ปริมาณของสารซาโปนินในกากเมล็ดชา *Camellia oleifera* Abel. และการออกฤทธิ์ต่อแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae)

Saponin Contents of Tea Seed Cake *Camellia oleifera* Abel. and Its Biological Activity on Blow Fly *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae)

ฟิตรีนา ดาราแม

Fitrina Daramae

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชากีฏวิทยา
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Entomology
Prince of Songkla University
2557

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ปริมาณของสารซาโปนินในกากเมล็ดชา *Camellia oleifera* Abel. และการออกฤทธิ์ต่อแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae)

Saponin Contents of Tea Seed Cake *Camellia oleifera* Abel. and Its Biological Activity on Blow Fly *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae)

ฟิตรีนา ดาราแม

Fitrina Daramae

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชากีฏวิทยา
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Entomology
Prince of Songkla University
2557

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ ปริมาณของสารซาโปนินในกากเมล็ดชา *Camellia oleifera* Abel. และการออกฤทธิ์ต่อแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae)

ผู้เขียน นางสาวฟิตรีนา ดาราแม

สาขาวิชา กีฏวิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

……..

(รองศาสตราจารย์ ดร.อรัญ งามผ่องใส)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.สุรไกร เพิ่มคำ)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.อนุชิต ชินาจริยวงศ์)

…….....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.อรัญ งามผ่องใส)

……กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.สุรไกร เพิ่มคำ)

…….....กรรมการ

(ดร.นริศ ท้าวจันทร์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชากีฏวิทยา

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้เป็นผลมาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และขอขอบคุณผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่านไว้ ณ ที่นี้

ลงชื่อ.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.อรัญ งามผ่องใส)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุรไกร เพิ่มคำ)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

ลงชื่อ.....
(นางสาวฟิตรีนา ดาราแม)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวฟีตรีนา ดาราแม)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์	ปริมาณของสารซาโปนินในกากเมล็ดชา *Camellia oleifera* Abel. และการออกฤทธิ์ต่อแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae)
ผู้เขียน	นางสาวฟีตรีนา ดาราแม
สาขาวิชา	กีฏวิทยา
ปีการศึกษา	2556

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณของสารซาโปนินในสารสกัดหยาบกากเมล็ดชา (*Camellia oleifera* Abel.) ลักษณะทางชีววิทยาของแมลงวันหัวเขียว (*Chrysomya megacephala* (Fabricius)) และผลของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่มีต่อแมลงวันหัวเขียวในห้องปฏิบัติการ โดยนำสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่สกัดด้วยวิธีแช่ยุ่ยในตัวทำละลายเมทานอลไปวิเคราะห์ปริมาณสารซาโปนินด้วยเครื่อง HPLC สารสกัดหยาบกากเมล็ดชามีองค์ประกอบของสารซาโปนิน 30.3% (w/w) ส่วนการศึกษาชีววิทยาของแมลงวันหัวเขียวที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการภายใต้อุณหภูมิเฉลี่ย 28.51±1.95 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 80.37±7.54% แมลงวันหัวเขียวใช้เวลาเจริญเติบโตในระยะไข่ ระยะหนอน และระยะดักแด้เฉลี่ยเท่ากับ 1.00±0.00, 5.94±0.40 และ 3.80±0.40 วัน ตามลำดับ อายุขัยเฉลี่ยของตัวเต็มวัยเพศเมียเท่ากับ 28.15±8.73 วัน สั้นกว่าของเพศผู้ซึ่งมีค่าเท่ากับ 32.38±9.92 วัน ส่วนผลของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาต่อการควบคุมแมลงวันหัวเขียวนั้น ได้ทดสอบผลต่อการวางไข่ ผลต่อการตายของหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย และผลต่อการแพร่ขยายพันธุ์ของแมลงวันหัวเขียว โดยทดสอบสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0.05% 0.1% 0.3% 0.5% 1.0% 3.0% 5.0% และ 10.0% เปรียบเทียบกับสารฆ่าแมลงไตรคลอฟอนต์ที่ความเข้มข้น 0.25% และชุดควบคุม (น้ำเปล่า) ผลการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบกากเมล็ดชาสามารถยับยั้งการวางไข่ได้ 2.77-32.68% ส่วนสารฆ่าแมลงไตรคลอฟอนต์ทำให้แมลงวันหัวเขียวตาย 100% ภายในเวลา 1 ชั่วโมงหลังจากทดสอบ จึงไม่พบการวางไข่แต่อย่างใด ส่วนผลต่อการตายของหนอนเมื่อจุ่มหนอนวัยที่ 3 ในสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากทดสอบสารเป็นเวลา 1 2 และ 3 วัน มีหนอนตายเฉลี่ยระหว่าง 0.0-20.0% 2.5-50.0% และ 2.5-55.0% ตามลำดับ ในขณะที่ไม่พบการตายของหนอนในชุดควบคุม และหนอนที่ได้รับสารทดสอบสามารถพัฒนาเข้าสู่ระยะดักแด้และตัวเต็มวัย เฉลี่ยระหว่าง 30.0-90.0% และ 12.5-62.5% ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมสามารถเข้าดักแด้ได้ 100% และพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย 95% ตามลำดับ นอกจากนี้หนอนที่ได้รับสารทดสอบใช้ระยะเวลา

ในการเข้าดักแด้นาน 4-7 วัน ส่วนหนอนในชุดควบคุมใช้เวลาในการเข้าดักแด้ 100% ภายในเวลา 3 วัน ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดหยาบกากเมล็ดชามีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอน ส่วนผลต่อการตายของดักแด้นั้น เมื่อจุ่มดักแด้ลงในสารทดสอบ มีดักแด้ตายเฉลี่ยอยู่ในช่วง 5.0-35.0% ในขณะที่ชุดควบคุมมีดักแด้ตายเฉลี่ย 2.5% เมื่อหยดสารทดสอบลงบนปล้องอกของแมลงวันตัวเต็มวัย หลังจากทดสอบสารเป็นเวลา 1 2 และ 3 วัน ตัวเต็มวัยตายเฉลี่ยระหว่าง 0.0-25.0% 0.0-40.0% และ 2.5-50.0% ตามลำดับ ในขณะที่ไม่พบการตายในชุดควบคุม ส่วนแมลงวันตัวเต็มวัยที่ได้รับสารทดสอบจากสารสกัดหยาบกากเมล็ดชา ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ของจำนวนไข่ที่วาง การพัฒนาของไข่ไปเป็นหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ระหว่างแมลงวันกลุ่มดังกล่าวกับชุดควบคุม ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำกากเมล็ดชามาประยุกต์ใช้ลดประชากรแมลงวันหัวเขียว อย่างไรก็ตามควรศึกษาเพิ่มเติมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมแมลงชนิดนี้

Thesis Title	Saponin Contents of Tea Seed Cake *Camellia oleifera* Abel. and Its Biological Activity on Blow Fly *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae)
Author	Miss Fitrina Daramae
Major Program	Entomology
Academic Year	2013

Abstract

The objectives of this study were to determine saponin content in the crude extracts of tea seed cake (*Camellia oleifera* Abel.), their bioactivity against blow fly *Chrysomya megacephala* (Fabricius) and its biological study. The crude extracts macerated in methanol were analyzed for saponin contents by using HPLC. Saponin content was 30.3% (w/w) in the crude extracts. Biology of *C. megacephala* was studied in a laboratory under average temperature and relative humidity of 28.51±1.95°C and 80.37±7.54%, respectively. Mean times required for growth of egg, larva and pupa were 1.00±0.00, 5.94±0.40 and 3.80±0.40 days, respectively. Longevity of female adults was 28.15±8.73 days, shorter than that of male adults being 32.38±9.92 days. Crude extracts of tea seed cake at different concentrations of 0.05% 0.1% 0.3% 0.5% 1.0% 3.0% 5.0% and 10.0% were tested for oviposition, mortality and fecundity of *C. megacephala* as compared to 0.25% of insecticide trichlofon and water as control. The results showed that crude extracts inhibited egg laying 2.77-32.68%, whereas there was no egg in trichlofon treatment due to death of female adults after an hour of exposure to trichlofon. Average percentages of mortality after dipping the 3rd instar larvae in different concentrations of crude extracts for 1, 2 and 3 days of exposure ranged from 0.0-20.0%, 2.5-50.0% and 2.5-55.0%, respectively. Mortality of larvae was absent in control. Treated larvae could develop to pupal and adult stages ranging from 30.0-90.0% and 12.5-62.5%, respectively. However, untreated larvae could develop to be 100% of pupae and 95% of adults, respectively. In addition, pupal development of treated larvae was delayed for 4-7 days, as compared to that of untreated larvae for 3 days. It suggests that crude extracts of tea seed cake showed an activity of insect growth regulator. Mortality of pupae after dipping them in different concentrations of crude extracts ranged from 5.0-35.0%, whereas that in control was 2.5%. Crude extracts were applied on thorax of adults and mortality was checked

after test for 1, 2 and 3 days. The mortality percentages were 0.0-25.0%, 0.0-40.0% and 2.5-50.0% after 1, 2 and 3 days of treatment, respectively. No mortality was observed in control. Fecundity as well as growth and development of larva, pupa and adult of treated female adults were not significantly different from those of control females. Therefore, tea seed cake can be possibly used to reduce the population of *C. megacephala*. However, its efficiency improvement should be further investigated to control this insect.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
Abstract	(7)
กิตติกรรมประกาศ	(9)
สารบัญ	(10)
รายการตาราง	(11)
รายการตารางผนวก	(12)
รายการภาพ	(14)
บทที่	
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	18
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	19
3. ผล และวิจารณ์	35
4. สรุป	61
เอกสารอ้างอิง	63
ภาคผนวก	72
ประวัติผู้เขียน	99

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	เวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตระยะต่างๆ อายุขัยของตัวเต็มวัย เวลาที่ใช้ในการเจริญพันธุ์และความสามารถในการวางไข่ ของแมลงวันหัวเขียว *Chysomya megacephala* ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 28.51±1.95 องศาเซลเซียสและความชื้นสัมพัทธ์ 80.37±7.54%	36
2	เปอร์เซ็นต์การตาย การวางไข่ และการยับยั้งการวางไข่ของแมลงวันหัวเขียวเพศเมียหลังสัมผัสอาหารที่ผสมสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ความเข้มข้นต่างๆ หลังเวลา 24 ชั่วโมง	44
3	เปอร์เซ็นต์การตายของหนอน การเจริญและพัฒนาเป็นดักแด้และตัวเต็มวัยของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya magacephala* หลังจากจุ่มหนอนวัยที่ 3 ลงในสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ความเข้มข้นต่างๆ	47
4	เปอร์เซ็นต์ดักแด้ที่ไม่เจริญและพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya magacephala* หลังจากจุ่มสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	51
5	เปอร์เซ็นต์การตายของตัวเต็มวัยแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya magacephala* ที่ตายหลังจากหยดสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ปล้องอกส่วนบน	53
6	เปอร์เซ็นต์การวางไข่และยับยั้งการวางไข่ของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* เพศเมีย หลังจากทดสอบด้วยสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	57
7	เปอร์เซ็นต์การพัฒนาเข้าสู่ระยะหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* ที่เจริญเติบโตในแต่ละระยะ หลังจากแมลงวันหัวเขียวตัวเต็มวัยได้รับสารทดสอบของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	59

รายการตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
1	ระยะเวลาการเจริญเติบโตของแมลงวันหัวเขียวในระยะไข่ หนอน และดักแด้	73
2	อายุขัยของแมลงวันหัวเขียวระยะตัวเต็มวัย	77
3	อายุก่อนวางไข่และจำนวนไข่ของแมลงวันหัวเขียวเพศเมีย	79
4	ความยาวตั้งแต่ส่วนหัวถึงส่วนท้ายของแมลงวันหัวเขียวในแต่ละระยะการเจริญเติบโต	80
5	ค่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ตั้งแต่เดือนสิงหาคม-ธันวาคม 2554	81
6	การวิเคราะห์ปริมาณสารซาโปนินในสารสกัดหยาบกากเมล็ดชา	88
7	จำนวนแมลงวันเพศเมียที่ตายหลังจากตอมตับวัวที่แช่สารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 1 วัน	88
8	ผลการวางไข่ของแมลงวันเพศเมียบนตับวัวที่แช่สารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 1 วัน	89
9	จำนวนหนอนแมลงวันที่ตายหลังจากจุ่มลงในสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 1 2 และ 3 วัน	90
10	จำนวนการเข้าดักแด้ของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* ที่เวลาต่างๆ หลังจากทดสอบสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	91
11	จำนวนหนอนที่เข้าดักแด้ทั้งหมด หลังจากทดสอบสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 1 วัน	92
12	จำนวนดักแด้ที่สามารถพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยทั้งหมด หลังจากทดสอบสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 1 วัน	93
13	จำนวนดักแด้ที่ตายหลังจุ่มลงในสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 1 วัน	94
14	จำนวนการตายของแมลงวันหัวเขียวหลังจากทดสอบโดยการหยดสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาลงบนปล้องอกที่เวลา 1 2 และ 3 วัน	95

รายการตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
15	จำนวนของแมลงวันเพศผู้และเพศเมียที่ตายหลังหยดสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ปล้องอกส่วนบนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 3 วัน	96
16	ผลของแมลงวันหัวเขียวตัวเต็มวัยต่อการวางไข่หลังทดสอบสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 3 วัน	97
17	ผลของแมลงวันหัวเขียวตัวเต็มวัยต่อการแพร่ขยายพันธุ์ในระยะต่างๆ หลังจากทดสอบสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 3 วัน	98

รายการภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของต้นและผลชา (ก) เมล็ดชา (ข) และกากเมล็ดชา (ค)	4
2	ส่วนประกอบของซาโปนิน	5
3	โครงสร้างโมเลกุลของซาโปนิน	6
4	รูปร่างลักษณะตัวเต็มวัยของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae)	10
5	วงจรชีวิตของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* (Fabricius)	11
6	ภาวะไมเอียซิส (myiasis) ในผิวหนังของหมู	13
7	หนอนแมลงวัน *Lucilia sericata* กัดกินเนื้อเยื่อที่ตายแล้วบริเวณเท้า (ลูกศรชี้)	15
8	กับดักล่อแมลงวัน (หัวกุ้ง) (ก) และกรงเลี้ยงแมลงวันหัวเขียว (ข)	21
9	เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ (data logger)	22
10	นมผงผสมน้ำตาลสำหรับเป็นอาหารของตัวเต็มวัย (ก) และเนื้อวัวสดสำหรับให้แมลงวันเพศเมียวางไข่ (ข)	22
11	ถ้วยให้น้ำสำหรับแมลงวันตัวเต็มวัย (ก) และไข่ตุ๋นสำหรับเลี้ยงตัวหนอนแมลงวัน (ข)	23
12	กล่องเลี้ยงหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala*	23
13	ขี้เลื่อยสำหรับการเข้าดักแด้ของหนอนระยะที่ 3	24
14	ถ้วยพลาสติกสำหรับเลี้ยงไข่ของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* จำนวน 100 ฟอง (1 ฟองต่อ 1 ถ้วย)	25
15	กระสอบบรรจุกากเมล็ดชา *Camellia oleifera* (ก) และลักษณะกากเมล็ดชา *Camellia oleifera* (ข)	26
16	เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนเพื่อระเหยตัวทำละลายออก	27
17	สารสกัดหยาบกากเมล็ดชา *Camellia oleifera*	27
18	การแยกชั้นระหว่างสารบิวทานอล (ส่วนบน) และน้ำ (ส่วนล่าง)	28
19	สารสกัดหยาบกากเมล็ดชา *Camellia oleifera* มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาล	29
20	เครื่องโครมาโทกราฟีแบบ High performance liquid chromatography (HPLC)	29
21	สารฆ่าแมลงไตรคลอฟอนต์ (trichlofon)	30

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
22	การทดสอบการวางไข่ของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* เพศเมีย บนตับวัวที่แช่สารทดสอบ	31
23	การทดสอบโดยวิธีการจุ่มหนอนแมลงวันหัวเขียวระยะที่ 3 ลงในสารทดสอบ (ก) และจุ่มดักแด้ลงในสารทดสอบ (ข)	32
24	การทำให้แมลงวันหัวเขียวสลบ (ก) การหยดสารสกัดหยาบลงบนปล้องอก แมลงวันหัวเขียวโดยใช้ไมโครปิเปต (ข)	33
25	กลุ่มไข่ของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* (ก) และไข่ของแมลงวัน 1 ฟอง (ข)	37
26	อวัยวะสำหรับกินอาหาร (ลูกศรชี้) ของหนอนระยะที่ 2 อายุ 2 วัน	38
27	หนอนระยะที่ 3 อายุ 4 วัน กำลังหดตัวสั้นลงเพื่อเตรียมเข้าสู่ระยะดักแด้ (ก) และดักแด้ในระยะแรก (ข)	38
28	ดักแด้แมลงวันหัวเขียว (ลูกศรชี้บริเวณรอยคอดระหว่างปล้องที่ 2-3 ของดักแด้ ซึ่งเป็นส่วนที่แมลงวันใช้ในการโผล่ออกมาเมื่อเจริญพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย)	39
29	ลักษณะตาประกอบของเพศผู้ (ตาชิด) และเพศเมีย (ตาห่าง) ของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala*	40
30	โครมาโตแกรมของสารซาโปนินมาตรฐาน	41
31	โครมาโตแกรมของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ใช้เมทานอล 40% และกรดอะซิติก 0.1% โดยมีอัตราการไหลของน้ำที่ 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ก: วิเคราะห์ครั้งที่ 1 ข: วิเคราะห์ครั้งที่ 2 ค: วิเคราะห์ครั้งที่ 3	42
32	เปอร์เซ็นต์การเข้าดักแด้ของหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya magacephala* หลังจากได้รับสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน	49
33	หนอนที่ตายจากการได้รับสารสกัดหยาบกากเมล็ดชา (วงกลมสีเขียว) และหนอนที่ตายในชุดควบคุม (วงกลมสีแดง)	50
34	เปอร์เซ็นต์การตายของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya magacephala* เพศผู้และเพศเมีย หลังจากทดสอบสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 1 2 และ 3 วัน	55

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

แมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* (Fabricius) เป็นชนิดที่พบมากที่สุดในประเทศไทย (Sucharit and Tumrasvin, 1981) มีการแพร่กระจายตัวอย่างกว้างขวาง ทั้งยังเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดปัญหาในทางการแพทย์ และสร้างความเสียหายต่อสัตว์เศรษฐกิจเป็นอย่างมาก (Ghandour, 1988; Gabre *et al*, 2005) เนื่องจากแมลงวันหัวเขียวเป็นตัวพาหะนำโรคที่สามารถนำเชื้อโรคได้หลากหลายชนิด เช่น เชื้อแบคทีเรีย ไวรัส โปรโตซัว และไข่ของหนอนพยาธิมาสู่ร่างกายมนุษย์ (Greenberg, 1973) นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มจำนวนประชากรได้อย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะในช่วงฤดูร้อนที่มีอุณหภูมิสูง ซึ่งเหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของแมลงวันระยะต่างๆ ดังนั้นการควบคุมจำนวนประชากรแมลงวันจึงนับว่าเป็นสิ่งจำเป็นอย่างมาก การควบคุมส่วนใหญ่นิยมเลือกใช้สารเคมี ซึ่งส่งผลให้เกิดการตกค้างของสารและก่อให้เกิดผลกระทบต่อสัตว์เลี้ยงรวมถึงคนด้วย ดังนั้นการเลือกใช้สารสกัดจากธรรมชาติเข้ามาช่วยในการควบคุมจึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจอย่างหนึ่ง ปัจจุบันมีการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรหลายชนิดในการกำจัดแมลง ทั้งขมิ้น หางไหล สาบเสือ ส้มป่อย และยาสูบ เป็นต้น สมุนไพรแต่ละชนิด มีสารออกฤทธิ์ในการฆ่าหรือไล่แมลงแตกต่างกันออกไป บ้างก็เป็นพิษต่อสัตว์และคน แต่มีสารชนิดหนึ่งที่มีการศึกษาแล้วพบว่าไม่เป็นพิษต่อคน แต่จะเป็นพิษรุนแรงกับสัตว์ชั้นต่ำและสัตว์เลือดเย็น คือ สารซาโปนิน (saponin) สมุนไพรที่มีสารซาโปนินเป็นองค์ประกอบสำคัญ ได้แก่ กากเมล็ดชา มะคำดีควาย บวบขม กลอย และหางไหล เป็นต้น โดยในกากเมล็ดชาจะพบสารซาโปนินถึง 11-18% (จรรยา ชัยเจริญพงศ์, 2552) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงเลือกใช้สารสกัดจากเมล็ดชาในการควบคุมแมลงวันหัวเขียว

กากเมล็ดชาได้มาจากการหีบน้ำมันออกจากเมล็ดของชาน้ำมัน *Camellia oleifera* Abel. ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจที่ได้รับความสนใจในประเทศไทย (นิรนาม, 2550) โดยมีต้นกำเนิดมาจากสาธารณรัฐประชาชนจีนที่มีการใช้ประโยชน์จากชาน้ำมันมานาน มีการนำเมล็ดมาผลิตเป็นน้ำมันชา ซึ่งเป็นน้ำมันที่มีคุณภาพสูง สามารถนำมาใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้แก่ แชมพู ครีม และโลชั่น เป็นต้น นอกจากประโยชน์ที่ได้จากส่วนของน้ำมันแล้ว ส่วนกากเมล็ดชาที่หีบเอาน้ำมันออก ยังมี

ประโยชน์ในการนำไปใช้กำจัดหอยเชอรี่ในนาข้าว และกำจัดปลาในนากุ้งกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย (บุณฑริกา ศิริ, ม.ป.ป.)

การศึกษาในครั้งนี้จึงนำสารสกัดหยาบกากเมล็ดชามาวิเคราะห์ปริมาณสารซาโปนินและทดสอบผลการออกฤทธิ์แบบต่างๆ ในการควบคุมแมลงวันหัวเขียว ได้แก่ ผลต่อการวางไข่และการฟักของไข่ ผลต่อการตายในแต่ละระยะการเจริญเติบโต และผลต่อการแพร่ขยายพันธุ์ของแมลงวันหัวเขียว

การตรวจเอกสาร

1. กากเมล็ดชา

1.1 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของชาน้ำมัน

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Camellia oleifera* Abel.

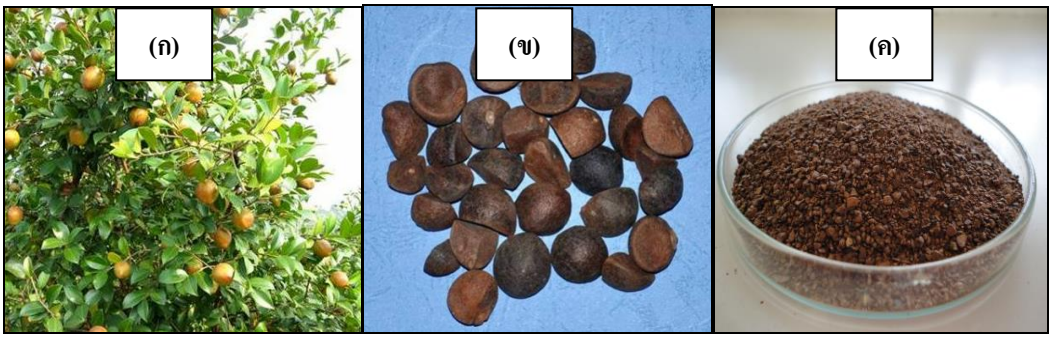
วงศ์ Theaceae

ชื่อสามัญ ชาน้ำมัน, Tea seed meal หรือ Tea seed cake

กากเมล็ดชา (tea seed cake) คือ กากที่ได้มาจากการหีบเอาน้ำมันออกจากเมล็ดของชาน้ำมัน (tea oil) ที่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Camellia oleifera* Abel. ส่วนชาที่ใช้ชงดื่มกันเป็นประจำได้จากใบพืชของชาน้ำมัน ซึ่งมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Camellia sinensis* หรือที่เราเรียกว่าชาจีน (tea plant) ซึ่งมีต้นกำเนิดมาจากสาธารณรัฐประชาชนจีน เป็นพืชที่พบกระจายทั่วไปในจีนตอนกลางและตอนใต้ (Gao *et al.,* 2010) นอกจากนี้ยังขึ้นได้ในแถบภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ตั้งแต่แถบเทือกเขาหิมาลัยไปจนถึงประเทศเกาหลี และอินโดนีเซีย ตามบริเวณป่าดงดิบ ไหล่เขาและริมลำธาร ที่ระดับความสูง 400-1,300 เมตร จากระดับน้ำทะเล และชาน้ำมันบางสายพันธุ์ยังสามารถขึ้นได้บนที่ราบสูงยูนนาน-กุ้ยโจว (Yunnan-Guizhou Plateau) ซึ่งมีความสูงประมาณ 2,000 เมตร (Shanan and Ying, 1982) ชาน้ำมันสามารถปลูกได้ทั้งใน สภาพดินเหนียว ดินร่วน ดินทราย ดินที่เป็นด่างและดินที่เป็นกรด มีการระบายของน้ำดี ปลูกได้ทั้งในที่กลางแจ้งและในที่ที่มีร่มเงา ต้นชาน้ำมันนี้ขึ้นได้ดีในบริเวณที่มีความชื้น และมีอุณหภูมิเฉลี่ยที่ 15-20 องศาเซลเซียส (Gilman and Watson, 1993)

1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ชาน้ำมันมีลักษณะเป็นไม้พุ่มขนาดใหญ่ (ภาพที่ 1ก) ลำต้นสูงประมาณ15-20 ฟุต ใบมีสีเขียวมันวาว ดอกมีสีขาว มีความกว้างประมาณ 2 นิ้ว และมีกลิ่นหอมอ่อนๆ (Chen, 2007) ภายในดอกของต้นชาน้ำมันมีเกสรเพศผู้และเพศเมียในดอกเดียวกัน มักออกดอกประมาณเดือนตุลาคมถึงเดือนเมษายน เมล็ดสุกเต็มที่ในเดือนกันยายน (นิรนาม, 2550) ส่วนของเมล็ด (ภาพที่ 1ข) มีน้ำมันซึ่งเป็นน้ำมันที่มีคุณภาพสูง มักนำไปใช้ในการผลิตสิ่งอุปโภคบริโภคหลายชนิด รวมถึงกากเมล็ดชา (ภาพที่ 1ค) ที่หีบเอาน้ำมันออกหมดแล้วก็ยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านเกษตรและประมงได้อีกด้วย นอกจากนี้ยังสามารถปลูกเพื่อเป็นไม้ประดับในการตกแต่งสถานที่ได้อย่างสวยงาม



