



การใช้สารสกัดจากสนสองใบในการควบคุมลูกน้ำยุงพาหะนำโรค



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการบริหารสิ่งแวดล้อม

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

พ.ศ. 2542

ISBN 974-662-923-9

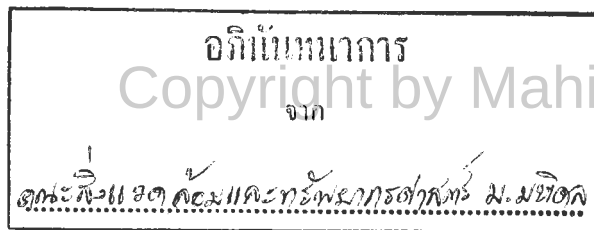
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยมหิดล

ฉพ

ท139ก

2542

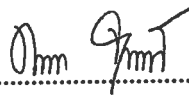
ค.3



วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การใช้สารสกัดจากสนสองใบในการควบคุมลูกน้ำยุงพาหะนำโรค



นางสาวทรงพร จุลเจนวิทย์

ผู้วิจัย

๑๑๑ ๑๑๑๑

รองศาสตราจารย์รุ่งจรัส หุดะเจริญ

วท.บ., วท.ม.

ประธานกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

ดร. อรรถสิทธิ์

รองศาสตราจารย์ยุพา รองศรีเยี่ยม

วท.บ., วท.ม., Ph.D., DLSHTM.

กรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์



ผู้ช่วยศาสตราจารย์จำลอง อรุณเลิศอารีย์

วท.บ., M.Sc., Ph.D.

กรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

ดร. นิตยา

นางสาวกอบแก้ว มโนมัยพิบูลย์

B.Eng., M.Eng.

รักษาราชการแทนประธานคณะกรรมการ

ประจำหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการบริหารสิ่งแวดล้อม

คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์



ศาสตราจารย์เลียงชัย ถิมถ่อมวงศ์ Ph.D.

คณบดี

บัณฑิตวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การใช้สารสกัดจากสนสองใบในการควบคุมลูกน้ำยุงพาหะนำโรค
ได้รับการพิจารณาให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการบริหารสิ่งแวดล้อม
วันที่ 6 สิงหาคม พ.ศ. 2542

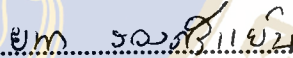


นางสาวทรงพร จุลเจนวิทย์
ผู้วิจัย



รองศาสตราจารย์รุ่งจรัส หูตะเจริญ
วท.บ., วท.ม.

ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

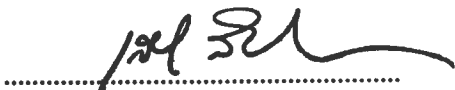


รองศาสตราจารย์ยุพา รongศรีแยม
วท.บ., วท.ม., Ph.D., DLSHTM.

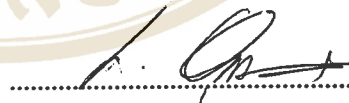
กรรมการสอบวิทยานิพนธ์



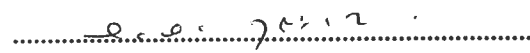
รองศาสตราจารย์จิระศักดิ์ โรจนาปรมสุข
วท.บ., วท.ม., M.P.H., Dr.P.H.
กรรมการสอบวิทยานิพนธ์



ศาสตราจารย์เลียงชัย ลิ้มล้อมวงศ์ Ph.D.
คณบดี
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล



ผู้ช่วยศาสตราจารย์จำลอง อรุณเลิศอารีย์
วท.บ., M.Sc., Ph.D.
กรรมการสอบวิทยานิพนธ์



รองศาสตราจารย์รุ่งจรัส หูตะเจริญ วท.บ.,วท.ม.
คณบดี

คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาของ รองศาสตราจารย์รุ่งจรัส หูตะเจริญ ที่กรุณาให้คำแนะนำ ปรึกษา และสละเวลาอันมีค่ายิ่งในการทำวิทยานิพนธ์

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ดอกเตอร์ยุพา รองศรีแย้ม ด้วยความรู้ สึกษาซึ่งและสำนึกในพระคุณเป็นอย่างสูงในการให้คำแนะนำ ให้ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ และช่วยเหลือแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ เป็นอย่างดียิ่งจนกระทั่งวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ดอกเตอร์จำลอง อรุณเลิศอารีย์ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา ตลอดจนตรวจและแก้ไขรายละเอียดต่างๆ ของวิทยานิพนธ์

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ดอกเตอร์จิระศักดิ์ โรจนเปรมสุข ที่กรุณาสละเวลาเพื่อเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งให้คำแนะนำและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ผู้วิจัยขอระลึกถึงพระคุณ คุณพ่อวีระศักดิ์ คุณแม่ศรีน้อย และพี่สาว ที่ให้ความสนับสนุนด้านการศึกษา และให้กำลังใจเสมอมาจนกระทั่งสำเร็จการศึกษา

ผู้วิจัยขอขอบคุณดอกเตอร์วรารุช ปริกนันท์ ที่ได้ให้คำแนะนำ และช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์

ผู้วิจัยขอขอบคุณหน่วยปฏิบัติการยามาแมลง ชั้น 4 ตึกอำนวยการ และหน่วยเครื่องมือ และวัสดุกลาง คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์และความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการ สำหรับทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือในการทดลองตลอดมา

ท้ายนี้ขอขอบคุณ เพื่อนๆ และพี่ๆ ET 21 ที่ให้กำลังใจและมีส่วนช่วยเหลืออย่างดีตลอดมา

ทรงพร จุลเจนวิทย์



3736421 ENTM/M : สาขาวิชา : เทคโนโลยีการบริหารสิ่งแวดล้อม ; วท.ม. (เทคโนโลยีการบริหารสิ่งแวดล้อม)

คำสำคัญ : LC_{50} (Lethal concentration at 50%) / ประสิทธิภาพ / สารควบคุมการเจริญเติบโต

ทรงพร จุลเจนวิทย์ : การใช้สารสกัดจากสนสองใบในการควบคุมลูกน้ำยุงพาหะนำโรค (EXTRACTS OF *Pinus merkusii* Jungh & de Vriese FOR CONTROL OF MOSQUITO VECTORS) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : รุ่งจรัส หุตะเจริญ, วท.ม. (เทคโนโลยีการบริหารสิ่งแวดล้อม), ยุพา รองศรีแย้ม, Ph.D., DLSHTM., จำลอง อรุณเลิศอารีย์, Ph.D. (Fisheries) 101 หน้า. ISBN 974-662-923-9

ศึกษาการใช้สารสกัดจากสนสองใบในการควบคุมลูกน้ำยุงพาหะนำโรค ด้วยวิธีการหมัก ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งได้ทำการศึกษาสนสองใบจากส่วนใบ และก้าน ในตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำกลั่นและเอธานอล 95% ใช้ช่วงระยะเวลาในการหมักนาน 24 ชั่วโมง โดยทำการทดลองกับลูกน้ำยุงลาย ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง

ในการวิเคราะห์ข้อมูลความเป็นพิษในรูปมีรยฐานของระดับความเข้มข้น (LC_{50}) ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าค่า LC_{50} ของสารสกัดจากใบสนสองใบที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย ต่อลูกน้ำยุงลาย ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง มีค่าเท่ากับ 5067.56, 4537.84 และ 582.65 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ค่า LC_{50} ของสารสกัดจากใบสนสองใบที่ใช้เอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย ต่อลูกน้ำยุงลาย ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง มีค่าเท่ากับ 606.12, 134.77 และ 351.97 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ค่า LC_{50} ของสารสกัดจากก้านสนสองใบที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย ต่อลูกน้ำยุงลาย ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง มีค่าเท่ากับ 581.18, >100000 และ 741.80 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และค่า LC_{50} ของสารสกัดจากก้านสนสองใบที่ใช้เอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย ต่อลูกน้ำยุงลาย ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง มีค่าเท่ากับ 209.96, 274.21 และ 144.40 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จึงอาจกล่าวได้ว่าเอธานอล 95% เป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพดีกว่าน้ำกลั่น เนื่องจากมีค่า LC_{50} ต่ำกว่า

จากผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากก้านสนสองใบที่ใช้เอธานอล 95% เป็นตัวทำละลายให้ผลดีกับยุงทั้ง 3 ชนิด เหมาะแก่การนำไปใช้ควบคุมลูกน้ำยุงรำคาญในธรรมชาติ และจากการศึกษาการกระจายลักษณะการตายของยุงในระยะต่างๆ ที่เกิดจากสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบ พบว่าอัตราการตายสูงสุดอยู่ในลักษณะครึ่งๆกลางๆ ระหว่างตัวโม่งและตัวเต็มวัย (P-A) มากที่สุด รองลงมาจะเป็นการตายในระยะที่ลอกคราบเป็นตัวโม่งแล้วและมีสีน้ำตาลหรือดำเกิดขึ้น (BP) ซึ่งอาจกล่าวได้ว่า ประสิทธิภาพของสนสองใบแสดงฤทธิ์เป็น Juvenile hormone เพราะในระยะการเจริญเติบโตตามปกติของลูกน้ำ จากลูกน้ำลอกคราบเป็นตัวโม่ง และจากตัวโม่งเป็นตัวยุง จะต้องการเพียง Moulting hormone อย่างเดียว เมื่อฤทธิ์ของสนสองใบเป็น Juvenile hormone และนำไปทดสอบกับลูกน้ำยุงในระยะที่ 4 ตอนต้น ซึ่งในระยะนี้ไม่ต้องการ จะทำให้ลูกน้ำเกิดความผิดปกติขึ้น และตายในที่สุด นอกจากการตายด้วยลักษณะผิดปกติต่างๆ ในขณะที่จะเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยแล้ว ยังพบว่าในช่วงการเจริญเติบโตช้าลงไปประมาณ 3, 2 และ 3 วัน สำหรับกลุ่มยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง ตามลำดับ



3736421 ENTM/M : MAJOR : TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL MANAGEMENT ; M.Sc.
(TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL MANAGEMENT)

KEY WORDS : LC_{50} (Lethal concentration at 50%) / EFFICIENCY / INSECT GROWTH
REGULATOR

SONGPORN JUNJANWIT : EXTRACTS OF *Pinus merkusii* Jungh & de Vriese FOR
CONTROL OF MOSQUITO VECTORS. THESIS ADVISORS : RUANGJARAT HUTACHAROEN, M.Sc.
(TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL MANAGEMENT), YUPHA RONGSRIYAM, Ph.D., DLSHTM.,
CHUMLONG ARUNLERTAREE, Ph.D. (FISHERIES). 101 p. ISBN 974-662-923-9

Extracts of *Pinus merkusii* Jungh & de Vriese from the leaf and stem parts were tested against
the larva of *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus* and *Anopheles maculatus*. Extracts were prepared in
distilled water or 95% ethanol at 24 hours maceration.

The observed mortality data of these tests were analyzed for median lethal concentration at 95%
confidence limit. The leaf water extract LC_{50} values were 5067.56, 4537.84 and 582.65 mg/l for *Ae. aegypti*,
Cx. quinquefasciatus and *An. maculatus*, respectively. The leaf ethanol extract showed the LC_{50} values of
606.12, 134.77 and 351.97 mg/l against *Ae. aegypti*, *Cx. quinquefasciatus* and *An. maculatus*, respectively.

The LC_{50} values for stem water extract were 581.18 for *Ae. aegypti*, >100000 for *Cx.*
quinquefasciatus and 741.80 mg/l for *An. maculatus*. The stem ethanol extract exhibited the LC_{50} values of
209.96, 274.21 and 144.40 mg/l for *Ae. aegypti*, *Cx. quinquefasciatus* and *An. maculatus*, respectively.

Based on the overall results, stem ethanol extract yielded the best result and seemed to be
suitable to use in natural breeding places of *Cx. quinquefasciatus*. Moreover, *Pinus merkusii* caused
abnormality in mosquitoes which died during the course of adult emergence. The adults appeared to be normal
but failed to free themselves from the pupal exuvium. Sometimes the adults could free the head and thorax but
not the abdomen. These insects escaped almost completely, but the tarsi of the hind pair of legs remained stuck
to the pupal exuviae. According to the immense lethal effect obtained, it is suggested that *Pinus merkusii*
exhibited the Juvenile hormone type activity. In addition, the delayed development of about 2-3 days was
observed in mosquitoes exposed to all types of solvent extracts from either leaf or stem.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	ก
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
สารบัญตาราง.....	ซ
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 กรอบและแนวคิดในการวิจัย.....	5
1.3 วัตถุประสงค์ในการวิจัย.....	7
1.4 สมมุติฐานในการวิจัย.....	7
1.5 ขอบเขตในการวิจัย.....	7
1.6 คำย่อในการวิจัย.....	8
1.7 ความหมายในการวิจัย.....	8
1.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	9
1.9 สถานที่ทำการวิจัย.....	9
2. ทบทวนวรรณกรรม.....	10
2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับขุง.....	10
2.2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสนสองใบ.....	27
2.3 ฮอร์โมนควบคุมการเจริญเติบโต และ Metamorphosis ของแมลง.....	33
2.4 เคมีกำจัดแมลง.....	35
2.5 ปฏิกิริยาของสารสกัดจากพืช.....	36
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	37

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3. วัตถุประสงค์และวิธีการวิจัย.....	44
3.1 แผนการทดลอง	44
3.2 ขั้นตอนการทดลอง	44
3.3 ลักษณะการตายของยุงที่เกิดจากสารควบคุมการเจริญเติบโต	51
3.4 การบันทึกและการวิเคราะห์ผล	52
4. ผลการวิจัย	54
4.1 ระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง	54
4.2 ผลของสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำชนิดต่างๆ	55
4.3 การศึกษาการกระจายลักษณะการตายของยุงในระยะต่างๆที่เกิดจากสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบ	68
4.4 ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตของยุงพาหะนำโรคจากลูกน้ำระยะที่ 4 ถึงระยะตัวเต็มวัยเมื่อทดสอบด้วยสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบ โดยใช้ น้ำกลั่นและเอธานอล 95% เป็นตัวทำลาย	80
5. อภิปราย	82
6. สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	85
6.1 สรุปผลการวิจัย	85
6.2 ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยที่ควรศึกษาต่อไป	86
รายการอ้างอิง.....	88
ภาคผนวก.....	93
ประวัติผู้วิจัย...	101

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 3-1	จำนวน TREATMENT ของสารสกัดจากใบหรือก้านสนสองใบในยุง 1 ชนิด จากตัวทำละลาย 2 ชนิด ที่ช่วงเวลาหมัก 24 ชั่วโมง.....	50
ตารางที่ 4-1	แสดงระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากใบสนสองใบและก้านสนสองใบในน้ำกลั่น และเอธานอล 95% ที่ใช้กับลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง.....	55
ตารางที่ 4-2	ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดใบสนสองใบที่หมักด้วยน้ำกลั่นที่มีผลต่อลูกน้ำยุงลาย ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง	56
ตารางที่ 4-3	ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดใบสนสองใบที่หมักด้วยเอธานอล 95 %ที่มีผลต่อลูก น้ำยุงลาย ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง.....	57
ตารางที่ 4-4	ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดใบสนสองใบที่หมักด้วยน้ำกลั่นที่มีผลต่อลูกน้ำยุง รำคาญ ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง	58
ตารางที่ 4-5	ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดใบสนสองใบที่หมักด้วยเอธานอล 95 %ที่มีผลต่อลูก น้ำยุงรำคาญ ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง	59
ตารางที่ 4-6	ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดใบสนสองใบที่หมักด้วยน้ำกลั่นที่มีผลต่อลูกน้ำยุงก้น ปล่อง ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง	60
ตารางที่ 4-7	ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดใบสนสองใบที่หมักด้วยเอธานอล 95 %ที่มีผลต่อลูก น้ำยุงก้นปล่อง ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง	61
ตารางที่ 4-8	ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดก้านสนสองใบที่หมักด้วยน้ำกลั่นที่มีผลต่อลูกน้ำยุง ลาย ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง	62
ตารางที่ 4-9	ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดก้านสนสองใบที่หมักด้วยเอธานอล 95 %ที่มีผลต่อลูก น้ำยุงลาย ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง.....	63
ตารางที่ 4-10	ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดก้านสนสองใบที่หมักด้วยน้ำกลั่นที่มีผลต่อลูกน้ำยุง รำคาญ ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง	64
ตารางที่ 4-11	ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดก้านสนสองใบที่หมักด้วยเอธานอล 95 %ที่มีผลต่อลูก น้ำยุงรำคาญ ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง.....	65

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 4-12 ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดก้านสนสองใบที่หมักด้วยน้ำกลั่นที่มีผลต่อลูกน้ำยุง ก้นปล่อง ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง.....	66
ตารางที่ 4-13 ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดก้านสนสองใบที่หมักด้วยเอธานอล 95 % ที่มีผลต่อ ลูกน้ำยุงก้นปล่อง ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง.....	67
ตารางที่ 4-14 ค่า LC_{50} ของสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบในการควบคุมการเจริญเติบโตของ ลูกน้ำยุง 3 ชนิด โดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด	68
ตารางที่ 4-15 แสดงอัตราการตายของยุงลายแยกตามลักษณะการตาย เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดจากใบ และก้านสนสองใบโดยใช้น้ำกลั่นและเอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย.....	74
ตารางที่ 4-16 แสดงอัตราการตายของยุงรำคาญแยกตามลักษณะการตาย เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดจาก ใบและก้านสนสองใบโดยใช้น้ำกลั่นและเอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย	76
ตารางที่ 4-17 แสดงอัตราการตายของยุงก้นปล่องแยกตามลักษณะการตาย เมื่อทดสอบด้วยสารสกัด จากใบและก้านสนสองใบโดยใช้น้ำกลั่นและเอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย.....	78
ตารางที่ 4-18 แสดงระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตของยุงพาหะนำโรคจากลูกน้ำระยะที่ 4 ถึง ระยะตัวเต็มวัย เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบโดยใช้น้ำกลั่น และเอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย	81

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1-1 แสดงสูตรโครงสร้างของ α -pinene	4
ภาพที่ 1-2 แสดงสูตรโครงสร้างของ caryophyllene	4
ภาพที่ 1-3 แสดงสูตร โครงสร้างของ cineole	5
ภาพที่ 2-1 แสดงภาพวงจรชีวิตของยุงลาย	11
ภาพที่ 2-2 แสดงลักษณะเฉพาะของลูกน้ำยุงลายบ้าน	12
ภาพที่ 2-3 แสดงลวดลายของเกล็ดสีดำและขาบน scutum และ scutellum ทางด้านบนของ. ทรวงอกของตัวเต็มวัยยุงลาย (<i>Ae. aegypti</i> with typical “lyre” - shaped marks)	14
ภาพที่ 2-4 ยุงลายตัวเต็มวัย	15
ภาพที่ 2-5 แสดงลักษณะตัวเต็มวัยของยุงลาย (<i>Ae. aegypti</i>)	16
ภาพที่ 2-6 แสดงภาพวงจรชีวิตของยุงรำคาญ	18
ภาพที่ 2-7 แสดงลักษณะสำคัญของยุง Genus Aedes และ Culex	19
ภาพที่ 2-8 แสดงวงชีพของไมโครฟิลาเรียระบบน้ำเหลือง	21
ภาพที่ 2-9 แสดงวงชีพของมาลาเรีย	26
ภาพที่ 2-10 แสดงฮอร์โมนควบคุมการเจริญเติบโตและ Metamorphosis ของยุงลาย	34
ภาพที่ 2-11 แสดงสูตร โครงสร้างของ Stemonal	38
ภาพที่ 2-12 แสดงสูตร โครงสร้างของ Stemonacetal	39
ภาพที่ 2-13 แสดงสูตร โครงสร้างของ Stemonone	39
ภาพที่ 4-1 แสดงลักษณะการตายในระยะลูกน้ำ (ระยะ L) ของยุง <i>Ae. aegypti</i>	69
ภาพที่ 4-2 แสดงลักษณะการตายในระยะลูกน้ำซึ่งมีตัวโม่งโผล่ออกมาบางส่วน (ระยะ L-P) ของยุง <i>Ae. aegypti</i>	70
ภาพที่ 4-3 แสดงลักษณะการตายในระยะตัวโม่งสีขาว (ระยะ WP) ของยุง <i>Ae. aegypti</i>	70
ภาพที่ 4-4 แสดงลักษณะการตายในระยะตัวโม่งสีน้ำตาลและดำ (ระยะ BP) ของยุง <i>Cx.</i> <i>quinquefasciatus</i>	71

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
ภาพที่ 4-5 แสดงลักษณะการตายในระยะตัวโม่งที่เจริญเติบโตแบบครึ่งๆกลางๆ และตัวเต็มวัยโผล่ออกมาบางส่วน (ระยะ P-A) ของยุง <i>Ae. aegypti</i>	72
ภาพที่ 4-6 แสดงลักษณะการตายในระยะตัวเต็มวัย (ระยะ FA) ของยุง <i>Ae. aegypti</i>	73
ภาพที่ 4-7 แสดงการกระจายลักษณะการตายของยุงลาย (<i>Ae. aegypti</i>) ที่เกิดจากสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบ โดยใช้น้ำกลั่นและเอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย	75
ภาพที่ 4-8 แสดงการกระจายลักษณะการตายของยุงรำคาญ (<i>Cx. quinquefasciatus</i>) ที่เกิดจากสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบ โดยใช้น้ำกลั่นและเอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย	77
ภาพที่ 4-9 แสดงการกระจายลักษณะการตายของยุงก้นปล่อง (<i>An. maculatus</i>) ที่เกิดจากสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบ โดยใช้น้ำกลั่นและเอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย	79

