%saponin) อัตรา 4%, 8% และอาหารหนูเป็นตัวเปรียบเทียบเป็นเวลา 2 วันติดต่อกัน บันทึกน้ำหนักเหยื่อที่หนูกิน อาการและการตายของหนูภายในระยะเวลา 3 สัปดาห์

เวลา สถานที่

ระยะเวลา 1 ปี **เริ่มต้น** เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2553 **สิ้นสุด** เดือน กันยายน พ.ศ. 2554

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาความเป็นพิษของมะกล่ำตาหนูกับหนูพุกใหญ่และหนูท้องขาวบ้าน

การทดลองที่1 ผลการทดสอบความเป็นพิษของมะกล่ำตาหนูผงกับหนูพุกใหญ่ตามวิธีการของASTM (1977)ปรากฏตาม Table 1 ค่า Chi-square จากการคำนวน=4.4119 มีค่าน้อยกว่าค่า Chi-square จากตาราง(5.99ที่ p = 0.05) ดังนั้นค่าที่ได้จากการทดลอง(observed)และค่าที่คาดหวัง(expected) มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและเมื่อวิเคราะห์ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปาก (Acute

Oral LD_{50})ด้วยโปรแกรมโพรบิท(probit analysis) (Figure 1) ได้ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากของมะกล่ำตาหนูต่อหนูพุกใหญ่มีค่า 201.83 ± 88.70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<u>การทดลองที่ 2</u> ผลการทดสอบความเป็นพิษของมะกล่ำตาหนูกับหนูท้องขาวบ้าน ตามวิธีการของ ASTM (1977) ปรากฏตาม Table 2 ค่าChi-square จากการคำนวน = 3.4001 มีค่าน้อยกว่าค่า Chi-square จากตาราง(7.82 ที่ p = 0.05) ดังนั้นค่าที่ได้จากการทดลอง(observed) และค่าที่คาดหวัง (expected) มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและเมื่อวิเคราะห์ ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปาก(Acute Oral LD_{50})ด้วยโปรแกรมโพรบิท (probit analysis) (Figure 2)ได้ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากของมะกล่ำตาหนูต่อหนูพุกใหญ่มีค่า 733.51± 232.74 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<u>การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดกากเมล็ดชากับหนูพุกใหญ่ และหนูท้องขาวบ้าน</u>

<u>การทดลองที่ 3</u> ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดกากเมล็ดชา (27.899% saponin) กับหนูพุกใหญ่ ตามวิธีการของASTM(1977)ปรากฏตามTable3 ค่า Chi-squareจากการคำนวน = 1.7739 มีค่าน้อยกว่าค่าChi-squareจากตาราง(9.49ที่p= 0.05) ดังนั้นค่าที่ได้จากการทดลอง(observed)และค่าที่คาดหวัง(expected) มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อวิเคราะห์ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปาก (Acute Oral LD_{50}) ด้วยโปรแกรมโพรบิท (probit analysis) (Figure3) ได้ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากของกากเมล็ดชาต่อหนูพุกใหญ่ มีค่า 114.93±20.52 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<u>การทดลองที่4</u> ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดกากเมล็ดชา(27.899% saponin)กับหนูท้องขาวบ้าน ตามวิธีการของ ASTM (1977) ปรากฏตามTable 4 ค่าChi-squareจากการคำนวน= 8.3166 มีค่าน้อยกว่าค่าChi-square จากตาราง (9.49 ที่ p=0.05) ดังนั้นค่าที่ได้จากการทดลอง (observed) และ ค่าที่คาดหวัง(expected) มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและเมื่อวิเคราะห์ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปาก (Acute Oral LD_{50}) ด้วยโปรแกรมโพรบิท (probit analysis) (Figure 4)ได้ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากของกากเมล็ดชาต่อหนูท้องขาวบ้านมีค่า 389.60 ± 68.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากผลการทดลอง มะกล่ำตาหนูที่ทดสอบมีค่าความเป็นพิษระดับปานกลางกับหนูพุกใหญ่และหนูท้องขาวบ้าน (201.83และ733.51มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) (Table5) ซึ่ง Gunsolus,1995 รายงานว่าสัตว์เสียชีวิตเมื่อได้รับสารเอบรินในสารสกัดน้ำของเมล็ดมะกล่ำตาหนูเพียง0.01 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สารพิษออกฤทธิ์ทำให้เม็ดเลือดแดงในเลือดคนจับกลุ่มกัน ค่าความเป็นพิษ(LD_{50})ของสารพิษนี้เมื่อฉีดเข้าช่องท้องและหลอดเลือดดำของหนูมีค่า 0.2 และ 0.07ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม(Ellenhorn และ Barceloux,1987) และค่าความเป็นพิษ(LD_{50})มีค่า 0.02มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเมื่อฉีดสารเอบรินให้หนูหริ่ง 20 กรัม (Lin และคณะ,1969) สัตว์ที่ได้รับสารพิษจะมีอาการเบื่ออาหาร อาเจียนรุนแรง เซื่องซึม หนาวสั่น มักทำให้กระเพาะและลำไส้อักเสบ เมื่อให้สารละลายทางปากของสารสกัดเมล็ดมะกล่ำตาหนูด้วยเอสทานอล50%อัตรา250มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเป็นเวลา30