ภาพที่ 1 ลักษณะของต้นและผลชา (ก) เมล็ดชา (ข) และ กากเมล็ดชา (ค)
ที่มา : He และคณะ (2010)

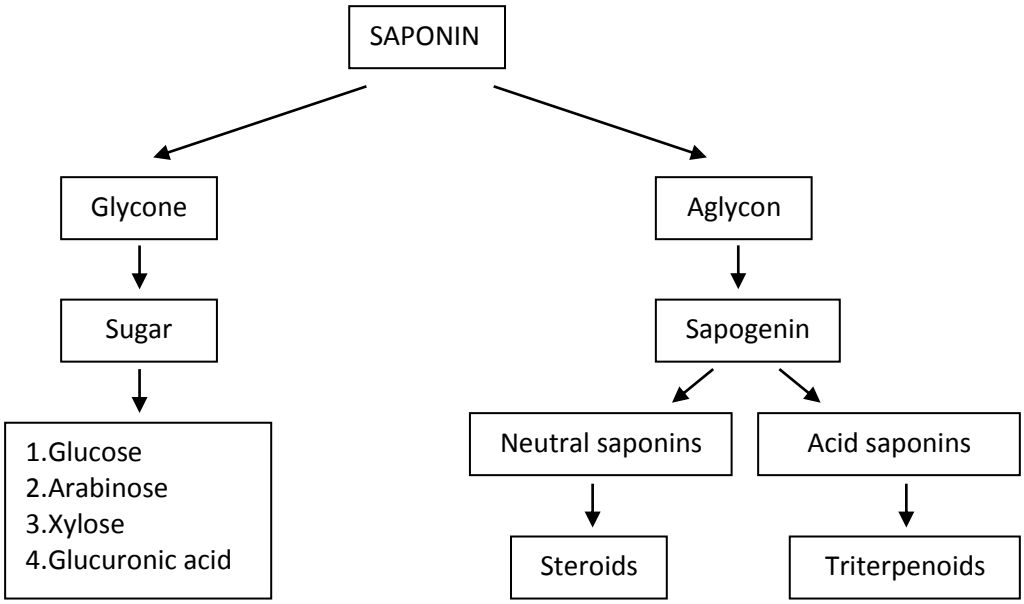
1.3 การปลูกชาน้ำมันในประเทศไทย

สำหรับในประเทศไทยนั้น ได้เริ่มปลูกชาน้ำมันครั้งแรกตามโครงการศึกษาและพัฒนาการปลูกชาน้ำมันของมูลนิธิชัยพัฒนาในปลายปี พ.ศ. 2549 โดยทางสาธารณรัฐประชาชนจีนได้น้อมเกล้าฯ ถวายเมล็ดพันธุ์จำนวน 2,500 กิโลกรัม และต้นกล้าชาน้ำมันอีก 40,000 ต้น แด่สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ปัจจุบันโครงการนี้ได้ขยายการปลูกในพื้นที่จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ และนครราชสีมาจำนวนกว่า 954,378 ต้น รวมพื้นที่กว่า 3,683 ไร่ อาทิ โครงการพัฒนาดอยตุงอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดเชียงราย พื้นที่ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (โป่งน้อย) พื้นที่แปลงชาน้ำมันบ้านโปง มหาวิทยาลัยแม่โจ้ พื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ จังหวัดนครราชสีมา พื้นที่สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ฯ จังหวัดเชียงใหม่ พื้นที่บ้านปางมะหัน บ้านปูนะ และพื้นที่ใกล้เคียง ตำบลเทอดไท อำเภอแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย (ไชยรัตน์ ส้มฉุน, 2553) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อแก้ไขปัญหาการปลูกฝิ่นของชาวบ้านและชาวเขาบนดอย อีกทั้งเป็นการป้องกันการกัดเซาะพังทลายของหน้าดินบริเวณริมฝั่งต้นน้ำลำธารได้เป็นอย่างดี

1.4 องค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ที่สำคัญของกากเมล็ดชา

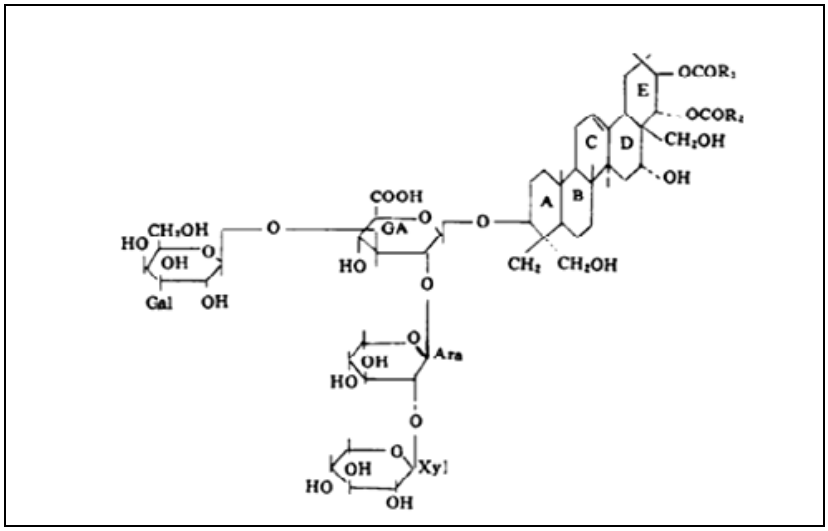
เมล็ดชาประกอบไปด้วยโปรตีน สารกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenol) โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharides) สารประกอบอื่นๆ (Wang and Wei, 1990) และซาโปนิน (saponin) (Sugimoto *et al*., 2009) สารออกฤทธิ์หลักในเมล็ดชา คือ สารซาโปนิน ซึ่งประกอบด้วย 2 ส่วน คือ อะไกลโคน (aglycone) และไกลโคน (glycone) (ภาพที่ 2) อะไกลโคน เรียกชื่ออีกอย่างหนึ่งว่าซาโปจินิน (sapogenin) ซึ่งเป็น

สารในกลุ่มไตรเทอร์ปีนส์ (triterpenes) สเตียรอยด์ (steroids) หรือสเตียรอยด์อัลคาลอยด์ (steroid-alkaloids) (นิรนาม, 2553)



ภาพที่ 2 ส่วนประกอบของซาโปนิน

โครงสร้างโมเลกุลของสารซาโปนิน คือ $C_{57}H_{90}O_{26}$ (ภาพที่ 3) มีส่วนประกอบของคาร์โบไฮเดรต เป็นน้ำตาล xylose, glucose, galactose และ galactonic acid ในเมล็ดชามีสารซาโปจินินอยู่ 5 ตัว คือ theasapogenal A, B, C, D และ E สารซาโปนินมีคุณสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีอิออน (non-ionic surfactant) ทำให้เกิดฟองได้ดี มีรสขมและเผ็ดทำให้เกิดการระคายเคืองต่อตาและจมูกได้ ซาโปนินที่ได้จากชามักมีลักษณะเป็นผลึกสีขาวดูดความชื้น ได้ง่าย มีจุดหลอมเหลวที่ 224 องศาเซลเซียส ละลายได้ดีในสารละลาย เมธิลแอลกอฮอล์ เอธิลแอลกอฮอล์ และกรดอะซิติกเข้มข้น เป็นต้น (บุณฑริกา ศิริ, ม.ป.ป.)



ภาพที่ 3 โครงสร้างโมเลกุลของซาโปนิน
ที่มา : He และคณะ (2010)

จรรยา ชัยเจริญพงศ์ (2552) ได้สกัดกากเมล็ดชาด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ แล้วนำไปแยกองค์ประกอบเบื้องต้นของสารสกัด หลังจากนั้นนำแต่ละส่วนของสารสกัดไปทดสอบกับหอยเชอรี่ คัดเลือกสารสกัดที่มีฤทธิ์ฆ่าหอยเชอรี่มาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีการทางโครมาโทกราฟี จากผลการศึกษาสามารถแยกสารซาโปนินออกได้ 3 ชนิด คือ camelliasaponin 1 theasaponin E1 และ theasaponin E2

1.5 ผลของสารซาโปนินที่มีต่อสิ่งมีชีวิต

สารซาโปนินมีความเป็นพิษของต่อสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ ที่แตกต่างกัน ดังนี้

1.5.1 เป็นพิษสูงต่อสัตว์เลือดเย็นมากกว่าสัตว์เลือดอุ่น เช่น ปลา หอย กบ และสัตว์ที่หายใจด้วยเหงือก โดยทำให้เกิดอัมพาตที่เหงือก ทำให้ไม่สามารถหายใจได้ และตายในที่สุด

1.5.2 มีผลต่อระบบประสาท คือ ทำให้เกิดอาการสั่นและกระตุกอย่างรุนแรงต่อมากล้ามเนื้ออ่อนเพลียและเป็นอัมพาต นอกจากนี้ยังมีผลต่อศูนย์ประสาทที่ควบคุมการหายใจของสัตว์เลือดเย็น (Sollamn, 1964)

1.5.3 มีผลต่อระบบเลือด คือ มีความเป็นพิษสูงมาก หากถูกฉีดเข้าสู่ร่างกาย เนื่องจากสารซาโปนินมีผลทำให้เกิดการแตกตัวของเม็ดเลือดแดง ทำให้เกิดการสลายตัวของเม็ดเลือดแดง (Alstead, 1938; Chopra *et al.,* 1965)

1.5.4 มีผลต่อการลอกคราบของแมลง คือ สารซาโปนินมีผลทำให้แมลงไม่สามารถลอกคราบเพื่อเปลี่ยนแปลงรูปร่างได้ตามปกติ (Geyter *et al*, 2007)

1.5.5 สารซาโปนินมีคุณสมบัติก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อเยื่อเมือก (mucus membrane) สำหรับในคนหรือสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมนั้น ทำให้เกิดการระคายเคืองต่อจมูกและจามออกมา ต่อมน้ำลายจึงขับน้ำลายออกมามากกว่าปกติ แต่ไม่มีอันตรายต่อร่างกายหากได้รับสารซาโปนินโดยการกินหรือกลืนเข้าไป เนื่องจากสารซาโปนินสามารถสลายตัวได้เองด้วยกระบวนการไฮโดรไลซิส กลายเป็นน้ำตาล และอะไกลโคนหรือซาโปจินิน ที่ทำให้ความเป็นพิษของซาโปนินลดลง แต่อาจเกิดผื่นคันบริเวณผิวหนังได้ (นิรนาม, 2553)

1.6 การใช้ประโยชน์จากเมล็ดชาน้ำมัน

1.6.1 ประโยชน์ทางการเกษตร

ในทางการเกษตรและการประมงนั้น พิษของซาโปนินจากกากเมล็ดชามีผลต่อสัตว์ชั้นต่ำและสัตว์เลือดเย็น เช่น ปลา หอย กบ และสัตว์ที่หายใจด้วยเหงือก ทำให้เกิดอัมพาตที่เหงือก ปลาไม่สามารถเปิดปิดกระพุ้งแก้มเพื่อแลกเปลี่ยนออกซิเจนได้ จึงทำให้ปลาขาดออกซิเจนในการหายใจและตายในที่สุด จึงนิยมนำมาใช้เป็นยาเบื่อปลาและฆ่าหอยเชอรี่ได้ ปัจจุบันกากเมล็ดชาเป็นที่นิยมในทางการประมงเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะในบ่อเลี้ยงกุ้งทะเลหรือกุ้งกุลาดำมีการใช้กากเมล็ดชาเพื่อเบื่อปลาซึ่งเป็นศัตรูสำคัญที่แย่งอาหารของกุ้ง และกินกุ้งเป็นอาหาร นอกจากนี้กากเมล็ดชายังสามารถช่วยกระตุ้นการลอกคราบของกุ้ง และควบคุมสีของน้ำในบ่อเลี้ยง รวมถึงควบคุมปริมาณของแพลงตอนพืชอีกด้วย (นันทิยา โพธิ์สวัสดิ์, 2543) ส่วนในทางการเกษตรนั้น กากเมล็ดชามีคุณสมบัติใช้เป็นสารกำจัดศัตรูพืชที่ใช้กำจัดแมลงและโรคพืช (Wina *et al.*, 2005) ปัจจุบันนิยมนำมาใช้กำจัดแมลงในสนามกอล์ฟ (นิรนาม, 2555)

1.6.2 ประโยชน์ในทางด้านเครื่องอุปโภคบริโภค

น้ำมันจากเมล็ดชาสามารถนำไปผลิตแชมพูสระผม สบู่ เครื่องสำอางบำรุงผิวพรรณได้ดี เนื่องจากมีสารประกอบหลักที่ช่วยทำให้ผิวอ่อนนุ่ม ชุ่มชื่น หรือนำมาใช้ประกอบอาหารต่างๆ ได้ และสามารถนำไปใช้ทากันสนิมอุปกรณ์เครื่องมือและมีดดาบได้ ส่วนกากเมล็ดชาที่หีบเอาน้ำมันออกแล้วมีลักษณะเป็นก้อนกลมแบน ซึ่งนำไปแปรรูปต่อได้หลายรูปแบบ เช่น นำมาบดเป็นแผ่นเล็กๆ (sheet) บดเป็นเม็ดหยาบ (pellet) หรือแบบผง (powder) สามารถนำไปใช้เป็นสารลดแรงตึงผิว สารทำความสะอาด และสารเคลือบกันขูดขีด เป็นต้น

1.6.3 ประโยชน์ทางการแพทย์

น้ำมันชาได้รับสมญานามว่า “น้ำมันมะกอกแห่งตะวันออก” เนื่องจากน้ำมันที่ได้จากเมล็ดชาเป็นน้ำมันที่มีคุณภาพสูงเทียบเท่าได้กับน้ำมันมะกอก (olive oil) เพราะมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงและมีสัดส่วนของกรดไขมันชนิดต่างๆ ใกล้เคียงกัน (Long and Wang, 2008) เมล็ดชา 1 กิโลกรัม ได้น้ำมันชาประมาณ 300-500 มิลลิลิตร น้ำมันจากเมล็ดชามีสรรพคุณทางการแพทย์ช่วยสร้างระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย ป้องกันโรคเบาหวาน ลดความดันในกระแสเลือด ลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด และช่วยป้องกันโรคไขมันอุดตันในหลอดเลือดหัวใจได้ (ไชยรัตน์ ส้มฉุน, 2553) นอกจากนี้สามารถนำไปทำเป็นยารักษาโรคผิวหนังที่เกิดจากเชื้อราได้ เนื่องจากลักษณะโครงสร้างของตัวยานี้เป็นสารพวกไกลโคไซด์ที่คล้ายสารซาโปนิน ซึ่งเป็นยาที่มีฤทธิ์สูงในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคผิวหนัง ในประเทศจีน ชาวบ้านมักนิยมนำกากเมล็ดชามาต้มแล้วนำมาแช่มือ แช่เท้า เพื่อรักษาเชื้อราตามบริเวณเล็บมือ และเล็บเท้า (นันทิยา โพธิ์สวัสดิ์, 2543)

1.7 การศึกษาการใช้สารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรต่างๆ ที่มีซาโปนินเป็นสารออกฤทธิ์ในการควบคุมแมลง

มีการนำพืชชนิดต่างๆ ที่มีองค์ประกอบของสารซาโปนินมาทดสอบผลในการควบคุมแมลง โดยปาริชาต อุปทุม (2552) สารซาโปนินจากสารสกัดหยาบกากเมล็ดชา (*Camellia sinensis*) ที่สกัดโดยวิธีการแช่ยุ่ย (maceration) และวิธีสกัดแบบซอกเลต (Soxhlet) มีพิษต่อหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* L.) โดยสารสกัดหยาบจากทั้ง 2 วิธี มีพิษต่อหนอนใยผักไม่แตกต่างกัน โดยวิธีการแช่มีค่า LC_{50} เท่ากับ 115.4 ppm และวิธีการซอกเลตมีค่า LC_{50} เท่ากับ 115.0 ppm และ Kawai และคณะ (1999) สกัดสารซาโปนินจากสารสกัดหยาบกากเมล็ดชา *Camellia* sp. ควบคุมหนอนผีเสื้อ *Adoxophyes honmai* และไรแมงมุม *Tetranychus urticae* โดยไม่มีผลต่อการตายของหนอนผีเสื้อ แต่มีผลต่อการตายในระยะตัวอ่อนของไรแมงมุม และมีผลต่อการวางไข่ของไรแมงมุม สำหรับในแมลงกลุ่มขาเดินพบว่า สามารถรับพิษได้โดยการสัมผัสสารซาโปนินที่ตกค้าง โดย Tangchitphinitkan และคณะ (2007) ใช้สารสกัดหยาบกากเมล็ดชา *Camellia* sp. ฆ่ามด *Monomorium pharaonis* (Linnaeus) ได้ถึง 70% โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.55 % w/v หลังจากทดสอบ 24 ชั่วโมง และแมลงที่อาศัยในน้ำหากได้รับพิษจากสารซาโปนิน จะมีอัตราการตายสูงกว่าแมลงที่อาศัยบนบก โดย Pelah และคณะ (2002) ใช้สารซาโปนินทางการค้าที่สกัดจากต้น *Quillaja saponaria* กำจัดลูกน้ำยุง โดยทำให้ลูกน้ำยุงลายบ้าน *Aedes aegypti* และยุงรำคาญ *Culex pipiens* ตาย 100% หลังวันที่ 1 และ 5 ที่ระดับความเข้มข้น 800 และ 1,000 ppm ตามตามลำดับ และเช่นเดียวกันกับ

Chapagain และ Wiesman (2005) ผลสารสกัดหยาบซาโปนินและผลของสารสกัดจากส่วนผล (mesocarb) ของพืช *Balanites aegyptiaca* สามารถยับยั้งการเกิดของยุงลายได้มากที่สุดถึง 50%

จากข้อมูลการศึกษาดังกล่าวข้างต้นอาจกล่าวได้ว่า สารซาโปนินสามารถออกฤทธิ์ควบคุมแมลงได้ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ จึงได้นำกากเมล็ดชาเข้ามาใช้ในการควบคุมแมลงวันหัวเขียวเพื่อลดการใช้สารฆ่าแมลง

2. แมลงวันหัวเขียว

ข้อมูลทางอนุกรมวิธาน

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Chrysomya megacephala* (Fabricius)

วงศ์ Calliphoridae

ชื่อสามัญ Blow fly, Blue bottle และ Green bottle

2.1 ลักษณะทั่วไปของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* (Fabricius)

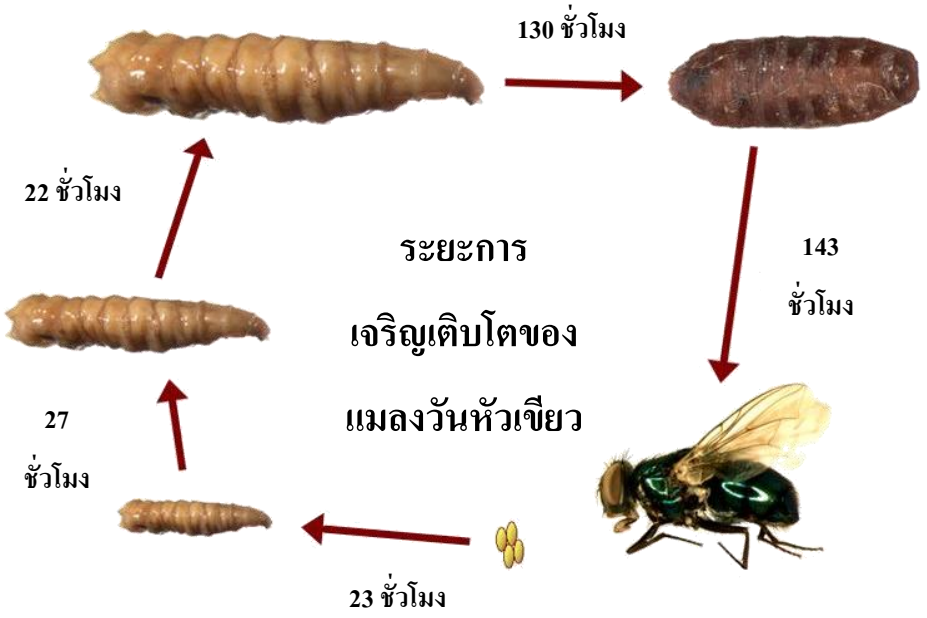
แมลงวันหัวเขียวมีรูปร่างคล้ายแมลงวันบ้าน แต่มีลำตัวขนาดใหญ่กว่าแมลงวันบ้าน (ภาพที่ 4) แมลงวันหัวเขียวเป็นแมลงวันที่มีลำตัวใหญ่ขนาดกลาง ลักษณะเด่น คือ ลำตัวส่วนอกและท้องมันวาวสีเขียวสะท้อนแสง จึงเรียกแมลงวันชนิดนี้ว่าแมลงวันหัวเขียวทั้งๆ ที่ส่วนเขียวเป็นส่วนอกไม่ใช่ส่วนหัว บริเวณหน้าของแมลงวันหัวเขียวมีสีส้มและมีขนสั้นๆ สีเหลืองอ่อนปกคลุม ตัวเต็มวัยมีความยาววัดตั้งแต่ส่วนหัวจนถึงส่วนท้องประมาณ 10-12 มิลลิเมตร บริเวณปล้องท้องมีแผ่นแข็งลักษณะเป็นแถบแคบๆ สีเข้ม บริเวณหน้าผากมี frons แคบอย่างชัดเจน (Lane and Croskey,1993)

ภาพที่ 4 รูปร่างลักษณะตัวเต็มวัยของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae)

ที่มา : Strickland และ Strickland (2008)

2.2 วงจรชีวิตของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* (Fabricius)

เผด็จ สิริยะเสถียร และนันทนา ศิริทรัพย์ (2548) รายงานว่า แมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* แพร่กระจายอยู่ทั่วไปตามแหล่งอาหารและแหล่งเพาะพันธุ์ที่มีความชื้นสูงกว่าแมลงวันบ้าน ตัวเต็มวัยมักอาศัยในบริเวณบ้านและตอมสิ่งปฏิกูลเป็นอาหาร แมลงวันตัวเมียวางไข่เป็นกลุ่มประมาณ 50-100 ฟอง ใช้เวลาประมาณ 12 ชั่วโมง ไข่จึงฟักออกเป็นหนอนวัยที่ 1 หนอนแมลงวันใช้คำเรียกเฉพาะว่า maggot ส่วนหัวมีขนาดเล็ก มีอวัยวะที่ใช้กินอาหารเรียกว่าตะขอ (hook) อยู่ 1 คู่ ส่วนท้ายของหนอนมีลักษณะป้าน โดยมีท่อหายใจ (posterior spiracle) อยู่ 1 คู่ ตัวหนอนมีการลอกคราบ 2 ครั้ง คือ จากหนอนวัยที่ 1 ลอกคราบเพื่อเปลี่ยนขนาดรูปร่างกลายเป็นหนอนวัยที่ 2 และ 3 ตามลำดับ หนอนวัยที่ 3 เมื่อโตเต็มที่หยุดกินอาหาร และเริ่มออกจากอาหารโดยหนอนเคลื่อนที่ไปยังที่มืดและแห้งเพื่อเข้าสู่ระยะดักแด้ (pupa) เพื่อเตรียมตัวในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นแมลงวันตัวเต็มวัย (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 วงจรชีวิตของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* (Fabricius)
ที่มา: Anonymous (2006)

2.3 การกระจายตัวทางภูมิศาสตร์

แมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* สามารถปรับตัวต่อสภาพอุณหภูมิที่แตกต่างได้ดีมาก ทำให้มีการกระจายตัวอยู่เป็นจำนวนมากในหลายภูมิภาคของโลก (คม สุคนธสรรพ์ และกาบแก้ว สุคนธสรรพ์, 2553) แมลงวันชนิดนี้มีจำนวนมากที่สุดในช่วงฤดูร้อน และลดน้อยลงในช่วงฤดูหนาว สำหรับในประเทศไทยแมลงวันหัวเขียวชนิดนี้เป็นสายพันธุ์เด่นที่พบมากที่สุด (Sucharit and Tumrasvin, 1981)

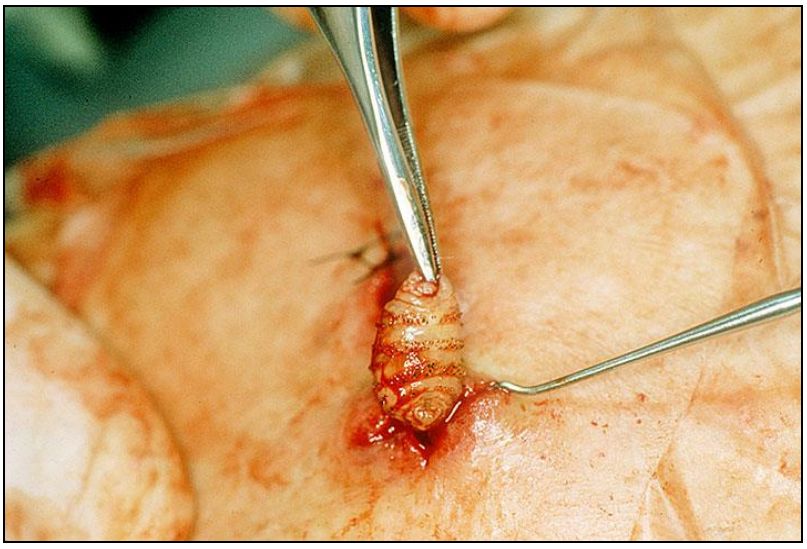
2.4 ปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแมลงวันหัวเขียว

การเจริญเติบโตของหนอนแมลงวันขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น อุณหภูมิ ความชื้น และอาหารที่ใช้เลี้ยงหนอนแมลงวัน เป็นต้น แต่ปัจจัยที่มีความสำคัญมากที่สุด คือ อุณหภูมิ (Wells and Kurahashi, 1994; Grassberger and Reiter, 2001, 2002) ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแมลงวันอยู่ที่ 21.0-37.8 องศาเซลเซียส (Anderson, 2000; Grassberger and Reiter, 2002; Lefebvre and Pasquerault, 2004; Berkebile *et al.,* 2006) ส่วนความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแมลงวันมีค่าอยู่ระหว่าง 60-95% โดยพบว่าที่ความชื้นสัมพัทธ์ 60% ไข่จะพัฒนาไปเป็นตัวเต็มวัยได้เร็วที่สุดภายในเวลา 9.19±0.3 วัน (Grassberger and Reiter, 2002) และอาหารที่ใช้เลี้ยงที่ก็มีผลต่อการเจริญเติบโตของแมลงวันเช่นกัน เนาสรัตน์ สุขะพันธุ์ และชิตาภา เกตวัลห์ (2527) เลี้ยงแมลงวันในงานทดลองโดยใช้อาหารแตกต่างกัน 3 ชนิด คือ อาหารผสมเนื้อวัวสดแช่น้ำ และอาหารผสมกับเนื้อวัวแช่น้ำ ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยการเลี้ยงด้วยอาหารผสมกับเนื้อวัวแช่น้ำ ทำให้เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของหนอนแมลงวันไปเป็นตัวเต็มวัยมีปริมาณสูงสุด