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ประเทศไทยเป็นประเทศที่ตั้งอยู่ในเขตร้อน มีความชื้นสูง จึงทำให้เป็นแหล่งเพาะพันธุ์ยุงที่สำคัญมากมายหลายชนิด ยุงจัดเป็นแมลงที่ใกล้ชิดกับคน ในด้านที่ก่อให้เกิดความรำคาญและนำโรคภัยร้ายแรงหลายชนิดมาสู่คน จนกลายเป็นโรคติดต่อที่สำคัญและเป็นปัญหาสาธารณสุขในปัจจุบัน อันตรายที่เกิดจากยุงโดยตรง คือ เมื่อยุงกัดก็จะดูดกินเลือดคนหรือสัตว์ จะทำให้สูญเสียเลือด สุขภาพเสื่อม ผลผลิตของการปศุสัตว์ เช่น น้านม ไข่ อาจลดลงเป็นการสูญเสียทางเศรษฐกิจ นอกจากนั้นก็จะเกิดเป็นเม็ดเป็นตุ่มเนื่องจากการดูดเลือด ส่วนอันตรายที่เกิดจากยุงทางอ้อม คือ ยุงเป็นพาหะในการนำเชื้อไวรัส เชื้อโปรโตซัวและพยาธิบางชนิดมาสู่คนและสัตว์ ซึ่งเป็นปัจจัยของโรคไข้เลือดออก โรคเท้าช้าง โรคไข้มาลาเรีย และโรคไข้สมองอักเสบ เป็นต้น (1) โรคดังกล่าวเหล่านี้ได้คร่าชีวิตผู้คนมาแล้วมากมายในอดีต แต่ก็ได้ลดความรุนแรงลงบ้างในปัจจุบัน เนื่องจากความก้าวหน้าทางการแพทย์ที่ได้มีการคิดค้นยาเพื่อป้องกันทั้งยาเม็ดสำหรับกิน ตลอดจนยาฉีดประเภทวัคซีน รวมถึงการป้องกันทางสาธารณสุข เช่น การพ่นสารเคมีเพื่อลดจำนวนยุงเต็มวัย การใช้ทรายอะเบทเพื่อกำจัดลูกน้ำ และการให้สุขศึกษาแก่ประชาชน เป็นต้น แต่ถึงแม้ว่าโรคที่เกิดจากยุงเป็นพาหะ จะไม่ค่อยมีปรากฏถึงความรุนแรงขึ้นชีวิตเช่นในอดีตที่ผ่านมา แต่ก็ยังจัดเป็นโรคที่พึงระมัดระวัง เพราะแหล่งเพาะพันธุ์ยุงมีอยู่ทั่วไป ไม่ว่าจะเป็นภาชนะใส่น้ำทุกชนิด เช่น ตุ่ม โอ่ง ไห ถัง กระป๋อง แจกันดอกไม้ จานรองกระถางต้นไม้ จานรองขาตู้อาหาร ซึ่งเป็นภาชนะที่มนุษย์ทำขึ้น รวมถึงแหล่งน้ำสะอาดตามธรรมชาติ เช่น ในแอ่งน้ำเล็กๆ รอยเท้าสัตว์ ลำธารน้ำใสสะอาดไหลเอื่อยๆ มีหญ้าปกคลุมริมตลิ่ง โพรงต้นไม้ แหล่งน้ำในนาข้าว น้ำใต้ดินบ้าน คูระบายน้ำข้างถนน ล้วนแต่อยู่โดยรอบและใกล้ตัวเราทั้งสิ้น ประกอบกับวงจรชีวิตของยุงสั้นมาก ยุงตัวผู้อาจอายุนาน 6-7 วันแล้วก็ตายไปหลังผสมพันธุ์ ส่วนยุงตัวเมียอาจมีชีวิต 30-45 วัน แต่ที่สำคัญคือยุงตัวเมียหนึ่ง

ตัววางไข่ได้ครั้งละ 50-200 ฟอง และวางไข่ได้ถึง 4-5 ครั้งในช่วงชีวิตของยุง (2) การควบคุมระยะวัย จึงมีอาจทำได้ด้วยการป้องกันและรักษาแต่เพียงอย่างเดียว ยังจะต้องมีการควบคุมและทำลายแหล่งเพาะพันธุ์ยุงด้วย

ปัจจุบันนี้มีรายงานการพบยุงในประเทศไทยถึง 411 ชนิด แต่ยุงที่เป็นปัญหาทางการแพทย์มีเพียงไม่กี่ชนิด ที่สำคัญมี 4 Genera คือ Genus *Aedes*, Genus *Culex*, Genus *Anopheles* และ Genus *Mansonia* โดยเฉพาะยุงลาย *Aedes aegypti* ซึ่งเป็นพาหะนำไข่เลือดออก มีแหล่งเพาะพันธุ์ในน้ำสะอาดที่บรรจุอยู่ในภาชนะที่มนุษย์ทำขึ้น เช่น ตุ่มน้ำกินน้ำใช้ และภาชนะที่ไม่ต้องการใช้แต่สามารถจะบรรจุน้ำได้ ได้แก่ กระป๋อง กะลา เป็นต้น ในช่วงฤดูฝนของทุกๆปี จะมีการระบาดของโรคไข้เลือดออก จากข้อมูลของกระทรวงสาธารณสุข ปี พ.ศ. 2538 พบว่า มีจำนวนผู้ป่วย 60,330 ราย อัตราป่วย 101.46 ต่อประชากรแสนคน อัตราป่วยสูงสุดในภาคใต้ 242.79 รองลงไปเป็นภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 95.08 ภาคกลาง 71.81 และภาคเหนือ 68.85 ต่อประชากรแสนคน ตามลำดับ โรคไข้เลือดออกส่วนมากเป็นกับเด็กกลุ่มอายุ 5-9 ปี รองลงมาได้แก่กลุ่มอายุ 10-14 ปี , 0-4 ปี และกลุ่มอายุมากกว่า 15 ปีตามลำดับ (3) นับตั้งแต่ปีแรกที่มีการระบาดของโรคไข้เลือดออกในประเทศไทย เมื่อปี พ.ศ. 2501 การระบาดก็ยังคงเกิดขึ้นทุกๆปีจนกระทั่งทุกวันนี้ จึงกล่าวได้ว่าโรคไข้เลือดออกเป็นโรคประจำท้องถิ่นของทุกจังหวัดในประเทศไทย(4) ส่วนยุงรำคาญ *Culex quinquefasciatus* ที่โดยปกติไม่มีรายงานการนำโรคเท้าช้างในประเทศไทย เพียงแต่ก่อให้เกิดความรำคาญและสูญเสียเลือดเท่านั้น (2) แต่โรคเท้าช้างชนิด *Wuchereria bancrofti* พบในประเทศพม่า และมียุง *Culex quinquefasciatus* เป็นพาหะนำโรค ซึ่งแรงงานจากประเทศพม่าเข้ามาทำงานในประเทศไทยเป็นจำนวนมากในปัจจุบัน จึงเป็นที่น่าวิตกว่าจะมีการแพร่เชื้อโรคเท้าช้างชนิดนี้ในประเทศไทย เพราะยุง *Culex quinquefasciatus* นี้พบได้ในทุกท้องถิ่นของประเทศ อีกทั้งการทดสอบการติดเชื้อโรคเท้าช้าง *W. bancrofti* ในยุง *Culex quinquefasciatus* ในห้องทดลองพบว่าเชื้อของโรคเท้าช้างชนิด *W. bancrofti* สามารถเจริญเติบโตในยุงนี้จนกระทั่งถึงระยะ infective stage (ระยะที่เป็นการแพร่กระจายของเชื้อไปสู่คนอื่นได้เมื่อถูกยุงกัด) ฉะนั้น โอกาสการแพร่เชื้อชนิดนี้ในธรรมชาติจึงมีความเป็นไปได้สูง (5) และปัจจุบันแหล่งชุมชน (urbanization) เกิดขึ้นมากมาย จึงทำให้ยุง *Aedes aegypti* และ *Culex quinquefasciatus* เพิ่มขึ้นด้วย (6) ในขณะที่ยุงก้นปล่อง *Anopheles maculatus* ซึ่งเป็นพาหะในการนำโรคไข้มาลาเรีย มีแหล่งเพาะพันธุ์ในบ่อน้ำพุ น้ำซึม น้ำซึมบริเวณป่าเชิงเขา นอกจากนี้ยังพบตามแอ่งหินน้ำค้าง ตามลำธารมีต้นไม้ปกคลุมริมฝั่งที่มีแดดส่องถึง บางครั้งพบในบริเวณป่าโปร่ง ตามเชิงเขาป่าสวนยาง สามารถพบทั่วไปทุกภาคแต่เป็นยุงพาหะหลักเฉพาะในภาคใต้ของไทยเท่านั้น ในปี พ.ศ. 2494 มีผู้ป่วยเสียชีวิตจากโรคไข้มาลาเรียถึงปีละ 4-5 หมื่นคน และมีอัตราป่วยประมาณ 300 ต่อประชากร 1,000 คน หลังจากที่ได้เริ่มดำเนินการควบคุม

ไข้มาลาเรียทั่วประเทศปรากฏว่าอัตราป่วย และอัตราตายจากโรคนี้น้อยลงมาก แต่อย่างไรก็ตามในภาพรวมแล้ว โรคนี้ยังคงเป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขของประเทศ โดยศึกษาจากแนวโน้มของอัตราป่วยยังคงสูงอยู่ การแพร่เชื้อจะเริ่มตั้งแต่เดือนพฤษภาคมไปจนถึงเดือนธันวาคม ทั้งนี้ความชุกชุมของโรคจะแตกต่างกันไปตามสภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศของแต่ละภาค จากข้อมูลของกระทรวงสาธารณสุข ปี พ.ศ. 2538 พบว่า มีจำนวนผู้ป่วย 55,462 ราย ยกเว้นจังหวัดชัยนาท อัตราป่วย 93.27 ต่อประชากรแสนคน อัตราป่วยสูงสุดในภาคเหนือ 194.52 รองลงไปเป็นภาคกลาง 121.78 ภาคใต้ 92.08 และ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 8.95 ต่อประชากรแสนคน โรคไข้มาลาเรียพบมากในกลุ่มอายุ 15-24 ปี รองลงมาได้แก่กลุ่มอายุ 25-34 ปี , 10-14 ปี , 5-9 ปี, 0-4 ปี และมากกว่า 35 ปีตามลำดับ (3)

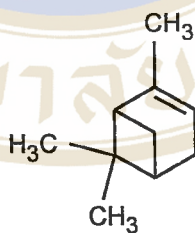
กว่า 20 ปีที่ผ่านมา สารเคมีกำจัดแมลงถูกนำมาใช้แก้ปัญหาการแพร่กระจายของยุงพาหะ แม้จะมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณของยุงพาหะ แต่ขณะเดียวกันก็พบว่ายุงพาหะหลายชนิดมีความต้านทานต่อสารกำจัดแมลงจำพวก Organochlorine เช่น DDT และ Dieldrin เป็นต้น รวมทั้งพวก Organophosphate และ Carbamate (7) อีกทั้งยังมีการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมทางธรรมชาติและปรับตัวทางพันธุกรรมทำให้ยากแก่การควบคุม นอกจากนี้ยังสร้างปัญหาการตกค้างของสารเคมีในสิ่งแวดล้อม ซึ่งมีการถ่ายทอดไปตามห่วงโซ่อาหาร (Food chains) เป็นการทำลายสมดุลแห่งธรรมชาติ (Balance of nature) หรือโครงข่ายแห่งชีวิต (Web of life) ของมนุษย์ (1) เพื่อเป็นการลดมลพิษที่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม อันเป็นอันตรายต่อระบบนิเวศ (Ecology) และเป็นการลดบทบาทของสารเคมีสังเคราะห์ลง การใช้สารสกัดจากพืชจึงเป็นแนวทางหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ในการควบคุม และกำจัดยุง

ในขณะเดียวกัน มีการศึกษาสารประกอบของน้ำมันจากใบของสนสองใบ โดยวนิดา สุบรรณเสนี และคณะ (8) พบว่า มีสาร α - pinene (31%), 1, β cineole (39%), caryophyllene (7%) และ nerolidol (5%) ส่วนสารประกอบของน้ำมันจากก้านของสนสองใบ มีสาร α - pinene เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ประมาณ 90% ซึ่ง α - pinene (รูปที่ 1-1) และ 1, β cineole เป็นสารจำพวก monoterpene ที่สามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมน้ำหอม และยา นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารประกอบตัวอื่นได้ สาร caryophyllene (รูปที่ 1-2) และ nerolidol เป็นสารจำพวก sesquiterpenes นำไปใช้ในอุตสาหกรรมน้ำหอม จากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและทางเภสัชวิทยาของ terpene หลายชนิด พบว่ามีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น สาร caryophyllene ในน้ำมันกานพลู มีฤทธิ์ในการไล่แมลง (9) และจากการศึกษาของ Hsing-Yun Fan และคณะ (10) พบว่า cineole (1,8-cineole) (รูปที่ 1-3) จากน้ำมันใบสดของยูคาลิปตัสพันธุ์ *Eucalyptus globulus* และ *Eucalyptus robusta* มีฤทธิ์ในการฆ่าแมลง (insecticide) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์เป็นยาฆ่าเชื้อจุลินทรีย์และ

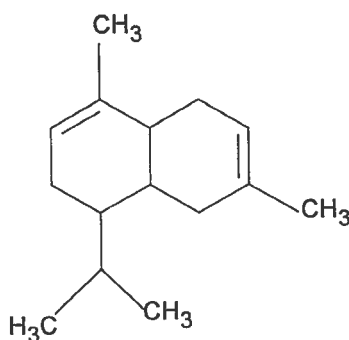
เชื้อรา เช่น จุลินทรีย์ชนิดแกรมบวกโดยเฉพาะ *Bacillus subtilis* และเชื้อรา *Staphylococcus aureus* (9)

นอกจากสนสองใบจะมีประโยชน์ในด้านที่กล่าวมาแล้ว ยังสามารถนำมาทำประโยชน์ด้านอื่นได้หลายอย่าง อาทิเช่น นำไปใช้ทำเฟอร์นิเจอร์ ทำไม้อัด หรือส่วนประกอบของอาคารบ้านเรือนอื่นๆ ใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมทำเชื้อกระดาษ Yang ที่ได้จากการเจาะต้นสนสองใบสามารถนำไปสกัดทำน้ำมันสนและชันสนได้ ประโยชน์ที่ได้รับจากน้ำมันสนและชันสนคือ น้ำมันสนส่วนมากใช้ในการผสมสีน้ำมัน และทำน้ำมันชักเงา (varnish) ใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับกัณฑ์หรือละลายไขมันใช้ในการพิมพ์ผ้าดอก การปรุงยา ยาทาแก้หวัด เป็นต้น ส่วนประโยชน์ของชันสน คือใช้ในการทำสบู่มากที่สุด ซึ่งเป็นประโยชน์จากเนื้อไม้โดยตรง (11) แต่ควรพิจารณาประโยชน์จากส่วนอื่นๆ ให้เต็มศักยภาพด้วย

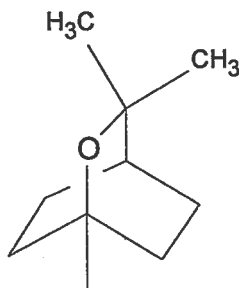
ดังนั้นการใช้สารสกัดจากสนสองใบในการควบคุมลูกน้ำยุงพาหะนำโรคจึงถูกนำมาเชื่อมโยงด้วยความสำคัญของแต่ละสิ่งดังกล่าวแล้วข้างต้น การอ้างอิงเหล่านี้จำเป็นต้องมีการพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์ โดยการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งโดยทั่วไปแล้วใบและก้านสนสองใบไม่มีการนำมาใช้ประโยชน์ หากสามารถนำมาเพิ่มคุณค่าก็จะเป็นการใช้ทรัพยากรที่มีอยู่ให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด อีกทั้งยังเป็นการลดบทบาทของสารเคมีสังเคราะห์ และลดมลพิษอันเกิดจากการสะสมของสารเคมีในสภาพแวดล้อม นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดประโยชน์ทางด้านเวชศาสตร์การป้องกันพาหะนำโรคอีกด้วย



รูปที่ 1-1 α -pinene



รูปที่ 1-2 caryophyllene

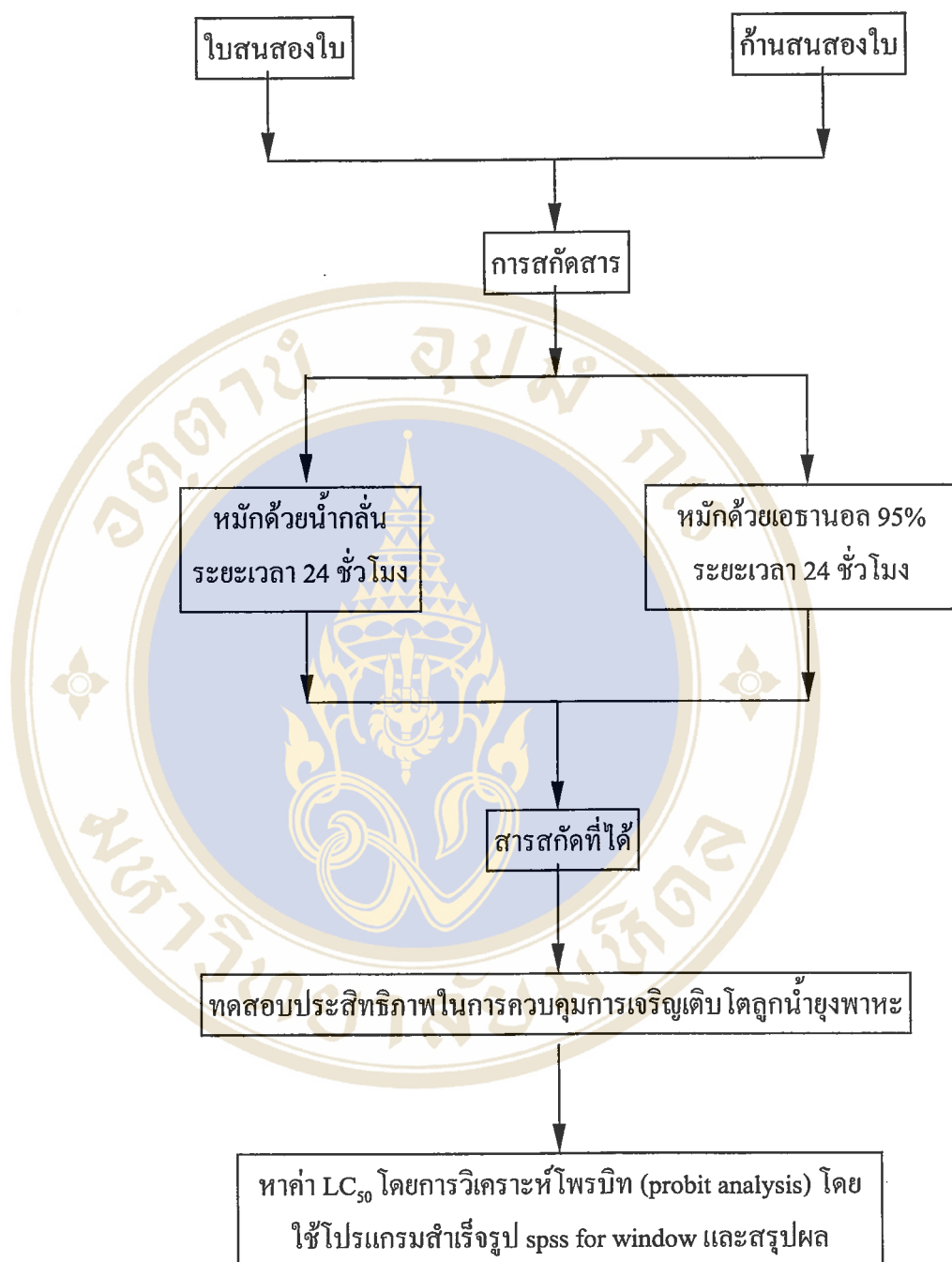


รูปที่ 1-3 cineole

1.2 กรอบแนวคิดในการวิจัย

จากคุณสมบัติของสนสองใบซึ่งมีสารพวก terpene เป็นองค์ประกอบ และมีการศึกษาว่า terpene หลายชนิด มีฤทธิ์ในการไล่และฆ่าแมลง แต่ยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ในการควบคุมการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงพาหะเลย จึงทำให้เกิดแนวความคิดที่จะนำสนสองใบพันธุ์ *Pinus merkusii* Jung & de Vriese ที่พบได้ในประเทศไทยมาสกัดสารเพื่อใช้ในการควบคุมการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง ซึ่งเป็นพาหะนำโรคไข้เลือดออก, โรคเท้าช้าง และโรคไข้มาลาเรีย ตามลำดับ

แนวทางในการปฏิบัติสามารถแสดงให้เห็นได้โดย Flow chart



1.3 วัตถุประสงค์ในการวิจัย

- 1.3.1 เพื่อศึกษาการสกัดสารจากใบและก้านสนสองใบ
- 1.3.2 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพ ของสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบในการควบคุมการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง
- 1.3.3 เพื่อศึกษาการกระจายลักษณะการตายของยุงในระยะต่างๆ ที่เกิดจากสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบ

1.4 สมมุติฐานในการวิจัย

สารสกัดจากใบและก้านสนสองใบสามารถควบคุมการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่องได้

1.5 ขอบเขตในการวิจัย

1.5.1 ศึกษาเฉพาะสนสองใบ *Pinus merkusii* Jungh & de Vriese สายพันธุ์ Continental ซึ่ง เป็นพันธุ์ที่ปลูกโดยทั่วไป จากสถานีทดลองพรรณไม้ห้วยบง อำเภอฮอด จังหวัดเชียงใหม่