และ 60วัน พบว่าจำนวนเสปอร์มในท่อนำเสปอร์มของหนูขาวลดลง(Rakesh,1990) และหนูที่รอดจากการได้รับสารพิษจากเมล็ดมะกล่ำตาหนูจะมีเลือดออกที่ปอด หัวใจ กระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก ไต (Genest และคณะ,1971)ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองครั้งนี้ ดังนั้นควรมีการสกัดสารพิษจากมะกล่ำตาหนูให้ได้สารพิษมากขึ้นเพื่อทำการทด สอบกับหนูศัตรูพืชและผลต่อเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆของหนูศัตรูพืชต่อไป สำหรับค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปาก(Acute Oral LD_{50}) ของสารสกัดกากเมล็ดชา ที่ทดสอบมีความเป็นพิษปานกลาง กับหนูพุกใหญ่ และหนูท้องขาวบ้าน(114.9 และ389.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) (Table5) แต่มีความเป็นพิษสูงกับหอยเชอรี่ มีค่าความเป็นพิษ(LC_{50})ที่ 24 ชั่วโมงของสารสกัดจากกากเมล็ดชา ที่มีต่อหอยเชอรี่มีค่า 6.79 พีพีเอ็ม และสารซาโปนินที่สกัดจากกากเมล็ดชาอัตราความเข้น0.66 พีพีเอ็ม ผลให้หอยเชอรี่ตาย 43.33 เปอร์เซ็นต์ และขนาด 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทำให้เกิดความเป็นพิษในสัตว์ทดลอง(http://www. medplant.mahidol. ac.th ;วาสนา, 2548)