2.5 โทษของแมลงวันหัวเขียว

แมลงวันหัวเขียวมักก่อความรำคาญให้กับมนุษย์และสัตว์ ชอบบินมาตอมตามร่างกายและอาหาร นอกจากนี้ยังเป็นพาหะนำเชื้อโรคหลายชนิด โดยที่แมลงวันหัวเขียวสามารถเป็นพาหะนำโรคได้มากกว่าแมลงวันบ้าน ซึ่งแมลงวันหัวเขียวชนิด *C. megacephala* เป็นตัวพาหะที่นำเชื้อโรคมากที่สุดในกลุ่มแมลงวันหัวเขียวด้วยกัน โดยเป็นพาหะนำเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคในลำไส้ของคน (Greenberg, 1971, 1973) เชื้อสำคัญที่ถูกนำโดยแมลงวันหัวเขียว ได้แก่ อหิวาตกโรค บิด ไข้รากสาด และเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหารและไข่พยาธิบางชนิด ในประเทศมาเลเซีย แมลงวันหัวเขียวชนิดดังกล่าวเป็นพาหะสำคัญที่นำไข่พยาธิเข้ามาสู่มนุษย์ (Sulaiman *et al*., 1988, 1989) โดยเชื้อโรคหรือไข่พยาธิจะติดตามส่วนต่างๆ ของลำตัวแมลงวัน เช่น ขา ปาก ลำตัว

ซึ่งปกคลุมไปด้วยขนจำนวนมาก Greenberg (1973) พบสปอร์ของเชื้อ *Penicillium* ติดบริเวณขนของแมลงวันหัวเขียว นอกจากนี้เชื้อโรคบางชนิดยังสามารถเข้าไปอาศัยอยู่ในทางเดินอาหารของแมลงวัน และถูกขับถ่ายหรือสำรอกออกมาขณะที่แมลงวันตอมอาหาร นอกจากนี้หนอนแมลงวันยังสามารถทำให้เกิดโรคได้ โดยชอนไชเข้าไปในเนื้อเยื่อของคนหรือผิวหนังของสัตว์เศรษฐกิจ ได้แก่ วัว ควาย หมู และแพะ เป็นต้น ภาวะที่มีหนอนแมลงวันอาศัยอยู่ในร่างกายของคนหรือสัตว์แบบนี้เรียกว่า ไมเอียซิส (myiasis) (Wells, 1991) (ภาพที่ 6) ในประเทศซาอุดิอาระเบีย แมลงวันหัวเขียว *C. bezziana* และ *Achoetandrus albiceps* เป็นสาเหตุของโรคไมเอียซิสในฝูงแกะ (Alahmed, 2004) นอกจากนี้ยังมีการเกิดโรคไมเอียซิสในสัตว์เลี้ยง เช่น โรคไมเอียซิสในสุนัข ซึ่งมีสาเหตุจากหนอนแมลงวันหัวเขียว *Lucilia sericata* และ *Achoetandrus albiceps* โดยพบหนอนแมลงวันได้บริเวณบาดแผลหรือเยื่อเมือก และหนอนของแมลงวัน *Lucilia sericata* ในแมว (Schnur *et al.,* 2009)



ภาพที่ 6 ภาวะไมเอียซิส (myiasis) ในผิวหนังของหมู

ที่มา : Anonyumous (2011)

2.6 ประโยชน์ของแมลงวันหัวเขียว

แม้ว่าแมลงวันหัวเขียวส่วนใหญ่มักให้โทษ แต่มีประโยชน์ต่อมนุษย์เช่นกัน โดยแมลงวันหัวเขียวมีประโยชน์มากมาย ดังนี้

2.6.1 ประโยชน์ในทางการเกษตร

ในทางการเกษตรแมลงวันหัวเขียวช่วยผสมเกสรดอกไม้ได้ มีการใช้แมลงวันหัวเขียวผสมเกสรของต้นหอม (Jones and Emsweller, 1934) และสตรอเบอรี่ โดยปล่อยแมลงวันหัวเขียวในโรงเรือนที่ปลูกสตรอเบอรี่และให้แมลงวันหัวเขียวช่วยผสมเกสร ซึ่งสะดวกกว่าการผสมด้วยมือ (Porter, 1977) นอกจากนี้ ในประเทศออสเตรเลียว่า แมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* มีความสำคัญในการผสมเกสรในมะม่วง (Anderson *et al*., 1982) และในประเทศไต้หวันชาวนาส่วนใหญ่ขยายพันธุ์แมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ให้มีจำนวนเพิ่มขึ้นเพื่อให้มะม่วงติดผลมากขึ้น (Hu *et al.*, 1995) แต่มีข้อจำกัดในการใช้แมลงวันหัวเขียวในการผสมเกสร คือ แมลงวันหัวเขียวชอบตอมดอกไม้ที่มีสีสันไม่ฉูดฉาด (Faegri and Van, 1971) ดังนั้นหากต้องใช้ตัวเต็มวัยแมลงวันหัวเขียวช่วยผสมเกสรจำเป็นต้องเลือกชนิดของพืชที่เหมาะสม จึงเกิดประโยชน์สูงสุด

2.6.2 ประโยชน์ทางการแพทย์และนิติกีฏวิทยา

แมลงวันหัวเขียวสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์และนิติกีฏวิทยา (Tantawi *et al*. 1996; Desouza and Linhares 1997; Centeno *et al*. 2002) โดยในทางการแพทย์ ได้มีการใช้หนอนแมลงวันช่วยรักษาแผลเน่าเปื่อยเรื้อรังในคนได้ ซึ่งอาจเป็นแผลที่เกิดจากอาการของโรคแผลในกระดูกอักเสบเป็นหนอง (Sherman and Pechter, 1988) แผลในผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน (Jarczyk *et al.*, 2008) หรือแผลที่เกิดจากการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะหรือผ่าตัดไม่ได้ผล โดยแพทย์ให้หนอนแมลงวันขนาดเล็กกัดกินเนื้อเยื่อที่ตายแล้ว ซึ่งช่วยทำให้แผลหายเร็วขึ้น (ภาพที่ 7) หนอนแมลงวันที่นำมาใช้รักษาบาดแผลนั้น เป็นหนอนของแมลงวันกลุ่มที่มีพฤติกรรมในการกินเฉพาะเนื้อเยื่อที่ตายแล้วหรือเนื้อที่เน่า โดยไม่กินส่วนของเนื้อดีที่ยังมีชีวิตอยู่ ได้แก่หนอนของแมลงวันหัวเขียว *Lucillia sericata* (Meigen)*, Lucillia illustris* (Meigen) หรือ *Phormia regina* (Meigen) โดยหนอนของแมลงวัน *L. sericata* ถูกนำมาใช้ในการรักษาบาดแผลโรคเน่าเปื่อยมากที่สุด (Sherman, 2000)

ภาพที่ 7 หนอนแมลงวัน *Lucilia sericata* กัดกินเนื้อเยื่อที่ตายแล้วบริเวณเท้า (ลูกศรชี้)
ที่มา : Rohini (2010)

ส่วนประโยชน์ในทางนิติกีฏวิทยานั้น ระยะหนอนของแมลงวันหัวเขียวสามารถนำไปประมาณเวลาการตายของศพ (Post-Mortem Interval, PMI) หรือบางครั้งเรียกว่า minimum time since death (คม สุคนธสรรพ์ และกาบแก้ว สุคนธสรรพ์, 2553) การประมาณระยะดังกล่าวเป็นเพียงค่าประมาณเท่านั้น ทั้งนี้อาจไม่ใช่เวลาที่แท้จริงของการตายของศพ (Nabity *et al*, 2006) เมื่อมีการตายเกิดขึ้นแมลงวันหัวเขียวบินมาที่ศพและเริ่มต้นวางไข่ภายในไม่กี่นาทีหลังจากการตายเกิดขึ้น (Anderson and Van Laerhoven, 1996) โดยแมลงวันหัวเขียวเป็นสัตว์ขาปล้องกลุ่มแรกที่เข้ามาถึงศพและวางไข่ (Catts, 1992) เนื่องจากมีอวัยวะในการรับกลิ่นดีมาก (Sukontason *et al,* 2004) ทำให้ทราบตำแหน่งของซากศพได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งนักนิติกีฏวิทยาสามารถประมาณเวลาการตายของศพได้โดยการดูจากอายุของหนอนหรืออายุของดักแด้ที่มากที่สุดที่พบในศพนั้นๆ เช่น ถ้าพบหนอนอายุมากที่สุดและอายุของหนอนนั้นมีอายุ 6 วัน นักนิติเวชกีฏวิทยาจะเพิ่มเวลาสำหรับการประเมินระยะเวลาหลังจากการตายจากอายุของหนอนที่พบอีก 1 วัน เพื่อเป็นช่วงเวลาหลังจากแมลงวันหัวเขียววางไข่และไข่ยังไม่ฟักเป็นตัวหนอน ดังนั้นในกรณีนี้การตายของศพต้องเกิดขึ้นประมาณ 7 วัน ก่อนพบตัวหนอนของแมลงวัน (คม สุคนธสรรพ์ และกาบแก้ว สุคนธสรรพ์, 2553) โดยเก็บตัวอย่างของหนอนแมลงวันบนซากศพในที่เกิดเหตุ แล้วนำหนอนแมลงวันมาเลี้ยงภายในห้องปฏิบัติการ แล้วอาศัยการเปลี่ยนแปลงของหนอนแมลงวัน (Zumpt, 1965; คม สุคนธสรรพ์ และกาบแก้ว สุคนธสรรพ์, 2548) โดยเลือกตัวหนอนที่มีอายุมากที่สุด ซึ่งดูได้จากขนาดลำตัวที่ใหญ่ที่สุดมาวัดความยาวของลำตัว แล้วนำค่าความยาวที่วัดได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอายุ

ของแมลงวันและความยาวของตัวหนอนที่อุณหภูมิต่างๆ เพื่อประเมินอายุของตัวอ่อนที่ได้จากศพได้อย่างแม่นยำ มีการศึกษาเรื่องการเจริญเติบโตของตัวหนอนแมลงวันหัวเขียวที่มีความสำคัญทางนิติกีฏวิทยาของประเทศต่างๆ เช่น ในสหรัฐอเมริกามีการศึกษาแมลงวันหัวเขียว *L. sericata* (Tarone and Faran, 2008) และ *P. regina* (Nabity *et al*., 2006) ประเทศออสเตรเลียมีการศึกษาแมลงวันหัวเขียว *Calliphora dubia* (Dadour *et al.,* 2001) และประเทศไทยมีการศึกษาแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* และ *C. rufifacies* (Sukontason *et al.,* 2008) โดยนภาพร ศรีตะวานิช และคณะ (2550) รายงานว่า การประมาณค่า PMI ของศพเพศหญิงกรณีที่ 1 พบตัวหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* คำนวนค่า PMI ได้ 4.5 วัน (ตัวหนอนอายุ 3 วัน+ระยะไข่ 8-12 ชั่วโมง+ระยะก่อนแมลงวันมาวางไข่ 1 วัน) และกรณีที่ 2 เป็นศพเพศหญิงลอยน้ำพบตัวหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* คิดค่า PMI ได้ 4 วัน (หนอนอายุ 2 วัน±ระยะไข่ 17 ชั่วโมง±ระยะที่ศพจมอยู่ในน้ำ 1 วัน) และคม สุคนธสรรพ์ และกาบแก้ว สุคนธสรรพ์ (2553) รายงานว่า ตรวจพบหนอนระยะที่ 3 ของแมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* ในการศึกษากรณีศพลอยน้ำโดยขนาดของหนอนแมลงวันหัวเขียวชนิดนี้มีลำตัวยาวที่สุดประมาณ 1.2 เซนติเมตร เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับข้อมูลอัตราการเจริญเติบโตของหนอนชนิดนี้ในห้องปฏิบัติการที่มีอุณหภูมิใกล้เคียงกับสภาพที่พบศพ ทำให้ทราบว่าหนอนที่มีอายุมากที่สุด มีอายุประมาณ 5 วัน

2.7 การใช้สารสกัดจากพืชควบคุมแมลงวันหัวเขียว

ในปัจจุบัน มีนักวิจัยจำนวนมากให้ความสนใจเกี่ยวกับการศึกษาวิจัยการใช้สารสกัดจากธรรมชาติในการควบคุมแมลงวัน ทั้งแมลงวันบ้าน แมลงวันหัวเขียว และแมลงวันหลังลาย โดยเลือกใช้พืชสมุนไพรที่หาได้ง่ายในชีวิตประจำวัน และสารสกัดเหล่านี้ก็ได้ผลค่อนข้างดีเทียบเท่ากับการใช้สารเคมี เพราะสลายตัวได้เร็วในธรรมชาติทำให้ไม่ตกค้างในดิน จึงน่าจะเป็นทางเลือกใหม่ในการนำมาใช้ควบคุมแมลงวัน และในอนาคตอาจมีการพัฒนาสารสกัดให้อยู่ในรูปของผลิตภัณฑ์ที่ดีมากขึ้น

มยุรา สุนย์วีระ (2544) ได้ทดสอบผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพร 15 ชนิด ในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันหัวเขียววัยที่ 2 (*Calliphora* sp.) โดยใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 10% พบว่า สารสกัดจากใบยาสูบให้ผลดีที่สุดโดยมีผลทำให้หนอนแมลงวันหัวเขียวตาย 100% หลังการทดสอบ 24 ชั่วโมง สารสกัดที่ให้ผลดีรองลงมาคือ สารสกัดจากส้มป่อยมีผลทำให้หนอนตาย 60% และ 75% หลังการทดลอง 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ

สมบูรณ์ แสงมณีเดช และคณะ (2548) รายงานว่า หลังจากทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากรากหางไหลสดและหางไหลแห้งในรูปแบบผงเปรียบเทียบกับสารฆ่าแมลง (Negasunt®) เพื่อรักษาภาวะไมเอียซิสในสุกรพันธุ์ลาจไวท์ (Large White) พบว่า ผงรากหางไหลแห้ง ซึ่งมี

ปริมาณสารโรทีโนน 6.69% มีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนสูงสุด โดยทำให้หนอนแมลงวันตายภายในเวลา 24 ชั่วโมงหลังจากการสัมผัส

นิตยา อัศดร (2548) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเหง้าของพืชสมุนไพรวงศ์ขิง (Zingiberaceae) คือ ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) ข่า *(Alpinia nigra* (Gaertn.)) และขิง (*Zingiber officinale* (Roscoe)) โดยใช้เฮกเซนและเมธิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายในการสกัด หลังจากทดสอบโดยการกิน (feeding method) สารสกัดจากข่าด้วยเฮกเซนความเข้มข้น 10.0% ให้ผลดีที่สุดในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันหัวเขียว (*Calliphora* sp.) โดยมีผลทำให้หนอนแมลงวันตาย 72.0% หลังจากทดลอง 72 ชั่วโมง รองลงมาคือ สารสกัดขมิ้น และสารสกัดขิงด้วยเฮกเซน

วราพร ไทรนนทรี (2553) รายงานว่า น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกานพลู ขมิ้นชัน ขิง ข่า ตะไคร้ ตะไคร้หอม ไพล ยูคาลิปตัส และส้มเขียวหวาน เป็นพิษต่อดักแด้แมลงวันหัวเขียว ส่วนในการทดสอบกับหนอนแมลงวันหัวเขียวนั้น น้ำมันจากยูคาลิปตัสให้ผลดีที่สุด โดยทำให้หนอนแมลงวันหัวเขียวตาย 100% ที่เวลา 120 นาที โดยมีค่า LT_{50} เท่ากับ 32.40 นาทีและในการทดสอบกับตัวเต็มวัยนั้น น้ำมันตะไคร้หอมและส้ม ให้ผลดีที่สุด โดยทำให้ตัวเต็มวัยแมลงวันหัวเขียวตาย 100% ที่เวลา 60 วินาที โดยมีค่า LT_{50} เท่ากับ 10.33 วินาที

วัตถุประสงค์ในการวิจัย

1. ศึกษาชีววิทยาของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* (Fabricius)
2. วิเคราะห์หาปริมาณสารซาโปนินในสารสกัดหยาบกากเมล็ดชา
3. ศึกษาผลของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาต่อการวางไข่และฟักออกจากไข่ของแมลงวันหัวเขียว
4. ศึกษาผลของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาต่อการออกฤทธิ์ฆ่าแมลงวันหัวเขียวในระยะหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย
5. ศึกษาผลของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาต่อการแพร่ขยายพันธุ์ของแมลงวันหัวเขียว

ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาปริมาณสารซาโปนินในสารสกัดหยาบกากเมล็ดชา *C.oleifera* โดยส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ แล้วนำมาทดสอบประสิทธิภาพของกากเมล็ดชาในการควบคุมแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ในระยะต่างๆ ตั้งแต่ระยะไข่ ระยะหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย เปรียบเทียบสารสกัดหยาบดังกล่าวกับสารฆ่าแมลงไตรคลอฟอนต์ ประสิทธิภาพในการยับยั้งการวางไข่ของแมลงหัวเขียวเพศเมีย และประสิทธิภาพในการยับยั้งการขยายพันธุ์ของแมลงวันหัวเขียวในระยะตัวเต็มวัยในห้องปฏิบัติการของภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุและอุปกรณ์ในการสกัดสารสกัดหยาบกากเมล็ดชา *C. oleifera*

- กากเมล็ดชาชื่อการค้าว่าเบอร์รี่น๊อค จำหน่ายโดยบริษัท ซิสเทมมิค จำกัด
- เมทานอล (metanol) 95%
- บิวทานอล (butanol) 95%
- เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) ยี่ห้อ HAHNSHIN รุ่น HS-3001
- เครื่องชั่งน้ำหนักขนาด 5 กิโลกรัม
- เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง
- กรวยแยกสาร
- ขวดชมพู่ (flask) ขนาด 10 ลิตร
- ไมโครปิเปต
- เครื่องแก้วต่างๆ
- ผ้าขาวบาง
- ขวดแก้วสีชาสำหรับเก็บสารสกัดหยาบ

วัสดุและอุปกรณ์สำหรับเลี้ยงแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala*

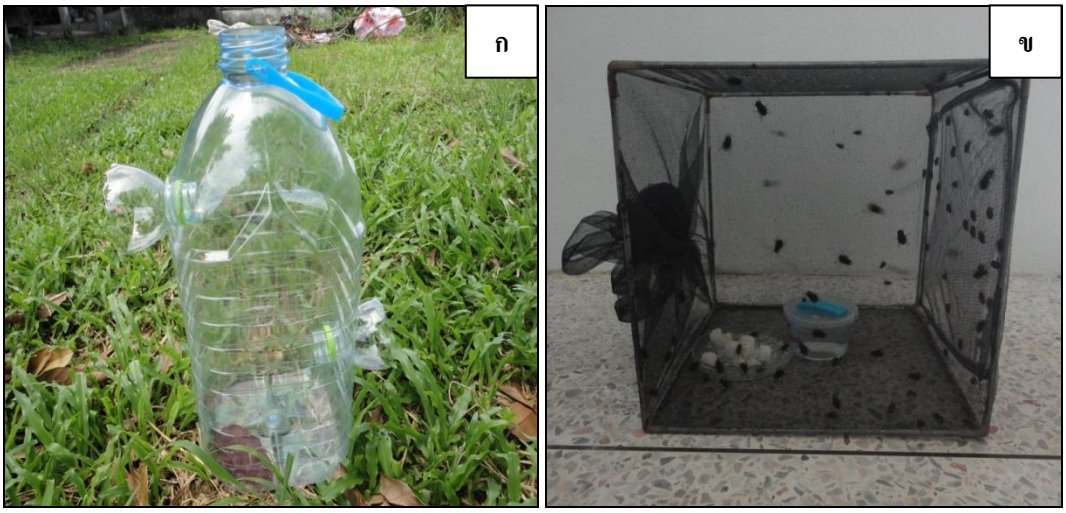
- เนื้อวัวสด
- น้ำตาล
- นมผง
- น้ำ
- ไข่ตุ๋น
- ขี้เลื่อย
- กรงเลี้ยงแมลงขนาด 25.0x25.0x25.0 เซนติเมตร
- กล่องพลาสติกใสขนาด 21.5x14.0x8.0 เซนติเมตร
- กล่องพลาสติกใสขนาด 28.0x18.0x10.5 เซนติเมตร
- กล่องกระดาษสำหรับใส่เค้กขนาดครึ่งปอนด์
- ถ้วยพลาสติกกลมใสขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.5 เซนติเมตร สูง 3.8 เซนติเมตร
- เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ (data loger) ยี่ห้อ HOBO®
  ของบริษัท ออนเซ็ต (Onset)
- จานแก้ว (plate)
- ปากคีบ (forcep)
- เทปกาว
- พู่กัน
- สำลี
- ขวดน้ำกลั่น

วิธีการศึกษา

1. การเลี้ยงเพิ่มปริมาณและศึกษาชีววิทยาของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala*

1.1 การเลี้ยงเพิ่มจำนวนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala*

เก็บตัวอย่างตัวเต็มวัยแมลงวันหัวเขียวตามแหล่งที่อยู่อาศัยของแมลงวันต่างๆ เช่น กองขยะ โรงอาหาร และฟาร์มเลี้ยงสัตว์ของภาควิชาสัตวศาสตร์ ในบริเวณมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ โดยใช้หัวกุ้งเป็นกับดักล่อแมลงวัน (ภาพที่ 8ก) จากนั้นนำตัวอย่างดังกล่าวมาคัดแยกเฉพาะแมลงวันหัวเขียวชนิด *C. megacephala* โดยจำแนกชนิดตามการวินิจฉัยของ Tumrasvin และคณะ (1979) แล้วนำไปเลี้ยงไว้ในกรงมุ้งเลี้ยงแมลงขนาด 25.0x25.0x25.0 เซนติเมตร ที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



ภาพที่ 8 กับดักล่อแมลงวัน (หัวกุ้ง) (ก) และกรงเลี้ยงแมลงวันหัวเขียว (ข)

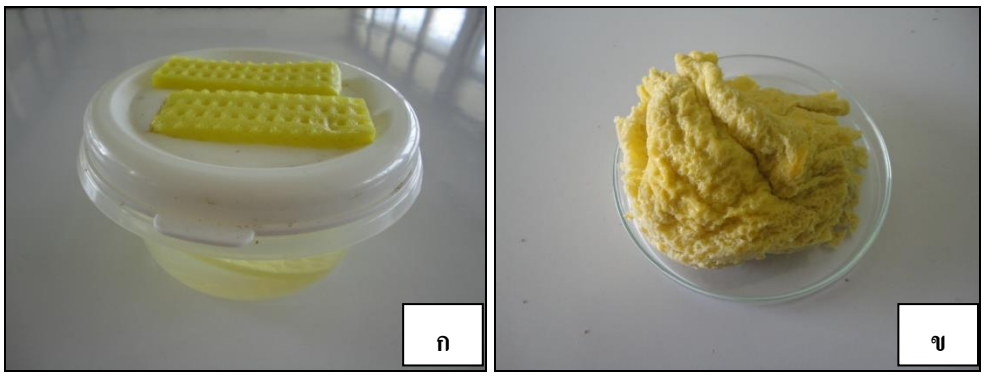
วางกรงไว้ในห้องปฏิบัติการที่มีสภาพโปร่ง อากาศถ่ายเทได้สะดวก ภายใต้อุณหภูมิห้อง วัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ด้วยเครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ (data logger) ชื่อการค้า HOBO® ของบริษัท ออนเซ็ต (Onset) (ภาพที่ 9) ตลอดระยะเวลา ทำการทดลองเป็นเวลา 5 เดือน ตั้งแต่เดือนสิงหาคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2554 ให้อาหารแมลงวันหัวเขียวด้วยนมผงผสมน้ำตาลอัตราส่วน 1:2 (ภาพที่ 10ก) และเนื้อวัวสดสำหรับให้วางไข่ (ภาพที่ 10ข) โดยใส่อาหารดังกล่าวในจานแก้วอย่างละใบ ให้น้ำแมลงวันโดยใช้ฟองน้ำติดไว้บนฝาถ้วยพลาสติกกลมขนาดเส้นผ่าน

ศูนย์กลาง 7.5 เซนติเมตร สูง 3.8 เซนติเมตร ซึ่งมีน้ำบรรจุอยู่ในถ้วย ในระดับที่สัมผัสกับฟองน้ำ เพื่อให้ฟองน้ำดูดน้ำได้ (ภาพที่ 11ก)

ภาพที่ 9 เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ (data logger)

หลังจากแมลงวันวางไข่แล้วจึงนำเขี่ยไข่ลงบนไข่ตุ๋น (ภาพที่ 11ข) ลงไปเพื่อเป็นอาหารสำหรับระยะหนอน จากนั้นนำไปใส่ไว้ในกล่องกระดาษสำหรับใส่เค้กขนาดครึ่งปอนด์ ใช้เข็มเย็บผ้าเจาะรูบนกล่องกระดาษเล็กน้อยเพื่อให้มีช่องระบายอากาศ ปิดกระดาษกาวให้รอบกล่อง เพื่อป้องกันไม่ให้หนอนเคลื่อนย้ายออกมานอกกล่อง จากนั้นนำกล่องกระดาษนี้ไปใส่ไว้ในกล่องพลาสติกใสขนาด 28.0x18.0x10.5 เซนติเมตร ซึ่งบริเวณฝากล่องพลาสติกเจาะเป็นวงกลมปิดด้วยผ้ามุ้ง แล้วปิดรอบกล่องด้วยเทปกาวให้สนิทอีกครั้ง นำไปใส่ไว้ในกรงเลี้ยงแมลงวัน เพื่อป้องกันแมลงหวี่หรือแมลงวันชนิดอื่นๆ มาวางไข่ซ้ำ (ภาพที่ 12)

ภาพที่ 10 นมผงผสมน้ำตาลสำหรับเป็นอาหารของตัวเต็มวัย (ก) และเนื้อวัวสดสำหรับให้แมลงวันเพศเมียวางไข่ (ข)



ภาพที่ 11 ถ้วยให้น้ำสำหรับแมลงวันตัวเต็มวัย (ก) และไข่ตุ๋นสำหรับเลี้ยงตัวหนอนแมลงวัน (ข)