1.5.2 สกัดสารจาก 2 ส่วนคือ ส่วนที่เป็นใบและก้านสนสองใบ โดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ หมักด้วยน้ำกลั่น และหมักด้วยเอทานอล 95 % เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.5.3 ศึกษาและเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบสนสองใบและก้านสนสองใบ โดยใช้การหมักด้วยน้ำกลั่นและเอทานอล 95% เป็นเวลา 24 ชั่วโมงในการควบคุมการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงพาหะ โดยจะศึกษาในลูกน้ำยุงลาย *Aedes aegypti* (พาหะนำโรคไข้เลือดออก), ยุงรำคาญ *Culex quinquefasciatus* (พาหะนำโรคเท้าช้างชนิด *W. Bancrofti*) และยุงก้นปล่อง *Anopheles maculatus* (พาหะนำโรคมาลาเรีย) ระยะที่ 4 ตอนต้น (Early fourth instar larvae) เพื่อหาระดับความเข้มข้นของ

สารสกัดในการมีฤทธิ์ควบคุมการเจริญเติบโตลูกน้ำตามวิธีการทดสอบสารกำจัดแมลงขององค์การอนามัยโลก (12) โดยหาค่าเฉลี่ยความเข้มข้นที่ฆ่าลูกน้ำได้ที่ 50% (LC_{50}) จากการวิเคราะห์โพรบิท (probit analysis) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป spss for window

1.6 ค่าย่อในการวิจัย

<i>Ae. aegypti</i>	หมายถึง	<i>Aedes aegypti</i> (ยุงลาย)
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	หมายถึง	<i>Culex quinquefasciatus</i> (ยุงรำคาญ)
<i>An. maculatus</i>	หมายถึง	<i>Anopheles maculatus</i> (ยุงก้นปล่อง)
<i>W. bancrofti</i>	หมายถึง	<i>Wuchereria bancrofti</i> (หนอนพยาธิตัวกลมที่ก่อให้เกิดโรคเท้าช้าง)

1.7 ความหมายในการวิจัย

LC_{50} (Lethal concentration at 50%)	หมายถึง	ค่าความเข้มข้นของสารสกัดจากใบหรือก้านสนสองใบที่มีผลทำให้ลูกน้ำตายร้อยละ 50 ของจำนวนลูกน้ำทดลองทั้งหมด หน่วยที่ใช้นิยมเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) หรือ ppm. (part per million)
ประสิทธิภาพ (efficiency)	หมายถึง	ความสามารถของสารสกัดจากใบหรือก้านสนสองใบในการที่จะกำจัดหรือฆ่าลูกน้ำยุงพาหะได้โดยใช้ค่า LC_{50} ในการเปรียบเทียบ
สารควบคุมการเจริญเติบโต (Insect Growth Regulator)	หมายถึง	สารที่มีฤทธิ์ทำให้ขบวนการเมตาบอลิซึมและการลอกคราบของลูกน้ำยุงจนถึงตัวเต็มวัยผิดปกติ และตายในที่สุด

1.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.8.1 ทำให้ทราบถึงประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบและก้านสนสองในการควบคุมการเจริญเติบโตของน้ำยุงลาย ยุงรำคาญและยุงก้นปล่อง

1.8.2 เพื่อลดบทบาทการใช้สารเคมีสังเคราะห์ในการป้องกัน ควบคุมและกำจัดยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่องซึ่งเป็นพาหะนำโรคไข้เลือดออก โรคเท้าช้างฟิลาเรียซิส และโรคมาลาเรียตามลำดับ โดยส่งเสริมการใช้สารสกัดจากธรรมชาติและสามารถนำไปใช้ได้ทางปฏิบัติ

1.9 สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการหน่วยวิจัยยาฆ่าแมลง ภาควิชากีฏวิทยาการแพทย์ คณะเวชศาสตร์เขตร้อน
มหาวิทยาลัยมหิดล

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับยุง

ยุงจัดเป็นแมลงซึ่งเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง จัดอยู่ใน

Phylum Arthropoda

Class Insecta

Order Diptera

Suborder Nematocera

Family Culicidae

ซึ่งแบ่งได้เป็น 3 subfamilies คือ Culicinae, Taxorhynchitinae และ Anophelinae

ยุงใน subfamily Culicinae ได้แก่ ยุงใน genus Aedes, genus Culex และ genus Mansonia ส่วนยุงใน subfamily Anophelinae ได้แก่ ยุงใน genus Anopheles

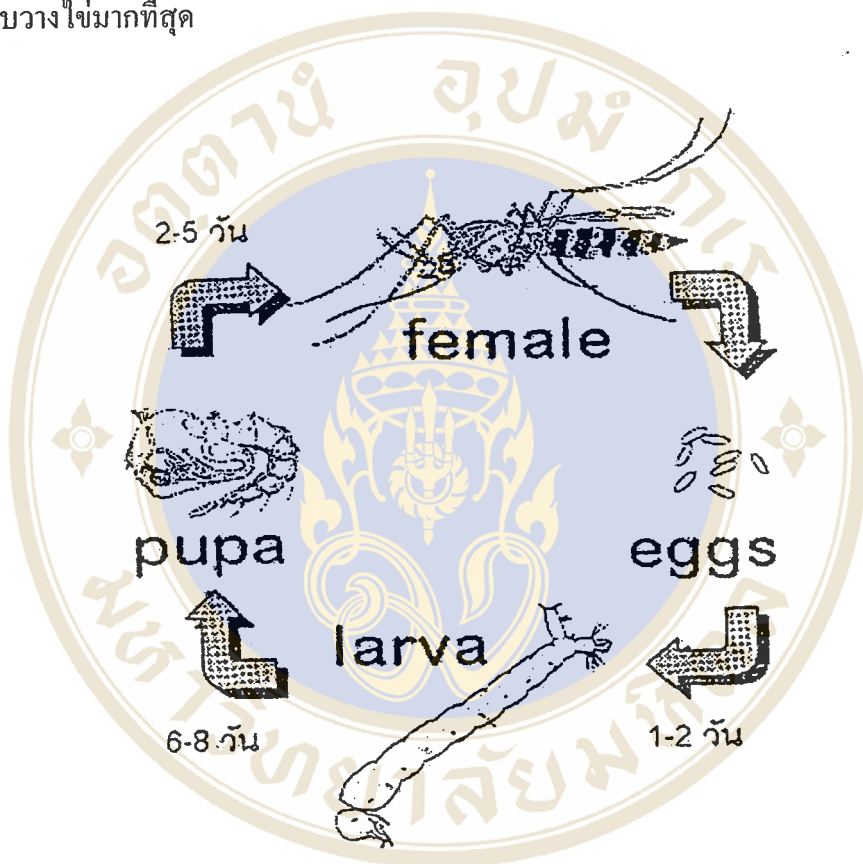
2.1.1 ยุงลาย (*Aedes aegypti* Linnaeus)

ยุงลายชนิดนี้เป็นพาหะนำโรคที่สำคัญในประเทศไทย พบได้ทั่วประเทศทั้งในเขตเมืองและชนบท โดยเฉพาะอย่างยิ่งชุมชนที่เจริญแล้ว ยุงลายชอบอยู่ใกล้ชิดกับคน ชอบอาศัยอยู่ภายในบ้านมากกว่านอกบ้าน และชอบกินเลือดคนมากกว่าเลือดสัตว์ (4)

ยุงลายมีการเจริญเติบโตแบบ Complete metamorphosis คือ การเจริญเติบโตแบบสมบูรณ์มีระยะไข่ ระยะตัวอ่อน (ลูกน้ำ) ระยะดักแด้ (ตัวมด) และระยะตัวเต็มวัย (รูปที่ 2-1) ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

ระยะที่เป็นไข่ (egg) ไข่ยุงลายเป็นฟองเดี่ยว มีลักษณะเป็นรูปวงรีคล้ายกระสวย เมื่อออกใหม่ๆ ไข่จะมีสีขาวนวลต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลภายใน 24 ชั่วโมง ยุงลายจะออกไข่

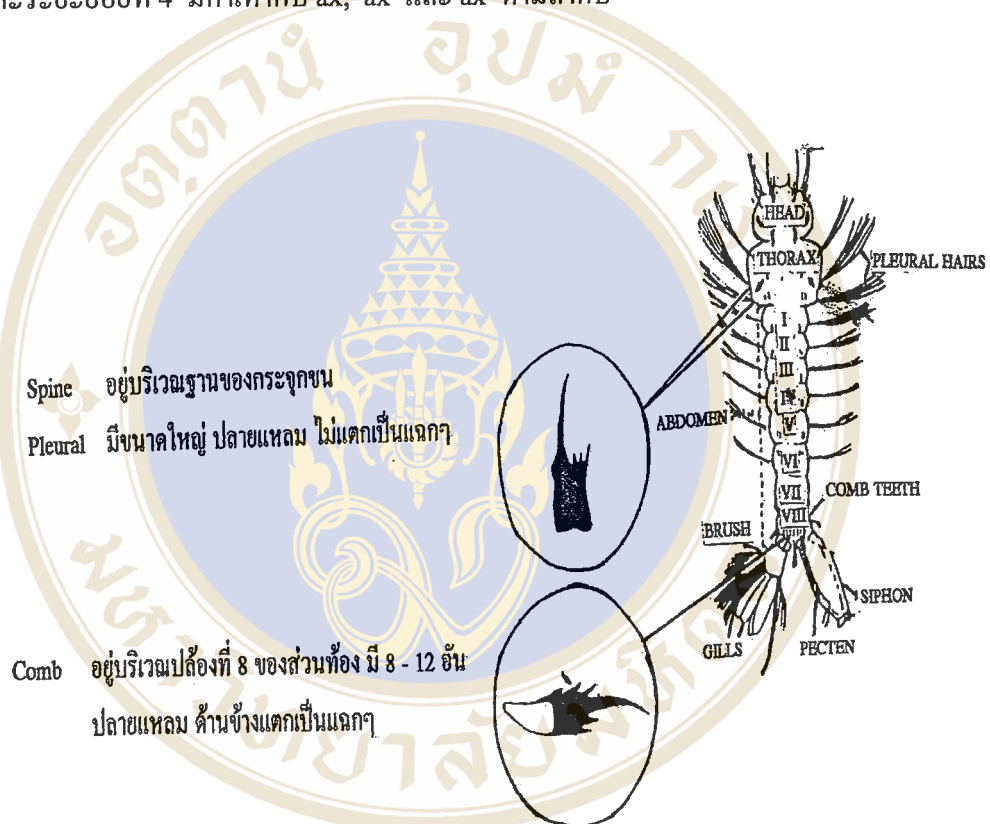
มากน้อยเป็นจังหวะใน 24 ชั่วโมง โดยอาศัยจังหวะที่แสงลดน้อยลงในตอนเย็น เมื่อมีน้ำท่วมไข่ ไข่ก็จะฟักเป็นลูกน้ำโดยใช้เวลาในระยะไข่ 1-2 วัน ถ้าภาชนะยังไม่มีน้ำไข่ก็จะยังไม่ฟักและจะทนความแห้งแล้งในสภาพนั้นได้เป็นเวลาหลายเดือน จำนวนไข่ที่จะฟักเป็นลูกน้ำจะมีจำนวนลดลงเมื่อระยะเวลาผ่านไป ตามปกติขลุ่ยลายจะวางไข่ในภาชนะที่ใส สะอาด นิ่ง โดยเฉพาะน้ำฝนเป็นน้ำที่ขลุ่ยลายชอบวางไข่มากที่สุด



รูปที่ 2-1 แสดงภาพวงจรชีวิตของขลุ่ยลาย

ระยะที่เป็นลูกน้ำ (*larva*) ในระยะลูกน้ำจะมี 4 ระยะย่อย คือ มีการลอกคราบ 4 ครั้ง จากลูกน้ำระยะย่อยที่ 1 จนลอกคราบระยะสุดท้ายเป็นตัวโม่ง (*pupa*) ใช้เวลาประมาณ 6-8 วัน (หรือ 4-7 วัน ในอากาศอบอุ่น) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ อาหาร และความหนาแน่นของลูกน้ำภายในภาชนะ ลักษณะของลูกน้ำ (*larva*) จะสังเกตเห็นได้คือ ในบริเวณปล้องที่ 8 ของลูกน้ำจะมี comb scale อยู่หนึ่งแถวประมาณ 8-12 อัน ส่วนปลายของ comb scale บริเวณขอบจะแยกเป็นแฉก บริเวณอกจะมีหนามแหลมอยู่ใต้ pleural hairs (รูปที่ 2-2) ลูกน้ำจะกินอาหารซึ่งมีอยู่ภายในภาชนะนั้น เช่น ตะไคร่น้ำ เศษอาหาร เชื้อแบคทีเรีย และพวกสัตว์เซลล์เดียว เป็นต้น ลูกน้ำมี siphon อ้วน ตันและดำ มี Hair tuft 1 คู่ ตัวตั้งเกือบตรงกับผิวน้ำ ว่ายน้ำคล้ายงูเลื้อย โดยที่ลูกน้ำระยะย่อยที่ 1 ระยะย่อยที่ 2

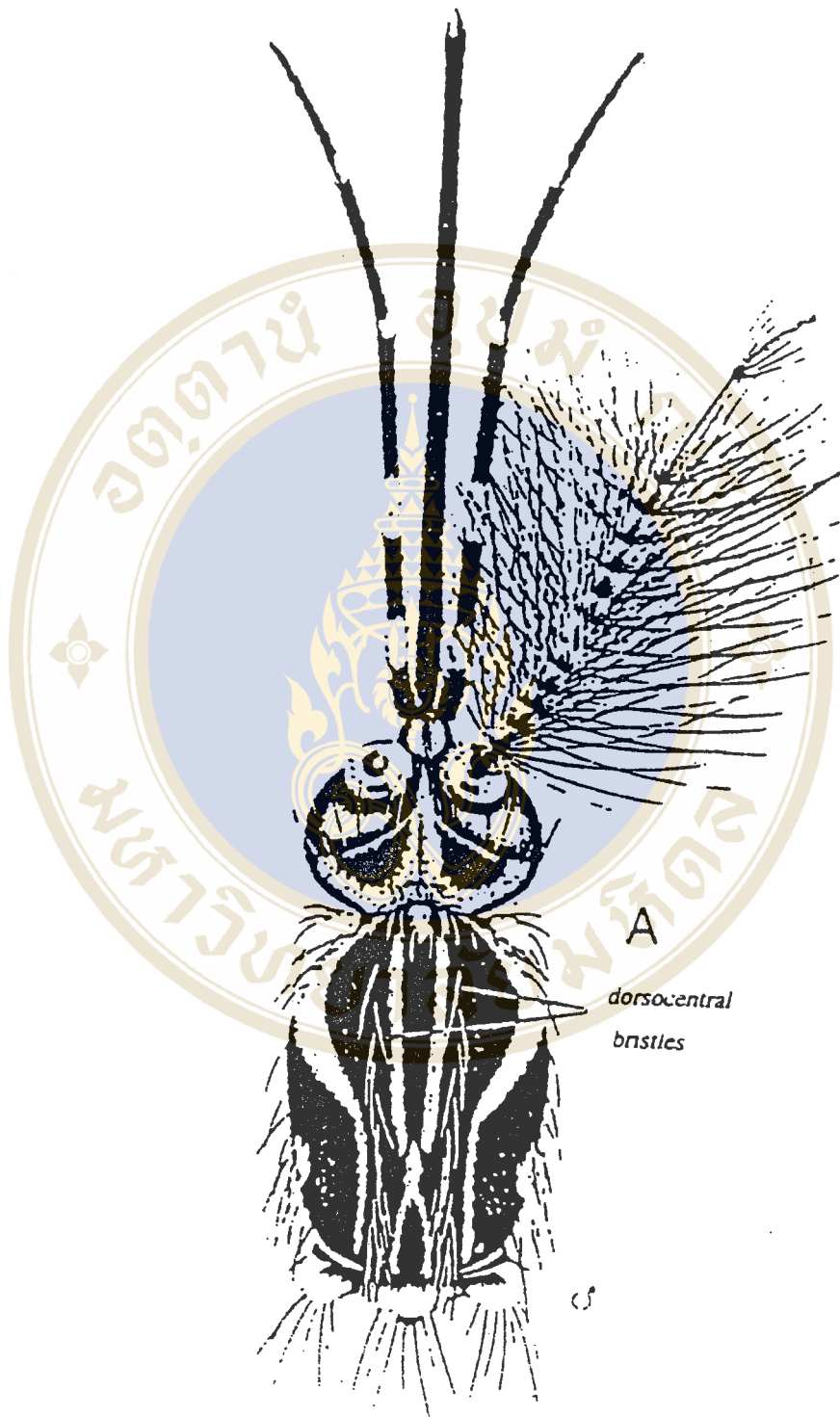
ระยะย่อยที่ 3 และระยะย่อยที่ 4 สามารถแยกความแตกต่างได้จากรูปร่าง ขนาด และอายุแล้ว ยังพิจารณาจากความกว้างของ head-capsule โดยใช้กล้อง Stereoscopic microscope ซึ่งระยะของลูกน้ำแยกแยะได้โดยใช้ Dyar's factors ถ้าความกว้างของ head-capsule ของลูกน้ำระยะย่อยที่ 1 มีค่าเท่ากับ a และ x เป็น Dyar's factors ความกว้างของ head-capsule ของลูกน้ำระยะย่อยที่ 2 ระยะย่อยที่ 3 และระยะย่อยที่ 4 มีค่าเท่ากับ ax , ax^2 และ ax^3 ตามลำดับ



รูปที่ 2-2 แสดงลักษณะเฉพาะของลูกน้ำยุงลายบ้าน

ระยะที่เป็นตัวโม่ง (*pupa*) ลูกน้ำยุงลายระยะ *larva* จะลอกคราบครั้งสุดท้ายออกมาเป็นตัวโม่ง (*pupa*) ซึ่งมีส่วนหัวและส่วนอกรวมเป็นชิ้นเดียวกัน (cephalothorax) บนส่วนหัวจะมีท่อหายใจ (trumpets) 1 คู่ ระยะนี้จะหยุดกินอาหารแต่จะมีการเปลี่ยนแปลงภายในของตัวโม่ง ตัวโม่งจะใช้เวลาประมาณ 1-2 วัน ก็จะลอกคราบเป็นตัวเต็มวัย

ระยะที่เป็นตัวเต็มวัย (*adult*) ตัวโม่งใช้เวลาประมาณ 24 ชั่วโมงเพื่อลอกคราบเป็นตัวเต็มวัย เมื่อตัวโม่งลอกคราบจะลอกหนึ่ง และเกิดรอยแตกรูปตัวที (T) ที่ด้านหลังของส่วนหัวและอก ให้ตัวเต็มวัยหลุดจากคราบ (*exuviae* หรือ *cast skin*) ส่วนหัวของตัวเต็มวัย ตรงระยะง่าปากจะปกคลุมด้วยเกล็ดสีขาว ส่วนอกบริเวณกึ่งกลางของหลังจะมีขนแข็ง ด้านหลังมีเกล็ดสีขาวลายคล้ายพิณหรือเคียวเกี่ยวข้าว (lyre shaped) (รูปที่ 2-3) ลำตัวและขา มีสีดำสลับขาวเป็นปล้องๆ (รูปที่ 2-4) ตัวเต็มวัย (รูปที่ 2-5) เมื่อออกจากคราบใหม่ๆ จะเกาะนิ่งอยู่บนผิวน้ำเพื่อให้ปีกแห้งและให้เลือดฉีดเข้าเส้นปีกแล้วจึงบินออกหากิน ยุงลายเป็นยุงที่ไม่ชอบแสงแดดและลมแรง ดังนั้นมันจึงหากินไม่ไกลจากแหล่งเกิด ตามปกติยุงลายตัวผู้จะเกิดก่อนตัวเมีย 1 วัน ยุงตัวผู้จะมีอายุได้นานประมาณ 7-10 วัน ส่วนยุงตัวเมียจะมีอายุประมาณ 30-45 วัน ยุงลายตัวเมียจะเก็บเชื้ออสุจิ (sperm) ไว้ในถุง spermatheca ตัวเมียจะผสมพันธุ์เพียงครั้งเดียวก็จะสามารถวางไข่ได้ตลอดชีวิต จากนั้นยุงลายจะกินเลือดคนหรือสัตว์เลือดอุ่น เพื่อต้องการโปรตีนในเลือดนั้นไปช่วยสร้างไข่ในรังไข่ให้เจริญเติบโต และเริ่มวางไข่ประมาณ 2-3 วันหลังจากกินเลือด ยุงลายจะวางไข่ที่ละฟองติดกันเป็นกลุ่มโดยจะวางไข่ติดที่ผิวภาชนะด้านในเหนือระดับน้ำเล็กน้อยหรือตามผิวภาชนะที่เย็นและมีความชื้นสูง ยุงลายตัวเมีย 1 ตัวจะวางไข่โดยเฉลี่ยครั้งละประมาณ 140-144 ฟองและวางได้ 4-5 ครั้งตลอดชีวิต ยุงลายโดยทั่วไปจะหากินเวลากลางวัน อาหารของยุงทั้งตัวผู้และตัวเมียคือ น้ำหวานจากเกสรของพืชหรือจากผลไม้ ตามปกติยุงลายชอบกินเลือดคนมากกว่าเลือดสัตว์ ค่าเฉลี่ยของปริมาณเลือดที่กิน 0.75 มิลลิกรัมต่อครั้ง