<u>การศึกษาผลของเหยื่อพิษกากเมล็ดชาในรูปแบบที่มีประสิทธิภาพกำจัดหนูศัตรูพืช</u>

<u>การทดลองที่ 5</u> ผลการทดสอบประสิทธิภาพเหยื่อกากเมล็ดชา 4% ไม่มีผลทำให้หนูท้องขาวบ้านตาย เมื่อหนูได้รับสารพิษกากเมล็ดชา 2 วัน เฉลี่ย3.77 กรัมต่อน้ำหนักตัว1กิโลกรัมและเหยื่อพิษอัตรา 8% ทำให้หนูตาย 10% ภายใน 5 วัน เมื่อได้รับสารพิษ 2 วัน เฉลี่ย 17.03 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม และไม่มีหนูกลุ่มเปรียบเทียบตาย (Table 6) มีการทดสอบว่าหนูท้องขาวบ้านยอมรับเหยื่อที่ผสมสารสกัดจากมะกล่ำตาหนูอัตรา 7.5% - 10 % หลังจากหนูกินเหยื่อพิษ 3 -4 วันทำให้หนูตาย 100 % (Saxena,1990) นอกจากนั้น หนูท้องขาวที่ได้รับสารพิษจากเมล็ดมะกล่ำตาหนูจะมีอาการตัวสั่น อุณหภูมิร่างกายลดลงหลังจาก 5วัน น้ำหนักตัวลดลง 20 % และตายในที่สุด(fodstad et. Al., 1977) สารโปรตีนที่เป็นพิษในเมล็ดมะกล่ำตาหนูปริมาณเล็กน้อยก็สามารถฆ่าหนูได้ และยังมีผลทำให้อสุจิเคลื่อนที่ช้าลง มีผลทำให้เป็นหมันได้ (Ratanasaariya et.al., 1991) ดังนั้น จึงควรหาวิธีการสกัดสารพิษจากเมล็ดมะกล่ำตาหนู เพื่อนำมาผสมกับเหยื่อสูตรที่หนูชอบและยอมรับเหยื่อเพื่อใช้เป็นเหยื่อพิษต่อไป จากผลการศึกษาเหยื่อผสมสารสกัดกากเมล็ดชายังไม่ประสบผลสำเร็จ เนื่องจากในการผสมเหยื่อสารสกัดกากเมล็ดชาอัตราความเข้มข้นสูงกว่า8% เหยื่อมีรสชาดและกลิ่นที่หนูไม่ชอบ หนูไม่ยอมรับเหยื่อที่ให้จำเป็นต้องมีการวิจัยและพัฒนาเหยื่อต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการวิจัยมะกล่ำตาหนูผงและสารสกัดกากเมล็ดชากับหนูศัตรูพืช สรุปได้ว่าค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปาก(Acute Oral LD_{50}) ของมะกล่ำตาหนูผงที่มีต่อหนูพุกใหญ่ และหนูท้องขาวมีค่า 201.83 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 733.51 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปาก (Acute Oral LD_{50})ของสารสกัดกากเมล็ดชาที่มีต่อหนูพุกใหญ่ และหนูท้องขาวมีค่า 114.93 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมและ 389.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเหยื่อกากเมล็ดชาอัตรา 8 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้หนูท้องขาวบ้านตาย 10 เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้การทดสอบสัมฤทธิ์ผลตามเป้าหมายจึงควรมีการพัฒนาวิธี

สกัดสารพิษจากมะกล่ำตาหนู และกากเมล็ดชาให้ได้สารพิษมากขึ้นเพื่อทดสอบกับหนูศัตรูพืช และพัฒนาสูตรเหยื่อพิษกากเมล็ดชาและมะกล่ำตาหนูอัตราเหมาะสมที่หนูชอบและมีประสิทธิภาพกับหนูศัตรูพืช รวมทั้งศึกษาผลกระทบของสารเหล่านี้ต่อสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร.รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธาและเจ้าหน้าที่ของสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตสารธรรมชาติทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่กรุณาสกัดสารจากกากเมล็ดชาเพื่อใช้ในการวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณ คุณทัศวรรณ พุ่มกาหลง คุณสมเกียรติ กล้าแข็ง ข้าราชการและพนักงานทุกท่านของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา ที่ช่วยในงานวิจัยครั้งจนประสบผลสำเร็จลุล่วง

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2548. พืชฆ่าแมลงและพืชมีพิษบางชนิดในประเทศไทย. เอกสารวิชาการลำดับที่ 9/2548 ISBN : 974-403-140-9. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 69 หน้า.

นิจศิริ เรืองรังสี และ พยอม ตันติวัฒน์. 2534. พืชสมุนไพร. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์ กรุงเทพฯ. 243 หน้า.

นันทวัน บุณยประภัศร และอรนุช โชคชัยเจริญสุข. 2542. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน. กรุงเทพฯ : บริษัทประชาชน จำกัด หน้า 482.