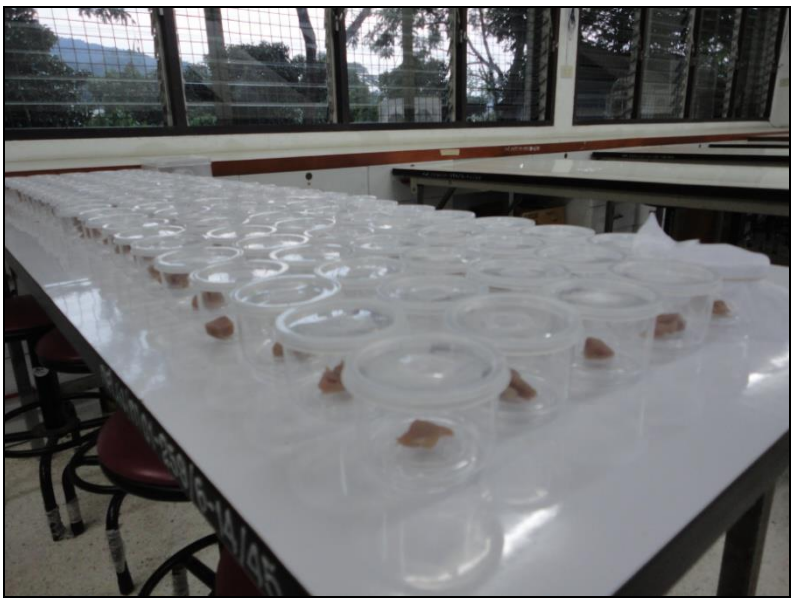
ภาพที่ 12 กล่องเลี้ยงหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala*

เมื่อหนอนแมลงวันพัฒนาเข้าสู่ระยะที่ 3 ซึ่งเป็นระยะสุดท้ายก่อนเข้าดักแด้ จึงย้ายตัวหนอนไปใส่ไว้ในกล่องพลาสติกใสอีกใบ ภายในบรรจุด้วยขี้เลื่อยซึ่งผ่านการอบฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว (ภาพที่ 13) เพื่อให้ตัวหนอนสามารถเข้าสู่ระยะดักแด้ได้เร็วขึ้น เนื่องจากหนอนระยะที่ 3 ต้องการที่แห้งและมืดในการเข้าดักแด้ จากนั้นนำกล่องพลาสติกใสไปวางไว้ในกรงมุ้งเลี้ยงแมลงขนาด 25.0x25.0x25.0 เซนติเมตร รอจนกระทั่งดักแด้พัฒนาเป็นตัวเต็มวัยรุ่นที่ 1 (F_1) ทำการเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วยวิธีการดังกล่าวข้างต้นจนกระทั่งได้ตัวเต็มวัยรุ่นที่ 2 (F_2) ซึ่งจะนำรุ่นที่ 2 นี้มาศึกษาชีววิทยาและทดสอบผลการออกฤทธิ์ของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาต่อไป

ภาพที่ 13 ขี้เลื่อยสำหรับการเข้าดักแด้ของหนอนระยะที่ 3

1.2 การศึกษาชีววิทยาของแมลงวันหัวเขียว

เตรียมไข่ของแมลงวันหัวเขียวจากแมลงวันตัวเต็มวัยรุ่น F_2 โดยนำเนื้อวัวสดใส่ไว้ในจานแก้ว ซึ่งกลิ่นจากเนื้อวัวสามารถล่อให้แมลงวันเพศเมียมาวางไข่ได้ดี นำจานแก้วที่ใส่เนื้อวัวสดไปใส่ไว้ในกรงเลี้ยงแมลงวันหัวเขียวที่มีเพศผู้และเพศเมีย อายุประมาณ 10 วัน จำนวน 20 คู่ (อัตราส่วนเพศผู้ : เพศเมีย คือ 1:1) ตรวจดูการวางไข่ทุกๆ 6 ชั่วโมง เมื่อพบว่ามีการวางไข่แล้วให้เลือกไข่มาจำนวน 100 ฟอง มาเลี้ยงไว้ในถ้วยพลาสติกกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.5 เซนติเมตร โดยใช้พู่กันเขี่ยไข่ที่มีขนาดเท่าๆ กันมา 1 ฟองต่อ 1 ถ้วย (ภาพที่ 14) ให้เนื้อวัวสดเป็นอาหารเลี้ยงตัวอ่อน จากนั้นนำถ้วยพลาสติกที่บรรจุไข่ของแมลงวันไปใส่ไว้ในกรงเลี้ยงแมลงวันเพื่อป้องกันไม่ให้แมลงหวี่หรือแมลงวันชนิดอื่นๆ มาวางไข่ซ้ำ วางกรงทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องที่ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ แต่บันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในห้องทดลองด้วยเครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ จดบันทึกระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโต และนับจำนวนแมลงวันที่สามารถอยู่รอดได้ในแต่ละระยะ ตั้งแต่ระยะไข่จนถึงระยะตัวเต็มวัย เมื่อได้ระยะตัวเต็มวัยแล้วจึงนำมาเลี้ยงในกรงเป็นเวลา 10 วันเพื่อให้แมลงวันจับคู่ผสมพันธุ์กัน หลังจากนั้นจึงแยกตัวเมียออกมา 5 ตัว เพื่อนำมาศึกษาความสามารถในการวางไข่ โดยตรวจนับจำนวนไข่ที่วางของแมลงวันเพศเมียต่อ 1 ตัว หลังจากเพศเมียวางไข่ที่เวลา 24 ชั่วโมง ส่วนแมลงวันตัวเต็มวัยที่เหลือให้เลี้ยงจนกระทั่งตาย จดบันทึกอายุขัยของแมลงวันทั้งเพศผู้และเพศเมียตั้งแต่วันแรกที่ออกมาจากดักแด้จนกระทั่งแมลงวันตัวสุดท้ายตาย



ภาพที่ 14 ถ้วยพลาสติกสำหรับเลี้ยงไข่ของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* จำนวน 100 ฟอง (1 ฟองต่อ 1 ถ้วย)

2. การสกัดสารและวิเคราะห์ปริมาณสารซาโปนินจากสารสกัดหยาบกากเมล็ดชา *Camellia oleifera*

2.1 การสกัดสารสกัดหยาบจากกากเมล็ดชา *C. oleifera*

กากเมล็ดชาซื้อจากร้านขายสินค้าเกษตร มีชื่อการค้าว่าเบอร์รี่น็อค จำหน่ายโดยบริษัท ซิสเทมมิค จำกัด (ภาพที่ 15ก) โดยกากเมล็ดชามีสีน้ำตาล หลังจากซื้อมาแล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง สามารถนำออกมาใช้ได้ทันที เนื่องจากกากเมล็ดชาถูกบดละเอียดแล้ว (ภาพที่ 15ข)

ภาพที่ 15 กระสอบบรรจุกากเมล็ดชา *C. oleifera* (ก) และลักษณะกากเมล็ดชา *C. oleifera* (ข)

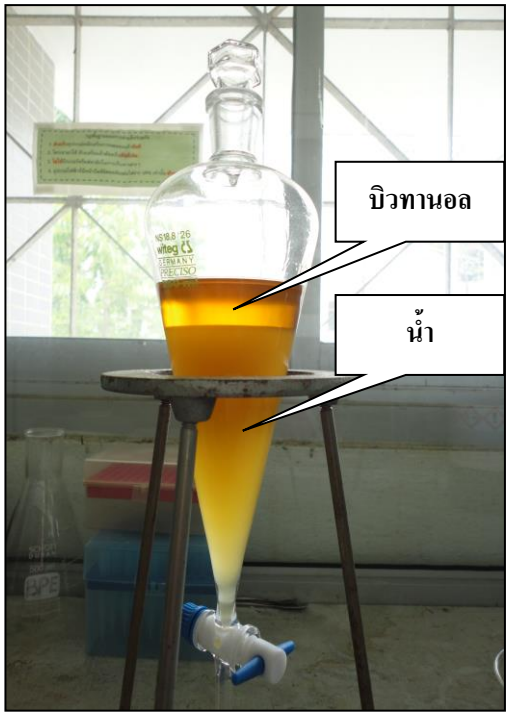
นำกากเมล็ดชามาสกัดด้วยวิธีแช่ยุ่ย (maceration) ใช้เมทานอล (methanol) เป็นตัวทำละลาย โดยใช้อัตราส่วนของกากเมล็ดชา : เมทานอล เท่ากับ 1:1 (w/v) แช่กากเมล็ดชาในเมทานอลนาน 1 สัปดาห์ แล้วกรองสารสกัดหยาบออกด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออก โดยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) (ภาพที่ 16) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนได้ออกมาเป็นสารสกัดหยาบสีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 17)

ภาพที่ 16 เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนเพื่อระเหยตัวทำละลายออก

ภาพที่ 17 สารสกัดหยาบกากเมล็ดชา *C. oleifera*

2.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารซาโปนิน

ชั่งสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ผ่านการทำแห้งด้วยความเย็นจำนวน 5 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นใส่น้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตรลงไป แล้วคนให้เข้ากัน แยกส่วนของสารประกอบโดยใช้กรวยแยกสาร (ภาพที่ 18) ใช้ตัวทำละลายบิวทานอล (butanol) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ทำซ้ำ 3 ครั้ง (ดัดแปลงจากสุพรรษา กิจประยูร, 2548) จนเกิดการแยกชั้นระหว่างส่วนของน้ำ และบิวทานอล นำเฉพาะส่วนของบิวทานอลที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องสุญญากาศแบบหมุน แล้วนำไปทำแห้งด้วยความเย็นด้วยเครื่อง Freezedryer ได้สารสกัดมีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาล (ภาพที่19)



ภาพที่ 18 การแยกชั้นระหว่างสารบิวทานอล (ส่วนบน) และน้ำ (ส่วนล่าง)

ภาพที่ 19 สารสกัดหยาบกากเมล็ดชา *Camellia oleifera* มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาล

จากนั้นส่งสารสกัดดังกล่าวไปวิเคราะห์หาปริมาณสารซาโปนินที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบ High performance liquid chromatography (HPLC) (ภาพที่ 20) เนื่องจากเป็นวิธีที่ดีและนิยมใช้กันมากวิธีหนึ่งในการวิเคราะห์สารซาโปนินและซาโปจินิน เพราะเป็นวิธีที่เหมาะสำหรับสารที่ไม่ระเหยและสารที่มีความเป็นขั้วสูง (นิรนาม, 2553)

ภาพที่ 20 เครื่องโครมาโทกราฟีแบบ High performance liquid chromatography (HPLC)
ที่มา : นิรนาม (ม.ป.ป.ก)

3. การศึกษาผลของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาต่อการวางไข่และฟักออกจากไข่ของแมลงวันหัวเขียว

3.1 การวางแผนการทดสอบ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) โดยแต่ละทรีทเมนต์ประกอบด้วยระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ 0.05, 0.1, 0.3, 0.5, 1, 3, 5, และ 10% เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (น้ำเปล่า) และสารฆ่าแมลงไตรคลอฟอนต์ (ภาพที่ 21) ที่ระดับความเข้มข้น 0.25% (กอบทอง ฐูปหอม และคณะ, 2531) แต่ละทรีทเมนต์ทำ 4 ซ้ำ

ภาพที่ 21 สารฆ่าแมลงไตรคลอฟอนต์ (trichlofon)

3.2 วิธีทดสอบสารสกัดหยาบ

นำตับวัวไปแช่ในสารทดสอบทรีทเมนต์ต่างๆ โดยแช่ให้ท่วมตับวัวนาน 10 นาที แล้วนำไปผึ่งในที่ร่มให้หมาดๆ จากนั้นวางตับวัวที่จุ่มสารสกัดในแต่ละทรีทเมนต์ๆ ละ 1 ชิ้น ลงในกรงที่มีแมลงวันหัวเขียวเพศเมียอายุ 10 วัน ที่ผ่านการผสมพันธุ์มาแล้วจำนวน 10 ตัว วางทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง เพื่อให้แมลงวันวางไข่ (ภาพที่ 22)

ภาพที่ 22 การทดสอบการวางไข่ของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megachephala* เพศเมียบนตับวัวที่แช่สารทดสอบ

3.3 การบันทึกผลและวิเคราะห์ผลการทดลอง

หลังจากให้แมลงวันหัวเขียววางไข่เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำตับวัวออกมานับจำนวนไข่ทันที และตรวจนับจำนวนการตายของแมลงวันหัวเขียว จากนั้นคำนวณค่ายับยั้งการวางไข่โดยใช้สูตรดังนี้

$$\% \text{ การยับยั้งการวางไข่} = \frac{\text{จำนวนไข่ในชุดควบคุม} - \text{จำนวนไข่ในชุดสารทดสอบ}}{\text{จำนวนไข่ในชุดควบคุม}} \times 100$$

และนำจำนวนไข่ที่แมลงวันเพศเมียวางและจำนวนแมลงวันที่ตายไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of varience, ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์ด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

4. การทดสอบผลของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาต่อการออกฤทธิ์ฆ่าหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยของแมลงวันหัวเขียว

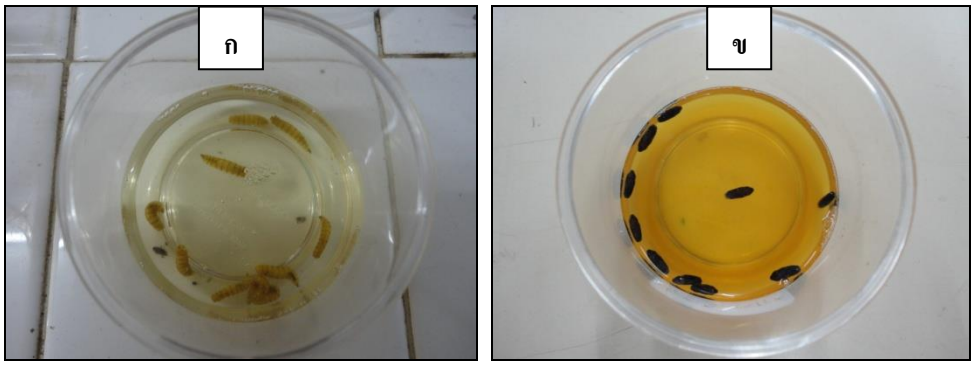
4.1 การวางแผนการทดสอบ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยแต่ละกรรมวิธีประกอบด้วยระดับความเข้มข้นที่ 0.05, 0.1, 0.3, 0.5, 1, 3, 5, และ 10% เปรียบเทียบกับชุดควบคุม ทุกระดับความเข้มข้นผสมสารจับใบอัตราที่ใช้ 2 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร แต่ละกรรมวิธีทำ 4 ซ้ำ

4.2 วิธีการทดสอบ

ระยะหนอน ทดสอบด้วยวิธีจุ่ม (dipping method) โดยจุ่มหนอนแมลงวันหัวเขียวระยะที่ 3 อายุ 2 วัน ซ้ำละ 10 ตัว ลงในสารละลายของสารทดสอบกรรมวิธีต่างๆ (ภาพที่ 23ก) เป็นเวลานาน 10 วินาที จากนั้นนำหนอนไปใส่ในถ้วยพลาสติกใสแล้วปิดฝาให้สนิท นับจำนวนหนอนแมลงวันที่ตายที่เวลา 1 2 และ 3 วัน หลังจากทดสอบ หากหนอนไม่ตาย ให้บันทึกผลการเจริญเติบโตต่อไป

ระยะดักแด้ ทดสอบด้วยวิธีจุ่มเช่นเดียวกันกับระยะหนอน โดยจุ่มดักแด้อายุ 3 วัน ซ้ำละ 10 ตัว ลงในสารละลายของสารทดสอบกรรมวิธีต่างๆ (ภาพที่ 23ข) เป็นเวลานาน 5 วินาที จากนั้นนำดักแด้ไปใส่ในถ้วยพลาสติกใสแล้วปิดฝาให้สนิท นับจำนวนดักแด้ที่ไม่กลายเป็นตัวเต็มวัย



ภาพที่ 23 การทดสอบโดยวิธีการจุ่มหนอนแมลงวันหัวเขียวระยะที่ 3 ลงในสารทดสอบ (ก) และจุ่มดักแด้ลงในสารทดสอบ (ข)

ระยะตัวเต็มวัย นำแมลงวันหัวเขียวเพศผู้และเพศเมียอายุ 3 วัน จำนวน 5 คู่ ไปทำให้สลบ โดยนำมาสลบด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) (ภาพที่ 24) นาน 5 นาที จากนั้นนำไปทดสอบโดยวิธีหยดสารลงบนลำตัวตรงอกส่วนหลัง (dorsal thorax) ของแมลงวันหัวเขียวด้วยไมโครปิเปต (micropipete) (ภาพที่ 25) โดยใช้ปริมาณสารทดสอบ 1 ไมโครลิตรต่อแมลงวัน 1 ตัว (กาบแก้ว สุคนธสรรพ์ และคณะ, 2546) นับจำนวนแมลงวันที่ตายที่เวลา 1, 2 และ 3 วัน หลังจากทดสอบ

ภาพที่ 24 การทำให้แมลงวันหัวเขียวสลบ (ก) การหยดสารสกัดหยาบลงบนปล้องอกแมลงวันหัวเขียวโดยใช้ไมโครปิเปต (ข)

4.3 การบันทึกผลและวิเคราะห์ผลการทดลอง

นับจำนวนหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยที่ตาย นำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วย ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์ด้วย DMRT

5. การศึกษาผลของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาต่อการแพร่ขยายพันธุ์ของแมลงวันหัวเขียว

5.1 การวางแผนการทดสอบ

วางแผนการทดลองเช่นเดียวกันกับการทดลองที่ 4.1

5.2 วิธีการทดสอบ

หลังจากทดสอบผลของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาต่อแมลงวันหัวเขียวตัวเต็มวัยในข้อ 4.2 แล้ว นำแมลงวันตัวเต็มวัยที่ไม่ตายมาจับคู่ผสมพันธุ์กันเพื่อดูผลต่อการแพร่ขยายพันธุ์ โดยแต่ละทรีทเมนต์ใช้แมลงวันเพศผู้และเพศเมียจำนวน 1 คู่ ใส่ลงในกล่องพลาสติกใส ให้น้ำ น้ำตาลผสมนมผงเป็นอาหาร และตับวัวสำหรับวางไข่ เมื่อแมลงวันวางไข่ ให้นำตับวัวออกมาเพื่อนับจำนวนไข่ที่วางทั้งหมด และคัดเลือกไข่จำนวน 20 ฟอง นำไปเลี้ยงในถ้วยพลาสติกใสโดยเขี่ยไข่ลงบนเนื้อวัวถ้วยละ 5 ฟอง จากนั้นปิดฝาให้สนิท บริเวณฝาถ้วยเจาะรูและปิดผ้าขาวบางเพื่อระบายอากาศ (ภาพที่ 26) จากนั้นจดบันทึกการเจริญเติบโตในแต่ละระยะ ตั้งแต่ระยะหนอน ดักแด้ จนกลายเป็นตัวเต็มวัย

5.3 การบันทึกผลและวิเคราะห์ผลการทดลอง

นับจำนวนการวางไข่ การฟักออกจากไข่ และการอยู่รอดในการพัฒนาไปเป็นตัวเต็มวัยเทียบกับชุดควบคุม แล้วนำค่าที่ได้ไปหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการวางไข่ของแมลงวันที่ถูกสารทดสอบตามสูตรในข้อ 3.3 และวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยใช้ ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์โดยใช้ DMRT

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์

1. การศึกษาชีววิทยาและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแมลงวันหัวเขียว

1.1 ชีววิทยาของแมลงวันหัวเขียว

จากการศึกษาชีววิทยาของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* โดยศึกษาวงจรชีวิต อายุขัย ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญพันธุ์ และความสามารถในการวางไข่ของตัวเต็มวัยเพศเมียภายในห้องปฏิบัติการ ภายใต้อุณหภูมิเฉลี่ย 28.51±1.95 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 80.37±7.54% พบว่า ระยะไข่ใช้เวลาเจริญเติบโตเฉลี่ย 1.00±0.00 วัน ระยะหนอนซึ่งมีทั้งหมด 3 วัยใช้เวลาเจริญเติบโตเฉลี่ย 5.94±0.40 วัน ส่วนระยะดักแด้นั้นใช้เวลาในการเจริญเติบโตเฉลี่ย 3.80±0.40 วัน (ตารางที่ 1) หลังจากพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยแล้ว เพศเมียใช้เวลาเฉลี่ย 10.20±0.84 วัน เพื่อพัฒนาเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ที่สามารถวางไข่ได้ และเพศเมีย 1 ตัว สามารถวางไข่ได้เฉลี่ยครั้งละ 117.60±7.16 ฟอง ตัวเต็มวัยเพศเมียมีอายุยืนกว่าตัวเต็มวัยเพศผู้ โดยเพศเมียมีอายุขัยเฉลี่ย 32.38±9.92 วัน ส่วนเพศผู้มีอายุขัยเฉลี่ย 28.15±8.73 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 1) นอกจากนี้ยังพบว่า จากจำนวนไข่เริ่มต้นที่นำมาศึกษาทั้งหมด 100 ฟอง สามารถเข้าสู่ระยะหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัยได้ 80 76 และ 72 ตัว ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ผลการศึกษาชีววิทยาของแมลงวันหัวเขียวภายในห้องปฏิบัติการครั้งนี้ จากไข่ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* จำนวน 100 ฟอง พบจำนวนแมลงวันหัวเขียวที่สามารถอยู่รอดจนกลายเป็นตัวเต็มวัยได้ทั้งสิ้น 72 ตัว แบ่งเป็นเพศผู้ 40 ตัว และเพศเมีย 32 ตัว (อัตราส่วน 1:1.22) ความสามารถในการวางไข่ของแมลงวันหัวเขียวเพศเมียในการศึกษาครั้งนี้ต่ำกว่าการศึกษาของ Gabre และคณะ (2005) และนภาพร ศรีตะวานิช และคณะ (2550) โดยแมลงวันเพศเมียสามารถวางไข่ได้ประมาณครั้งละ 223.7±2.40 ฟอง และ 195.0±23.4 ฟอง ตามลำดับ ในขณะที่จำนวนไข่ที่วางได้ของเพศเมียในการศึกษาครั้งนี้เฉลี่ย 117.60±7.16 ฟอง อาจมีสาเหตุมาจากปัจจัยทางกายภาพและคุณภาพของอาหารที่ใช้เลี้ยงที่แตกต่างกัน ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้เลี้ยงแมลงวันหัวเขียวในห้องปฏิบัติการภายใต้อุณหภูมิห้องเฉลี่ย 28.51±1.95 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 80.37±7.54% ซึ่งความชื้นสัมพัทธ์ต่ำกว่า 90% ซึ่งแมลงวันหัวเขียวเจริญเติบโตได้ดีที่ความชื้นสัมพัทธ์ไม่ต่ำกว่า 90% (Keiding, 1980) ส่วนความแตกต่างเรื่องคุณภาพของอาหารที่ใช้เลี้ยงตัวเต็มวัยของแมลงวันหัวเขียว อาหารที่ใช้ในการศึกษา

ครั้งนี้ประกอบด้วยน้ำตาลผสมกับนมผงเท่านั้น ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของเนาสรัตน์ ศุขะพันธ์ และชิตาภา เกตวัลห์ (2527) ที่เลี้ยงแมลงวันหัวเขียวด้วยอาหารเทียมกับเนื้อวัวสดแช่น้ำ ซึ่งมีแหล่งโปรตีนจากอาหารเทียมและเนื้อวัวสด ในขณะที่แหล่งโปรตีนของการศึกษาครั้งนี้มาจากนมผงเท่านั้น ซึ่งโปรตีนเป็นแหล่งอาหารสำคัญสำหรับแมลงวันหัวเขียวเพศเมีย ที่จำเป็นจะต้องได้รับให้เพียงพอทั้งปริมาณและคุณภาพ เพื่อใช้สำหรับสร้างไข่และการเจริญเติบโตของไข่

ส่วนระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญพันธุ์ของแมลงวันเพศเมียในการศึกษาครั้งนี้ มีค่าเฉลี่ย 10.20±0.84 วัน ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของนภาพร ศรีตะวานิช และคณะ (2550) ที่ใช้เวลาเฉลี่ย 9.30±0.50 วัน แต่อย่างไรก็ตาม แตกต่างจากการศึกษาของ Gabre และคณะ (2005) ที่ใช้เวลาสั้นกว่าโดยใช้เวลาเพียง 6.60±0.10 วัน เท่านั้น

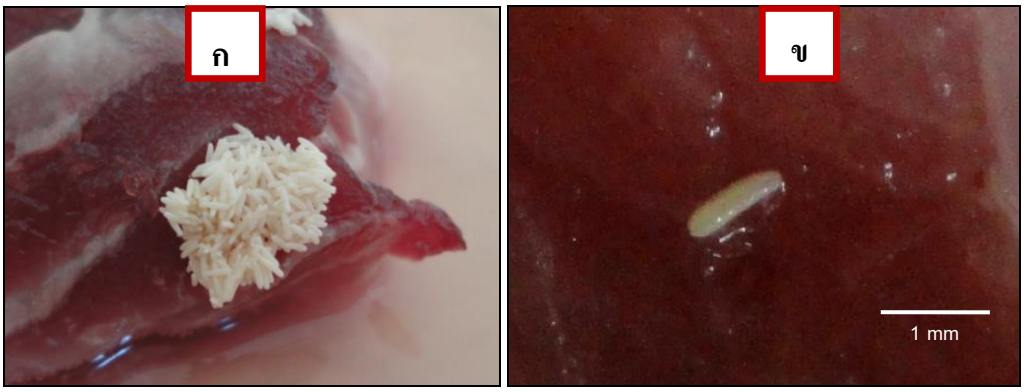
ตารางที่ 1 เวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตของระยะต่างๆ อายุขัยของตัวเต็มวัย เวลาที่ใช้ในการเจริญพันธุ์และความสามารถในการวางไข่ของแมลงวันหัวเขียว *Chysomya megacephala* ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 28.51±1.95 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 80.37±7.54%

ตัวชี้วัด	ระยะ	จำนวนที่ใช้ศึกษา (ตัว)	ค่าเฉลี่ย±S.D.
ระยะที่ใช้ในการเจริญเติบโต (วัน)	ไข่	100	1.00±0.00
	หนอน	80	5.94±0.40
	ดักแด้	76	3.80±0.40
อายุขัยของตัวเต็มวัย (วัน)	เพศผู้	40	28.15±8.73
	เพศเมีย	32	32.38±9.92
เวลาที่ใช้ในการเจริญพันธุ์ (วัน)	เพศเมีย	5	10.20±0.84
การวางไข่ของเพศเมีย 1 ตัว (ฟอง)	เพศเมีย	5	117.60±7.16

1.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแมลงวันหัวเขียว

แมลงวันหัวเขียวมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างแบบสมบูรณ์ (complete metamorphosis) โดยมีการเจริญเติบโตครบวงจรชีวิต แบ่งออกเป็น 4 ระยะ คือ ระยะไข่ ระยะหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย ซึ่งแต่ละระยะมีรายละเอียดดังนี้