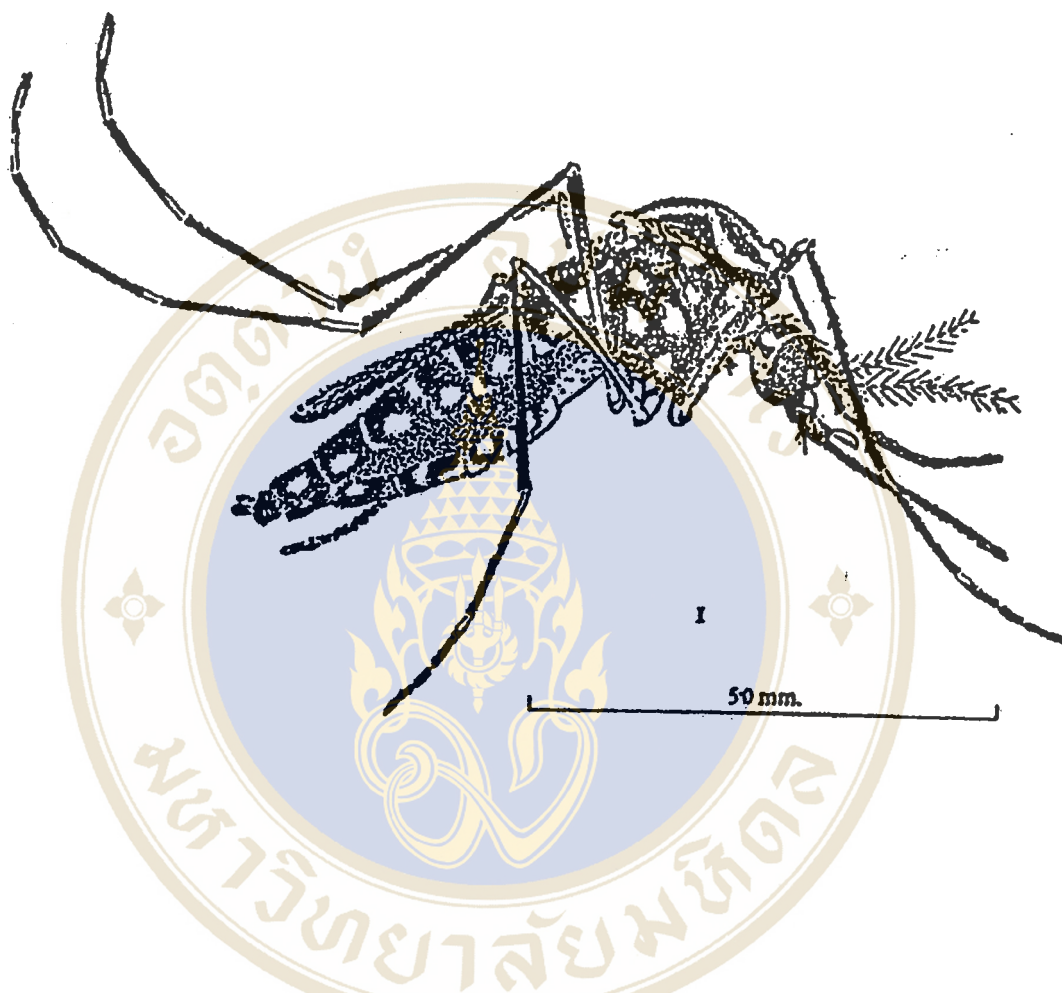
รูปที่ 2-3

แสดงลวดลายของเกล็ดสีดำและขาวบน scutum และ scutellum ทางด้านบนของทรวงอกของตัวเต็มวัยของลาย (Ae. aegypti with typical “lyre” - shaped marks)



รูปที่ 2-4 ยุงลายตัวเต็มวัย

- a. ส่วนท้องแสดงลวดลายของเกล็ดสีขาและปลายแหลม
- b. ขาหลังแสดงแถบหรือวงของเกล็ดสีดำและขาว



รูปที่ 2-5 แสดงลักษณะตัวเต็มวัยของยุงลาย (*Ae. aegypti*)

ชีวนิสัยและแหล่งเกาะพักของยุงลาย (*Ae. aegypti*)

ยุงตัวเมียเท่านั้นที่กินเลือดคนและสัตว์ ชอบออกหากินในเวลาเช้าถึงเย็น โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ช่วงเวลาเช้าระหว่าง 8.00-13.00 น. และ 15.00-17.00 น. ยุงลายจะพบมากในฤดูฝนเพราะมีแหล่งเพาะพันธุ์ยุงมาก อุณหภูมิและความชื้นเหมาะแก่การแพร่พันธุ์ ส่วนในฤดูอื่น ๆ พบว่าความชุกชุมของยุงลายจะลดลงเล็กน้อย ยุงลายชนิดนี้หากินไม่ไกลจากแหล่งที่เกิด มักบินไม่เกิน 100-200 เมตร ชอบเกาะพักในบ้านตามสิ่งห้อยแขวน โดยเฉพาะเสื้อผ้า ที่นอน หมอน มุ้งที่แขวนอยู่ตามฝาผนัง เป็นต้น

จะเห็นได้ว่าวงจรชีวิตยุงลายสั้นและมีความสัมพันธ์กับมนุษย์อย่างใกล้ชิดคนนอกจากนี้ยังชอบกินเลือดคนมากกว่าเลือดสัตว์ ซึ่งถ้ายุงลายที่เป็นพาหะนำเชื้อไวรัสไปกัดคนก็จะถ่ายทอดเชื้อทำให้เป็นไข้เลือดออก ซึ่งไข้เลือดออกมีรายละเอียดดังนี้

โรคที่นำโดยยุงลาย (*Ae. aegypti*)

โรคไข้เลือดออก (haemorrhagic fever) เกิดจากเชื้อไวรัส 2 ชนิด คือ Dengue virus และ Chikungunya virus โดยมีพาหะนำเชื้อ คือ ยุงลาย *Ae. aegypti* โดยปกติโรคนี้มีระบาดในฤดูฝน ซึ่งเป็นฤดูที่ประชากรยุงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เชื้อไวรัสนี้จะอยู่ในกระแสเลือดของผู้ป่วย เมื่อยุงลายมากัดและดูดเลือดผู้ป่วย เชื้อจะเข้าไปในตัวยุง และเจริญเติบโตกระจายพันธุ์ในกระเพาะอาหารของยุง ช่วงนี้ใช้เวลาประมาณ 8-12 วัน จากนั้นจึงเดินทางมาอยู่ที่ต่อมน้ำลายยุง พร้อมทั้งจะถ่ายทอดเชื้อไปยังผู้อื่น เมื่อยุงไปกัดเด็กปกติก็จะถ่ายทอดเชื้อลงในกระแสเลือดของเด็ก ซึ่งเมื่อเชื้อเข้าไปในร่างกายเด็กปกติแล้ว จะมีช่วงระยะฟักตัวของโรคประมาณ 3-14 วัน ทำให้เด็กนั้นป่วยเป็นโรคไข้เลือดออก จากนั้นก็มีการถ่ายเชื้อไปเรื่อยๆ โดยยุงลาย จนเกิดการระบาดขึ้น เชื้อที่อยู่ในยุงลายคงอยู่ตลอดอายุของยุง คือประมาณ 1-2 เดือน ฉะนั้นระยะนี้ถ้ายุงกัดก็สามารถถ่ายทอดเชื้อได้ตลอดเวลา

2.1.2 ยุงรำคาญ (*Culex quinquefasciatus* Say) (6)

ยุงรำคาญ *Culex quinquefasciatus* เป็นยุงใน subgenus *Culex* และอยู่ใน *Culex pipiens* complex, *Cx. quinquefasciatus* ในยุโรปเรียก *Culex pipiens fatigans* Wiedemann พบตั้งแต่เส้นรุ้งที่ 39° ลงมา พบตามที่ราบ ตามบ้านคน ชาวบ้านเรียกว่า “ยุงรำคาญ” ยุงในกลุ่มนี้ สามารถออกไข่ได้โดยไม่กินเลือดเรียกว่า autogeny

ยุงรำคาญมีการเจริญเติบโตแบบ Complete metamorphosis คือการเจริญเติบโตแบบสมบูรณ์มี 4 ระยะ (รูปที่ 2-6 และ 2-7) คือ

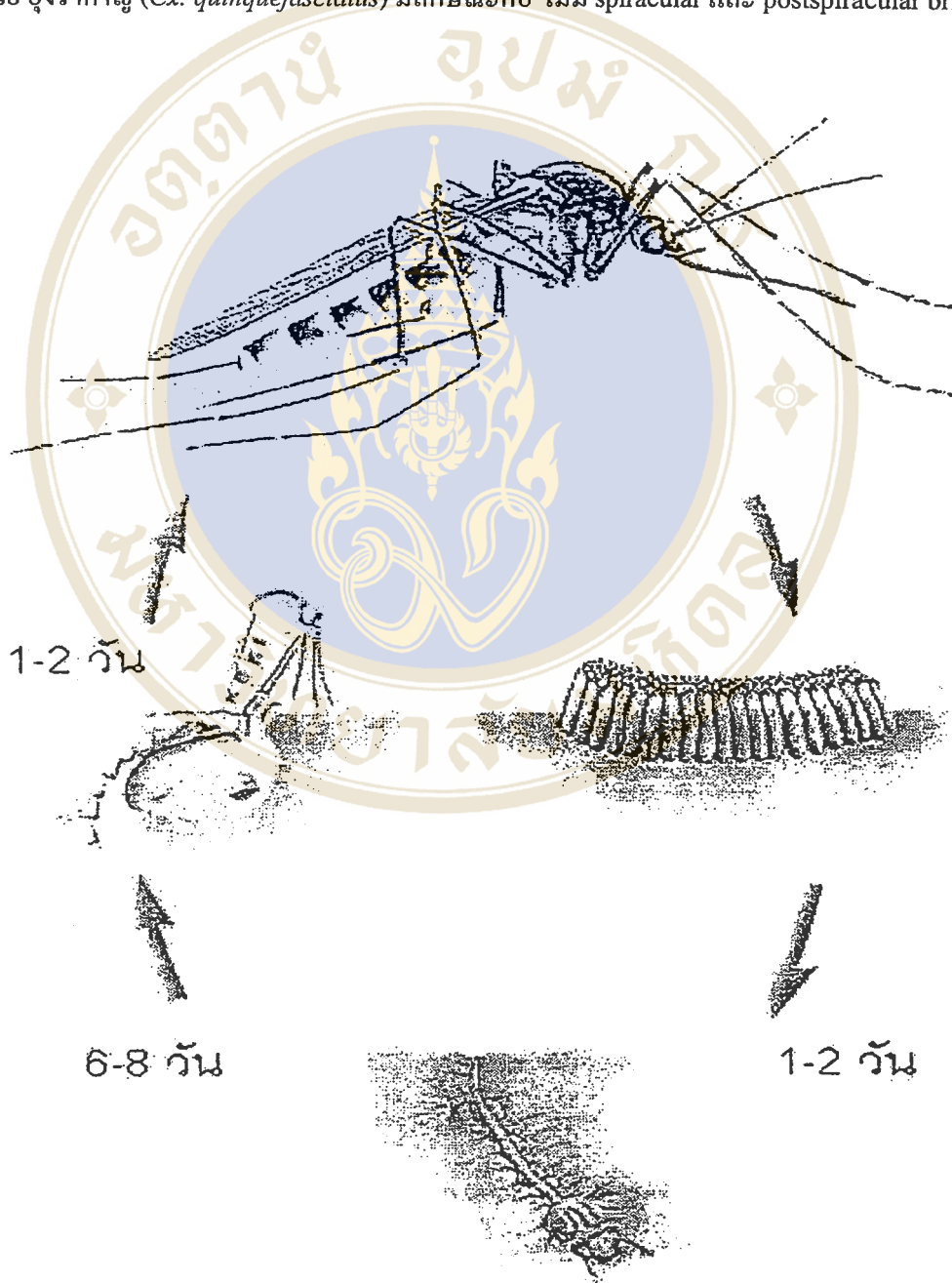
ระยะที่เป็นไข่ (egg) ยุงรำคาญวางไข่เป็นแพ ลอยน้ำได้ 1 แพมี 153 ฟองโดยเฉลี่ย (รูปที่ 2-7) แต่ละฟองมี corolla ที่ปลาย แรกๆไข่จะมีสีขาว ภายใน 2-3 ชั่วโมงกลายเป็นสีดำ ไข่ฟักเป็นตัวภายใน 1-2 วัน แหล่งเพาะพันธุ์คือน้ำเน่ามีสารอินทรีย์สูง เช่น ท่อน้ำทิ้ง ท่อระบายน้ำ ขนาดตั้งแต่ 2-3 ลิตรถึง 2-3 ลูกบาศก์เมตร ยุงรำคาญสามารถอยู่ได้ทั้งที่ร่มและกลางแจ้ง นอกจากนี้ยังพบในภาชนะที่ยุงลายวางไข่ เช่น ขางรถยนต์เก่าๆ และตุ่มใส่น้ำ เป็นต้น

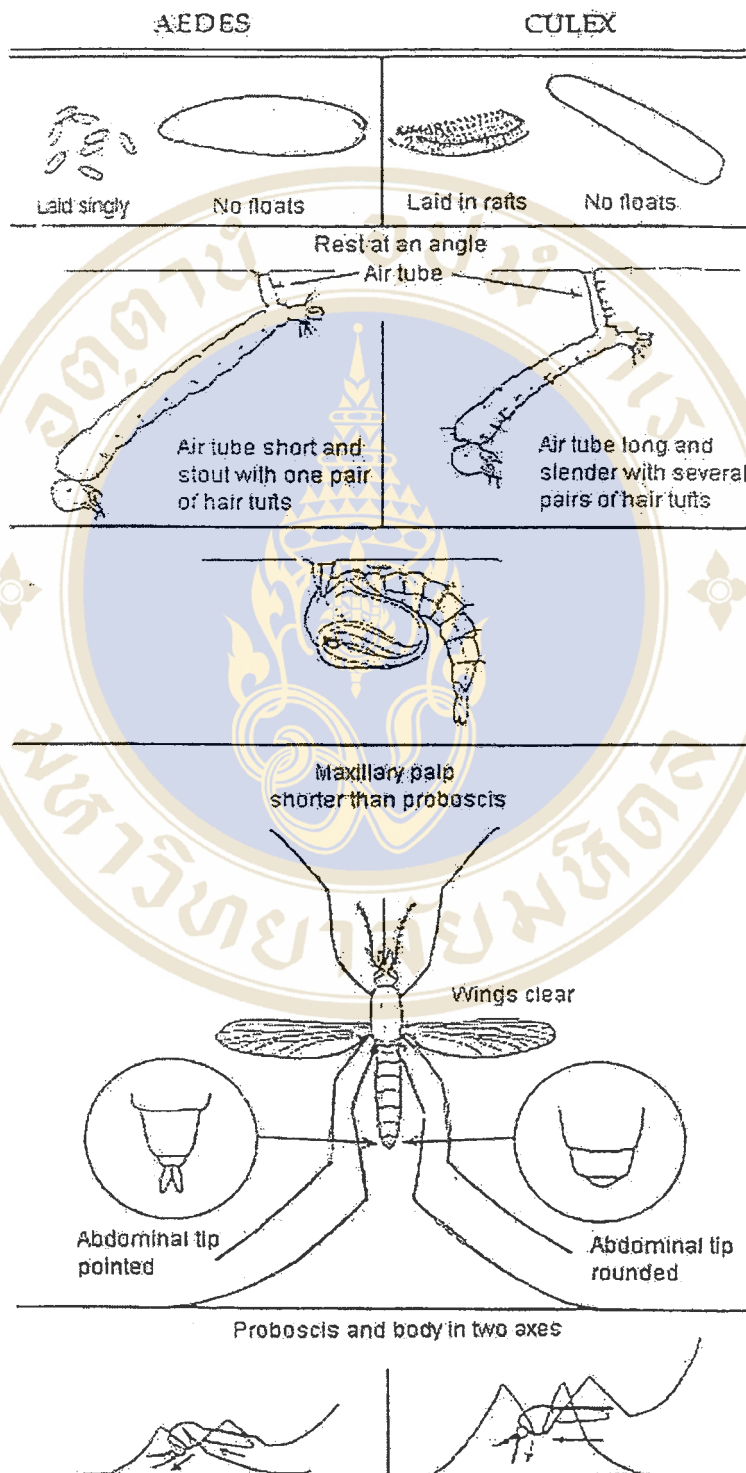
ระยะที่เป็นลูกน้ำ (larva) ลูกน้ำยุงรำคาญมีรูปร่างคล้ายตัวหนอน หัวโต ส่วนอกและส่วนท้องเห็นได้ชัด ส่วนหัวประกอบด้วยตา 1 คู่ และหนวด 1 คู่ ลักษณะต่างไปจากหนวดของตัวเต็มวัย ปากมีรูปร่างลักษณะคล้ายกับแปรง ทำหน้าที่พัดเอาอาหารเข้าสู่ปาก ส่วนอกและส่วนท้องปกคลุมด้วยขนยาวๆ มีท่อนำอากาศ หรือ siphon อยู่ทางส่วนท้ายของลำตัว ประมาณปล้องที่ 8 มีลักษณะยาว เรียว มี Hair tuft มากกว่า 1 คู่ ลูกน้ำยุงหายใจโดยใช้หลอดลมซึ่งจะวิ่งผ่านท่อ siphon นี้ ตอนปลายของท่อจะมีลิ้นปิดเปิดติดอยู่ เมื่อตัวอ่อนยุงว่ายน้ำมาเกาะที่ผิวน้ำ จะใช้ส่วนปลายของท่อ siphonแตะกับผิวน้ำ แล้วปักหัวลงทำมุมประมาณ 45° กับผิวน้ำ ลูกน้ำยุงลอกคราบ 4 ครั้ง ครั้งที่ 1

เมื่ออายุได้ 4 วัน ลอกคราบครั้งที่ 2, 3, 4 เกิดขึ้นเมื่ออายุได้ 6, 9, 12 วัน ตามลำดับ (2)

ระยะที่เป็นตัวโม่ง (*pupa*) ลูกน้ำยุงรำคาญใช้เวลา 6-8 วันเพื่อลอกคราบเป็นตัวโม่ง
ระยะที่เป็นตัวโม่งจะหยุดกินอาหารแต่จะมีการเปลี่ยนแปลงภายใน

ระยะที่เป็นตัวเต็มวัย (*adult*) ตัวโม่งใช้เวลาประมาณ 40 ชั่วโมงเพื่อลอกคราบเป็นตัวเต็มวัย ยุงรำคาญ (*Cx. quinquefasciatus*) มีลักษณะคือ ไม่มี spiracular และ postspiracular bristle





Copyright by Mahidol University

รูปที่ 2-7 แสดงลักษณะสำคัญของยุง Genus Aedes และ Culex

ชีวนิสัยและแหล่งเกาะพักของยุงรำคาญ (*Cx. quinquefasciatus*)

ยุงรำคาญจะผสมพันธุ์ภายในเวลา 24-36 ชั่วโมง หลังจากผสมพันธุ์แล้วยุงรำคาญจะออกกินเลือดในเวลากลางคืน แต่บินได้ไม่ไกลประมาณ 100 เมตร และชอบเกาะพักทั้งในและนอกบ้าน

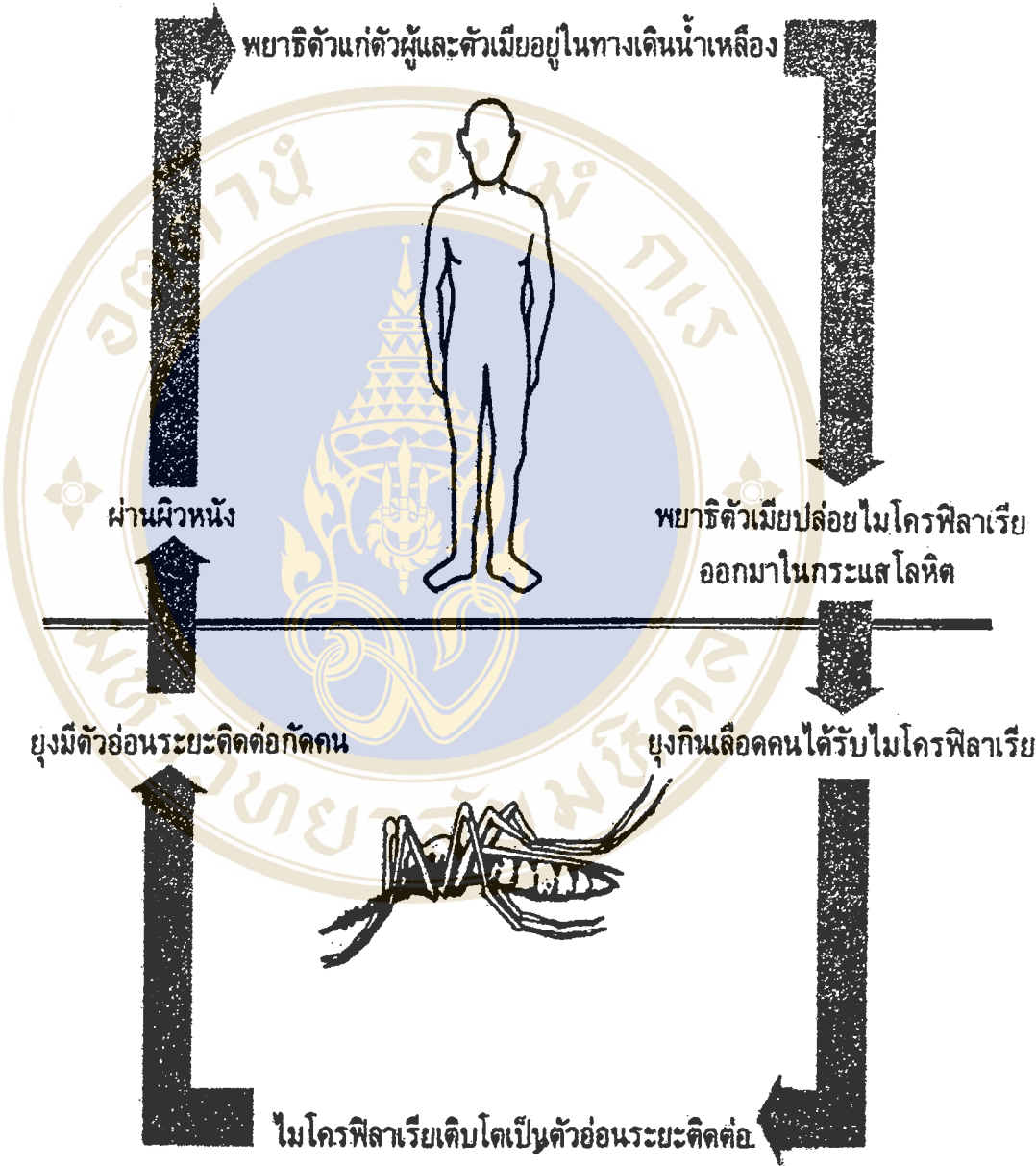
ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus* เป็นพาหะนำโรคเท้าช้างฟิลาเรียซิส (bancroftian filariasis) แม้จะไม่มีรายงานการนำโรคนี้ในประเทศไทย แต่พบในประเทศพม่า ซึ่งปัจจุบันมีแรงงานจากประเทศพม่าลักลอบเข้ามาทำงานในประเทศไทยเป็นจำนวนมาก จึงเป็นที่น่าวิตกว่าจะมีการแพร่เชื้อโรคเท้าช้างชนิดนี้ได้