วาสนา โตเลียง. 2548. ฤทธิ์ฆ่าหอยเชอรี่ *Pomacea canaliculata* Lamarck ของซาโปนินจากกากเมล็ดชา *Camellia oleifera* Abe. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ.

สุรัตนา อำนวยผล และ โสภณ เริงสำราญ. 2527. สารเคมีจากใบมะกล่ำตาหนู. รายงานผลการวิจัยเงินทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ. 60 หน้า.

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

Ankersmit, G.W. 1953. DDT resistance In *Plutella maculipennis*(Curt.). Java Bull. Ent. Res. 44:421-426.

Ellenhorn, MJ. and DG. Rds Barceloux. 1987. Medical Toxicology.New York, Elsevier Science Publishing Company,Inc. p. 1224 - 1225.

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., CambrWilkins.idge University Press, London. 333 p.

Fodstad, O; J.V. Johannessen; L. SchJerven; A. Pihl. 1979. Toxicity of Abrin and Ricin in Mice and Dog. J. of toxicology and Environmental Health. 5(6) :1073-1084.

Genest, K; A. Lavalle; E. Nera. 1971. Comparative acute toxicity of *Abrus precatorius* and Ormosia seeds in animals. Arzneim Forsch. 21(6) : 888-889.

Gunsolus, JM. 1955. Toxicity of Jequir bean. J. Amer Med Assoc. 157 : 779.

Hart, M. 1963. Jequirity bean poisoning. N Engl J. Med. 268 : 885-886.

http://www.budmgt.com/agri/agri01/golden-apple snail-control.html

http://www.medplant.mahidol.ac.th/document/13plants.asp

Lin, JY; CC. Chen; LT. Lin; TC Tung. 1969. Toxic action of abrin(protein). Tai-Wan I Ilsueh Hui Tsa Chih. 68(6):322-324.

Morton, J.F. 1970. Plants Poisonous to People. University of Miamey. p. 25.

Rakesh Sinha. 1990. Post-testicular antifertility effect of *Abrus precatorius* seed extract in albino rats. J. of Ethnopharmacology. 28 : 173-181.

Ratanasaariya, W.D.; A.S. Amarasekesa; N.S.D. Perera and G.A.S. Premakumara. 1991. Sperm antimotility properties of a seed extract of Abrus precatorius. J. of Ethnophamacology. 33 : 85-90.

Saxena, Y. 1990. Relative Toxicity of Three Acute Rodenticides against *Rattus rattus* Rufescens. J. of Bombay Natural History Society. 87(2) : 286-287.

Stripe, F and L. Barbieri . 1986. Molecular Mechanisms of Toxicity, Toxic Lectins from Plants. Human. Toxicology. 5(2) : 108-109.

ภาคผนวก

Table 1 Percent kill of the greater bandicoot rat (*Bandicota indica*),observed mortality,r and expected mortality,nP after crab's eye (*Abrus precatoriu* L .) powder as administered by stomach tube.

Dose of *Abrus* (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)		
60	1.7782	4.408	10	10	0.2770	1	2.770	-1.770	1.5643
100	2.0000	4.657	10	60	0.3660	6	3.660	2.340	2.3598
1000	3.0000	5.781	10	70	0.7825	7	7.825	-0.825	0.3999
2000	3.3010	6.119	10	90	0.8683	9	8.863	0.317	0.0879

Pool $X^2_{(2)} = 4.4119$

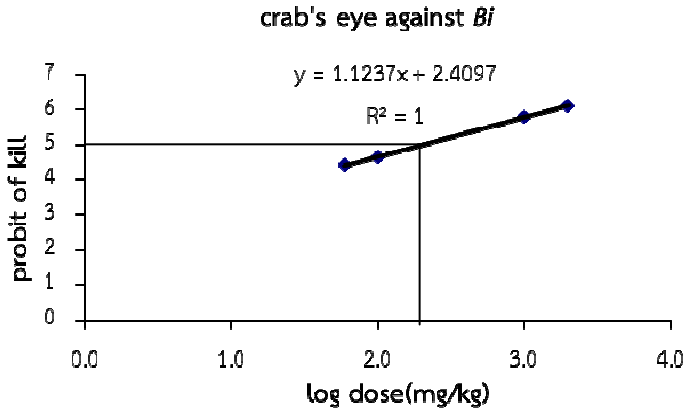

Figure 1 Dose-effect curve of crab's eye (*Abrus precatorius* Linn.) powder against the greater bandicoot rat (*Bandicota indica*)