ระยะไข่ แมลงวันหัวเขียววางไข่เป็นกลุ่มๆ สีขาวครีม (ภาพที่ 25ก) มีรูปร่างลักษณะคล้ายเมล็ดข้าวสาร เรียวรีทั้งส่วนหัวและส่วนท้าย วัดความยาวได้เฉลี่ย 1.75±0.44 มิลลิเมตร (ภาพที่ 25ข)



ภาพที่ 25 กลุ่มไข่ของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* (ก) และไข่แมลงวัน 1 ฟอง (ข)

ระยะหนอน ลำตัวเป็นปล้องสีขาวครีม มีลักษณะส่วนหัวแหลมและบริเวณท้ายป้าน (vermiform) ส่วนหัวมีอวัยวะสำหรับกินอาหารรูปร่างเป็นตะขอยาวแหลมสีดำ (ภาพที่ 26) บริเวณท้ายลำตัวพบรูหายใจ 2 รู โดยระยะหนอนจะมีการลอกคราบ 2 ครั้ง เป็นตัวหนอน 3 ระยะก่อนเข้าสู่ระยะดักแด้ แต่ละระยะมีรายละเอียดดังนี้

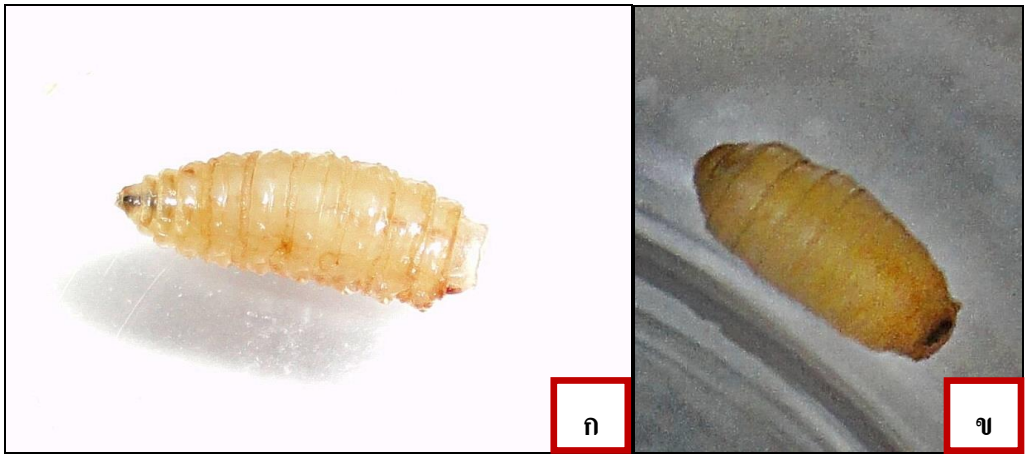
ระยะที่ 1 หนอนมีสีขาวใส และมีขนาดเล็กมาก มีความยาวเฉลี่ย 2.20±0.41 มิลลิเมตร

ระยะที่ 2 ตัวหนอนสีขาวครีม ลำตัวมีขนาดใหญ่ขึ้น มีความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 9.55±0.89 มิลลิเมตร ระยะนี้หนอนเคลื่อนที่อย่างรวดเร็ว และกินอาหารมากขึ้น เริ่มมองเห็นรูหายใจบริเวณท้าย แต่ยังไม่ชัดเจน

ระยะที่ 3 หนอนมีสีขาวครีม แต่สีเข้มกว่าหนอนระยะที่ 2 ลำตัวใหญ่และยาวมากขึ้น วัดความยาวเฉลี่ยได้ 15.15±0.81 มิลลิเมตร หนอนบางตัวมีขนาดยาวถึง 17 มิลลิเมตร มองเห็นรูหายใจได้ชัดเจนสำหรับตัวหนอนที่มีขนาดใหญ่ ระยะนี้ตัวหนอนเคลื่อนที่ช้าลง และหยุด

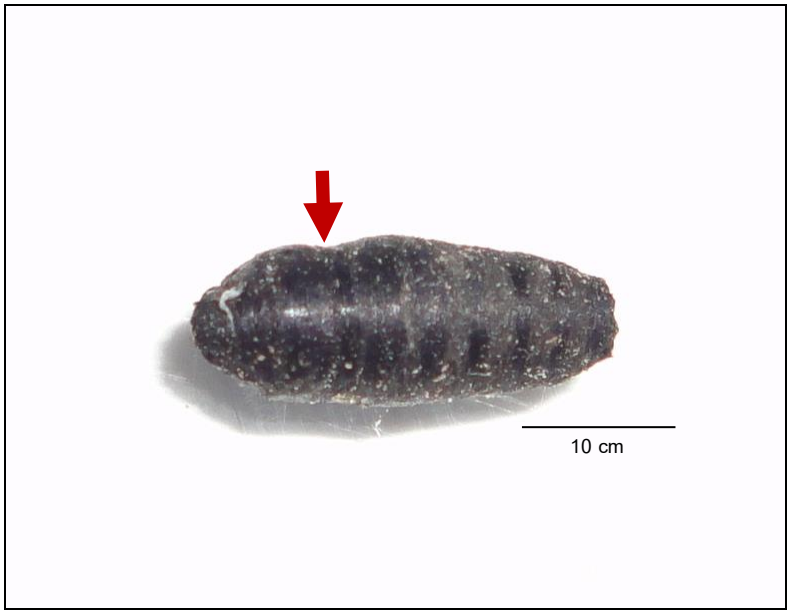
กินอาหาร จากนั้นลำตัวจะเริ่มหดสั้นลง (ภาพที่ 27ก) เพื่อเตรียมเข้าสู่ระยะดักแด้ในระยะแรก (ภาพที่ 27ข)

ภาพที่ 26 อวัยวะสำหรับกินอาหาร (ลูกศรชี้) ของหนอนระยะที่ 2 อายุ 2 วัน



ภาพที่ 27 หนอนระยะที่ 3 อายุ 4 วัน กำลังหดตัวสั้นลงเพื่อเตรียมเข้าสู่ระยะดักแด้ (ก) และดักแด้ในระยะแรก (ข)

ระยะดักแด้ มีรูปร่างแบบ coarctate ลำตัวถูกหุ้มด้วยโครงสร้างแข็ง มองไม่เห็นระยางค์ขาและปีก อาจมีลักษณะเป็นรูปทรงรีเป็นปล้องๆ หรือแบบเรียบ ลำตัวสั้นกว่าระยะหนอนเล็กน้อย เนื่องจากหนอนในระยะที่ 3 มีการหดตัวสั้นลงก่อนเข้าสู่ระยะดักแด้ วัดขนาดความยาวได้เฉลี่ย 11.55±0.99 มิลลิเมตร เริ่มแรกของดักแด้จะมีสีเหลืองอ่อน ก่อนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอมแดงและกลายเป็นสีดำในที่สุด บริเวณปล้องที่ 2-3 ของดักแด้คอดลงไปเล็กน้อย (ภาพที่ 28) ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของดักแด้แมลงวันหัวเขียว



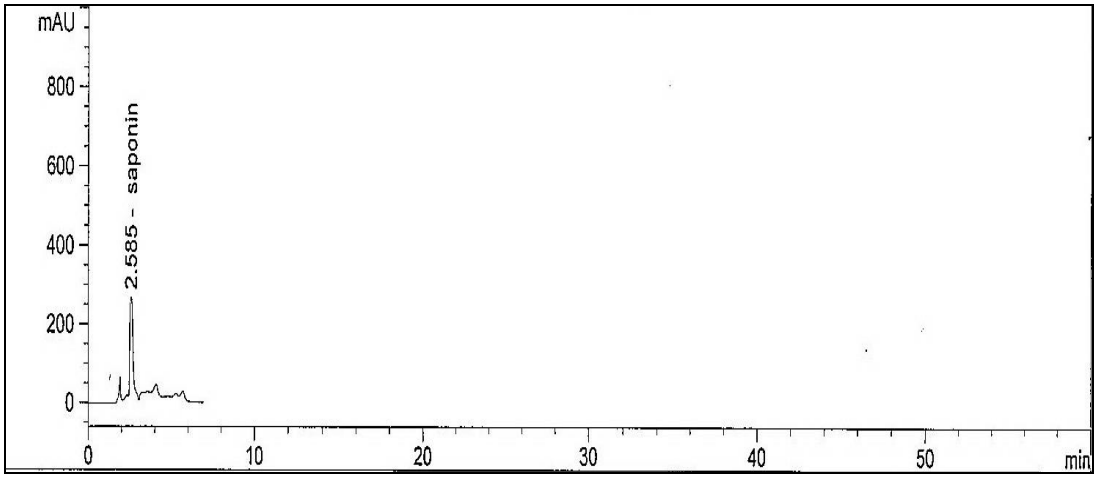
ภาพที่ 28 ดักแด้แมลงวันหัวเขียว (ลูกศรชี้บริเวณรอยคอดระหว่างปล้องที่ 2-3 ของดักแด้ ซึ่งเป็นส่วนที่แมลงวันใช้ในการโผล่ออกมาเมื่อเจริญพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย)

ระยะตัวเต็มวัย ลำตัวมีสีเขียวแวววาว รูปร่างกลมและมีขนาดใหญ่ บริเวณโคนปีกหน้าจะมีหนามเล็กๆ ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะที่บ่งบอกถึงแมลงวันหัวเขียวชนิดนี้ วัดขนาดความยาวของลำตัวจากส่วนหัวจนถึงส่วนท้องได้เฉลี่ย 12.75±0.96 มิลลิเมตร ตาประกอบมีขนาดใหญ่และเป็นสีน้ำตาลแดง ขนบริเวณหน้าจะมีสีส้ม ซึ่งเป็นลักษณะเด่นของแมลงวันหัวเขียวชนิดนี้ ตาประกอบสามารถใช้จำแนกเพศของแมลงวันหัวเขียวชนิดนี้ได้ คือ ตัวผู้มีตาประกอบชิดติดกัน ส่วนตัวเมียตาประกอบห่างกัน (ภาพที่ 29)

ภาพที่ 29 ลักษณะตาประกอบของเพศผู้ (ตาชิด) และเพศเมีย (ตาห่าง) ของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala*

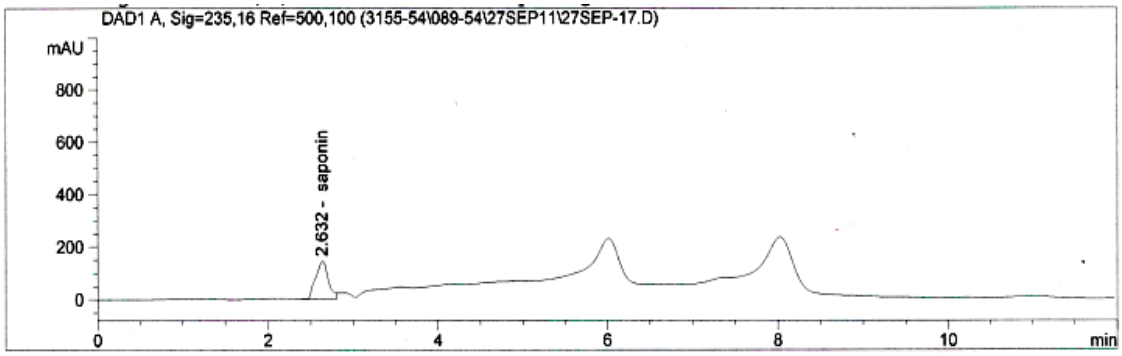
2. การวิเคราะห์ปริมาณสารซาโปนินจากสารสกัดหยาบกากเมล็ดชา

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารซาโปนินในสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาด้วยเครื่อง HPLC วิเคราะห์เชิงคุณภาพ โดยใช้สารซาโปนินมาตรฐานเป็นตัวเปรียบเทียบ ได้ค่า Retention time ของสารซาโปนินมาตรฐานเท่ากับ 2.585 นาที (ภาพที่ 30) ส่วนค่าดังกล่าวของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชา มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.637 นาที (โดยมีค่าอยู่ที่ 2.639, 2.639 และ 2.632) (ภาพที่ 31) ซึ่งเป็นเวลาใกล้เคียงกับสารซาโปนินมาตรฐาน กล่าวได้ว่าสารสกัดหยาบกากเมล็ดชามีสารซาโปนินเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย เมื่อคำนวณหาปริมาณสารซาโปนินที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดหยาบกากเมล็ดชา (ตามตารางภาคผนวกที่ 6) มีปริมาณสารซาโปนินในสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาเท่ากับ 30.3% (w/w) ซึ่งพบในปริมาณใกล้เคียงกับการศึกษาของ Chen และคณะ (2010) วิเคราะห์สารซาโปนินจากสารสกัดหยาบกากเมล็ดชา *C. oleifera* มีค่าเท่ากับ 39.5% (w/w)

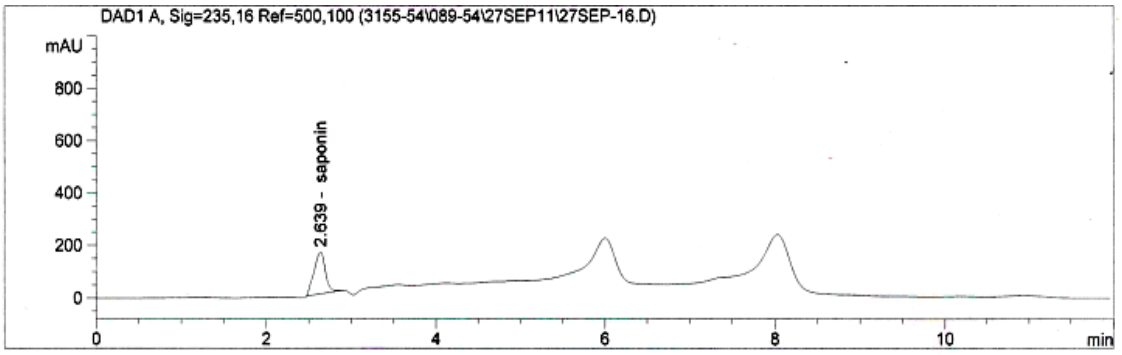


ภาพที่ 30 โครมาโตแกรมของสารซาโปนินมาตรฐาน

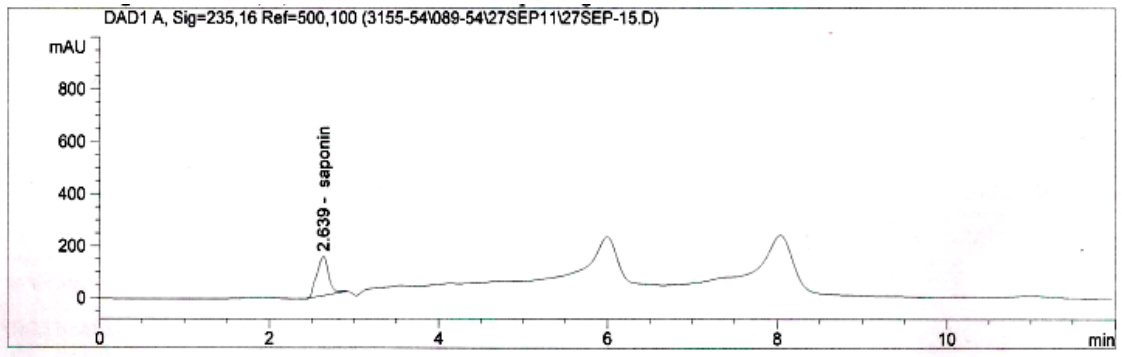
ก



ข



ค



ภาพที่ 31 โครมาโตแกรมของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ใช้เมทานอล 40% และกรดอะซิติก 0.1% โดยมีอัตราการไหลของน้ำที่ 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที
ก: วิเคราะห์ครั้งที่ 1, ข: วิเคราะห์ครั้งที่ 2, ค: วิเคราะห์ครั้งที่ 3

3. ผลของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาต่อการตายและการวางไข่ของตัวเต็มวัยแมลงวันหัวเขียว

จากการทดสอบผลของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาต่อการวางไข่ของแมลงวันหัวเขียวเพศเมีย โดยใช้สารทดสอบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับสารฆ่าแมลงไตรคลอฟอนต์ที่ความเข้มข้น 0.25% และน้ำเปล่าเป็นชุดควบคุมพบว่า สารสกัดหยาบกากเมล็ดชาและสารฆ่าแมลงไตรคลอฟอนต์ส่งผลให้จำนวนไข่ลดลง อันเนื่องมาจากการตายของแมลงวันหัวเขียวเพศเมียที่ได้รับสารทดสอบ (ตารางที่ 3) โดยไม่พบจำนวนไข่ของแมลงวันหัวเขียวเมื่อทดสอบด้วยสารฆ่าแมลงไตรคลอฟอนต์ เนื่องจากหลังจากทดสอบสารเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แมลงวันหัวเขียวตายทั้งหมด 100% (ตารางที่ 3) ของจำนวนแมลงวันเพศเมียที่นำมาทดสอบทั้งหมด 40 ตัว ส่วนการทดสอบด้วยสารสกัดหยาบกากเมล็ดชานั้น ที่ทุกระดับความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ ส่งผลให้จำนวนไข่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม การวางไข่มีจำนวนลดลงเมื่อใช้สารทดสอบที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น เนื่องมาจากแมลงวันหัวเขียวเพศเมียมีการตายเพิ่มขึ้น เมื่อใช้สารทดสอบที่ระดับความเข้มข้นสูง แต่อย่างไรก็ตามจำนวนไข่ที่วางลดน้อยลงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การตาย การวางไข่ และการยับยั้งการวางไข่ของแมลงวันหัวเขียวเพศเมียหลังสัมผัสอาหารที่ผสมสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ความเข้มข้นต่างๆ หลังเวลา 24 ชั่วโมง

ระดับความเข้มข้น (%)	จำนวนการตายของแมลงวันหัวเขียว (ค่าเฉลี่ย±S.D.)[1/]	จำนวนไข่ของแมลงวันหัวเขียวเฉลี่ยต่อ 1 ตัว (ค่าเฉลี่ย±S.D.)	การยับยั้งการวางไข่ของแมลงวันหัวเขียว
ชุดควบคุม	0.00±0.00e[2/]	80.02±4.80a	-
0.05	2.50±0.26de	77.80±5.09ab	2.77
0.1	5.00±0.29de	75.13±10.62abc	6.11
0.3	7.50±0.26cd	65.22±10.51abcd	18.49
0.5	7.50±0.26cd	63.97±14.80bcd	20.06
1	12.50±0.18c	60.10±9.97cd	24.89
3	15.00±0.21c	58.87±12.07d	26.43
5	25.00±0.17b	57.12±9.65d	28.62
10	30.00±0.22b	53.87±8.34d	32.68
ไตรคลอฟอนต์ 0.25%	100.00±0.00a	-*	-
F-test	**	**	-
CV (%)	**51.31**	**19.29**	-

[1/] เปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยจากการทดสอบ 4 ซ้ำ, S.E.= Standard Error of the Mean

[2/] ตัวเลขในสดมภ์ที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) จากการเปรียบเทียบ ค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT โดยแปลงข้อมูลด้วยวิธี $\sqrt{x+0.5}$ (Gomez and Gomez, 1976)

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

หมายเหตุ - ชุดควบคุมใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ

-* ไม่มีการวางไข่เพราะแมลงวันเพศเมียตายหมดที่เวลา 24 ชั่วโมง

ผลการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า สารสกัดหยาบกากเมล็ดชามีผลต่อการตายของแมลงวันหัวเขียวเพศเมียหลังจากมีโอกาสสัมผัสสาร หรือกินสารที่ผสมอยู่กับอาหาร (ตับวัวซึ่งจุ่มด้วยสารทดสอบเป็นเวลานาน 10 นาที) เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ซึ่งจากรายงานผลการศึกษาการออกฤทธิ์ควบคุมแมลงของสารซาโปนินนั้น ส่วนใหญ่มีผลยับยั้งการกินอาหารของแมลง เช่น Appelbaum และคณะ (1969) ทดสอบสารซาโปนินที่สกัดจากพืชหลายชนิด มีผลยับยั้งการกินอาหารของด้วงเจาะเมล็ดถั่ว *Callosobruchus chinensis* ส่วน Barbosa และคณะ (1990) ทดสอบซาโปนินที่สกัดจากต้น *Ilex apocea* สามารถยับยั้งการกินอาหารของผีเสื้อกลางคืน *Lymantria dispar* และ Soule และคณะ (2000) ทดสอบซาโปนินที่สกัดจากต้น *Solanum laxum* โดยนำมาผสมกับอาหารเทียมสำหรับเลี้ยงเพลี้ยอ่อน มีผลทำให้เพลี้ยอ่อน *Schizaphis graminum* ไม่กินอาหารตามปกติและตายในที่สุด

ส่วนสารไตรคลอฟอนต์นั้น ทำให้แมลงวันตายได้ 100% ภายในเวลา 24 ชั่วโมง จึงทำให้ไม่พบการวางไข่ของแมลงวันเพศเมียบนตับวัว สอดคล้องกับกอบทอง ฐูปหอม และคณะ (2531) ทดสอบปลาเค็มที่ชุบสารเคมีไตรคลอฟอนต์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25 ทำให้แมลงวันหัวเขียวที่ตอมตายเกินครึ่งหนึ่งในเวลา 6 ชั่วโมง และเมื่อเทียบการวางไข่ในชุดควบคุมกับชุดทดลองที่แต่ละระดับความเข้มข้นพบว่า ระดับความเข้มข้นที่ 0.05%-5% สามารถยับยั้งไม่ให้แมลงวันเพศเมียวางไข่ได้เท่ากับ 2.77% - 28.62% และที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดของสารทดสอบคือ 10% พบว่า สามารถยับยั้งไม่ให้แมลงวางไข่ได้เพียง 32.68% เท่านั้น

4. ผลของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาต่อการตายของแมลงวันหัวเขียว

4.1 ผลของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาต่อการตายของหนอนแมลงวันหัวเขียว

จากการศึกษาผลการออกฤทธิ์ฆ่าหนอนแมลงวันหัวเขียวของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาให้ผลไม่ดีเท่าที่ควร ซึ่งสารทดสอบทุกระดับความเข้มข้นสามารถฆ่าหนอนแมลงวันหัวเขียววัยที่ 3 ได้ในวันที่ 2 และหนอนตายเพิ่มขึ้นทุกความเข้มข้นในวันที่ 3 โดยที่ระดับความเข้มข้น 3% 5% และ 10% สามารถฆ่าหนอนได้ 42.5% 47.5% และ 55.0% ตามลำดับ (ตารางที่ 3) แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดหยาบดังกล่าวออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอนได้ดี โดยหนอนที่ได้รับสารทดสอบที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1-10% สามารถเจริญพัฒนาเข้าสู่ระยะดักแด้ได้เพียง 30-82.5% ที่เวลา 7 วัน ซึ่งต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และที่ระดับความเข้มข้น 5% และ 10% หนอนเข้าดักแด้ได้เพียง 37.5% และ 30.0% ตามลำดับ ขณะที่ชุดควบคุม หนอนเข้าดักแด้ได้ 100%

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การตายของหนอน การเจริญและพัฒนาเป็นดักแด้และตัวเต็มวัยของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya magacephala* หลังจากจุ่มหนอนวัยที่ 3 ลงในสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ความเข้มข้นต่างๆ

ระดับความเข้มข้น(%)	การตายของหนอนแมลงวัน (ค่าเฉลี่ย±S.D.)[1/]			การเข้าดักแด้ (%)	การพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย (%)
	1 วัน	2 วัน	3 วัน		
0	0.00±0.00	0.00±0.00e[2/]	0.00±0.00c	100.00a[3/]	95.00a[3/]
0.05	0.00±0.00	2.50±0.26e	2.50±0.26c	90.00ab	62.50b
0.1	0.00±0.00	2.50±0.26e	7.50±0.43c	82.50ab	47.50bc
0.3	2.50±0.25	7.50±0.58de	7.50±0.58c	80.00b	47.50bc
0.5	0.00±0.00	17.50±0.50cd	22.50±0.31b	62.50c	47.50bc
1	5.00±0.29	20.00±0.42bcd	30.00±0.31ab	55.00c	37.50bcd
3	7.50±0.43	32.50±0.26abc	42.50±0.28ab	47.50cd	27.50cd
5	15.00±0.69	40.00±0.44ab	47.50±0.51a	37.50de	20.00de
10	20.00±0.88	50.00±0.45a	55.00±0.44a	30.00e	12.50e
F-test	**ns**	**	**	**	**
%CV	**48.20**	**47.40**	**46.24**	**18.54**	**36.90**

[1/] เปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยจากการทดสอบ 4 ซ้ำ, S.E.= Standard Error of the Mean

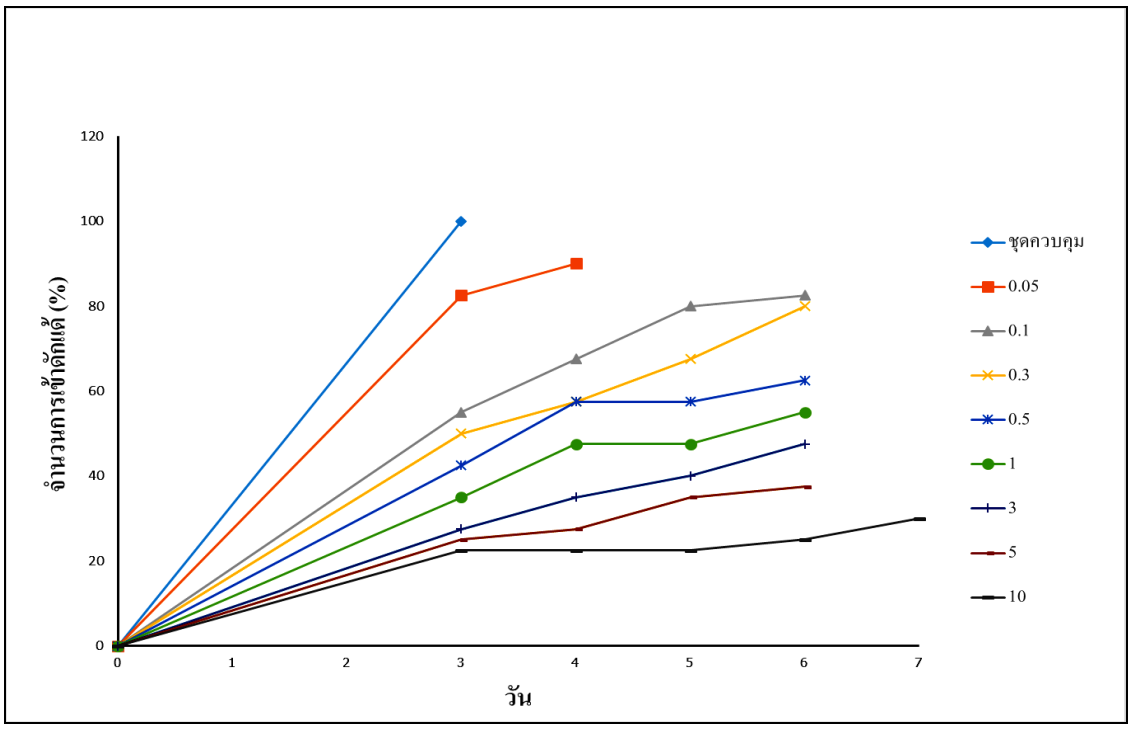
[2/] ตัวเลขในสดมภ์ที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) จากการเปรียบเทียบ ค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT โดยแปลงข้อมูลด้วยวิธี $\sqrt{x+0.5}$ (Gomez and Gomez, 1976)