โรคที่นำโดยยุงรำคาญ (*Cx. quinquefasciatus*) (13)

โรคเท้าช้างฟิลาเรียซิส (Filariasis) เกิดจากหนอนพยาธิตัวกลม 3 ชนิด คือ *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* และ *Brugia timori* แต่ในย่านเอเชียใต้และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้เกิดจากหนอนพยาธิตัวกลมซึ่งอาศัยในระบบน้ำเหลือง 2 ชนิด คือ *W. bancrofti* (ทำให้เกิดโรคเท้าช้าง bancroftian filariasis) และ *Brugia malayi* (ทำให้เกิดโรคเท้าช้างชนิด malayan filariasis) โดยหนอนพยาธิตัวพ่อแม่ให้กำเนิด ไมโครฟิลาเรีย (microfilariae) เข้ามาในกระแสเลือด เมื่อคนได้รับเชื้อ อาจมีอาการแสดงซึ่งเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพในระบบน้ำเหลือง อาทิเช่น ท่อน้ำเหลืองอักเสบ ต่อม้ำเหลืองอักเสบ และไข้เท้าช้าง เป็นต้น วงจรชีวิตของไมโครฟิลาเรียในระบบน้ำเหลือง แสดงในรูปที่ 2-8

ในประเทศฟิลิปปินส์ พบว่าพาหะที่ทำให้เกิดโรคเท้าช้าง bancroftian filariasis ในชนบท ได้แก่ ยุง *Aedes poecilus*, *Culex quinquefasciatus* และ *Anopheles flavirostris* ขณะที่โรคเท้าช้าง bancroftian filariasis ซึ่งแพร่กระจายในเมืองหลวงจาการ์ตา ประเทศอินโดนีเซีย มียุง *Cx. quinquefasciatus* เป็นพาหะที่สำคัญ (14)

การแพร่กระจายทางภูมิศาสตร์ของโรคเท้าช้างในประเทศไทย อยู่บริเวณเขตชายแดน 8 จังหวัดทางภาคใต้ติดกับประเทศมาเลเซีย คือ นครศรีธรรมราช ชุมพร สุราษฎร์ธานี ยะลา ปัตตานี สงขลา นราธิวาส สตูล ซึ่งพบแหล่งโรคเท้าช้างชนิด malayan filariasis โดยมียุง *Mansonia species* ที่มีแหล่งเพาะพันธุ์ในหนองน้ำ และสระน้ำที่มีพืชน้ำ เช่น ผักตบชวาและจอกขึ้นอยู่ รวมถึงบริเวณเขตชายแดนทางด้านเหนือและตะวันตกติดต่อกับประเทศพม่า ซึ่งคณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล ได้พบแหล่งโรคเท้าช้าง bancroftian filariasis ในปีพ.ศ. 2508 ที่จังหวัดกาญจนบุรีใกล้ชายแดนพม่า โดยศึกษาในท้องที่ พบว่าเป็นยุง *Aedes niveus* subgroup เป็นพาหะในธรรมชาติ (15)



รูปที่ 2-8 แสดงวงจรชีวิตของไมโครฟิลาเรียระบบน้ำเหลือง

2.1.3 ยุงก้นปล่อง (*Anopheles maculatus*) (6)

ยุงก้นปล่องในประเทศไทยมี 2 subgenus คือ *Anopheles* (150 species) และ *Cellia* (150 species) ยุงที่จะใช้ในการทดลองใน species ของ *Anopheles maculatus* เป็นยุงใน subgenus *Cellia*, *Neocellia* series และอยู่ใน *Maculatus* species group

An. maculatus เป็น species complex ประกอบไปด้วย species A, B, C, D, E, F, G และ H ในประเทศไทยพบ species A, B, C และ G ส่วน species D พบในฟิลิปปินส์ species A เป็น species ที่มี form เดียว (monomorphic) species B เป็น species ที่มีหลาย form (polymorphic) มี form ต่างๆเป็น E, F และ H forms species A พบมากพบทั่วไปนอกจากภาคใต้ species B พบ 10-20 % ของ species A ส่วน species C พบน้อยพบได้ที่กาญจนบุรี และเชียงใหม่ species G พบที่ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา และเพชรบุรี E Form พบในภาคใต้รวมทั้งเพชรบุรีและใกล้กัวลาลัมเปอร์ F Form พบที่นครนายก H Form พบที่เชียงใหม่

ยุงก้นปล่องมีการเจริญเติบโตแบบสมบูรณ์ (Complete metamorphosis) มี 4 ระยะ คือ ระยะที่เป็นไข่ (egg) ยุงก้นปล่องที่อยู่ใน subgenus *Cellia* ไข่มี float ช่วยให้ลอยน้ำ ผิวมีลายลูกไม้มี deck และขอบของ deck มี frill

ระยะที่เป็นลูกน้ำ (larva) ลูกน้ำไม่มี siphon clypeal hair เส้น inner, outer และ posterior, antennal hair, palmate hair จะมีลักษณะเฉพาะ ลูกน้ำลอยบนผิวน้ำ

ระยะที่เป็นตัวโม่ง (pupa) ท่อหายใจของตัวโม่งมีลักษณะเป็นรูปแตรปากกว้าง palmate hair มี 1 คู่ที่ cephalothorax ขนเส้นที่ 9 อยู่ด้านข้าง และส่วนหลังของปล้องเป็น spine ปลาย paddle มีขน 1 คู่

ระยะที่เป็นตัวเต็มวัย (adult) ยุงใน subfamily Anophelinae มีลักษณะเด่นคือ มี palpi ยาวเท่า proboscis ในทั้งสองเพศ palpi ของตัวผู้มีรูปร่างเป็นกระบอง scutellum กลม มีปีกลาย

ชีวิตและแหล่งเกาะพักของยุงก้นปล่อง (*An. maculatus*)

เมื่อยุงก้นปล่องกินเลือดแล้ว 4 วัน จะออกไข่บนผิวน้ำโดยลอยตัวบนผิวน้ำหรือปล่อยไข่ลงน้ำ ในขณะบินเรียกว่าผิวน้ำ โดยวางไข่ที่ตะฟอง ไข่ออกใหม่มีสีขาวแล้วเปลี่ยนเป็นสีดำตลอดชีวิต ไข่ยุงก้นปล่องฟักตัวภายใน 2 วัน ไข่ทนความแห้งแล้งได้ไม่นานอาจทนได้ 2 สัปดาห์ ในระยะลูกน้ำใช้เวลา 15-16 วันแล้วจะลอกคราบเป็นตัวโม่ง ซึ่งในระยะนี้จะไม่กินอาหาร และภายใน 2 วัน ตัวโม่งจะลอกคราบเป็นตัวเต็มวัย ส่วนใหญ่ยุงก้นปล่องมักเพาะพันธุ์ในป่า

โรคที่นำโดยยุงก้นปล่อง (*An. maculatus*)

โรคมาลาเรีย (Malaria) สัมพันธ์กับยุงและสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งปริมาณน้ำฝน ความชื้นและแหล่งเพาะพันธุ์ยุงด้วย ยุงพาหะหลักที่นำเชื้อในประเทศไทย มีแหล่งเพาะพันธุ์ใน แหล่งน้ำที่สะอาด ลำธารใสไหลริน ดังนั้นแหล่งแพร่เชื้อส่วนใหญ่จึงอยู่ในบริเวณป่าเขาชายแดน บริเวณสวนยาง สวนผลไม้ เป็นต้น กลุ่มคนซึ่งเสี่ยงต่อการเป็นโรคมาลาเรียในปัจจุบัน ได้แก่ กลุ่ม ชุมชนชาวเขา ซึ่งอาศัยอยู่ในป่าเขาชายแดน กลุ่มประชาชนที่ประกอบอาชีพในท้องที่แพร่เชื้อ ได้แก่ ขุดพลอย ทำเหมืองแร่ ฯลฯ และกลุ่มนักท่องเที่ยว (16)

โรคมาลาเรียเกิดจากเชื้อพยาธิโปรโตซัว 4 ชนิดคือ *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium vivax* และ *Plasmodium ovale* ในประเทศไทยพบเชื้อมาลาเรียชนิด *Plasmodium falciparum* และ *Plasmodium vivax* มากที่สุด (3) โดยมีพาหะนำเชื้อ คือยุง *Anopheles dirus*, *Anopheles minimus*, *Anopheles maculatus*, *Anopheles sundaicus* และ *Anopheles aconitus* ตามลำดับ (6,17) วงชีพของเชื้อมาลาเรียทุกชนิดจะเหมือนกันหมดคือ มีวงชีพที่อยู่ในยุง (sporogony) และวงชีพที่อยู่ในคน (schizogony)

วงชีพในยุง (sporogony)

เมื่อยุงกัดคน ยุงจะดูดเลือดจากคนที่มียุงมาลาเรียระยะ gametocyte ทั้งเพศผู้และเพศเมียเข้าไปในกระเพาะอาหาร gametocyte เพศผู้จะแบ่งตัวออกเป็น gamete เพศผู้ 4-8 ตัว มีลักษณะยาวเรียว มีหาง (exflagellation) gamete เพศผู้ แต่ละตัวนี้จะผสมกับ gamete เพศเมีย เป็น zygote ซึ่งจะเข้าไป อยู่ในผนังของกระเพาะอาหารยุง เจริญเป็น ookinete มีลักษณะเป็นรูปรี ookinete จะสามารถไชทะลุ กระเพาะอาหารของยุงออกทางด้านนอกแล้วเปลี่ยนรูปร่างจากรูปรีเป็นรูปกลม เรียก oocyst ภายใน oocyst จะมี sporozoite อยู่เป็นจำนวนมาก oocyst ของฟัลซิพาร์มาลาเรีย 1 ลูกจะมี sporozoite มาก ถึง 1,000 ตัว เมื่อ oocyst เจริญเต็มที่ถุงจะแตกแล้ว sporozoite จะกระจายไปทั่วในตัวยุงรวมทั้ง ต่อมน้ำลายของยุงด้วย เมื่อยุงกัดคน sporozoite จะเข้าสู่คน วงชีพในยุงจะใช้เวลาประมาณ 8-16 วัน ซึ่งแล้วแต่ชนิดของมาลาเรีย

วงชีพในคน (schizogony)

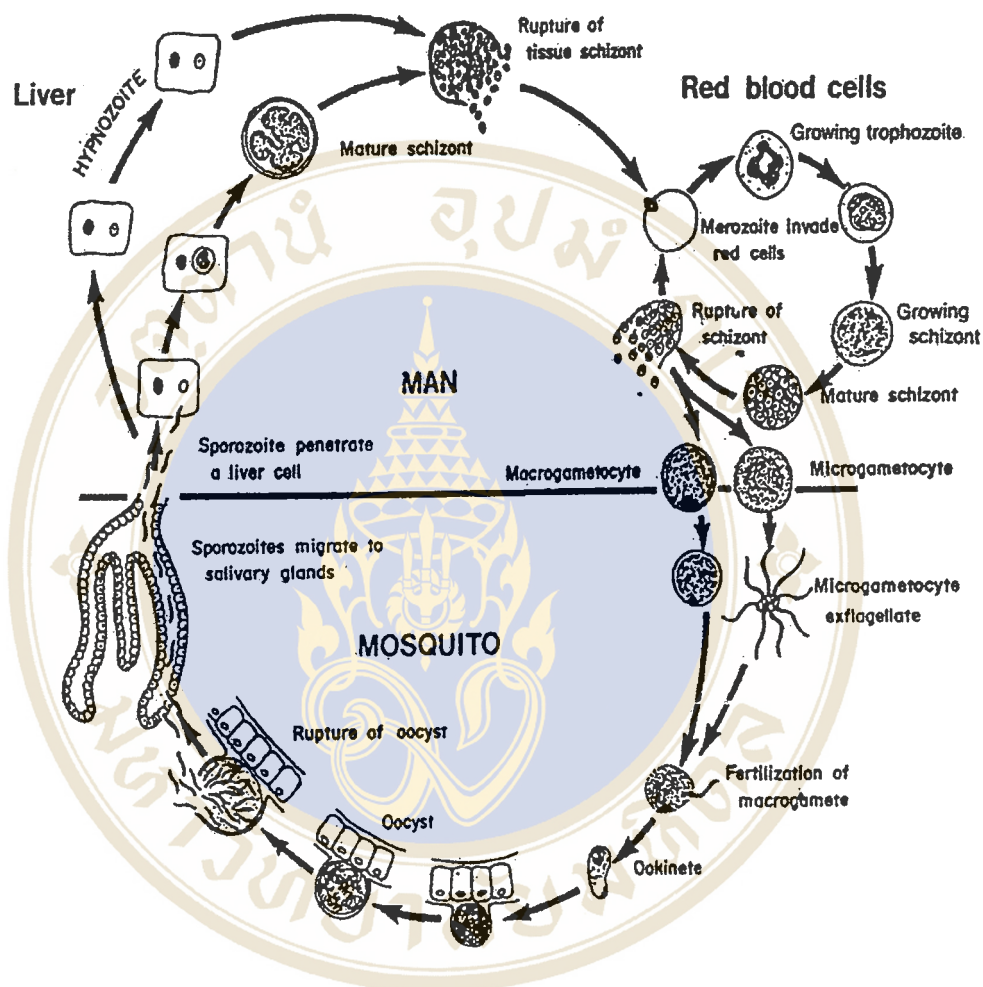
1. ระยะที่อยู่ในตับ เมื่อยุงกัดคน sporozoite จะเข้าสู่กระแสเลือดภายในเวลาเพียงครึ่งชั่วโมง sporozoite จะหายไปจากกระแสเลือด sporozoite บางส่วนจะถูกทำลายโดย phagocyte แต่มีบางตัว จะเข้าสู่เซลล์ของตับโดยผ่านเข้าทาง Kupffer cell แล้วเจริญเติบโตแบ่งตัวเป็น merozoite ในเซลล์ ของตับ (liver cell) จากนั้นเซลล์นี้จะแตกจะปล่อย merozoite เข้าสู่กระแสเลือดภายในเวลา 5-16 วัน แล้วแต่ชนิดของมาลาเรีย การเจริญในเซลล์นี้เป็น exo-erythrocytic schizogony จะพบในมาลาเรีย ทั้ง 4 ชนิด สำหรับไวแวกซ์และโอวาเลมาลาเรียนั้น sporozoite บางตัวจะเข้าไปอยู่ใน cytoplasm

ของเซลล์ตับ ภายในเวลา 40-48 ชั่วโมงจะเปลี่ยนเป็นจุดกลมเห็นใน cytoplasm ของเซลล์ตับซึ่งจะอยู่ใน stage นี้เป็นเวลานานเป็นเดือนหรือเป็นปีได้โดยที่ไม่แบ่งตัวต่อไป (dormancy) เราเรียกเชื้อที่อยู่ในระยะนี้ว่า hypnozoite ซึ่งเป็นเซลล์ที่ทำให้เกิดเป็นมาลาเรียซ้ำได้อีก (relapse) ในระยะที่มาลาเรียเจริญเติบโตในเซลล์ของตับนี้จะไม่มีการอักเสบ (inflammatory reaction) และผู้ที่ได้เชื้อก็จะมีอาการผิดปกติแต่อย่างใด มีจำนวน merozoite ใน schizont ขึ้นอยู่กับชนิดของมาลาเรีย เมื่อ schizont แก่เต็มที่ที่จะแตก แล้ว merozoite จะออกสู่กระแสเลือด

2. ระยะที่อยู่ในเม็ดเลือดแดง ระยะนี้แบ่งออกเป็น 2 วงชีพ คือ วงชีพไร้เพศ (asexual cycle) และวงชีพมีเพศ (sexual cycle) เมื่อเซลล์ตับที่มี mature schizont แตกออก merozoite จะออกมาสู่กระแสเลือด ส่วนใหญ่แล้ว merozoite จะเข้าสู่เม็ดเลือดแดงที่อยู่ใน liver sinusoid บางส่วนจะถูกทำลายโดย phagocyte ระยะเวลาตั้งแต่ถูกยุงกัดจนตรวจพบเชื้อมาลาเรียในเม็ดเลือด เรียกว่า pre-patent period แต่ระยะเวลาดังกล่าวยังไม่มีการใช้ยารักษา เรียกว่า incubation period ขึ้นอยู่กับชนิดของมาลาเรีย เมื่อ merozoite เข้าไปอยู่ในเม็ดเลือดแดงแล้วจะเจริญเป็น trophozoite เมื่อย้อม Wright stain แล้ว จะเห็น nucleus เป็นจุดกลมสีแดง และ cytoplasm จะเป็นรูปร่างแหวนติดสีน้ำเงิน จึงเรียกระยะนี้ว่าระยะวงแหวน (ring form) เมื่อ trophozoite เจริญมากขึ้นอีก cytoplasm จะมีมากขึ้นและยื่นออกไปคล้ายตัวอะมีบา เรียกว่า amoeboid form ความเป็นจริงแล้วคือระยะ growing trophozoite นั่นเอง เมื่อ trophozoite เจริญขึ้นมาก ๆ nucleus สีแดงจะแบ่งออกเป็น 2 จุด แล้วมี cytoplasm มาล้อมรอบแต่ละ nucleus ในระยะนี้จะได้ merozoite 2 ตัว และจะมีการแบ่งตัวต่อไปอีก เรียกระยะนี้ว่า early schizont ถ้า nucleus แบ่งตัวออกจนเต็มที่ และมี cytoplasm มาล้อมรอบ เห็นเป็นจุดแดงหลายจุดและมีสีน้ำเงินรอบจุดสีแดงเหล่านี้เต็มไปหมด เรียกว่า mature schizont จำนวน merozoite ใน schizont แตกต่างกันแล้วแต่ชนิดของมาลาเรีย ในขณะที่เชื้อมาลาเรียกำลังเจริญเติบโต เชื้อจะกิน haemoglobin ของเม็ดเลือดแดงเหลือ haemozoin ซึ่งเห็นเป็นจุดสีน้ำตาลใน cytoplasm ของเม็ดเลือดแดง ยิ่งเชื้อมาลาเรียแก่ตัวมากเท่าใดจะเห็นจุดมีสีดำได้ชัดเจนมากขึ้น ซึ่งเรียกว่า malarial pigment เชื้อมาลาเรียที่กำลังเจริญเติบโต จะได้อาหารผ่าน endoplasmic reticulum ซึ่งจะเก็บสะสมใน vacuole ในระหว่างผนังชั้นในของเม็ดเลือดแดง จะเห็นเป็นจุดๆ ที่เรียกว่า stippling ในฟิลชิปาร์ม ถ้าย้อม Wright stain จะเห็นเป็นจุดรูปสามเหลี่ยมเรียกว่า "Maurer's clefts" ในไวแวกซ์และโอวาลเรียกว่า Schuffner's dot ส่วนมาลาเรียเรียกว่า Ziemann's stippling เมื่อเชื้อมาลาเรียแบ่งตัวเป็น merozoite จำนวนมาก schizont ก็จะแตก merozoite จะเข้าสู่เม็ดเลือดแดงตัวอื่นเป็นวัฏจักรต่อไป ทำให้ผู้ป่วยหนาวสั่นเป็นพักๆ (febrile paroxysm) ซึ่งใช้เวลาแตกต่างกันตามชนิดของมาลาเรีย

ภายหลังที่ schizont แตกและ merozoite เข้าไปเจริญในเม็ดเลือดแดงหลายครั้งแล้ว merozoite บางตัวเมื่อเข้าไปเจริญในเม็ดเลือดแดงจะเปลี่ยนเป็น gametocyte โดยจะเห็น nucleus ไม่มีการแบ่งตัวแต่จะมีขนาดโตขึ้น gametocyte ของมาลาเรียแต่ละ specie จะมีลักษณะแตกต่างกัน เช่นในฟิลชิ ปาร์มาลาเรียจะเห็นเป็นลักษณะยาวเรียวคล้ายกล้วยหอม แต่มาลาเรียชนิดอื่นมีลักษณะกลม เชื้อมาลาเรียทุกชนิดจะเห็น gametocyte เพศเมีย (macrogametocyte) มี cytoplasm ติดสีฟ้าเข้มในขณะที่ nucleus จะเห็นก่อนเล็กน้อยติดสีแดงเข้ม ส่วน gametocyte เพศผู้ (microgametocyte) นั้น cytoplasm จะเป็นสีฟ้าจางกว่าหรือติดสีชมพู และมี nucleus ขนาดใหญ่ติดสีแดงจางกว่า

ในกรณีที่ผู้ป่วยมีไข้จับสั่นเป็นพักๆ (synchronous infection) เชื้อมาลาเรียทั้งเพศผู้และเพศเมีย มักจะเจริญเป็นตัวแก่ในเวลาเดียวกันเข้าใจกันว่าเป็นการปรับตัวของเชื้อมาลาเรียเพื่อให้เหมาะสมกับนิสัยการดูดเลือดของยุงที่ปล่องซึ่งชอบกัดคนในเวลาเดียวกัน อันจะทำให้วงจรของมาลาเรียอยู่สืบต่อไปได้ วงจรของเชื้อมาลาเรียแสดงในรูปที่ 2-9 (18)



รูปที่ 2-9 แสดงวงจรชีวิตของมาลาเรีย

2.2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสนสองใบ (11)

สนสองใบเป็นพันธุ์ไม้ตระกูล Pinaceae ในประเทศไทยมีชื่อพื้นเมืองเรียกตามภาคต่างๆ คือ ภาคเหนือ เรียก เกี้ยวเปลือกกหนา เกี้ยวเปลือกด้า ภาคกลาง เรียก สนเขา สนหางม้า ภาคอีสาน เรียก ไม้ไต้ กกไต้ กกแปก ชื่อวิทยาศาสตร์ *Pinus merkusii* Jungh & de Vriese สนสองใบ มีลักษณะเด่นบางอย่างแตกต่างกันตามสายพันธุ์อย่างเห็นได้ชัด สามารถแยกออกเป็น 2 สายพันธุ์กว้างๆ คือ สายพันธุ์ Insular สายพันธุ์นี้เป็นสายพันธุ์ที่ขึ้นตามหมู่เกาะสุมาตรา ประเทศอินโดนีเซีย สายพันธุ์ Continental สายพันธุ์นี้โดยส่วนใหญ่ เป็นสายพันธุ์ที่ขึ้นบนแผ่นดินใหญ่ ในทวีปเอเชีย ลักษณะแตกต่างที่เด่นชัดของสนสองใบสายพันธุ์ Insular กับสายพันธุ์ Continental สามารถสรุปได้คือ

สายพันธุ์ Insular ในระยะกล้าไม่มีการเจริญเติบโตเป็นไปตามปกติ โดยไม่มีการชะงักงันขณะเป็นต้นไม้ การเจริญเติบโตค่อนข้างสม่ำเสมอตามปกติ ส่วนใหญ่ลักษณะรูปทรงลำต้นค่อนข้างคดงอ กิ่งมีขนาดเล็ก ลักษณะผลของสายพันธุ์ Insular นี้ จะออกผลเป็นกลุ่มมีขนาดเล็ก ความยาว 5-6 ซม. และความกว้าง 2-3 ซม.