Table 2 Percent kill of the roof rat(*Rattus rattus*),observed mortality,r and expected mortality,nP after after crab's eye (*Abrus precatorius* Linn.) powder as administered by stomach tube.

Dose of *Abrus* (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)		
50	1.6990	3.386	10	10	0.0533	1	0.533	0.4670	0.4322
500	2.6990	4.770	10	30	0.4089	3	4.089	-1.0890	0.4906
1500	3.1761	5.430	10	50	0.6664	5	6.664	-1.6640	1.2455
2000	3.3010	5.603	10	80	0.7267	8	7.267	0.7330	0.2705
2500	3.3979	5.737	10	90	0.7694	9	7.694	1.3060	0.9613

Pool $X^2_{(3)} = 3.4001$

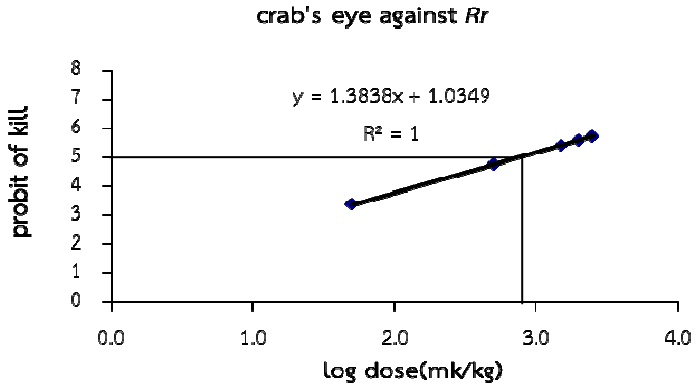

Figure2 Dose-effect curve of crab's eye (*Abrus precatorius* Linn.) powder against the roof rat (*Rattus rattus*)

Table 3 Percent kill of the greater bandicoot rat (*Bandicota indica*), observed mortality, r and expected mortality, nP after tea seed cake, *Camellia oleifera (L.)* extract as administered by stomach tube.

Dose of *Camelia* (mg/kg)	Log dose (x)	No. of rats (n)	%Kill	Probability (P)	No. affected		r-nP	$X^2=(r-nP)^2/nP(1-P)$
					Observed (r)	Expected (nP)		
50	1.6990	10	10	0.1384	1	1.384	-0.3840	0.1237
80	1.9031	10	30	0.3179	3	3.179	-0.1790	0.0148
100	2.0000	10	50	0.4278	5	4.278	0.7220	0.2130
150	2.1761	10	70	0.6361	7	6.361	0.6390	0.1764
300	2.4771	10	80	0.8950	8	8.950	-0.9500	0.9654
500	2.6990	10	100	0.9727	10	9.727	0.2730	0.2806

Pool $X^2_{(4)} = 1.7739$

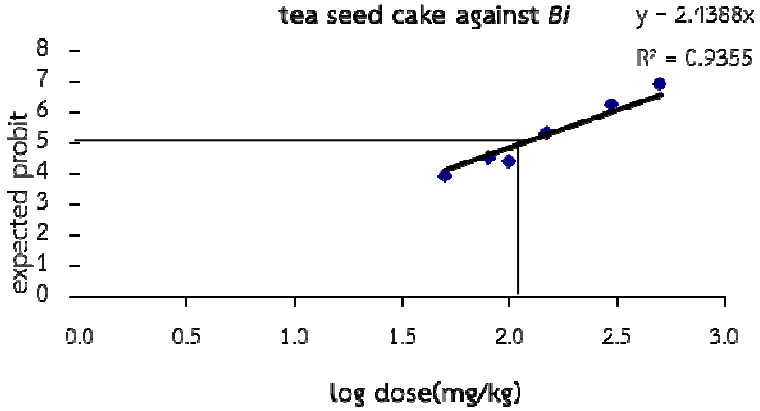

Figure 3 Dose-effect curve of tea seed cake, *Camelia oleifera* (L.) extract against the greater bandicoot rat (*Bandicota indica*)