[3/] ตัวเลขในสมดมภ์ถูกแปลงข้อมูลด้วย Arcsin

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

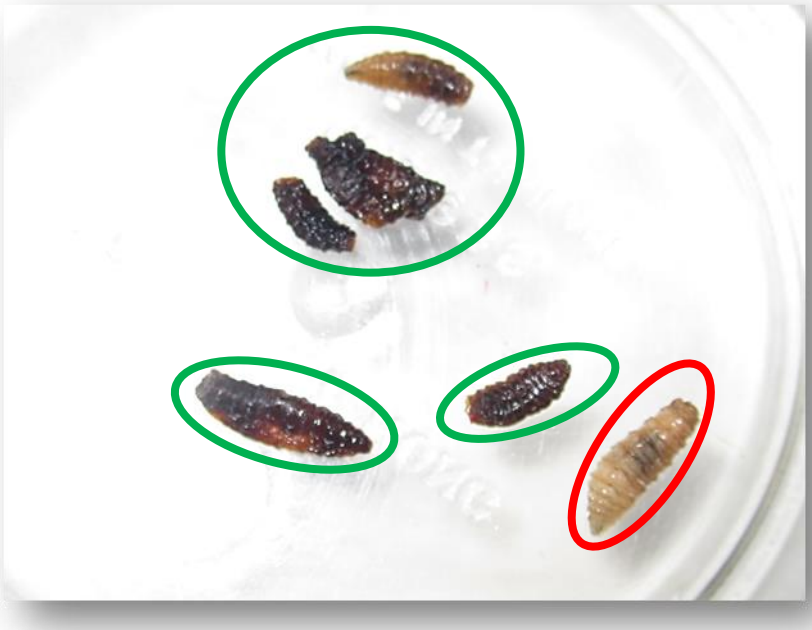
ส่วนดักแด้ที่เจริญพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยนั้น หนอนที่ได้รับสารทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 0.05-10% สามารถอยู่รอดและพัฒนากลายเป็นตัวเต็มวัยได้เพียง 62.5-12.5% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่หนอนสามารถกลายเป็นตัวเต็มวัยได้ถึง 95% และที่ระดับความเข้มข้น 3% 5% และ 10% ดักแด้กลายเป็นตัวเต็มวัยได้ 27.5% 20.0% และ 12.5% ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

นอกจากนี้ หนอนที่ได้รับสารทดสอบดังกล่าวจะใช้เวลานานขึ้นในการพัฒนาเข้าสู่ระยะดักแด้ จากข้อมูลในภาพที่ 32 หนอนในชุดควบคุมจะเข้าดักแด้ 100% ที่เวลา 3 วัน แต่หนอนในชุดของสารทดสอบต้องใช้เวลานานกว่า 3 วัน เพื่อเข้าดักแด้ขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้น โดยที่ระดับความเข้มข้น 0.05% หนอนใช้เวลา 4 วัน จึงเข้าดักแด้สูงสุด 90% และที่ระดับความเข้มข้น 0.1-5.0% ใช้เวลา 6 วัน และที่ระดับความเข้มข้นสูงสุด 10% หนอนใช้เวลาถึง 7 วัน จึงสามารถเข้าดักแด้ได้สูงสุด ผลการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับ Wina และคณะ (2005) ทดสอบสารซาโปนินที่สกัดจากเมล็ดต้นอัลฟัลฟา (alfalfa) เมื่อนำมาผสมในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนของหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera littoralis* ทำให้ระยะเวลาในการเปลี่ยนจากตัวอ่อนเป็นดักแด้นานขึ้น ส่งผลให้การเจริญเติบโตของแมลงช้าลงและประชากรของหนอนกระทู้ผักลดลงในที่สุด Geyter และคณะ (2007) ทดสอบสารซาโปนินที่ได้จากการสกัดเปลือกต้น *Quillaja sp.* เมื่อนำมาผสมในอาหารเทียมในอัตรา 3-7% แล้วนำมาทดสอบกับหนอนกระทู้ผัก *S. littoralis* วัยที่ 3 ทำให้หนอนกระทู้ผักตายมากกว่าหรือเท่ากับ 70%และสารซาโปนินมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอนดังกล่าว โดยหนอนใช้เวลาในการเจริญเติบโตมากกว่าปกติ



ภาพที่ 32 เปอร์เซ็นต์การเข้าดักแด้สะสมของหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya magacephala* หลังจากได้รับสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน

สำหรับหนอนแมลงวันหัวเขียวที่ตายหลังจากได้รับสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาในการศึกษาครั้งนี้ มีลำตัวหดสั้นลง และมีสีน้ำตาลคล้ำ (ภาพที่ 33) ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับหนอนที่ตายจากการสัมผัสสารสกัดจากหนอนตายหยาก ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีของรากหนอนตายหยากพบว่า มีองค์ประกอบของสารพวกโรตินอยด์และอัลคาลอยด์ (Shiengthong *et al.,* 1974) ซึ่งสารอัลคาลอยด์นี้ มีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อของหนอนแมลงวัน (เลาจนา ธีรภัทรสกุล และประคอง พันธุ์อุไร, 2520) ทำให้หนอนแมลงวันมีอัตราการตายเพิ่มขึ้น ประกอบกับการศึกษาในครั้งนี้ หนอนแมลงวันถูกทดสอบกับสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาซึ่งมีสารซาโปนินเป็นองค์ประกอบ โดยสารซาโปนินประกอบด้วย 2 ส่วน คือ อะไกลโคน และไกลโคน ซึ่งอะไกลโคนนี้เป็นสารในกลุ่มไตรเทอร์ปีนส์ และสเตียรอยด์อัลคาลอยด์ (นิรนาม, 2553) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าลักษณะการตายของหนอนแมลงวันจากการทดลองครั้งนี้จึงคล้ายกับลักษณะการของหนอนที่ทดสอบกับสารสกัดจากรากของหนอนตายหยากเนื่องจากเป็นสารกลุ่มอัลคาลอยด์เช่นเดียวกัน



ภาพที่ 33 หนอนที่ตายจากการได้รับสารสกัดหยาบกากเมล็ดชา (วงกลมสีเขียว) และหนอนที่ตายในชุดควบคุม (วงกลมสีแดง)

4.2 ผลของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาต่อการตายของดักแด้แมลงวันหัวเขียว

จากผลการศึกษาพบว่า สารสกัดหยาบกากเมล็ดชาส่งผลต่อการเจริญและพัฒนากลายเป็นตัวเต็มวัยของแมลงวันหัวเขียว เมื่อจุ่มดักแด้ในสารทดสอบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญและพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ระหว่างทรีทเมนต์และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งดังกล่าวมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อระดับความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบสูงขึ้น (ตารางที่ 4) โดยที่ระดับความเข้มข้น 0.05-0.3% สามารถยับยั้งได้ 5-12.5% และที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5% เป็นต้นไป สามารถยั้บยั้งได้สูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยที่ความเข้มข้นสูงสุด 10% สามารถยับยั้งได้ 35.0%

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์ดักแด้ที่ไม่เจริญและพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya magacephala* หลังจากจุ่มสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ระดับความเข้มข้น (%)	ดักแด้ที่ไม่เจริญและพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย (ค่าเฉลี่ย±S.D.)[1/]
0	2.50±0.25e[2/]
0.05	5.00±0.29de
0.1	10.00±0.36cde
0.3	12.50±0.18cd
0.5	20.00±0.26bc
1	20.00±0.42bc
3	20.00±0.26bc
5	27.50±0.14ab
10	35.00±0.14a
F-test	**
% CV	30.65

[1/] เปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยจากการทดสอบ 4 ซ้ำ, S.E.= Standard Error of the Mean

[2/] ตัวเลขในสดมภ์ที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) จากการเปรียบเทียบ ค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT โดยแปลงข้อมูลด้วยวิธี $\sqrt{x+0.5}$ (Gomez and Gomez, 1976)

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

จากผลการศึกษา มีจำนวนดักแด้ตายเป็นจำนวนหนึ่ง ซึ่งสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาทำให้โครงสร้างเปลือกของดักแด้อ่อนแอลง และส่งผลให้ดักแด้ตายในที่สุด เนื่องจากในสารสกัดหยาบกากเมล็ดชามีสารซาโปนินซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์หลัก และสารซาโปนินนี้จัดอยู่ในกลุ่มสารซักฟอกหรือสารลดแรงตึงผิว ซึ่งมีผลต่อโครงสร้างเปลือกนอกของดักแด้ (Cuticle) เพราะเอนไซม์และสารลดแรงตึงผิวสามารถทำลายส่วนของโปรตีนได้ (Tvedten, n.d.) เนื่องจากโครงสร้างผนังของดักแด้มีส่วนประกอบของโปรตีนอยู่ด้วย จึงสันนิษฐานว่าสารซาโปนินอาจไปชะล้างชั้นของโปรตีนดังกล่าวให้เกิดความเสียหายได้ นอกจากนี้สารลดแรงตึงผิวมีผลต่อพื้นผิวบริเวณเปลือกหรือปีกของแมลง เนื่องจากเปลือกของดักแด้มีส่วนผสมของสารที่เป็นไขมัน (wax) อยู่เช่นกัน ซึ่งหากบริเวณเปลือกของดักแด้ถูกสารลดแรงตึงผิวชะล้างออกจะทำไขมันบริเวณเปลือกจับตัวกันได้

น้อยลง ส่งผลให้โครงสร้างเปลือกของดักแด้ไม่แข็งแรงเหมือนเดิม (Goodwin and Ncbrydie, 2000) จึงทำให้ดักแด้บางส่วนไม่สามารถกลายเป็นตัวเต็มวัยได้ และส่งผลให้ดักแด้ตายในที่สุด สำหรับผลของสารซาโปนินที่มีต่อคนหรือสัตว์เลือดอุ่นนั้น พบว่า หากสัมผัสสารนี้จะทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง หรือเกิดผื่นคันขึ้นได้ (นิรนาม, 2553) ซึ่งอาจมีพิษต่อบริเวณเปลือกของดักแด้ด้วยเช่นกัน

นอกจากนี้ ผลของสารสกัดหยาบจากพืชชนิดอื่นที่ส่งผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของดักแด้ วรนาฏ คงตระกูล (2544) ทดสอบสารสกัดหยาบจากสารภีกับดักแด้แมลงวันสามารถยับยั้งการพัฒนาไปเป็นตัวเต็มวัยของดักแด้แมลงวันหัวเขียวได้ 30%

4.3 ผลของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาต่อการตายของตัวเต็มวัยแมลงวันหัวเขียว

จากการทดสอบแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ในระยะตัวเต็มวัยด้วยวิธีหยดสารทดสอบลงบนปล้องอกด้านบน จำนวนแมลงวันที่ตายมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อตัวเต็มวัยแมลงวันหัวเขียวได้รับความเข้มข้นต่างๆ ที่ใช้ทดสอบ จำนวนแมลงวันที่ตายขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่แมลงได้รับสารทดสอบ เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นและระยะเวลาที่แมลงได้รับสารนานขึ้น จำนวนแมลงวันตายมากขึ้น โดยหลังจากทดสอบสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาเป็นเวลา 1 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 3% 5% และ 10% ทำให้แมลงวันตายเท่ากับ 15% 20% และ 25% ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าความเข้มข้นอื่นๆ อย่างเด่นชัด และค่าดังกล่าวสูงขึ้นเป็น 25% 30% และ 40% หลังจากแมลงได้รับสารทดสอบนานขึ้น 2 วัน และเพิ่มสูงขึ้นเป็น 32.5% 42.5% และ 50% หลังจากแมลงได้รับสารทดสอบเป็นเวลา 3 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์การตายของตัวเต็มวัยแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya magacephala* ที่ตายหลังจากหยดสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ปล้องอกส่วนบน

ระดับความเข้มข้น (%)	การตายของแมลงวันหัวเขียวตัวเต็มวัย (%) (ค่าเฉลี่ย±S.D.)[1/]		
	1 วัน	2 วัน	3 วัน
0	0.00±0.00c[2/]	0.00±0.00c	0.00±0.00f
0.05	0.00±0.00c	0.00±0.00c	2.50±0.25ef
0.1	0.00±0.00c	0.00±0.00c	7.50±0.43ef
0.3	2.50±0.26c	5.00±0.26c	10.00±0.36de
0.5	2.50±0.26c	5.75±0.29c	20.00±0.26cd
1	5.00±0.29bc	12.50±0.48bc	27.50±0.26bc
3	15.00±0.50ab	25.00±0.39ab	32.50±0.26abc
5	20.00±0.42a	30.00±0.51a	42.50±0.23ab
10	25.00±0.55a	40.00±0.56a	50.00±0.25a
F-test	**	**	**
%CV	**44.66**	**49.98**	**40.75**

[1/] เปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยจากการทดสอบ 4 ซ้ำ, S.E.= Standard Error of the Mean

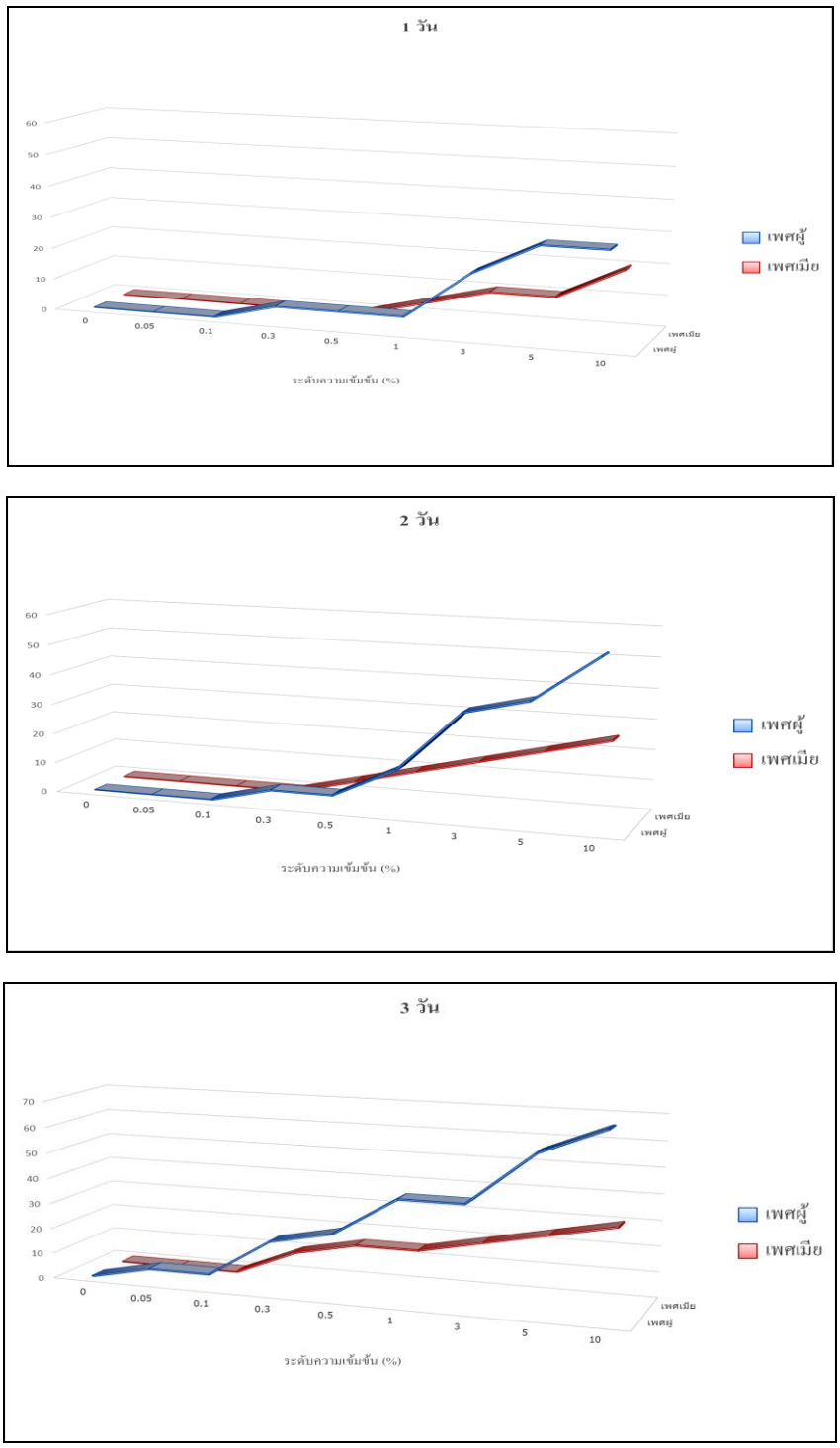
[2/] ตัวเลขในสดมภ์ที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT โดยแปลงข้อมูลด้วยวิธี $\sqrt{x+0.5}$ (Gomez and Gomez, 1976)

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

จากผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่า สารสกัดหยาบกากเมล็ดชาสามารถนำมาใช้ฆ่าแมลงวันหัวเขียวตัวเต็มวัยได้ แต่ต้องใช้ความเข้มข้นสูง 5-10% และต้องใช้ระยะเวลานานถึง 3 วัน ส่วนการตายของแมลงวันที่เกิดขึ้นนั้น น่าจะเป็นผลมาจากสารซาโปนินที่เป็นสารออกฤทธิ์หลักในสารทดสอบ โดยสารซาโปนินนี้ มีคุณสมบัติเป็นสารในกลุ่มสารลดแรงตึงผิว ซึ่งเอนไซม์และสารลดแรงตึงผิวสามารถนำมาใช้กำจัดแมลงได้ (Tvedten, n.d.) เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวเป็นพิษต่อแมลง (Wolfenbarger *et al*, 1967; Imai *et al*, 1994) และ Sames และคณะ (1990) ใช้น้ำสบู่กำจัดผึ้งได้ดี นอกจากนี้ ยังคาดว่าสารซาโปนินในสารทดสอบดังกล่าวอาจมีผลต่อโครงสร้างลำตัวของแมลงวัน เนื่องจากสารประกอบของสารลดแรงตึงผิวนี้ประกอบด้วย ส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้ว ส่วนที่มีขั้วจะจับกับโมเลกุลของน้ำ และส่วนที่ไม่มีขั้วจะจับได้ดีกับไขมัน (โชติมา วิไลวัลย์, 2549) ซึ่ง

บริเวณผนังลำตัวของแมลงประกอบไปด้วยเซลล์บุผิวเรียงตัวกันเป็นเซลล์ชั้นเดียว ด้านบนของเซลล์บุผิวจะเป็นชั้นของคิวติเคิลซึ่งถูกขับออกมาจากเซลล์บุผิว คิวติเคิลประกอบด้วยชั้นของ wax และชั้นของ cement ซึ่งชั้น wax มีไขมันเป็นส่วนประกอบ ซึ่งส่วนประกอบดังกล่าวนี้ มีความสำคัญต่อแมลงในด้านการป้องกันการสูญเสียน้ำออกจากร่างกาย (Triplehorn and Johnson, 2005) ซึ่งหากผนังลำตัวแมลงถูกทำลายด้วยสารลดแรงตึงผิว อาจส่งผลให้แมลงอ่อนแอลง เพราะสูญเสียน้ำออกจากร่างกายและส่งผลให้แมลงตายได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า สารซาโปนินอาจจะมีผลต่อระบบการแลกเปลี่ยนก๊าซของแมลง โดยสารซาโปนินมีกลไกเช่นเดียวกันกับน้ำสบู่คือ ช่วยลดแรงตึงผิวของน้ำทำให้น้ำสามารถไหลเข้าไปในท่อหายใจของยุงได้ เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวมีคุณสมบัติจับเปียกกระจายตัวปกคลุม และปิดกั้นทำลายระบบการหายใจของยุง ทำให้เยื่อบุรูหายใจของยุงสูญเสียสภาพการควบคุมความสมดุลของน้ำภายในตัว และทำให้ยุงตายในที่สุด (นิรนาม, ม.ป.ป.ข)

เมื่อพิจารณาการตายของแมลงวันหัวเขียวระยะตัวเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมีย แมลงวันเพศผู้มีอัตราการตายที่สูงกว่าแมลงวันเพศเมียที่ทุกระดับความเข้มข้น และที่เวลาต่างๆ โดยที่ระดับความเข้มข้น 10% แมลงวันเพศผู้และเพศเมียตาย 70% และ 30% ตามลำดับ ที่เวลา 3 วัน (ภาพที่ 34) จึงกล่าวได้ว่าแมลงวันหัวเขียวเพศผู้มีความไวต่อหรืออ่อนแอต่อสารสกัดหยาบกากเมล็ดชามากกว่าเพศเมีย สอดคล้องกับการศึกษาของกาบแก้ว สุคนธสรรพ์ และคณะ (2546) พบค่า LD_{50} ของสารสกัดหยาบยูคาลิปตอลในแมลงวันหัวเขียวเพศเมียเท่ากับ 221 ไมโครกรัม ในขณะที่ค่าดังกล่าวในแมลงวันหัวเขียวเพศผู้เท่ากับ 197 ไมโครกรัมเท่านั้น และเช่นเดียวกันกับแมลงวันบ้านที่ค่า LD_{50} ของสารดังกล่าวในแมลงวันบ้านเพศเมียเท่ากับ 177 ไมโครกรัม ส่วนในแมลงวันบ้านเพศผู้มีค่าดังกล่าวเท่ากับ 118 ไมโครกรัม จากผลการศึกษาดังกล่าวสังเกตได้ว่า แมลงวันเพศผู้มีความไวต่อสารทดสอบมากกว่าเพศเมีย หรือมีความต้านทานต่อสารเคมีหรือสารสกัดที่ใช้กำจัดแมลงวันได้น้อยกว่าเพศเมีย ดังนั้นหากต้องการกำจัดแมลงวันเพศเมีย จะต้องเพิ่มปริมาณของความเข้มข้นให้สูงขึ้นกว่าเดิม เพราะแมลงวันเพศเมียอาจมีโครงสร้างของร่างกายที่ใหญ่กว่า หรือแข็งแรงกว่า และอาจมีกลไกความต้านทานต่อสารที่ใช้กำจัดแมลงต่างๆ ได้ดีกว่าเพศผู้



ภาพที่ 34 เปอร์เซ็นต์การตายของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya magacephala* เพศผู้และเพศเมีย หลังจากทดสอบสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 1 2 และ 3 วัน

5. ผลของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาต่อการแพร่ขยายพันธุ์ของแมลงวันหัวเขียวเพศเมีย

นำแมลงวันหัวเขียวระยะตัวเต็มวัยที่มีชีวิตรอดจากการทดสอบในแต่ละระดับความเข้มข้นของการศึกษาข้างต้น มาทดสอบผลต่อการแพร่ขยายพันธุ์จำนวน 1 คู่ (เนื่องจากในการทดสอบผลของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาต่อการตายในแมลงวันหัวเขียวตัวเต็มวัยนั้น ในระดับความเข้มข้นที่ 10% มีแมลงวันหัวเขียวเพศผู้รอดเพียง 1 ตัวเท่านั้น จึงต้องใช้เพียง 1 คู่ของแต่ละระดับความเข้มข้นเพื่อใช้เปรียบเทียบกัน) ปล่อยให้แมลงวันผสมพันธุ์กัน และรอจนแมลงวันเพศเมียวางไข่ จึงนำไข่ออกมานับจำนวน พบว่า จำนวนไข่ในทุกระดับความเข้มข้นของสารทดสอบไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่ 6) แต่อย่างไรก็ตาม จำนวนไข่ของแมลงวันเพศเมียที่ได้รับสารทดสอบมีจำนวนน้อยกว่าชุดควบคุม โดยแมลงวันในชุดควบคุมวางไข่จำนวน 93.25% ส่วนแมลงวันที่ถูกสารทดสอบที่ 0.05-10% มีจำนวนไข่ที่วางเป็น 90.00% - 84.00% และเช่นเดียวกันกับค่ายับยั้งการวางไข่พบว่า สามารถยับยั้งได้สูงสุดเพียง 9.92% ซึ่งเป็นเปอร์เซ็นต์ที่น้อยมาก จึงอาจกล่าวได้ว่า สารทดสอบดังกล่าวไม่มีผลในการยับยั้งการวางไข่ของแมลงวัน เพราะแมลงวันที่ถูกสารทดสอบในแต่ละระดับความเข้มข้นกับชุดควบคุมมีจำนวนการวางไข่ที่ไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อนำผลการวางไข่ไปเทียบกับการวางไข่ของแมลงวันเพศเมียในการศึกษาเรื่องชีววิทยาของแมลงวันหัวเขียวในข้อที่ 1 พบว่ามีจำนวนการวางไข่น้อยกว่าเล็กน้อย ซึ่งเป็นไปได้ว่า อาจเป็นผลมาจากความเครียด เนื่องจากแมลงวันเหล่านี้ผ่านการสลบด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นเวลานานถึง 5 นาที รวมถึงถูกสารทดสอบ และยังต้องอยู่ในสภาพกรงทดสอบตลอดเวลาเป็นเวลานาน จึงทำให้เปอร์เซ็นต์การวางไข่ลดลง (สุจิรัต ศรีตังนันท์, 2548) จึงอาจทำให้มีความอ่อนแอเพิ่มขึ้น ทำให้สามารถวางไข่ได้น้อยกว่าปกติ

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์การวางไข่และยับยั้งการวางไข่ของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* เพศเมีย หลังจากทดสอบด้วยสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ระดับความเข้มข้น (%)	ไข่ของแมลงวันหัวเขียวเพศเมีย (ค่าเฉลี่ย±S.D.)[1/]	การยับยั้งการวางไข่ (%)
0	93.25±0.35	-
0.05	90.00±0.43	3.49
0.1	89.75±0.36	3.75
0.3	89.75±0.55	3.75
0.5	86.00±0.42	7.77
1	87.25±0.52	6.43
3	86.75±0.34	6.97
5	84.50±0.45	9.38
10	84.00±0.43	9.92
F-test	**ns**	**-**
%CV	**4.39**	**-**

[1/] ค่าเฉลี่ยจากการทดสอบ 4 ซ้ำ

ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยแปลงข้อมูลด้วยวิธี $\sqrt{x + 0.5}$ (Gomez and Gomez, 1976)