สายพันธุ์ Continental ในระยะกล้าไม่มีการเจริญเติบโตช้ามีการเจริญเติบโตเป็น 2 ระยะ คือ ระยะชะงักงัน และระยะที่เรียกว่าสภาพหญ้า ในระยะชะงักงันนั้นกล้าไม้จะไม่มีการพักการเจริญเติบโตในทางความสูงระยะหนึ่ง แต่มีการเจริญเติบโตทางด้านลำต้น หลังจากนั้นใบจะเจริญยืดยาวแผ่กระจายปกคลุมลำต้นจนมีลักษณะเป็นพุ่ม เรียกว่าสภาพหญ้า “grass stage” ส่วนรากจะเจริญอวบอ้วน มีลักษณะเป็นเหง้า สภาพหญ้าเช่นนี้จะคงอยู่ในระยะ 1-7 ปี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความหลากหลายของแหล่งกำเนิดสายพันธุ์นี้ เช่น แหล่งกำเนิดในภาคอีสาน จาก จังหวัดสุรินทร์ ศรีสะเกษ อุบลราชธานี มีระยะชะงักงันประมาณ 1 ปี แหล่งกำเนิดอำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ มีระยะชะงักงันประมาณ 5-7 ปี เป็นต้น

สนสองใบ เมื่อผ่านระยะสภาพหญ้า (grass stage) แล้ว ในระยะ 2-3 ปีแรก กล้าไม้จะยังมีการเจริญเติบโตในสภาพค่อนข้างช้าอีกระยะหนึ่ง เมื่อตั้งตัวดีแล้ว จึงจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว มีลำต้นตรงสูงเฉลี่ยปีละ 1-2 ม. และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเพิ่มขึ้นเฉลี่ยปีละ 0.7-1.0 ซม. จนบางต้นทำให้เกิดการเจริญเติบโตเป็นรูป fox tail ขึ้นมาและอาจจะเจริญไล่ตามทันหรือดีกว่าสายพันธุ์ Insular ได้ ผล (cone) ของสายพันธุ์ Continental จะออกเป็นลักษณะผลเดี่ยวหรือเป็นกลุ่มจำนวน 2-3 ผล ติดอยู่ในแนวตั้งฉากกับกิ่ง แต่ละผลจะมีความยาวเฉลี่ย 10-12 ซม. ขนาดความกว้าง 5-6 ซม.

2.2.1 ลักษณะทั่วไปของสนสองใบ (*Pinus merkusii* Jungh & de Vriese สายพันธุ์ Continental)

สนสองใบ ที่เจริญเติบโตเข้าสู่รูปทรงที่เป็นต้นไม้ใหญ่แล้วมีลักษณะเรือนยอดค่อนข้างกลม หรือโปร่งแผ่แบนกว้างๆ กิ่งมีขนาดค่อนข้างใหญ่ หนา บางทีเห็นเรือนยอดแผ่เรียงเป็นชั้นๆ ลักษณะลำต้นสูงสล้าง เปลือกสีเทาดำ สีดำ และแตกเป็นร่องลึก

1. ใบ (*Needles*) ใบของสนสองใบเป็นส่วนที่จะใช้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ใบมีการอยู่รวมกันเป็นกระจุก กระจุกละ 2 ใบ แต่ละใบมีลักษณะเป็นเส้นยาวหนาค่อนข้างเหนียว สีเขียวเข้ม ใบแต่ละกระจุกอยู่รวมชิดติดกันตามปลายกิ่งทำให้ดูเป็นข้อแน่นคล้ายหางม้า รูปทรงด้านขวางของใบเป็นแบบ sector มีรูปลักษณะคล้ายครึ่งวงกลม ซึ่งในใบจะมีสาร α - pinene (31%), 1, β cineole (39%), caryophyllene (7%) และ nerolidol (5%) เป็นองค์ประกอบซึ่งเป็นสารพวก terpene สามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมน้ำหอม และยา นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารประกอบตัวอื่นได้ และจากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและทางเภสัชวิทยา พบว่ามีฤทธิ์ในการไล่และฆ่าแมลง นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์เป็นยาฆ่าเชื้อจุลินทรีย์และเชื้อรา

2. เปลือก เปลือกสนสองใบมีลักษณะแข็ง หนา อาจมีความหนาถึง 6-8 ซม. สีน้ำตาลดำ หรือเทาดำ แตกเป็นร่องลึกตามความยาวของลำต้น และมีรอยตัดขวางบ้างเป็นระยะๆ สนสองใบสายพันธุ์ Continental จะมีเปลือกหนา ร่องลึกและใหญ่กว่าสนสองใบสายพันธุ์ Insular การมีเปลือกหนาเช่นนี้ ทำให้ค่อนข้างมีความทนทานต่อไฟป่า สนสองใบในประเทศไทยอาจจะแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีเปลือกหนาและแตกกิ่งก้านตั้งฉากกับลำต้น และกลุ่มที่มีเปลือกบางและแตกกิ่งเป็นมุมแหลมกับลำต้น โดยทั่วไป สนสองใบจะมีปริมาณเปลือกประมาณ 15-20 % ของลำต้น

3. ดอก ดอกของสนสองใบ ส่วนใหญ่จะออกตามปลายกิ่ง ตอนบนของลำต้น ดอกตัวผู้มีลักษณะรูปทรงคล้ายหมอนกลมยาวนวลๆ ออกเรียงซ้อนกันรอบๆ กิ่ง และมีการเจริญเติบโตพร้อมทั้งมีการเปลี่ยนแปลงของสีดอกเริ่มจาก สีเขียวนวล เหลืองอมเขียว เหลืองม่วง และเมื่อแก่จัดเกสรตัวผู้จะปลิวกระจายออกมา แล้วกลายเป็นสีน้ำตาล มีลักษณะแห้ง และร่วงหลุดจากกิ่ง ดอกตัวผู้ของสายพันธุ์ Continental จะเริ่มบานประมาณเดือน กุมภาพันธ์-มีนาคม ดอกตัวเมีย มีลักษณะคล้ายรูปหลอดไฟ หรือคล้ายรูปไมโครโฟนแท่งยาวติดอยู่ปลายกิ่ง ส่วนที่เป็นตัวดอกมีรูปร่างโค้งงอและมีเกล็ดโดยรอบ มีสีเหลืองอมเขียว เมื่อถึงระยะที่จะรับละอองเกสรตัวผู้ เกล็ดจะเปิดออก และมีน้ำเลี้ยงซึมอยู่รอบๆ เมื่อดอกตัวเมียได้รับการผสมจากละอองเกสรตัวผู้แล้วจะเจริญพัฒนาเปลี่ยนเป็นสีม่วงและเจริญต่อไปเป็นผลขนาดเล็กสีเขียว เจริญเติบโตจนแก่จัดเต็มที่ สีจะค่อยเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเขียวปนน้ำตาล จนถึงสีน้ำตาลซึ่งจะใช้เวลาตั้งแต่เริ่มผสมพันธุ์จนผลแก่ 12.5 - 13 เดือน ดอกตัวเมียสายพันธุ์ Continental จะเริ่มบานประมาณเดือน กุมภาพันธ์-มีนาคม และระยะเวลาที่เก็บเกี่ยวผลได้ประมาณปลายเดือน เมษายน-มิถุนายน

4. *ผล (cone)* ผลของสนสองใบ มีลักษณะคล้ายรูปกรวยยาว มีเกล็ด (scale) หุ้มอยู่โดยรอบ ผลของสนสองใบสายพันธุ์ Continental มีขนาดของผลยาวประมาณ 3-5 นิ้ว และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ $1\frac{1}{2}$ - 2 นิ้ว ติดอยู่กับกิ่งอาจเป็นผลเดี่ยวหรือเป็นกลุ่ม 2-3 ผล ผลของสนสองใบเมื่อแก่จัดมีสีเขียวปนน้ำตาล และเมื่อสภาวะภูมิอากาศพอเหมาะเกล็ดจะเปิดออก เมล็ดซึ่งมีปีกติดอยู่หลุดปลิวออกมา เกล็ดของผลเมื่อแก่จัดจะแข็ง ผลของสนสองใบผลหนึ่งจะมีจำนวนเกล็ด 120-130 เกล็ด ผลของสนสองใบจะแก่ไม่พร้อมกันแม้กระทั่งในข้อเดียวกันก็อาจแก่ไม่พร้อมกันก็ได้ โดยทั่วไประยะแก่ของผลไม้สนสองใบอาจแบ่งเป็นระยะๆ ได้ 3 ระยะ การติดผลให้เมล็ดมักจะสลับปีเว้นปี และหลังจากเมล็ดหลุดร่วงไปแล้วส่วนใหญ่ผลจะหลุดร่วงลงมาจากลำต้นไม่ติดอยู่กับกิ่งบนต้นเหมือนสนบางชนิด

5. *เมล็ด* เมล็ดไม้สนสองใบ มีลักษณะเป็นรูปกลมรี ยาวประมาณ 7.5 มม. ถ้าผ่าครึ่งมีขนาดกว้างประมาณ 4.0 มม. ความหนา 2.0 มม. เมล็ดเมื่อหลุดออกจากผลแล้ว จะมีปีก 2 ปีกเป็นแผ่นบาง มีความยาวไม่เท่ากัน คือประมาณ 2.0 - 3.0 มม. กว้าง 8 มม. ติดอยู่ด้วย จึงสามารถปลิวไปตามลมได้เป็นระยะไกลๆ ในการเก็บรักษาเมล็ดสนสองใบ ก่อนอื่นจะต้องทำความสะอาดเมล็ดโดยแยกปีกออกให้หมดก่อน ตากหรืออบเมล็ดให้มีความชื้นของเมล็ดไม่เกิน 8% แล้วจึงนำไปเก็บรักษาในห้องเย็นอุณหภูมิ 4°C สำหรับขยายพันธุ์ต่อไป ในประเทศไทย เมล็ดสนสองใบ ที่ขึ้นในระดับสูงและระดับต่ำมีความสมบูรณ์ของเมล็ดแตกต่างกัน และเมล็ดสนสองใบในระดับต่ำที่จังหวัดสุรินทร์ ศรีสะเกษ และอุบลราชธานี มีน้ำหนักเบากว่าเมล็ดสนสองใบในระดับสูง เช่น ที่ดอยบ่อหลวง อ. สอด จ. เชียงใหม่ กล่าวคือในภูมิภาคระดับต่ำ เช่น จังหวัดสุรินทร์ ศรีสะเกษ และอุบลราชธานี มีจำนวนเมล็ด 40,000 เมล็ดต่อ 1 กิโลกรัม ส่วนระดับสูง เช่น ดอยบ่อหลวง จังหวัดเชียงใหม่ มีจำนวนเมล็ด 2,000 เมล็ดต่อ 1 กิโลกรัม

6. *ลักษณะเนื้อไม้* เนื้อไม้สนสองใบมีความแข็งแรงปานกลาง มีความหนาแน่นประมาณ 0.53-0.54 และมีสีน้ำตาลอมเหลือง มีลวดลายสีน้ำตาลเป็นเส้นๆ สวยงามเห็นได้ชัด ในต้นไม้ขนาดใหญ่ เนื้อไม้จะแสดงลวดลายของแก่นไม้ที่มีสีน้ำตาลเข้มสลับสวยงาม

7. *ราก* รากแก้วของสนสองใบในขณะที่เป็นกล้าไม้ สายพันธุ์ Continental จะมีลักษณะค่อนข้างอวบ รากแขนงแพร่กระจายรอบๆ ในขณะที่เจริญเติบโตเป็นไม้ใหญ่ รากแก้วจะค่อนข้างสั้น ฝังตัวตื้นๆ แต่จะแตกรากแขนงที่มีขนาดใหญ่กระจายไปทั่ว ฉะนั้นในบางครั้ง เมื่อมีลมพายุพัดแรง ต้นไม้ใหญ่มักจะล้มทอนไม่อยู่ โคนล้มลงได้ง่าย

2.2.2 การกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติ

สนสองใบมีการกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติอย่างกว้างขวาง ตามเส้นรุ้งที่ $23^{\circ} 00' N$ - $2^{\circ} 06' S$ และเส้นแวงที่ $95^{\circ} 30' E$ - $121^{\circ} 30' E$ ระดับความสูงเหนือระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 30 ม. จนถึง 2,000 ม. (19)

สนสองใบ ที่พบตามธรรมชาติในประเทศไทย มีทั้งขึ้นอยู่ในพื้นที่ระดับต่ำ (lowland) ไปจนถึงพื้นที่ระดับสูง (highland) ดังนี้

1. ด้านทิศตะวันตกของจังหวัดเชียงใหม่ ไปจนถึงเขตติดต่อพรมแดนพม่า สูงจากระดับน้ำทะเล 700-1,000 ม.
2. บริเวณระหว่างอำเภอเมือง และอำเภอแม่สลด จังหวัดตาก ท้องที่หมู่บ้านห้วยชะอุ
3. แถบจังหวัดกาญจนบุรี ติดต่อกับเทือกเขาตะนาวศรี และทางทิศตะวันตกของจังหวัดเพชรบุรี จังหวัดสุพรรณบุรี
4. เขตติดต่อระหว่างภาคเหนือและภาคกลาง จะพบสนสองใบระหว่างจังหวัดพิษณุโลก บริเวณทุ่งแสลงหลวง จังหวัดเพชรบูรณ์ (สูงจากระดับน้ำทะเล 760 ม.) บริเวณน้ำหนาว และที่ภูกระดึง จังหวัดเลย (สูงจากระดับน้ำทะเล 1,500 ม.)
5. ด้านภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งเป็นที่ราบสูงโคราช จะพบสนสองใบที่จังหวัดสุรินทร์ จังหวัดศรีสะเกษ และจังหวัดอุบลราชธานี ระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลระหว่าง 150-200 ม.

การขึ้นอยู่ของไม้สนสองใบ อาจขึ้นเป็นกลุ่มสนสองใบล้วนๆ หรือปะปนอยู่กับไม้สนสามใบ หรือไม้ใบกว้างอื่นๆ โดยแยกลักษณะเป็นสภาพป่าดังนี้

1. ป่าผสมสนสองใบ - ป่าเต็งรัง บนที่สูงระหว่าง 700 - 1,000 ม. จะพบป่าชนิดนี้ทางตะวันตกของเชียงใหม่ติดต่อกับพม่า ทางอำเภอแม่สลด จังหวัดตาก และบางส่วนของจังหวัดเพชรบูรณ์ ซึ่งมีไม้สนสองใบขึ้นอยู่เป็นกลุ่มเล็กๆ หรืออยู่โดดเดี่ยวท่ามกลางไม้ใบกว้างชนิดต่างๆ โดยเฉพาะไม้เหียง และไม้พลวง ป่าชนิดนี้จะเกิดไฟไหม้บ่อยๆ แทบทุกปีในฤดูร้อนจนทำให้การสืบพันธุ์ตามธรรมชาติของไม้สนเป็นไปได้น้อย ดินส่วนใหญ่เป็นพวก podzolic soils มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำมีกรวดลูกรังมาก

2. ป่าผสมสนสองใบ - ไม้ใบกว้างอื่นๆ ในพื้นที่ระดับต่ำพบไม้สนสองใบขึ้นอยู่เป็นกลุ่มเล็กๆ หรือขึ้นอยู่โดดเดี่ยวท่ามกลางไม้ใบกว้างอื่นๆ เช่น เต็ง รัง กรวด พลวง บนพื้นที่ระดับต่ำระหว่าง 100 - 200 ม. เช่น แถบจังหวัดสุรินทร์ จังหวัดศรีสะเกษ และจังหวัดอุบลราชธานี ดินเป็นพวก sandy loam, podzolic soils มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง พื้นที่บางแห่งมีน้ำขังหรือมีน้ำท่วมเป็นครั้งคราวได้

3. ป่าสนสองใบที่ราบสูงโคราช ซึ่งเป็นหินทราย เช่นภูกระดึง จังหวัดเลย พบสนสองใบ ขึ้นอยู่เป็นกลุ่มใหญ่ล้นๆ พื้นล่างเป็นหญ้าคา ทำให้เกิดไฟไหม้ป่าได้บ่อย ในป่าชนิดนี้จะพบไม้กอกพวก *Castanopsis* ขึ้นอยู่กระจัดกระจาย ดินเป็นพวก podzolic soils เช่นเดียวกัน กำเนิดมาจากหินทรายแต่เป็นกรดจัด ความอุดมสมบูรณ์ค่อนข้างต่ำ แต่ปริมาณความชื้นค่อนข้างสูง

2.2.3 การขยายพันธุ์ตามธรรมชาติในประเทศไทย

การขยายพันธุ์ตามธรรมชาติของสนสองใบ ไม่ว่าจะเป็นสภาพป่าชนิดใด อยู่ในอัตราที่ค่อนข้างต่ำ แม้ว่าไม้สนจะมีเรือนยอดเด่นกว่าไม้ใบกว้างชนิดอื่นๆก็ตาม แต่การขยายพันธุ์ตามธรรมชาติจะมีน้อยกว่า กล้าไม้สนที่พบในสภาพธรรมชาติมักจะพบขึ้นอยู่ในที่โล่ง และพื้นผิวดินถูกเปิดเพื่อให้เมล็ดสนที่หล่นจากต้นลงสู่ดินได้โดยตรง พื้นที่ใดหากเกิดไฟไหม้ป่าก่อนที่จะมีเมล็ดไม้สนจะร่วงลงมา จะเปิดโอกาสให้เมล็ดงอกได้ทันทีที่ได้รับความชื้นเพียงพอและจะสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ หากไม่มีไฟไหม้พื้นที่นั้นอย่างน้อยที่สุดใน 3 ปีแรก จากการสังเกตโดยทั่วไปในป่าธรรมชาติหรือสวนป่าไม้สนที่มีอายุน้อยกว่า 3 ปี หากถูกไฟไหม้โอกาสรอดตายแทบไม่มีเลย แต่ถ้าอายุเกิน 3 ปีขึ้นไป หรือสูงเกินกว่าที่ไฟจะไหม้ส่วนปลายยอดได้แล้วยังมีโอกาสรอดตายอยู่ ดังนั้นในป่าธรรมชาติหรือสวนป่าไม้สน โดยทั่วไปจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องป้องกันไฟอย่างเข้มงวด นอกจากนี้โอกาสรอดตายของกล้าไม้สนหลังจากถูกไฟไหม้ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของไฟด้วย หากมีการกำจัดวัชพืชรอบต้นอย่างดี จะลดความรุนแรงของไฟลงได้

ปกติสนสองใบ เป็นชนิดไม้ที่ต้องการแดดจัด จึงพบเสมอว่าโอกาสที่ไม้สนจะขึ้นได้ดีจะเป็นที่โล่ง ไม่มีวัชพืชคลุมดินอยู่ เช่น ตามสองข้างถนนที่มีการไถดินออก ตามทางซีกกลางไม้เก่าๆ ที่เลิกใช้งานไปแล้ว หรือในที่ที่ดินพวก podzolic ความอุดมสมบูรณ์ต่ำ เป็นกรดจัดจะเป็นพื้นที่ที่มีการขยายพันธุ์ดี ดังนั้น โดยสรุปแล้วการขยายพันธุ์ตามธรรมชาติของไม้สนสองใบจะมีโอกาสดีในสถานะ

1. เป็นที่โล่ง หรือค่อนข้างโล่ง อย่างน้อย 10 ม. ขึ้นไป
2. มีการแข่งขันกับลูกไม้ หรือวัชพืชอื่นๆน้อย
3. ไม่มีไฟไหม้ป่าติดต่อกันอย่างน้อย 3 ปี
4. เป็นพื้นที่ที่ดินมีความเป็นกรดจัด เป็นต้น

การขยายพันธุ์สนสองใบที่ปฏิบัติในประเทศไทย คือ การเพาะด้วยเมล็ด ส่วนการขยายพันธุ์ด้วยวิธีอื่นส่วนมากเป็นงานวิจัยหรือทดลอง