Table 4 Percent kill of the roof rat (*Rattus rattus*),observed mortality,r and expected mortality, nP after tea seed Cake, *Camellia oleifera* (L.) extract as administered by stomach tube.

Dose of *Camelia* (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)		
200	2.3010	3.319	10	10	0.0464	1	0.464	0.536	0.6493
400	2.6021	5.066	10	30	0.5265	3	5.265	-2.265	2.0578
420	2.6232	5.189	10	40	0.5751	4	5.751	-1.751	1.2547
440	2.6435	5.307	10	60	0.6205	6	6.205	-0.205	0.0178
460	2.6628	5.419	10	70	0.6623	7	6.623	0.377	0.0635
480	2.6812	5.526	10	100	0.7006	10	7.006	2.994	4.2735

Pool $X^2_{(4)} = 8.3166$

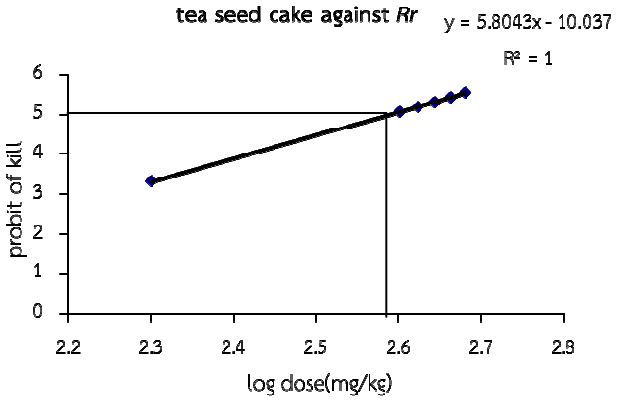

Figure 4 Dose-effect curve of tea seed cake,*Camelia oleifera* (L.) extract against the roof rat (*Rattus rattus*)

Table5 Acute oral toxcicity for *Camelia oleifera* extract and *Abrus precatorius* powder against 2 species of rat

Plant species	Rat species	Sex	Strain	Acute Oral LD_{50}(95 % C.L.) (mg/kg)
Abrus precatorius powder	*B.indica*	male and female	wild	201.83
Abrus precatorius powder	*R. rattus*	male and female	wild	733.51
Camelia oleifera 27.899% sapor	*B.indica*	male and female	wild	114.93
Camelia oleifera 27.899% saponin	*R. rattus*	male and female	wild	389.60

Table 6 Laboratory efficacy test of *Camelia* bait 4% and 8 % against the roof rat (*Rattus rattus*) by no choice feeding test continuous for 2 days and 10 rats (5M,5F) for each group

Conc. of *Camelia* bait (%)	Body weight(g)		Mortality (%)	Daily bait intake(g)		Lethal dose (g/kg)		Sublethal dose (g/kg)	
	Mean	Range		Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range
4	187.83 ±33.56	142.6 -242.3	0	17.13 ± 3.01	13.0 - 20.0	-	-	37.70±1.0	2.41- 4.59
8	143.03 ±16.23	120.5 -176.2	10	31.20±10.56	12.9 - 40.0	24.7	-	17.0± 6.29	6.45-23.46
check	170.31 ±11.56	144.8 -181.3	0	32.4 ± 2.520	27.1 -35.6	-	-	-	-

เมล็ดมะกล่ำตาหนู

กากเมล็ดชาผงและกากเมล็ดชาสกัด