หลังจากนับจำนวนการวางไข่ของแมลงวันเพศเมียเพื่อศึกษาผลของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาต่อการวางไข่เรียบร้อยแล้ว จึงคัดไข่ที่แมลงวันวางจำนวน 20 ฟอง มาเลี้ยงในถ้วยพลาสติกใสแบบกลม โดยเขี่ยไข่ลงบนตับวัวสดถ้วยละ 5 ฟอง จากนั้น จดบันทึกการเจริญเติบโตในแต่ละระยะเป็นเวลา 15 วัน ตั้งแต่ระยะหนอน ดักแด้ จนกลายเป็นตัวเต็มวัย ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ของจำนวนหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกันที่ทุกระดับความเข้มข้น และเมื่อเทียบกับชุดควบคุม มีจำนวนใกล้เคียงกัน ดังนั้นสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาไม่มีผลต่อการแพร่ขยายพันธุ์ของแมลงวันหัวเขียว ซึ่งจำนวนหนอนที่เกิดขึ้นในชุดควบคุมมีค่าเท่ากับ 98.75% ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 0.05-10% มีจำนวนหนอน 97.50%-92.50% ตามลำดับ ส่วนระยะดักแด้พบจำนวนหนอนที่สามารถเข้าสู่ระยะดักแด้ได้ที่ระดับความเข้มข้น 0-10% มีค่าเท่ากับ 97.50%-90.00% ตามลำดับ และจำนวนตัวเต็มวัยที่ระดับความเข้มข้น 0-10% มีค่าเท่ากับ 97.50%-88.75% ตามลำดับ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์การพัฒนาเข้าสู่ระยะหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* ที่เจริญเติบโตในแต่ละระยะ หลังจากแมลงวันหัวเขียวตัวเต็มวัยได้รับสารทดสอบของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ระดับความเข้มข้น (%)	การพัฒนาของไข่เข้าสู่ระยะต่างๆ (%) (ค่าเฉลี่ย±S.D.)[1/]		
	หนอน	ดักแด้	ตัวเต็มวัย
0	98.75±0.06	97.50±0.06	97.50±0.06
0.05	97.50±0.06	95.00±0.09	93.75±0.14
0.1	98.75±0.06	92.50±0.12	91.25±0.11
0.3	96.25±0.11	91.25±0.11	90.00±0.09
0.5	95.00±0.09	92.50±0.06	90.00±0.17
1	95.00±0.13	91.25±0.06	90.00±0.09
3	97.50±0.06	91.25±0.11	90.00±0.09
5	96.25±0.06	92.50±0.06	90.00±0.00
10	92.50±0.06	90.00±0.09	88.75±0.06
F-test	**ns**	**ns**	**ns**
%CV	**1.88**	**2.13**	**2.50**

[1/] เปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยจากการทดสอบ 4 ซ้ำ

ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยแปลงข้อมูลด้วยวิธี $\sqrt{x+0.5}$ (Gomez and Gomez, 1976)

จากผลการทดสอบพบว่า ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0.05-10% พบการเป็นหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยที่ใกล้เคียงกันเมื่อเทียบกับชุดควบคุม แสดงว่าสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาไม่มีผลต่อการแพร่ขยายพันธุ์ของแมลงวันหัวเขียว ซึ่งเมื่อพิจารณาจากสารสกัดหยาบจากพืชอื่นๆ ที่ทำการทดสอบ ก็ให้ผลที่สอดคล้องกัน เยาวมาลย์ โสมะเกษตรินทร์ (2535) รายงานว่า สารสกัดจากผลกวาวเครือที่ผสมในอาหารเทียมไม่มีผลต่อความสามารถในการวางไข่ของแมลงวันผลไม้เพศเมีย ทำให้แมลงวันสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ และลักขณา ร่มเย็น (2547) รายงานว่า สารสกัดหยาบกวาวเครือที่ใช้ผสมอาหารสำหรับเลี้ยงแมลงวันในระยะหนอนไม่มีผลต่อการวางไข่ของแมลงวันบ้านเพศเมียในระยะตัวเต็มวัย และอาจไม่มีผลต่อระดับฮอร์โมน EDNH (egg development neurohormone) จึงทำให้การหลั่ง ENDH ปกติ ส่งผลทำให้รังไข่ผลิตไข่ในจำนวนปกติ (Wigglesworth, 1970; Gullan and Cranston, 1994) แต่ก็ยังไม่มีรายงานแน่ชัดถึงผลของกวาวเครือที่

มีต่อฮอร์โมนดังกล่าว และเป็นไปได้ว่า การหยดสารทดสอบลงบนปล้องอกอาจ ไม่มีผลต่อควบคุมการแพร่ขยายพันธุ์ได้ จึงน่าจะลองเพิ่มระดับความเข้มข้น และเปลี่ยนวิธีการทดสอบในรูปแบบอื่นๆ เช่น ทดสอบการกิน การพ่นฝอยละเอียด เป็นต้น แต่ก็พบว่ามีสารสกัดจากพืชบางชนิดสามารถยับยั้งการวางไข่ของของแมลงวันได้ โดย Siriwattanarungsee (2008) รายงานว่าแมลงวันบ้านและแมลงวันหัวเขียวมีจำนวนการวางไข่ลดลง เมื่อให้ความเข้มข้นของสะเดาสกัดเพิ่มขึ้น และเมื่อหนอนระยะที่สามและระยะดักแด้ได้รับสารทดสอบจากสะเดาสกัดที่ระดับความเข้มข้น 0.2% หลายๆ ครั้ง สามารถช่วยยับยั้งการวางไข่ของทั้งแมลงวันบ้านและแมลงวันหัวเขียวได้

บทที่ 4

สรุป

จากการศึกษาการใช้สารสกัดหยาบกากเมล็ดชาควบคุมแมลงวันหัวเขียวในทุกระยะการเจริญเติบโต โดยนำกากเมล็ดชามาสกัดด้วยเมทานอลและนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารซาโปนินปรากฏว่ามีองค์ประกอบของสารดังกล่าว 30.3% หลังจากนำสารสกัดหยาบมาทดสอบผลต่อการควบคุมแมลงวันหัวเขียวในรูปแบบต่างๆ โดยทดสอบผลต่อการวางไข่ ผลต่อการตายของหนอน ดักแด้และตัวเต็มวัย และผลต่อการแพร่ขยายพันธุ์ของตัวเต็มวัย สารสกัดหยาบกากเมล็ดชาสามารถยับยั้งการวางไข่ได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น แต่สามารถออกฤทธิ์ฆ่าแมลงวันหัวเขียวได้ทุกระยะการเจริญเติบโตทั้งระยะหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย แต่ให้ผลในการฆ่าไม่ดีเท่าที่ควร เนื่องจากต้องใช้สารสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้นค่อนข้างสูง สำหรับในระยะหนอนที่ได้รับสารสกัดหยาบกากเมล็ดชานั้น นอกจากจะสามารถฆ่าหนอนได้แล้ว ยังมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวันชนิดดังกล่าวได้ดี โดยหนอนที่ได้รับสารทดสอบดังกล่าวเจริญเติบโตและพัฒนาเข้าสู่ระยะดักแด้และระยะตัวเต็มวัยได้น้อยลงและต้องใช้ระยะเวลานานขึ้น เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ควรจะศึกษาเพื่อนำไปใช้ควบคุมแมลงดังกล่าวต่อไปนั้น ควรใช้ความเข้มข้น 3-5% เนื่องจากให้ผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตและพัฒนาของหนอนเป็นตัวเต็มวัยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับความเข้มข้น 10% สำหรับการทดสอบผลในระยะดักแด้พบว่า สารสกัดหยาบให้ผลในการฆ่าดักแด้ได้ไม่ค่อยดีเช่นเดียวกันเนื่องจากดักแด้มีการเจริญและพัฒนาเข้าสู่ตัวเต็มวัยค่อนข้างมาก ส่วนการทดสอบผลต่อระยะตัวเต็มวัยนั้นสามารถฆ่าแมลงวันได้ดี โดยลดจำนวนลงประมาณครึ่งหนึ่งของจำนวนทั้งหมดที่ระดับความเข้มข้นสูงสุด 10% และแมลงวันเพศผู้อ่อนแอต่อสารทดสอบมากกว่าแมลงวันเพศเมีย และเมื่อศึกษาการแพร่ขยายพันธุ์ของแมลงวันเพศเมียที่ได้รับสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาปรากฏว่า ไม่มีผลต่อการแพร่ขยายพันธุ์ โดยแมลงวันสามารถวางไข่ไม่แตกต่างกับชุดควบคุม และไข่สามารถกลายเป็นหนอนดักแด้และตัวเต็มวัยได้ตามปกติ

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า สารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่มีสารซาโปนินเป็นสารออกฤทธิ์ มีผลต่อการตายแมลงวันในทุกระยะการเจริญเติบโตค่อนข้างน้อย แต่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของแมลงวันในระยะหนอนได้เป็นอย่างดี จากผลการศึกษาทั้งหมดในครั้งนี้ ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้สารจากพืชชนิดนี้ และวิธีการทดสอบในรูปแบบอื่น เช่น

ทำเหยื่อพิษ พ่นฝอยละเอียด พ่นลงบนพื้นผิวที่แมลงมักจะเกาะ เป็นต้น เพื่อให้การใช้สารดังกล่าวให้เกิดประโยชน์สูงสุดและนำไปประยุกต์ใช้ลดการใช้สารเคมีสังเคราะห์ต่อไปในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

กาบแก้ว สุคนธสรรพ์, นพวรรณ บุญชู, คม สุคนธสรรพ์ และเวช ชูโชติ. 2546. พิษของยูคาลิปตอลต่อแมลงวันบ้าน *Musca domestica* Linnaeus (Diptera: Muscidae) และแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae). รายงานวิจัยจากกองทุนพัฒนาคณะแพทยศาสตร์. คณะแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

กอบทอง ธูปหอม, ยุวดี เลิศเรืองเดช, มะลิ สาฝ่าย และอุษาวดี ถาระ. 2531. การใช้สารไตรคลอร์ฟอนป้องกันการเกิดหนอนแมลงวันในปลาเค็ม. ว.กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 30: 173-182.

คม สุคนธสรรพ์ และกาบแก้ว สุคนธสรรพ์. 2548. แมลงวันที่มีความสำคัญทางการแพทย์ในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่ : เชียงใหม่ดิจิตอลเวิร์คส จำกัด.

คม สุคนธสรรพ์, กาบแก้ว สุคนธสรรพ์. 2553. แมลงวันหัวเขียวที่มีความสำคัญในราชอาณาจักรไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่ : กู๊ดพริ้นท์-พริ้นท์ติ้ง.

จรรยา ชัยเจริญพงศ์. 2552. กากเมล็ดชากำจัดหอยเชอรี่. บทความเผยแพร่ความรู้ด้านเทคโนโลยีชีวภาพ ลำดับที่ 4. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีและวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

โชติมา วิไลวัลย์. 2549. ผลิตภัณฑ์ซักล้าง. [ออนไลน์] จาก : http://www.chemtrack.org/News-Detail.asp?TID=4&ID=1 (สืบค้นเมื่อ 10 ธันวาคม 2555).

ไชยรัตน์ ส้มฉุน. 2553. พระราชดำริ "ชาน้ำมัน" ส่งเสริมปลูกในเกษตรพื้นที่สูง. ไทยรัฐออนไลน์. [ออนไลน์] จาก : www.thairath.co.th/content/edu/73784. (สืบค้นเมื่อ 27 พฤศจิกายน 2553).

นภาพร ศรีตะวานิช, ทัศนีย์ แจ่มจรรยา, อัมพร แจ่มสุวรรณ และยุพา หาญบุญทรง. 2550. ลำดับการเข้าก่อนหลังของสัตว์ขาปล้องในซากหมูและการประมาณระยะเวลาหลังการตาย. ว.วิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น (ฉบับบัณฑิตศึกษา) 7: 1-5.

นันทิยา โพธิ์สวัสดิ์. 2543. การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากกากชาและโล่ติ๊นในการกำจัดหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีที่เหมาะสมเพื่อการพัฒนาทรัพยากร, มหาวิทยาลัยมหิดล.

นิตยา อัศดร. 2548. การป้องกันกำจัดแมลงวันบ้าน (*Musca domestica* L.) แมลงวันหัวเขียว (*Calliphora* sp.) และแมลงวันหลังลาย (*Sarcophaga* sp.) โดยใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรวงศ์ขิง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชากีฏวิทยาและ สิ่งแวดล้อม, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

นิรนาม. 2550. ชาน้ำมันพืชเศรษฐกิจที่น่าสนใจ. จดหมายข่าวมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 1: 1-4.

นิรนาม. 2553. ซาโปนิน (Saponins). สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. [ออนไลน์] จาก : http://siweb.dss.go.th/repack/fulltext/IR10.pdf. (สืบค้นเมื่อ 18 พฤศจิกายน 2553).

นิรนาม. 2555. กากชา(ซาโปนิน) ช่วยกำจัดแมลงในสนามกอล์ฟ ปลอดภัย 100% ผลิตจากธรรมชาติ. [ออนไลน์] จาก : http://www.puiya.com/index.php?lay=boardshow&ac=webboard_show&WBntype=1&No=1349639 (สืบค้นเมื่อ 12 เมษายน 2557).

นิรนาม. ม.ป.ป.ก. ศูนย์เครื่องมือกลางศูนย์เครื่องมือกลาง, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. [ออนไลน์] จาก : http://www.sat.psu.ac.th/inct/ index.php?option=com_content&view=article&id=19&Itemid=55. (สืบค้นเมื่อ 12 มกราคม 2556).

นิรนาม. ม.ป.ป.ข. วิธีกำจัดยุงลาย. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, กระทรวงสาธารณสุข. [ออนไลน์] จาก : http://www.komchadluek.net/detail/ 20100722/67285. (สืบค้นเมื่อ 13 พฤศจิกายน 2555).

เนาสรัตน์ ศุขะพันธุ์ และชิตาภา เกตวัลห์. 2527. การเลี้ยงแมลงวันเพื่อใช้ในงานทดลอง. รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 22 สาขาพืช 30 มกราคม - 3 กุมภาพันธ์ 2527. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุณฑริกา ศิริ. ม.ป.ป. เรื่องเล่ากากชา. กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. [ออนไลน์] จาก : http://www.fisheries.go.th/if-center/web2/images/pdf/tea.pdf. (สืบค้นเมื่อ 27 พฤศจิกายน 2553).

บุณย์ธนิสร์ โอทกานนท์. 2494. การศึกษาทางเภสัชวิทยาของหนอนตายหยาก. รายงานการวิจัยเพื่อปริญญาเภสัชศาสตร์บัณฑิต. คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยแพทย์ศาสตร์.

ปาริชาติ อุปทุม. 2552. อิทธิพลของสารซาโปนินจากกากเมล็ดชาต่อความเป็นพิษและเอนไซม์เอสเทอเรสกลูทาไทโอน-เอส-ทรานสเฟอเรสต์อสัตว์และศัตรูพืชบางชนิด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาชีววิทยา, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เผด็จ สิริยะเสถียร และนันทนา ศิริทรัพย์. 2548. การประมาณเวลาการตายโดยอาศัยข้อมูลวงจรชีวิตของแมลงวันบนศพ. ว.แพทยศาสตร์จุฬา 49: 195-200.

มยุรา สุนย์วีระ. 2544. ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดต่อการตายของหนอนแมลงวันหัวเขียว. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39 สาขาพืช สาขาส่งเสริมและนิเทศศาสตร์เกษตร 5-7 กุมภาพันธ์ 2544. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เยาวมาลย์ โสมะเกษตรินทร์. 2535. ผลของสารสกัดกวาวเครือ (*Pueraria mirifica* Airy Shaw and Suvatabandhu) ต่อการสืบพันธุ์ของแมลงวันผลไม้ (*Dacus dorsalis* Hendel). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาการสอนชีววิทยา, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ลักขณา ร่มเย็น. 2547. ผลของสารสกัดกวาวเครือขาวที่มีต่อการสืบพันธุ์ของแมลงวันบ้าน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขากีฏวิทยา, คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เลาจนา ธีรภัทรสกุล และประคอง พันธุ์อุไร. 2520. การศึกษาพิษของหนอนตายหยากที่มีผลต่อแมลงวันบ้าน. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 19: 217-226.

วรนาฏ คงตระกูล. 2544. ประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงของสารจากกานพลูและสารภีต่อแมลงวันบ้าน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาชีววิทยา, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วราพร ไทรนนทรี. 2553. การศึกษาน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรในการป้องกันกำจัดแมลงวันหัวเขียว. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณลาดกระบัง.

สุจิรัต ศรีตังนันท์. 2548. คุณสมบัติการขับไล่แมลงของสารสกัดจากสะเดาช้าง (*Azadirachta excels* Jack.) ต่อแมลงวันแตง (*Bactocera cucurbitae* Coq.) และแมลงวันบ้าน (*Musca domestica* L.). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุพรรษา กิจประยูร. 2548. ฤทธิ์ฆ่าหอยเชอร์รี่ *Pomacea canaliculata* Lamarck ของซาโปนินจากเมล็ดชา *Camellia oleifera* Abel. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. ภาควิชาเคมี, คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สมบูรณ์ แสงมณีเดช, ขวัญเกศ กนิษฐานนท์, พิทยา ภาภิรมย์ และธานี เทศศิริ. 2548. การใช้สมุนไพรไทย (หางไหล) ควบคุมประชากรหนอนแมลงวันและการประยุกต์ใช้รักษาภาวะไมเอียซิสที่ผิวหนังในสัตว์. ว. วิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น 10: 22-30.

Alahmed, A. M. 2004. Myiasis in sheep farms in Riyadh Region, Saudi Arabia. J. Egypt Soc. Parasitol. 34: 153:160.

Alstead, S. 1938. Pharmacology and Therapeutics. London: Willium Heinemann LTD.

Anderson, D.L., Sedgley, M., Short, J.R.T. and Allwood, A.J. 1982. Insect pollination of mango in northern Australia *Mangifera indica* includes *Apis mellifera*. Aust.J. Agr. Res. 33: 541–548.

Anderson, G.S. and VanLaerhoven, S.L. 1996. Initial studies on insect succession on carrion in southwestern British Columbia. J. Forensic Sci. 41: 617–625.

Anderson, G.S. 2000. Minimum and maximum development rates of some forensically important Calliphoridae (Diptera). Forensic Sci. Int. 45: 824-832.

Anonymous. 2006. Life cycle of the black blow fly. U.S. National Library of Medicine. [Online]. Available from: http://www.nlm.nih.gov/visibleproofs/galleries/technologies/blowfly.html. (accessed on November 17, 2010).

Anonymous. 2011. Myiasis Photo. [Online]. Available from: http://www.dermnet.com/images/myiasis/picture/12970. (accessed on March 15, 2011).

Appelbaum, S.W., Marco, S., and Birk, Y. 1969. Saponins as possible factor of resistance of legume seeds to the attack of insects. J. Agr. Food. Chem. 17: 618-622.

Barbosa, P., Gross, P., Provan, G.J., and Stermiz, F.R. 1990. Allelochemicals in foliage of unfavored tree hoss of the gypsy mooth *Lymantria dispar* L. seasonal variation of saponins in *Ilex opacea* and identification of saponin aglycones. J. Chem. Ecol. 16: 1731-1738.

Berkebile, D. R., Sagel, A., Skoda, S. R. and Foster, J. E. 2006. Laboratory environment effects on the reproduction and mortality of adult screwworm (Diptera: Calliphoridae). Neotrp. Entomol. 35: 1-9.

Catts, E.P. 1992. Problem in estimating the postmortem interval in death investigations. J. Agri. Entomol. 9: 245-255.

Centeno, N., Maldonado, M. and Oliva, A. 2002. Seasonal patterns of arthropods occurring on sheltered and unsheltered pig carcasses in Buenos Aires Province (Argentina). Forensic Sci. Int. 126: 63–70.

Chapagain, B. P. and Wiesman, Z. 2005. Larvicidal activity of the fruit mesocarp extract of *Balanites aegyptiaca* and its saponin fractions against *Aedes aegypti.* J. Dengue Bulletin. 29: 203-207.

Chen, Y. H. 2007. Physiochemical propertiesand bioactives of tea seed (*Camellia oleifera*) oil. Master of Science. Food, Nutrition and Culinary Science, Graduate School of Clemson University.

Chen, Y.F., Yang, C.H., Chang, M.S., Ciou, Y.P. and Huang, Y.C. 2010. Foam properties and detergent abilities of the saponins from *Camellia oleifera*. Int. J. Mol. Sci. 11: 4417-4425.

Chopra, R. N., Badhwar , R. L. and Ghosh, S. 1965. Poisonous Plant of India Vol. l. Delhi: Indian Council of Agriculture Press.

Dadour, I. R., Cook, D. F., Fissioli, J. N. and Bailey, W. J. 2001. Forensic entomology: application, education and research in Western Australia. Forensic Sci. Int. 120: 48-52.

Desouza, A. M. and Linhares, A. X. 1997. Diptera and Coleoptera of potential forensic importance in southeastern Brazil: relative abundance and seasonality. Med. Vet. Entomol. 11: 8–12.

Faegri, K and Van, D. P. L. 1971. The Principles of Pollution Ecology, 2nd ed. Oxford: Pergamon Press.

Gabre, R. M., Adham, F. K. and Chi, H. 2005. Life table of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae). Acta Oecol. 27: 179–183.

Gao, D. F., Xu, M., Zhao, P., Zhang X. Y., Wang, Y. F., Yang, C. R. and Zhang, Y. J. 2010. Kaempferol acetylated glycosides from the seed cake of *Camellia oleifera*. J. Food Chem. 124: 432–436.

Geyter, E.D., Geelen, D. and Smagghe, G. 2007. First results on the insecticidal action of saponins. Comm. Appl. Biol. Sci. 72: 645-648.

Ghandour, A. M., 1988. Health hazards in humans and animals caused by imported livestock diseases in Saudi Arabia. Fauna of Saudi Arabia. Pro. Entomologia. 9: 468–477.

Gilman, E. F., and Watson, D. G. 1993. *Camellia oleifera* tea-oil camellia fact sheet ST-116. Environmental Horticulture Department, University of Florida.

Gomez, K. A. and Gomez, A. A. 1976. Statistical Procedures for Agricultural Research with Emphasis on Rice International Rice Research Institute. Philippines: Los Banos.

Goodwin, R. M. and Mcbrydie, H. M. 2000. Effect of surfactants on honey bee survival. New Zeal Plant Protect. 53: 230-234.

Gullan, P. J. and Cranston, P. S. 1994. The Insect an Outline of Entomology. London: Chapman and Hall.

Greenberg, B., 1971. Flies and Disease, Volume I: Ecology, Classification, and Biotic Association. New Jersey: Princeton University press.

Greenberg, B., 1973. Flies and Disease, Volume II: Biology and Disease Transmission. New Jersey: Princeton University press.

Grassberger, M. and Reiter, C. 2001. Effect of temperature on *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) development with special reference to the isomegalen and isomorphen-diagram. Forensic Sci. Int. 120: 32–36.

Grassberger, M. and Reiter, C. 2002. Effect of temperature on development of the forensically important holarctic blow fly *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy) (Diptera: Calliphoridae). Forensic Sci Int. 128: 177-182.

He, L., Guoying, Z., Huaiyun, Z. and Yuanhao H. 2010. Chemical constituents and biological activities of saponin from the seed of *Camellia oleifera*. J. Sci. Res. and Essays. 5: 4088-4092.

Hu, T., Len, C. H. and Lee, B. S. 1995. The laboratory rearing and radiation effects of gamma ray on the pupae of *Chrysomya megacephala* (Fabricius). Chin. J. Entomol. 15: 103–111.

Imai, T., Tsuchiya, S., Monita, K. and Fujimori, T., 1994. Surface tension-dependent surfactant toxicity on the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). Appl. Entomol. Zool. 29: 389-393.

Jarczyk, G., Jackowski, M., Szpila, K., Boszek, G., Kapelaty, S. 2008. Use of *Lucilia sericata* blowfly maggot in the treatment of diabetic feet threatened with amplulation. J. Acta Angiologica 14: 42-55.

Jones, H. A. and Emsweller, S. L. 1934. The use of flies as onion pollinators. Proceedings of the Amer. Soc. Hort Sci. 12: 160-164.

Kawai, A., Toshihiro, M., Hideki, H. and Katsunori K. 1999. Control effect of tea seed saponins against insect pests and mites. J. Chagyo Kenkyu Hokuku 87: 7–12.

Keiding, D. J. 1980. The house fly-biology and control. WHO. 76: 650.

Lefebvre, F. and Pasquerault, T. 2004. Temperature-dependent development of *Ophyra aenescens* (Wiedemann, 1830) and *Ophyra capensis* (Wiedemann, 1818) (Diptera: Muscidae). Forensic Sci. Int. 139: 75-79.

Lane, R. and Croskey, R.1993. Medical Insects and Arachnids. London: Chapman and Hall.

Long, Z. H., and Wang, D. P. 2008. Chemical constituents of olive oil and from *Camellia oleifera* seed oil. J. Chi. Cereal Oil Assoc. 23: 121–123.

Nabity, P. D., Higley, L. G., Heng-Moss, T. M. 2006. Effects of temperature on development of *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae) and use of development data in determining time intervals in forensic entomology. J. Med. Entomol. 43: 1276-1286.

Pelah, D., Abramovich, Z., Markus, A. and Z. Wiesman. 2002. The use of commercial saponin from *Quillaja saponaria* bark as a natural larvicidal agent against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. J. Ethnopharmacol. 81: 407-409.

Porter, J. 1977. Strawberry yields increased by better pollination. J. Hortic. Ind. 375-376.

Rohini. 2010. Maggot therapy. [Online]. Available from: http://doctor4help.blogspot.com/2010/03/maggot-therapy.html. (accessed July 7, 2013).

Sames, W. J., Lukefahr, M. J. and Lowry, W.L., 1990. Killing honey bee swarms, feral and managed colonies. J. American Bee 130: 810.

Schnur, H. J. Zivotofsky, D. Wilamowski, A. 2009. Myiasis in domestic animals in Israel. Vet. Parasitol. 161: 352-355.

Shanan, H., and Ying, G. 1982. The comprehensive utilization of camellia fruits. America Camellia Yearbook 37: 104-107.

Sherman, R. A. and Pechter, E. A. 1988. Maggot therapy: a review of the therapeutic applications of fly larvae in human medicine, especially for treating osteomyelitis. J. Med. Vet. Entomol. 2: 225-230.

Sherman, R. A. 2000. Wound myiasis in urban and suburban United States. J. Arch. Intern. Med. 160: 2004-2014.

Shiengthong, D., T. Donavanik, V. Uaprasert and S., Roengsumran. 1974. Constituents of Thai medical plants III new rotenoids compound stemonacetal, stemonal and stemonone. Tetrahedrol Letters. 23: 2015-2018.