2.2.4 ประโยชน์ของสนสองใบ

ไม้สนสองใบนอกเหนือจากการใช้ประโยชน์ในการสร้างบ้านเรือน ทำเครื่องเฟอร์นิเจอร์ต่างๆ ทำไม้อัด ไม้บาง เพราะมีลวดลายสวยงามและเป็นวัตถุดิบที่สำคัญในการทำเยื่อกระดาษแล้ว ยังที่ได้จากการเจาะต้นสนสองใบสามารถนำไปสกัดทำน้ำมันสนและชันสนได้ ยางสน (resin) หรือน้ำมันสนดิบ (crude turpentine) เมื่อถูกต้มกลั่นแล้วจะแยกเป็นวัตถุ 2 ชนิด คือน้ำมันสนดิบ หรือน้ำมันเทอร์เพนไทม์ (turpentine oil) ซึ่งเป็นของเหลวและเบากว่าน้ำราว 15% ส่วนสิ่งที่เหลือจากการกลั่นน้ำมันสนออกแล้วคือ ชันสนหรือยางสนสุก (rosin) ซึ่งในอากาศปกติเป็นของแข็งและมีน้ำหนักมากกว่าน้ำเล็กน้อย อาจกล่าวได้ว่ามีน้ำหนักเท่ากับน้ำคือ 1 ลิตรเท่ากับ 1 กิโลกรัม การกลั่นยางดิบส่วนใหญ่จะได้น้ำมันสนในปริมาณ 20% และชันสน 70% ส่วนอีก 10% จะเป็นสิ่งเจือปน ประโยชน์ที่ได้รับจากน้ำมันสนและชันสนคือ

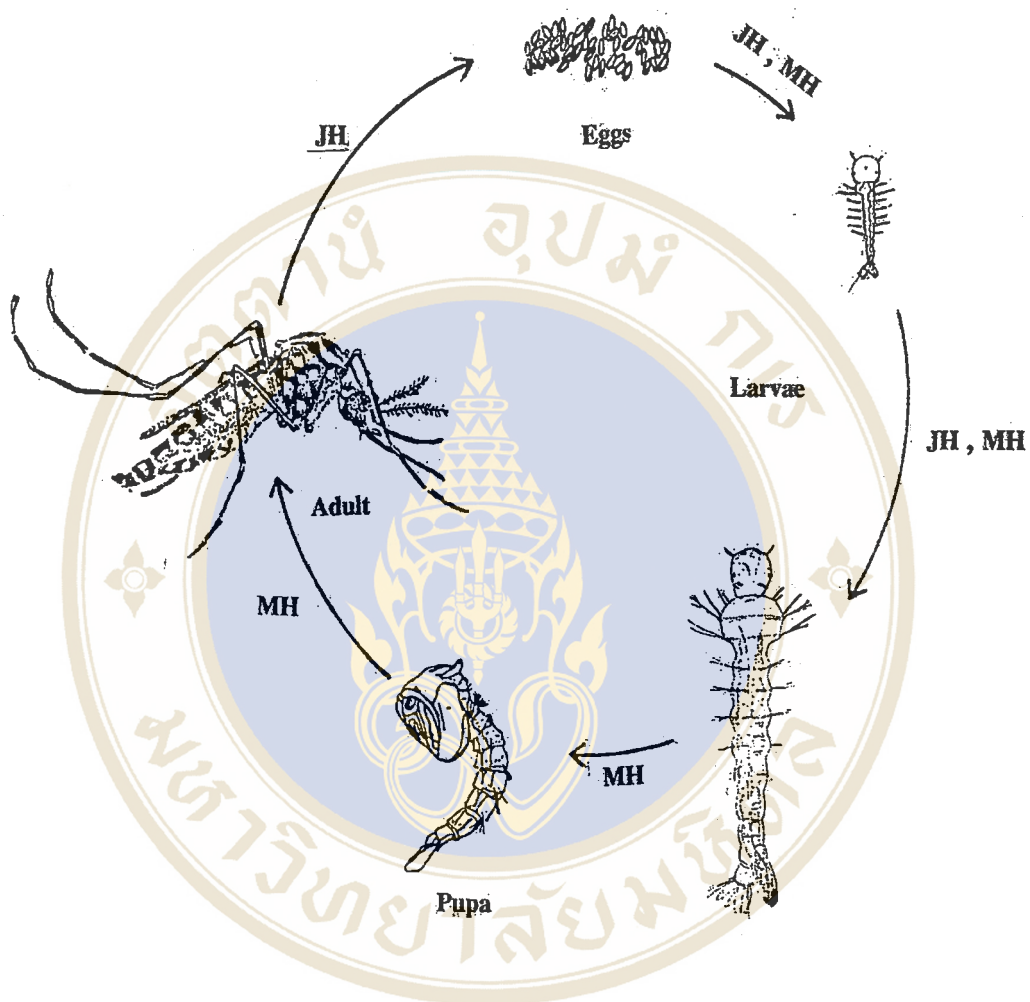
1. ประโยชน์ของน้ำมันสน น้ำมันสนส่วนมากใช้ในการผสมสีน้ำมัน และทำน้ำมันชักเงา (varnish) ใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับกัดหรือละลายไขมัน ยางรับเบอร์ ยางกัดตะเปอร์ชา ฯลฯ ใช้ในการพิมพ์ผ้าดอก การปรุงยา ยาทาแก้หวัด ทำน้ำมันสะโตก ฯลฯ และใช้ประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรมต่างๆ หลายประเภท
2. ประโยชน์ของชันสน ชันสนใช้ในการทำสบู่มากที่สุด นอกจากนี้ก็ใช้ในการทำเยื่อกระดาษให้แข็งและเหนียว (paper fixing) เพื่อใช้เขียนหมึกและสีได้ ใช้ในการพรมน้ำมัน ผ้าน้ำมัน ครั่งพริก น้ำมันชักเงา และประโยชน์อย่างอื่นๆ อีก ตลอดจนบัคกรีโลหะ และมักใช้เป็นวัตถุเจือปนกับครั่ง (shellac) และชันตะเคียน ซึ่งมีราคาสูง

2.3 ฮอร์โมนควบคุมการเจริญเติบโตและ Metamorphosis ของแมลง

มีฮอร์โมน 3 อย่างที่ควบคุมการเจริญเติบโตของแมลง คือ Ecdysiotropin, Ecdysone (Moulting hormone) และ Juvenile hormone โดยเซลล์ประสาท (Neurosecretory cells) ในสมองส่วน protocerebrum สร้างฮอร์โมนจากสมอง (Brain hormone) หรือ ecdysiotropin ส่งไปยัง corpora cardiaca ซึ่งมี 2 อันอยู่ใต้เส้นเลือด aorta และยังส่งต่อไปถึง corpora allata ได้หลอดอาหาร (esophagus) และมีแขนงไปยังทางเดินอาหารด้านหลัง (hind gut) มีหน้าที่ไปกระตุ้น prothoracic glands เพื่อสร้าง moulting hormone (ecdysone) โดยไปกระตุ้น epidermis ให้เริ่มลอกคราบทุกระยะของตัวอ่อนต้องการ แต่ต้องการมากตรงเปลี่ยนเป็นดักแด้และตัวเต็มวัย และมีหน้าที่สร้างโปรตีนทั่วตัวในการเจริญเติบโต

Corpora allata เกิดจาก maxillary segment อยู่หลัง corpora cardiaca ในตัวอ่อน (larva) สร้าง juvenile hormone 3 ชนิดเป็นเมทิลเอสเทอร์ (methyl ester) ของคาร์บอน 17 อะตอม เป็น terpenoid ควบคุมแนวทางที่เซลล์ของตัวอ่อนจะเจริญระหว่างการลอกคราบแต่ละครั้ง ระยะต้นๆ ต้องการ juvenile hormone มากแต่ระยะท้ายต้องการน้อยเมื่อถึงดักแด้ไม่ต้องการเลย ถ้ายังสร้าง juvenile hormone อยู่ มันจะอยู่ในลักษณะตัวอ่อน แต่ถ้าหยุดสร้างก็จะเจริญเป็นตัวเจริญเต็มวัยโดยการเจริญอย่างรวดเร็วของ imaginal discs หลังจากเนื้อเยื่อของตัวอ่อนสลายไป (6,20)

ตัวอย่างฮอร์โมนควบคุมการเจริญเติบโตและ Metamorphosis ของยุงลาย (*Aedes aegypti*) แสดงในรูปที่ 2-10 (21)



รูปที่ 2-10 แสดงฮอร์โมนควบคุมการเจริญเติบโตและ Metamorphosis ของยุงลาย (*Aedes aegypti*)

JH = Juvenile hormone MH = Moulting hormone

จากความสัมพันธ์ของฮอร์โมนที่ควบคุมการเจริญเติบโตและ Metamorphosis ของยุง จะเห็นว่าทุกระยะการลอกคราบของยุงมีฮอร์โมน 2 อย่าง คือ Moulting hormone และ Juvenile hormone เข้ามาเกี่ยวข้อง ซึ่งถ้าหากมีสารสกัดจากพืชธรรมชาติที่มีคุณสมบัติเลียนแบบเหมือนฮอร์โมน 2 อย่างนี้มาใช้ในระยะที่ยุงไม่ต้องการก็จะทำให้ขบวนการเมตาบอลิซึมและการลอกคราบของยุงผิดปกติและตายในที่สุด เป็นการลดบทบาทการใช้เคมีกำจัดแมลง เนื่องจากที่ผ่านมาการใช้เคมีกำจัดแมลงในรูปแบบต่างๆ มากมาย ทำให้เกิดการดกตัวของสารเคมีสังเคราะห์ในธรรมชาติ

2.4 เคมีกำจัดแมลง

เคมีกำจัดแมลง หมายถึงสารซึ่งใช้ทำลายแมลงที่เป็นปัญหาสำคัญทางการแพทย์และทางเศรษฐกิจ ได้แก่

1. สารอนินทรีย์ เช่น cyanide, Paris green, naphthalene
2. สารเคมีอินทรีย์ ได้แก่ น้ำมันและสารฆ่าแมลง (insecticide) ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 5 กลุ่มดังนี้

2.1 Organochlorine Compounds มีคลอรีนเป็นตัวทำให้เกิดพิษ เช่น สารเคมีกลุ่ม DDT และ Dieldrin มีพิษต่อเซลล์ของระบบประสาทส่วนกลางของแมลง ทำให้การส่งต่อความรู้สึกผิดปกติ เกิดการบิดของกล้ามเนื้อ ทำให้แมลงตายได้ สารพวกนี้มีพิษตกค้างอยู่ได้นานประมาณ 6-12 เดือน

2.2 Organophosphorus Compounds เป็นสารอินทรีย์ที่มีฟอสฟอรัสเป็นตัวทำให้เกิดพิษ ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทอัตโนมัติ ทำให้แมลงมีอาการชัก เป็นอัมพาต และตายในเวลาอันรวดเร็ว สารเคมีพวกนี้มีพิษตกค้างอยู่ในธรรมชาติประมาณ 3-4 เดือน เช่น Malathion, Parathion, Fenitrothion และ Abate เป็นต้น

2.3 Carbamate Compounds เป็นพิษต่อระบบประสาทอัตโนมัติ ทำให้แมลงมีอาการชัก เป็นอัมพาตและตาย สารเคมีพวกนี้มีพิษตกค้างประมาณ 3 เดือน ตัวอย่างเช่น Propoxur (Baygon) และ Sevin

2.4 Pyrethroids เป็นสารสังเคราะห์ที่มีฤทธิ์คล้ายคลึงกับสารฆ่าแมลงที่ได้จากพืชตระกูลเบญจมาศ โดยทำให้แมลงมีอาการกล้ามเนื้อกระตุก เป็นอัมพาตและตายในเวลาอันรวดเร็ว ยาพวกนี้มีพิษตกค้างอยู่ได้นานประมาณ 1 เดือน ตัวอย่างเช่น Bioresinethin และ Decamethin

2.5 Insect Growth Regulator เป็นสารที่ควบคุมการเจริญเติบโตของแมลง โดยจะควบคุมการลอกคราบและการสร้างโครงร่างของแมลง จะทำให้แมลงเกิดอาการผิดปกติของร่างกายและตายได้ ถ้ามีสารเหล่านี้มากเกินไปหรือไม่สมดุล ตัวอย่างได้แก่สารพวก Diflubenzuron และ Metoprene ซึ่งจะมีพิษตกค้างอยู่ได้ประมาณ 1-3 เดือน

จะเห็นว่า การกำจัดและควบคุมยุงพาหะนำโรคโดยใช้สารเคมีจะมีพิษตกค้างอยู่ในธรรมชาติเป็นระยะเวลานาน แมลงคือยา และทนทานต่อสารเคมี โดยเฉพาะสารเคมีประเภท Organochlorine, Organophosphorus และ Carbamate (22) ดังนั้นการป้องกันและควบคุมโรคโดยการควบคุมยุงพาหะนั้น วิธีที่จะได้ผลดีที่สุด คือ การกำจัดหรือลดแหล่งเพาะพันธุ์ยุงเพราะเป็นการ

คุมการเกิดของยุงโดยตรง การใช้สารที่สกัดได้จากพืชธรรมชาติน่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ปลอดภัย เนื่องจากมีพิษตกค้างในธรรมชาติน้อย มีความปลอดภัยต่อผู้ใช้สูง และเป็นวิธีที่ไม่สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการซื้อสารเคมี

2.5 ปฏิกริยาของสารสกัดจากพืชธรรมชาติที่มีผลต่อแมลง

สารสกัดจากพืชที่มีสรรพคุณป้องกันและกำจัดแมลงอาจแบ่งตามปฏิกริยาการตอบสนองของแมลงต่อสารเคมีได้ 4 ประเภท คือ

1. สารสกัดที่มีฤทธิ์ฆ่าแมลง สารฆ่าแมลงสกัดจากพืชที่เกษตรกรนิยมใช้มานานแล้วคือ โล่ดิน ซึ่งมีสารโรติโนน (rotenone) ได้จากต้นทางไหลขาว ยาฉุน ซึ่งมีสารนิโคติน (nicotin) ได้จากใบยาสูบ นำมาบดผสมน้ำ ฉีดฆ่าแมลงทั้งชนิดปากกัดและปากดูดได้ผลดี

2. สารสกัดที่มีฤทธิ์ทำให้ขบวนการเมตาบอลิซึมของแมลงผิดปกติ สารสกัดจากพืชส่วนใหญ่มีผลทำให้ขบวนการเมตาบอลิซึมของแมลงผิดปกติ แมลงจะไม่ตายทันที แต่จะเกิดความผิดปกติภายในวงจรชีวิต และมักตายก่อนถึงวัยเจริญพันธุ์ การวางไข่่น้อยกว่าปกติ หรือทำให้ขบวนการลอกคราบผิดปกติ ผนังลำตัวบางลงหลังการลอกคราบ จึงอ่อนแอและมีอัตราการตายสูง เช่น สารสกัดจากสะเดา พบว่ามีผลทำให้หนอนใยผักมีอัตราการวางไข่ลดลงจากปกติ 20-100% ขึ้นกับความเข้มข้นของสารที่ได้รับ และยังมีผลทำให้ขบวนการลอกคราบของเพลี้ยจักจั่นสีเขียวผิดปกติ

3. สารสกัดมีฤทธิ์ไล่หรือล่อแมลง สารที่มีฤทธิ์ไล่แมลงมักมีกลิ่นและไล่แมลงได้เพียงชั่วคราวเท่านั้น เมื่อกลิ่นระเหยหมดไปแมลงจะกลับมารบกวนอีก เช่น กลิ่นน้ำมันหอมระเหยของเครื่องเทศชนิดต่างๆ ได้แก่ กระชาย กระเพรา กานพลู ฯลฯ ส่วนสารบางประเภทมีกลิ่นล่อแมลงมารวมกัน เช่น ดอกเดหลีใบกล้วย

4. สารสกัดที่มีฤทธิ์ระงับการกินของแมลง การที่แมลงหรือตัวอ่อนของแมลงจะกินพืชชนิดใดหรือไม่ขึ้นอยู่กับสารเคมีที่พืชแต่ละชนิดสร้างขึ้น หากพืชมีสารกระตุ้น (attractant) แมลงก็จะกินพืชนั้น แต่หากมีสารยับยั้งการกิน (feeding deterrents or antifeedants) แมลงก็จะไม่กินพืชนั้น สารในกลุ่มนี้มีมากมาย เช่น สารจำพวก limonoids ในพืชวงศ์สะเดา ตัวอย่างเช่น azadirachtin สารจำพวก quassinoids ในพืชวงศ์ Simaroubaceae เช่น alkaloids, isobodine ในพืชพวกหิงหยาและสารจำพวก diterpene จากพืชพวกไม้เท้ายาวหอม เป็นต้น สารจำพวก terpenoids จากใบต้นฉัตรสวรรค์ ต้นครามป่า เป็นต้น

จากปฏิกิริยาการตอบสนองของแมลงที่มีต่อสารสกัดจากพืชธรรมชาติ โดยศึกษาจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องที่ผ่านมาในอดีต พบว่าสนสองใบมีสารพวก terpene เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งสารสกัดจากสนสองใบน่าจะมีฤทธิ์ทำให้ขบวนการเมตาบอลิซึมของยุงผิดปกติ ยุงจะไม่ตายทันที แต่จะเกิดความผิดปกติภายในวงจรชีวิต หรือการลอกคราบผิดปกติ จึงทำให้เกิดแนวความคิดในการนำสนสองใบมาทำการทดลองในการควบคุมการเจริญเติบโตของยุงพาหะ

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

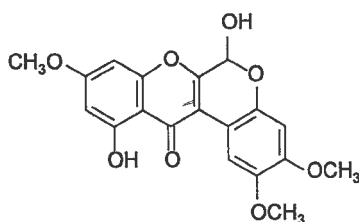
Amonkar SV และ Reeves EL (23) ได้ทำการสกัดสารจากกระเทียมแห้ง (*Allium sativum* L.) โดยใช้เมธานอลในการสกัด พบว่าสารที่สกัดได้มีฤทธิ์ในการควบคุมและกำจัดลูกน้ำ Larvicide ซึ่งมีผลต่อลูกน้ำ (larva) ระยะที่ 3 ของยุง 4 ชนิด คือ *Cx. peus* Speiser, *Cx. tarsalis* Coquillett, *Ae. aegypti* Linnaeus และ *Ae. triseriatus* Say นอกจากนี้ยังมีผลในการฆ่าลูกน้ำระยะที่ 3 และ 4 ของยุง *Ae. nigromaculis* Ludlow ซึ่งมีความต้านทานต่อสารกำจัดแมลงสูง โดย *Cx. peus* มีค่า LC_{50} 34 ppm. LC_{90} 68 ppm., *Cx. tarsalis* มีค่า LC_{50} 25 ppm. LC_{90} 50 ppm., *Ae. aegypti* มีค่า LC_{50} 33 ppm. LC_{90} 70 ppm., *Ae. triseriatus* มีค่า LC_{50} 62 ppm. LC_{90} 130 ppm. และ *Ae. nigromaculis* มีค่า LC_{50} 62 ppm. LC_{90} 84 ppm.

คณะผู้วิจัยของภาควิชากีฏวิทยาการแพทย์ คณะเวชศาสตร์เขตร้อน ได้ทำการวิจัยและทำรายงานสรุปในปี พ.ศ. 2531 (24) พบว่า สารที่สกัดจากพืชในวงศ์ต้นป่านสรนารายณ์ (*Agave*) 4 species คือ *Agave maginata*, *Agave americana*, *Agave midiopicta* และ *Agave sisalana* มีฤทธิ์ในการควบคุมและกำจัดลูกน้ำ (Larvicide) ในยุง 3 ชนิด คือ *Ae. aegypti*, *Cx. quinquefasciatus* และ *An. dirus* โดย ยุง *An. dirus* มีความไวต่อสารสกัดของป่านสรนารายณ์ทุกชนิด โดยเฉพาะกับป่านสรนารายณ์ชนิด *Agave americana* มีค่า LC_{50} 0.008%, ยุง *Ae. aegypti* มีความไวต่อป่านสรนารายณ์ชนิด *Agave americana* มีค่า LC_{50} 0.011% ขณะที่ ยุง *Cx. quinquefasciatus* มีความไวน้อยที่สุดในทุก species ของป่านสรนารายณ์ และจากการวิเคราะห์ของ Osol และ Farrar ในปี 1947 (25) พบว่าในใบของป่านสรนารายณ์ (*Agave*) ประกอบด้วยอินทรียสารประเภท acrid volatile oil, oxalic acid, oxalate และ saponin โดยที่ปริมาณและชนิดของ steroid saponin ที่พบในใบของป่านสรนารายณ์ที่ต่างชนิด และจากแหล่งต่างๆกันจะไม่เท่ากัน (26) ส่วนสาร saponin glycoside ที่มีอยู่ในใบป่านสรนารายณ์

ในใบป่านศรนารายณ์นั้นได้แก่สารพวก gitogenin, hecogenin และ manogenin ซึ่งใช้เป็นยาสเตียรอยด์ (steroid) เมื่อถูก hydrolyse จะได้ sapogenin และจะเป็นอันตรายมากถ้าถูกฉีดเข้ากระแสเลือด เพราะจะทำให้เม็ดเลือดแดงแตก

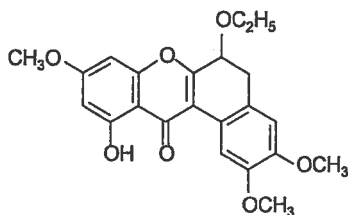
ประคอง พันธุ์ไร (27) ได้ทำการสกัดสารจากรากหอนตายหยาก (*Stemona curtesii*) โดยการสกัดด้วยน้ำ พบว่าสารที่สกัดออกมาสามารถฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ *Culex p. fatigans* และลูกน้ำยุงลาย *Ae. aegypti* ได้ในระยะลูกน้ำที่ 3 ตอนปลาย มีค่า LC_{50} ของยุง *Culex p. fatigans* เท่ากับ 70 ppm., LC_{95} เท่ากับ 126 ppm. ส่วนลูกน้ำยุงลาย *Ae. aegypti* มีค่า LC_{50} เท่ากับ 80 ppm., LC_{95} เท่ากับ 250 ppm.