Siriwattanarungsee, S. 2008. Effect of neem extract against housefly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) and blowfly, *Chrysomya megacephala* (F.) (Diptera: Calliphoridae). Chiangmai university.

Sollmann, T. 1964. A Manual of Pharmacology. London: W. B. Saunders Company.

Soule, S., Guntner, C., Vazquez, A., Argandona, V., Moyna, P., and Ferreira, F. 2000. An aphid repellent glycoside from *Solanum laxum.* Phytochemistry. 55: 217-222.

Strickland, G. and Strickland, J. 2008. *Chrysomya megacephala.* Iowa State University Entomology. [Online]. Available from: http://bugguide.net/user/view/4858. (accessed December 3, 2010).

Sucharit, S. and Tumrasvin, W. 1981. The survey of flies of medical and veterinary importance in Thailand. Jpn. J. Sanit. Zool. 32: 281-285.

Sugimoto, S., Chi, G., Kato, Y., Nakamura, S., Matsuda, H., and Yoshikawa, M. 2009. Medicinal flowers XXVI. structure of acylated oleanane-type triterpene oligoglycosides, yuchsaponins A, B, C and D, from the flower buds of *Camellia oleifera* gastroprotective, aldose reductase inhibitory and radical scavengingeffects. Chem. Pharmaceut. Bul. 57: 269–275.

Sukontason, K., Sukontason, K. L., Piangjai, S., Boonchu, N., Chaiwong, T., Ngern-Klum, R., Sripakdee, D., Vogtsberger, R. C. and Olson, J. K. 2004. Antennal sensilla of some forensically important flies in families Calliphoridae, Sacrophagidae and Muscidae. Micron 35: 671-679.

Sukontason, K., Piangjai, S., Siriwattarungsee, S. and Sukontason, K. L. 2008. Morphology and development rate of blow fly larvae, *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya rufifacies,* in Thailand. Parasitol. Res. 102: 1207-1216.

Sulaiman, S., Sohadi, A.R.,Yunus, H. and Iberahim, R. 1988. The role of some cyclorrhaphan flies as carriers of human helminths in Malaysia. Med. Vet. Entomol. 2: 1–6.

Sulaiman, S., Sohadi, A. R. and Jeffery, J. 1989. Human helminth parasite burdens on cyclorrhaphan flies (Diptera) trapped at an aboriginal settlement in Malaysia. Bull. Ent. Res. 79: 625–629.

Tumrasvin, W., Kurahashi, H. and Kano, R. 1979. Studies on medically important files in Thailand VII report on 42 species of Calliphorid files, including the taxonomic keys (Diptera: Calliphoridae). Bull. Tokyo Med. Dent. Univ. 26: 243-272.

Tangchitphinitkan, P., Visetson, S., Maketon, M. and Milne, M. 2007. Effects of some herbal plant extracts againt pharaoh ant, *Monomorium pharaonis* (Linnaeus). J. KMITL Sci. Tech. 7: 155-159.

Tantawi, T. I., El-kady, E. M., Greenberg, B. and El-ghaffar, H. A. 1996. Arthropod succession on exposedrabbit carrion in Alexandria, Egypt. J. Med. Entomol. 33: 566–580.

Tarone, A. M. and Faran, D. R. 2008. Generalized additive models and *Lucilia sericata* growth: assessing confidence intervals and error rates in forensic entomology. J. Forensic Sci. 53: 942-948.

Triplehorn, C. A. and Johnson, N. F. 2005. Borror and Delong's Introduction to Study of Insects 7th Edition. USA: Thomson Brooks/Cole.

Tvedten, S. L. n.d. The best control 2.[Online]. Available from: http://www.stephentvedten.com/index.htm (accessed on Febuary,27 2013).

Wang, T. J. and Wei, F. F. 1990. The value of comprehensive utilization of oil cake and summary of methods. J. E. Chi. Coll. Geo. 13: 57–62.

Wells, J. D. 1991. *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) has reached the continental United States: review of its biology, pest status and spread around the world. J. Med. Entomol. 28: 471–473.

Wells, J. D. and Kurahashi, H. 1994. *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) development rate, variation and the implications for forensic entomology. Jpn. J. Sanit. Zool. 45: 303–309.

Wigglesworth, V. B. 1970. Insect Hormones. San Fancisco: W.H. Freeman and Company.

Wina, E., Muetzel, S. and Becker, K. 2005. The impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant production-a review. J. Agri. Food Chem. 53: 8093-8105.

Wolfennbarger, D. A., Lukefahr, M. J. and Lowry, W. L., 1967. Toxicity of surfactants and surfactant-insecticide combinations to the bollworm, tobacco budworm, and pink bollworm. J. Econ. Entomol. 60: 902-904.

Zumpt, F. 1965. Myiasis in Man and Animals in the Old World. London: Butterworths.

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 ระยะเวลาการเจริญเติบโตของแมลงวันหัวเขียวในระยะไข่ หนอน และดักแด้

ซ้ำที่	ระยะเวลา (วัน)		
	ไข่	หนอน	ดักแด้
1	1	6	4
2	1	6	3
3	1	6	3
4	1	6	4
5	1	5	4
6	1	6	4
7	1	6	3
8	1	6	4
9	-	-	-
10	1	6	4
11	1	6	4
12	1	7	3
13	1	5	4
14	-	-	-
15	1	6	4
16	1	6	3
17	1	5	4
18	-	-	-
19	-	-	-
20	1	7	4
21	1	7	-
22	1	7	-
23	1	6	3
24	1	6	3
25	1	5	4

หมายเหตุ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

ซ้ำที่	ระยะเวลา (วัน)		
	ไข่	หนอน	ดักแด้
26	1	6	4
27	-	-	-
28	-	-	-
29	1	6	4
30	1	6	4
31	1	6	4
32	1	5	4
33	1	6	4
34	1	6	4
35	-	-	-
36	1	6	4
37	1	5	4
38	1	6	4
39	1	6	3
40	1	6	4
41	1	6	4
42	-	-	-
43	1	6	4
44	1	6	4
45	1	6	3
46	1	6	4
47	1	6	4
48	1	6	4
49	1	6	4
50	1	6	4

หมายเหตุ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

ซ้ำที่	ระยะเวลา (วัน)		
	ไข่	หนอน	ดักแด้
51	1	6	4
52	-	-	-
53	1	5	4
54	1	5	4
55	1	6	4
56	-	-	-
57	-	-	-
58	1	6	4
59	1	6	4
60	-	-	-
61	-	-	-
62	-	-	-
63	-	-	-
64	-	-	-
65	1	6	4
66	1	6	4
67	1	6	4
68	1	6	4
69	-	-	-
70	-	-	-
71	1	6	4
72	1	6	-
73	1	6	4
74	-	-	-
75	1	6	4

หมายเหตุ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

ซ้ำที่	ระยะเวลา (วัน)		
	ไข่	หนอน	ดักแด้
76	1	6	4
77	-	-	-
78	1	5	4
79	1	6	4
80	1	6	4
81	1	6	4
82	1	6	4
83	1	6	3
84	1	6	4
85	1	6	3
86	1	6	4
87	1	6	4
88	1	6	4
89	1	6	-
90	1	6	3
91	1	6	4
92	1	6	3
93	1	6	3
94	1	6	4
95	1	6	4
96	1	6	4
97	1	6	4
98	1	6	4
99	1	6	4
100	1	6	4

หมายเหตุ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง

ตารางภาคผนวกที่ 2 อายุขัยของแมลงวันหัวเขียวระยะตัวเต็มวัย

ช่วงอายุ (วัน)	เพศของแมลงวัน/ตัว	
	เพศผู้	เพศเมีย
1	40	32
2	40	32
3	40	32
4	40	32
5	40	32
6	40	32
7	40	32
8	40	32
9	40	32
10	40	30
11	40	30
12	40	30
13	40	30
14	40	30
15	40	30
16	40	30
17	40	30
18	40	27
19	40	27
20	25	27
21	25	27
22	25	27
23	25	27
24	25	27
25	25	27
26	25	27
27	25	27

ตารางภาคผนวกที่ 2 (ต่อ)

ช่วงอายุ (วัน)	เพศของแมลงวัน/ตัว	
	เพศผู้	เพศเมีย
28	14	27
29	14	17
30	14	17
31	9	11
32	9	11
33	9	11
34	9	11
35	9	11
36	9	5
37	9	5
38	9	5
39	9	5
40	3	5
41	3	5
42	3	5
43	3	5
44	3	2
45	3	2
46	2	2
47	2	2
48	2	2
49	2	2
50	2	2
51	-	2
52	-	2
53	-	2
54	-	2

ตารางภาคผนวกที่ 3 อายุก่อนวางไข่และจำนวนไข่ของแมลงวันหัวเขียวเพศเมีย

กล่องที่	อายุก่อนวางไข่ (วัน)	จำนวนไข่ที่วาง (ฟอง)
1	10	122
2	11	113
3	11	126
4	9	119
5	10	108

หมายเหตุ จำนวนแมลงวันเพศเมีย 1 ตัวต่อ 1 กล่อง

ตารางภาคผนวกที่ 4 ความยาวตั้งแต่ส่วนหัวถึงส่วนท้ายของแมลงวันหัวเขียวในแต่ละระยะการเจริญเติบโต

ระยะของแมลงวันหัวเขียว	ความยาว (เซนติเมตร)																			
	R1	**R2**	**R3**	**R4**	**R5**	**R6**	**R7**	**R8**	**R9**	**R10**	**R11**	**R12**	**R13**	**R14**	**R15**	**R16**	**R17**	**R18**	**R19**	**R20**
ไข่	1	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	1
หนอนระยะที่ 1	3	2	2	2	2	2	3	2	2	2	2	2	2	3	2	2	2	2	2	3
หนอนระยะที่ 2	10	9	9	10	8	9	9	10	9	9	11	10	8	9	10	10	11	10	9	11
หนอนระยะที่ 3	16	16	15	15	14	15	15	15	14	15	15	14	15	16	15	14	17	16	15	16
ดักแด้	13	12	12	11	10	11	11	11	10	12	11	11	12	13	11	11	14	12	11	12
ตัวเต็มวัย	14	13	13	12	13	14	13	12	11	12	12	13	13	12	13	12	15	14	12	12

หมายเหตุ R = จำนวนซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ 5 ค่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ตั้งแต่เดือนสิงหาคม-ธันวาคม 2554

วันเดือนปี	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความชื้นสัมพัทธ์ (%R.H.)
01/08/54	27.235	79.977
02/08/54	30.419	77.28
03/08/54	30.925	78.44
04/08/54	31.842	77.232
05/08/54	32.458	75.323
06/08/54	32.975	74.676
07/08/54	33.417	74.132
08/08/54	32.019	74.933
09/08/54	32.019	74.839
10/08/54	32.045	74.708
11/08/54	32.334	73.662
12/08/54	32.176	73.492
13/08/54	33.966	74.301
14/08/54	33.704	75.76
15/08/54	33.600	78.189
16/08/54	33.079	71.769
17/08/54	32.175	75.779
18/08/54	31.255	77.72
19/08/54	30.697	65.911
20/08/54	30.293	67.196
21/08/54	29.890	68.116
22/08/54	29.615	67.913
23/08/54	29.340	68.222
24/08/54	29.090	65.911
25/08/54	28.866	78.703

ตารางภาคผนวกที่ 5 (ต่อ)

วันเดือนปี	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความชื้นสัมพัทธ์ (%R.H.)
26/08/54	28.568	79.492
27/08/54	28.419	81.405
28/08/54	28.270	82.906
29/08/54	28.147	83.851
30/08/54	28.147	84.215
31/08/54	28.072	84.142
01/09/54	27.974	84.086
02/09/54	27.974	83.88
03/09/54	27.924	83.977
04/09/54	27.899	83.586
05/09/54	27.702	83.601
06/09/54	27.431	84.11
07/09/54	27.259	84.713
08/09/54	27.186	84.574
09/09/54	27.136	85.206
10/09/54	27.038	85.808
11/09/54	26.965	86.005
12/09/54	26.891	86.357
13/09/54	26.989	85.918
14/09/54	27.087	85.8
15/09/54	27.358	86.218
16/09/54	27.949	85.893
17/09/54	28.617	85.806
18/09/54	29.340	86.016
19/09/54	30.192	86.151
20/09/54	30.874	86.081

ตารางภาคผนวกที่ 5 (ต่อ)

วันเดือนปี	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความชื้นสัมพัทธ์ (%R.H.)
21/09/54	31.408	85.854
22/09/54	30.201	85.117
23/09/54	30.742	83.518
24/09/54	29.027	82.523
25/09/54	29.626	81.361
26/09/54	29.966	80.184
27/09/54	29.652	80.289
28/09/54	29.521	82.201
29/09/54	29.626	83.580
30/09/54	29.469	84.681
01/10/54	29.417	85.479
02/10/54	29.287	86.018
03/10/54	29.924	86.669
04/10/54	29.355	87.472
05/10/54	28.816	87.472
06/10/54	28.331	87.794
07/10/54	28.773	88.347
08/10/54	28.192	88.578
09/10/54	29.890	88.758
10/10/54	29.740	89.174
11/10/54	29.515	89.046
12/10/54	29.240	89.202
13/10/54	28.965	89.099
14/10/54	28.766	89.444
15/10/54	28.593	89.433

ตารางภาคผนวกที่ 5 (ต่อ)

วันเดือนปี	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความชื้นสัมพัทธ์ (%R.H.)
16/10/54	28.444	89.740
17/10/54	28.270	89.717
18/10/54	28.221	89.711
19/10/54	28.097	89.961
20/10/54	28.023	90.284
21/10/54	27.850	90.356
22/10/54	27.579	90.405
23/10/54	27.431	90.464
24/10/54	27.284	89.994
25/10/54	27.136	88.911
26/10/54	27.014	88.678
27/10/54	26.940	87.568
28/10/54	26.867	86.271
29/10/54	26.769	85.800
30/10/54	26.769	85.360
31/10/54	26.989	84.330
01/11/54	27.333	84.193
02/11/54	27.727	85.602
03/11/54	28.221	85.220
04/11/54	28.816	85.128
05/11/54	29.540	89.809
06/11/54	30.117	90.604
07/11/54	30.722	90.586
08/11/54	31.306	90.114
09/11/54	31.714	90.029
10/11/54	30.697	90.860

ตารางภาคผนวกที่ 5 (ต่อ)

วันเดือนปี	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความชื้นสัมพัทธ์ (%R.H.)
11/10/54	29.515	89.046
12/10/54	29.240	89.202
13/10/54	28.965	89.099
14/10/54	28.766	89.444
15/10/54	28.593	89.433
16/10/54	28.444	89.740
17/10/54	28.270	89.717
18/10/54	28.221	89.711
19/10/54	28.097	89.961
20/10/54	28.023	90.284
21/10/54	27.850	90.356
22/10/54	27.579	90.405
23/10/54	27.431	90.464
24/10/54	27.284	89.994
25/10/54	27.136	88.911
26/10/54	27.014	88.678
27/10/54	26.940	87.568
28/10/54	26.867	86.271
29/10/54	26.769	85.800
30/10/54	26.769	85.360
31/10/54	26.989	84.330
01/11/54	27.333	84.193
02/11/54	27.727	85.602
03/11/54	28.221	85.220
04/11/54	28.816	85.128
05/11/54	29.540	89.809

ตารางภาคผนวกที่ 5 (ต่อ)

วันเดือนปี	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความชื้นสัมพัทธ์ (%R.H.)
06/11/54	30.117	90.604
07/11/54	30.722	90.586
08/11/54	31.306	90.114
09/11/54	31.714	90.029
10/11/54	30.697	90.860
11/11/54	29.464	88.908
12/11/54	28.345	89.453
13/11/54	27.653	89.363
14/11/54	27.554	89.729
15/11/54	27.751	79.977
16/11/54	28.171	77.280
17/11/54	30.75	78.440
18/11/54	28.117	77.232
19/11/54	27.722	75.323
20/11/54	27.306	74.676
21/11/54	27.714	74.132
22/11/54	25.117	74.933
23/11/54	25.722	74.839
24/11/54	26.306	74.708
25/11/54	26.714	73.662
26/11/54	26.966	73.492
27/11/54	26.966	74.301
28/11/54	27.798	75.760
29/11/54	29.765	78.189
30/11/54	27.990	77.669
01/12/54	27.493	77.399

ตารางภาคผนวกที่ 5 (ต่อ)

วันเดือนปี	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความชื้นสัมพัทธ์ (%R.H.)
02/12/54	27.147	73.072
03/12/54	27.751	79.188
04/12/54	27.481	75.691
05/12/54	27.308	75.937
06/12/54	27.136	73.882
07/12/54	27.014	79.493
08/12/54	26.916	75.354
09/12/54	26.842	74.947
10/12/54	26.744	71.518
11/12/54	26.622	72.202
12/12/54	26.402	71.701
13/12/54	26.207	73.308
14/12/54	26.012	76.189
15/12/54	25.914	67.976
16/12/54	27.793	65.911
17/12/54	27.671	67.196
18/12/54	27.598	68.116
19/12/54	25.525	63.762
20/12/54	25.501	62.703
21/12/54	25.453	62.605
22/12/54	25.404	61.906
23/12/54	25.380	65.109
24/12/54	25.404	68.592
25/12/54	25.720	71.769
26/12/54	26.109	75.779
27/12/54	26.451	77.720
28/12/54	26.916	79.455
29/12/54	27.481	75.127
30/12/54	26.171	74.567
31/12/54	26.965	70.796

ตารางภาคผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ปริมาณสารซาโปนินในสารสกัดหยาบกากเมล็ดชา

สารสกัดหยาบ	สารที่พบ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาตรสารตัวอย่าง (มิลลิลิตร)	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	ปริมาณสารซาโปนิน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
1	1519.58421	10	0.0504	301504.80357
2	1533.60040	10	0.0504	304285.79365
3	1535.13237	10	0.0504	304589.75595

ตารางภาคผนวกที่ 7 จำนวนแมลงวันเพศเมียที่ตายหลังจากตอมตับวัวที่แช่สารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 1 วัน

ระดับความเข้มข้น (%)	จำนวนการตายของแมลงวันหัวเขียว			
	R1	**R2**	**R3**	**R4**
ชุดควบคุม	0	0	0	0
0.05	0	0	1	0
0.1	1	0	0	1
0.3	1	1	1	0
0.5	1	1	1	0
1	2	1	1	1
3	1	2	1	2
5	2	3	3	2
10	2	4	3	3
ไตรคลอฟอนต์ 0.25%	10	10	10	10

หมายเหตุ R = จำนวนซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ 8 ผลการวางไข่ของแมลงวันเพศเมียบนตับวัวที่แช่สารสกัดหยาบกากเมล็ดชา ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 1 วัน

ระดับความเข้มข้น (%)	จำนวนการวางไข่ของแมลงวันหัวเขียว			
	R1	**R2**	**R3**	**R4**
ชุดควบคุม	735	850	802	814
0.05	760	748	750	854
0.1	620	755	880	750
0.3	645	640	534	790
0.5	482	764	545	768
1	623	455	676	650
3	640	480	735	500
5	686	569	580	450
10	542	428	555	630
ไตรคลอฟอนต์ 0.25%	-	-	-	-

หมายเหตุ R = จำนวนซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ 9 จำนวนหนอนแมลงวันที่ตายหลังจากจุ่มลงในสารสกัดหยาบกากเมล็ดชา ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 1 2 และ 3 วัน

ระดับความเข้มข้น (%)	จำหนวนหนอนแมลงวันที่ตายในเวลาต่างๆ (ชั่วโมง)											
	1 วัน				2 วัน				3 วัน			
	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4
ชุดควบคุม	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.05%	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
0.1%	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	2	0
0.3%	0	0	1	0	0	0	3	0	0	0	3	0
0.5%	0	0	0	0	2	2	3	0	2	3	3	1
1%	0	0	1	1	1	2	4	1	2	4	4	2
3%	0	1	2	0	2	4	4	3	3	4	6	4
5%	0	0	4	2	2	5	6	3	2	7	6	4
10%	0	0	6	2	4	3	8	5	5	3	8	6

หมายเหตุ R = จำนวนซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ 10 จำนวนการเข้าดักแด้ของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* ที่เวลาต่างๆ หลังจากทดสอบสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ระดับความเข้มข้น (%)	จำนวนการเข้าดักแด้ในเวลาต่างๆ (วัน)																							
	2				3				4				5				6				7			
	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4
ชุดควบคุม	10	8	8	9	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
0.05	5	7	3	6	9	8	8	8	10	9	8	9	10	9	8	9	10	9	8	9	10	9	8	9
0.1	4	3	5	5	4	5	6	7	5	7	7	8	8	9	7	8	9	9	7	8	9	9	7	8
0.3	6	3	3	5	8	3	3	6	9	4	4	6	9	6	5	7	9	8	7	8	9	8	7	8
0.5	4	3	5	4	4	4	6	3	7	4	5	7	7	4	5	7	7	5	6	7	7	5	6	7
1	5	2	3	3	5	4	3	2	6	4	3	6	6	4	3	6	6	4	6	6	6	4	6	6
3	1	1	2	3	1	5	2	3	1	5	3	5	2	5	4	5	5	5	4	5	5	5	4	5
5	2	0	1	2	2	1	3	4	2	3	1	5	3	3	3	5	3	2	4	6	3	3	4	5
10	1	1	0	0	3	3	1	2	3	3	1	2	3	3	1	2	3	3	1	3	4	4	1	3

หมายเหตุ R = จำนวนซ้ำ

ตารางภาคผนวก 11 จำนวนหนอนที่เข้าดักแด้ทั้งหมด หลังจากทดสอบสารสกัดหยาบกากเมล็ดชา ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 1 วัน

ระดับความเข้มข้น (%)	จำนวนหนอนที่เข้าดักแด้ (ตัว)			
	R1	**R2**	**R3**	**R4**
ชุดควบคุม	10	10	10	10
0.05	10	9	8	9
0.1	9	9	7	8
0.3	9	8	7	8
0.5	7	5	6	7
1	6	4	6	6
3	5	5	4	5
5	3	3	4	5
10	4	4	1	3

หมายเหตุ R = จำนวนซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ 12 จำนวนดักแด้ที่สามารถพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยทั้งหมด หลังจากทดสอบสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 1 วัน

ระดับความเข้มข้น (%)	จำนวนตัวเต็มวัย (ตัว)			
	R1	**R2**	**R3**	**R4**
ชุดควบคุม	9	9	10	10
0.05	6	5	5	9
0.1	5	4	3	7
0.3	3	5	4	7
0.5	4	5	3	7
1	5	3	2	5
3	2	3	2	4
5	3	1	2	2
10	0	4	1	0

หมายเหตุ R = จำนวนซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ 13 จำนวนดักแด้ที่ตายหลังจุ่มลงในสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 1 วัน

ระดับความเข้มข้น (%)	จำนวนดักแด้ที่ไม่กลายเป็นตัวเต็มวัย (ตัว)			
	R1	**R2**	**R3**	**R4**
ชุดควบคุม	0	0	1	0
0.05	1	0	1	0
0.1	2	1	1	0
0.3	2	1	1	1
0.5	1	2	2	3
1	1	4	2	1
3	3	2	1	2
5	3	2	3	3
10	4	3	3	4

หมายเหตุ R = จำนวนซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ 14 จำนวนการตายของแมลงวันหัวเขียวหลังจากทดสอบโดยการหยดสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาลงบนปล้องอกที่เวลา 1 2 และ 3 วัน

ระดับความเข้มข้น (%)	จำนวนการตายของตัวเต็มวัยแมลงวันหัวเขียว (ตัว)											
	1 วัน				2 วัน				3 วัน			
	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4
ชุดควบคุม	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.05	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
0.1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0
0.3	0	0	1	0	0	0	1	0	2	1	1	0
0.5	0	0	1	0	0	0	1	1	2	2	1	3
1	0	0	1	1	1	0	1	3	3	2	2	4
3	0	1	3	2	1	2	3	4	3	2	4	4
5	1	1	4	2	1	2	5	4	3	4	5	5
10	1	1	5	3	2	2	6	6	4	4	6	6

หมายเหตุ R = จำนวนซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ 15 จำนวนของแมลงวันเพศผู้และเพศเมียหลังที่ตายหลังหยดสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ปล้องอกส่วนบนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 3 วัน

ระดับความเข้มข้น (%)	1 วัน								2 วัน								3 วัน							
	R1		R2		R3		R4		R1		R2		R3		R4		R1		R2		R3		R4	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
0.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
0.3	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	1	1	1	1	0	0	0
0.5	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	2	1
1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1	2	1	3	0	2	0	1	1	2	2
3	0	0	1	0	2	1	1	1	1	0	1	1	2	1	3	1	2	1	1	1	2	1	3	1
5	1	0	0	1	3	1	2	0	1	0	1	1	4	1	2	2	2	1	3	1	4	1	3	2
10	1	0	1	0	3	2	1	2	2	0	2	0	4	2	3	3	3	1	4	0	4	2	3	3

หมายเหตุ R = จำนวนซ้ำ

M = เพศผู้

F = เพศเมีย

ตารางภาคผนวกที่ 16 ผลของแมลงวันหัวเขียวตัวเต็มวัยต่อการวางไข่หลังทดสอบสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 3 วัน

ระดับความเข้มข้น (%)	จำนวนไข่ที่วางทั้งหมดต่อ 1 ตัว			
	R1	**R2**	**R3**	**R4**
0	90	102	95	86
0.05	88	80	100	92
0.1	96	88	80	85
0.3	80	88	105	86
0.5	75	89	92	80
1	80	95	83	101
3	76	84	90	88
5	84	79	99	85
10	98	84	80	82

หมายเหตุ R = จำนวนซ้ำ

ตารางภาคผนวกที่ 17 ผลของแมลงวันหัวเขียวตัวเต็มวัยต่อการแพร่ขยายพันธุ์ในระยะต่างๆ หลังจากทดสอบสารสกัดหยาบกากเมล็ดชาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 3 วัน

ระดับความเข้มข้น (%)	จำนวนของแมลงวันหัวเขียวที่เจริญเติบโตได้ในแต่ละระยะ (ตัว)											
	หนอน				ดักแด้				ตัวเต็มวัย			
	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4
0	20	20	20	19	20	20	19	19	20	20	19	19
0.05	20	19	19	20	20	19	18	19	20	19	17	19
0.1	20	20	19	20	19	19	19	17	19	19	18	17
0.3	19	20	20	18	19	19	18	17	18	19	18	17
0.5	19	19	20	18	18	19	19	18	18	19	19	16
1	20	18	18	20	19	18	18	18	19	17	18	18
3	19	20	20	19	18	19	19	17	18	19	18	17
5	20	19	19	19	18	19	19	18	18	18	18	18
10	18	19	18	19	18	19	17	18	18	18	17	18

หมายเหตุ R = จำนวนซ้ำ