ณัฐรา วีระฉัตร (28) ได้ทำการสกัดสารจากรากหอนตายหยาก (*Stemona collinsae* Craib) โดยการสกัดด้วยน้ำ พบว่าสารที่สกัดออกมาสามารถฆ่าลูกน้ำยุงลาย (*Aedes aegypti* Linneaus) ได้โดยค่า LC_{50} ในเวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 104 มิลลิกรัมต่อลิตร (ppm.) ซึ่งจากผลการทดลองของเทพ เชียงทอง และคณะ (29) ได้ศึกษาสารประกอบในรากหอนตายหยาก (*Stemona collinsae* Craib) ทางเคมี พบสารประกอบ Alkaloid ใหม่เป็นพวกโรตินอยด์ (rotenoid compounds) 3 ชนิด คือ Stemonal (รูปที่ 2-11), Stemonacetal (รูปที่ 2-12) และ Stemonone (รูปที่ 2-13) แต่จากการทดลองใช้ Stemonal และ Stemonacetal มาทดลองกับลูกน้ำยุงลาย (*Ae. aegypti*) พบว่ามี Stemonal เพียงสารเดียวเท่านั้น ที่มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายได้ โดยมีค่า LC_{50} ประมาณ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่า LC_{95} ประมาณ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร



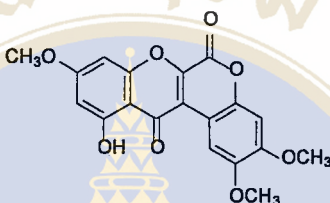
รูปที่ 2-11

แสดงสูตรโครงสร้างของ Stemonal



รูปที่ 2-12

แสดงสูตร โครงสร้างของ Stemononone



รูปที่ 2-13

แสดงสูตร โครงสร้างของ Stemonone

ประคอง พันธุ์ไร (30) แสดงผลการศึกษาเหง้าว่านน้ำ (*Acorus calamus* Linn) มีสารออกฤทธิ์ ทำให้ลูกน้ำขุ่นลาย (*Ae. aegypti*) ระยะลูกน้ำที่ 3 ตอนปลายตายได้ และสารสกัดจากเหง้าว่านน้ำใน ระดับความเข้มข้น 0.25 % และ 0.125 % สามารถออกฤทธิ์คงทนอยู่ในน้ำได้นานไม่น้อยกว่า 7 วัน และสารละลายว่านน้ำไม่บูดเน่าในช่วงระยะที่ทำการทดลอง

Kirtaniya SD และคณะ (31) ได้ทำการสกัดด้วยวิธีกลั่นด้วยไอน้ำ และการสกัดด้วยเมธานอล ของกระเทียม จากผลของการสกัดทั้งสองวิธีนี้พบว่า สารที่สกัดได้มีคุณสมบัติในการควบคุมและ กำจัดลูกน้ำ (Larvicide) ในลูกน้ำระยะที่ 3 ของยุง *Spodoptera litura* และลูกน้ำยุง *Euproctis* sp. ใน ระยะที่ 2 และ 4 รวมไปถึงลูกน้ำยุงอายุ 1 วันของ *Culex* sp.

Nello PD Angerilli (32) ทำการสกัดพืชน้ำ 8 ชนิด และนำมาทดสอบความสามารถในการควบคุมและกำจัดลูกน้ำ (Larvicide) ของลูกน้ำ *Ae. aegypti* พบว่า ทุกๆ สารสกัดมีฤทธิ์ในการควบคุมและกำจัดลูกน้ำ (Larvicide) ทุกตัว

Kalyanasundaram M และ Babu CJ (33) ได้ทำการสกัดด้วยปิโตรเลียม อีเทอร์ในพืชพื้นเมือง 7 ชนิดของประเทศอินเดียตอนใต้ คือ โหระพา (*Ocimum basilicum*), กะเพรา (*O. sanctum*), สะเดา (*Azadirachta indica*), ฝักราชวงศ์ (*Lantana camara*), คนทีเขมา (*Vitex negundo*), ผักเสี้ยนผี (*Cleome*

viscosa) และ *Bulmea* sp. เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการควบคุมและกำจัดลูกน้ำ (Larvicide) ในภาคสนามของลูกน้ำยุงในระยะที่ 4 ของยุง *Cx. quinquefasciatus* พบว่า พืช 3 ชนิด มีประสิทธิภาพดีคือ *Cleome viscosa* 60 ppm., *Ocimum basilicum* 100 ppm. และ *Vitex negundo* 120 ppm ส่วนสารสกัดจากพืชอีก 5 ชนิดคือ *Ocimum basilicum*, *O. sanctum*, *Azadirachta indica*, *Lantana camara* และ *Vitex negundo* มีผลช่วยให้สารฆ่าแมลงชนิด phenthoate และ fenthion มีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำระยะที่ 4 ของยุง *Cx. quinquefasciatus* ดีขึ้น ค่า LC_{50} นั้นลดลงอย่างมากเมื่อเติมสารสกัดเหล่านี้ในระดับ 1-5 ppm.

Saxena SC และ Yadav RS (34) ทำการสกัด *Oligochaeta ramosa* (Roxb.) Wagenitz ในตระกูล Compositae ด้วยอะซีโตน พบว่ามีฤทธิ์ในการควบคุมและกำจัดลูกน้ำ (Larvicide) และมีฤทธิ์ในการควบคุมและกำจัดตัวมด (Pupicide) นอกจากนี้ยังขัดขวางการเจริญเติบโตของ *Ae. aegypti* ค่า 100% Mortality ของลูกน้ำและตัวมดอยู่ที่ 0.09 และ 0.08 % ของสารสกัดตามลำดับด้วยความเข้มข้น 0.01% ของสารสกัดก็สามารถยืดระยะเวลาการเป็นลูกน้ำ และลดการเพิ่มประชากรได้ถึง 86%

Girdhar G และคณะ (35) ได้ทำการสกัดน้ำยางจาก milkweed (*C. procera*) พบว่าน้ำยางมีฤทธิ์ควบคุมและกำจัดลูกน้ำ (Larvicide) ของลูกน้ำยุง *An. stephensi*, *Cx. fatigan* และ *Ae. aegypti* น้ำยางมีฤทธิ์ฆ่า 100% ที่ 10,000 ppm. ในการทำลายไข่ของยุง และฆ่าลูกน้ำ แต่ไม่สามารถฆ่าตัวเต็มวัยได้

Arnason JT และคณะ (36) ได้ทำการสกัดสารประกอบประเภท sesquiterpene lactone จำนวน 6 ชนิด จากพืชในตระกูล Asteraceae (ดอกไม้คล้ายเบญจมาศ) สารเหล่านี้มีผลต่อยุง *Ae. atropalpus* โดยเฉพาะในระยะลูกน้ำ แต่มีผลน้อยต่อระยะตัวมด, ตัวเต็มวัย และ F_1 generation

Kalyanasundaram M และ Das PK (37) ได้ทำการสกัดด้วยปิโตรเลียม อีเทอร์ในพืชพื้นเมือง 10 ชนิดของประเทศอินเดียตอนใต้ คือ *Vinca rosea*, หญ้านกแก้ว (*Leucus aspara*), ลำมะงา (*Clerodendron inerme*), *Rauwolfia canescens*, *Peaalium murax*, บ้านเช้าสี่เหลี่ยม (*Turnera ulmifolia*), *Parthenium hysterophorus*, *Croton sparsiflorus*, รั้ว (*Calotropis* sp.) และ *Adathoda* sp. และทำการศึกษากิจกรรมของสารสกัดเหล่านี้ใน *Cx. quinquefasciatus*, *An. stephensi*, *Ae. aegypti* พบ

ว่า *Croton sparsiflorus* มีประสิทธิภาพสูงสุดที่ความเข้มข้น 1 ppm. ในขณะที่สารสกัดจากพืชอื่นๆ จะอยู่ที่ความเข้มข้นที่สูงกว่านี้

Saxena SC และ Sumithra L (38) พบว่า สารสกัดจากใบของ *Ipomoea carnea* Jacq *fistulosa* Mart มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *An. stephensi* โดยมีค่า % Mortality ในลูกน้ำและตัวโม่ง อยู่ในช่วง 76-90%

Thangam TS และคณะ (39) ได้ทำการศึกษาสารสกัดจากต้นโกงกาง (mangrove) 17 species พบว่า *Rhizophora apiculata* มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการกำจัดลูกน้ำ *An. stephensi* โดยมีค่า LC_{50} ที่ 17 ppm. สารรองลงมาเป็นสารสกัดจากใบของ *Avicennia marina* และ *Suaeda maritima* ซึ่งมีค่า LC_{50} เป็น 52 และ 80 ppm. ตามลำดับ

Zarroug Isam MA และคณะ (40) ได้ทำการสกัดต้นไม้ในประเทศชูดาน พบว่าจากการสกัดสารธรรมชาติจากต้นไม้ 8 ชนิดในการควบคุมและกำจัดลูกน้ำ มี 3 ชนิด คือ *Randia nilotica*, *Gardenia lutea* และ *Balanites aegyptiaca* ที่มีฤทธิ์ในการควบคุมและกำจัดลูกน้ำ (Larvicide) สูงมาก อีก 4 ชนิด คือ *Croton macrostachyus*, สะเดา (*Azadirachta indica*), *Aristolochia bracteata* และ *Dioscorea dumetorum* มีฤทธิ์ในการควบคุมและกำจัดลูกน้ำ (Larvicide) เล็กน้อย และสุดท้าย *Vigna fragrans* ไม่แสดงผลในการควบคุมและกำจัดลูกน้ำเลย

Green MM และคณะ (41) ทำการสกัดน้ำมันโดยวิธีกลั่นด้วยไอน้ำจากดาวเรือง 3 species คือ *Tagetes patula*, *T. erecta* และ *T. minuta* เพื่อนำน้ำมันเหล่านี้มาทดสอบฤทธิ์ในการควบคุมและกำจัดลูกน้ำ (Larvicide) ของลูกน้ำขุ่นในระยะที่ 3 ของยุง *Ae. aegypti* พบว่า *T. minuta* จะออกฤทธิ์ที่ความเข้มข้น 10 ppm. ความสามารถในการควบคุมและกำจัดลูกน้ำนั้นจะคงทนอยู่ในน้ำนานถึง 9 วัน Ocimenone เป็นสารประกอบประเภท terpene ในน้ำมันที่สกัดได้นั้น จะออกฤทธิ์ควบคุมและกำจัดลูกน้ำในความเข้มข้นสูงๆเท่านั้น และจะหมดฤทธิ์หลังจาก 24 ชั่วโมงผ่านไปแล้ว น้ำมันของ *T. minuta* จึงมีศักยภาพในการควบคุม *Ae. aegypti* และยุง species อื่นๆ

Monzon RB และคณะ (42) ได้ทำการสกัดสารจากใบพืช 5 ชนิด คือ น้อยหน่า (*Anona squamosa*), ยูคาลิปตัส (*Eucalyptus globulus*), ลองกอง (*Lansium domesticum*), สะเดา (*Azadirachta indica*) และโกสน (*Codiaeum variegatum*) โดยใช้เป็นต้นทำละลายในการสกัด พบว่าสารที่สกัดได้มีคุณสมบัติเป็นสารกำจัดแมลง (Insecticide) ในการฆ่าลูกน้ำระยะที่ 3 ถึง ระยะ

ที่ 4 ของยุง *Aedes aegypti* Linnaeus และ *Culex quinquefasciatus* Say โดยที่สารสกัดจากใบของ
ลองกองสามารถฆ่าลูกน้ำยุง *Ae. aegypti* ได้ดีที่สุด (LD₉₀ = 16.3 g/100ml) ขณะที่สารสกัดจากใบ
ยูคาลิปตัสสามารถฆ่าลูกน้ำยุง *Ae. aegypti* ได้น้อยที่สุด (LD₉₀ = 302.4 g/100ml) สำหรับลูกน้ำยุง
Cx. quinquefasciatus สารสกัดจากใบของน้อยหน่าฆ่าได้ดีที่สุด (LD₉₀ = 23.7 g/100ml) ขณะที่สาร
สกัดจากใบของสะเดาสามารถฆ่าได้น้อยที่สุด (LD₉₀ = 186.3 g/100ml)

Perich MJ และคณะ (43) ได้ทำการสกัดดาวเรืองใน *Tagetes* species แสดงให้เห็นว่า *Tagetes*
minuta มีฤทธิ์เป็น Biocide ในลูกน้ำ และตัวเต็มวัย ของลูกน้ำยุงลาย *Aedes aegypti* Linnaeus และ
ยุง *Anopheles stephensi* Liston สารสกัดจากดอกจะให้ LD₉₀ ในช่วง 4 และ 8 ppm. ในลูกน้ำ รวมทั้ง
0.40 และ 0.45% สำหรับตัวเต็มวัยใน *Ae. aegypti* และ *An. stephensi* ตามลำดับ

วลัยรัตน์ ตัณฑประศาสน์ (44) ได้ทำการสกัดสารจากใบและเมล็ดมันแกว (*Pachyrrhizus*
erosus Urb.) โดยใช้น้ำกลั่นและเอธานอล 95% เป็นตัวทำละลายในการหมัก และใช้ช่วงระยะเวลา
ในการหมักนาน 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดใบมันแกวที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการ
หมักไม่สามารถทำให้ลูกน้ำยุงลาย (*Ae. aegypti*) ระยะที่ 4 ตายได้ แต่ในขณะที่สารสกัดใบมันแกว
ในเอธานอล 95% มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงลายได้ โดยมีค่า LC₅₀ เมื่อใช้ระยะเวลาในการหมัก 24 ชั่วโมง
เท่ากับ 1353.21 มิลลิกรัมต่อลิตร LC₅₀ เมื่อใช้ระยะเวลาในการหมัก 48 ชั่วโมง เท่ากับ 1543.17
มิลลิกรัมต่อลิตร และ LC₅₀ เมื่อใช้ระยะเวลาในการหมัก 72 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 3644.87 มิลลิกรัม
ต่อลิตรตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดเมล็ดมันแกวที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการหมักจะมีประสิทธิ
ภาพดีกว่าสารสกัดเมล็ดมันแกวในเอธานอล 95% เนื่องจากที่ระยะเวลาในการหมักเท่ากันระดับ
ความเข้มข้นที่ทำให้ลูกน้ำตาย 50% ในเวลา 24 ชั่วโมง (LC₅₀) ต่ำกว่าคือ เมื่อใช้ระยะเวลาในการ
หมัก 24 ชั่วโมง LC₅₀ ของน้ำกลั่น เท่ากับ 169.31 มิลลิกรัมต่อลิตร LC₅₀ ของเอธานอล 95% เท่ากับ
411.28 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่ระยะเวลาในการหมัก 48 ชั่วโมง LC₅₀ ของน้ำกลั่น เท่ากับ
180.75 มิลลิกรัมต่อลิตร LC₅₀ ของเอธานอล 95% เท่ากับ 416.79 มิลลิกรัมต่อลิตร และที่ระยะเวลา
ในการหมัก 72 ชั่วโมง LC₅₀ ของน้ำกลั่น เท่ากับ 194.15 มิลลิกรัมต่อลิตร LC₅₀ ของเอธานอล 95%
เท่ากับ 443.41 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจากการศึกษาของลัดดาวัลย์ บุญรัตนกรกิจและคณะ (45) พบว่า
ใบของมันแกวมียาสารพิษเป็นสารจำพวก Glycoside ชื่อ Pachyrrhizin มีสมบัติคล้ายสาร Derris ใน
ทางไหล ใช้เป็นยาเบื่อปลา สุนัข Glycoside นี้ มีฤทธิ์ทำให้เม็ดเลือดแดงแตก (46) ส่วนเมล็ดมีสาร
พิษเป็นสารจำพวก Isoflavonoia ชื่อ Erosnin, Pachyrrhizon, Pachyrrhizin และ Rotenone ใช้ป่นทา

ผิวหนังแสบ คัน บางแห่งใช้เป็นยาขับพยาธิ การรับประทานเมล็ดมันแกวเข้าไปปริมาณมากๆ อาจทำให้ถึงแก่ความตาย

Macedo ME และคณะ (47) ได้ทำการสกัดด้วยเอทานอลของพืช 83 species ในตระกูลไม้สวนกล้วยๆเบญจมาศ (Asteraceae) รวบรวมมาจากรัฐ Minas Gerais ประเทศบราซิล เมื่อนำสารเหล่านี้มาทดสอบฤทธิ์ในการควบคุมและกำจัดลูกน้ำ (Larvicide) ในยุง *Ae. fluviatilis* พบว่าสารสกัดจากพืช *Tagetes minuta* จะออกฤทธิ์ได้มากที่สุดโดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 1.0 mg/l และ LC_{90} เท่ากับ 1.5 mg/l สารสกัดของ *Euclipta paniculata* มีฤทธิ์ค่อนข้างสูง ค่า LC_{50} อยู่ที่ 1.72 mg/l และ LC_{90} ที่ 3.3 mg/l สารสกัดจากพืชอีก 6 ชนิดคือ *Achyrocline satureioides*, *Gnaphalium spiccatum*, *Sececio brasiliensis*, *Trixis vauthieri*, *Tagetes patula* และ *Veronia ammophila* นั้นมีฤทธิ์น้อยมาก ค่า LC_{50} อยู่ที่ dose สูงๆ (100mg/l)

จากงานวิจัยที่ผ่านมา จะเห็นว่าสารสกัดจากพืชชนิดต่างๆ มีคุณสมบัติในการกำจัดลูกน้ำยุงในระยะที่ 3 และระยะที่ 4 โดยมีคุณสมบัติในการฆ่าแตกต่างกัน ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน แต่ยังไม่มีการทดลองในเรื่องที่เกี่ยวกับใบและก้านสนสองใบเลย จากความรู้ทั่วไปในเรื่องสนสองใบ จะพบว่าประเทศไทยมีสนสองใบกระจายอยู่ทั่วประเทศ ดังนั้นการศึกษาการใช้สารสกัดจากสนสองใบในการควบคุมลูกน้ำยุงพาหะนำโรค น่าจะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อประชาชนในพื้นที่ของประเทศไทย ด้วยเหตุผลที่สนสองใบเป็นพืชดั้งเดิมที่มีอยู่ในท้องถิ่น หาได้ง่าย สะดวกประหยัด วิธีการใช้ง่าย เป็นเทคโนโลยีที่เหมาะสมกับชาวบ้าน อีกทั้งยังช่วยลดความเสี่ยงต่อผลกระทบทางนิเวศวิทยา และลดปัญหาการตกค้างของสารเคมีสังเคราะห์ในสารฆ่าแมลงหลังจากมีการใช้เป็นเวลานาน

บทที่ 3

วัตถุ และวิธีการวิจัย

3.1 แผนการทดลอง

ในการวิจัยเรื่องการใช้สารสกัดจากสนสองใบในการควบคุมลูกน้ำยุงพาหะนำโรคครั้งนี้ เป็น การศึกษาวิจัยเชิงทดลอง (Experimental Research) ในระดับห้องปฏิบัติการ (laboratory test) มีแผน การทดลองแบบบล็อก สุ่ม (Randomized Complete Block Design)

3.2 ขั้นตอนการทดลอง

การใช้สารสกัดจากสนสองใบในการควบคุมลูกน้ำยุงพาหะนำโรค แบ่งขั้นตอนการทดลองได้ เป็น 3 ส่วน คือ

3.2.1 การเตรียมสารสกัดจากสนสองใบ

3.2.2 การเตรียมลูกน้ำยุง

3.2.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบในการควบคุม การเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงพาหะ

- ยุง *Ae. aegypti*

- ยุง *Cx. quinquefasciatus*

- ยุง *An. maculatus*

มีวิธีดำเนินการดังนี้

3.2.1 การเตรียมสารสกัดจากสนสองใบ

3.2.1.1 วัสดุอุปกรณ์

1. ใบและก้านสนสองใบ ทำการเก็บรวบรวมจากสถานีทดลอง
พรรณไม้ห้วยบง อำเภอฮอด จังหวัดเชียงใหม่
2. น้ำกลั่น
3. เอทานอล 95 %
4. บีกเกอร์
5. แก้วตวงปริมาตร
6. ขวดสีชาพร้อมฝาปิดสนิทสำหรับเก็บสารสกัดที่ได้
7. อลูมิเนียมฟอยด์

3.2.1.2 สารสกัดจากใบสนสองใบ

ทำการสกัดใบสนสองใบโดยวิธีการหมัก (Maceration) ตามวิธีการเตรียมการสกัดของงามผ่อง (48) โดยใช้น้ำ และ เอทานอล 95 % เป็นตัวทำละลาย (solvent) แล้วทำการตัดแปลงให้เหมาะสมตามวัตถุประสงค์การศึกษา ดังนี้

นำใบสนสองใบที่เก็บในช่วงที่พืชมีอายุประมาณ 13 ปี ล้างน้ำให้สะอาด และนำไปผึ่งลมให้แห้ง แล้วทำให้แห้งสนิทด้วยการตากแห้ง 5-6 วัน หรืออบที่ความร้อน 50 ± 10 องศาเซลเซียส ให้แห้งสนิท

ก. การสกัดโดยวิธีหมักด้วยน้ำ

นำใบสนสองใบที่แห้งแล้วมาบดให้ละเอียด นำมาชั่งเพื่อผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 4 (น้ำหนักต่อปริมาตร) หมักนาน 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำมากรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกกากและสารละลายสกัดออกจากกัน เตรียมเป็นสารละลายเบื้องต้น (Stock Solution) เก็บไว้ในขวดสีชาที่มีฝาปิดสนิท และหุ้มด้วยแผ่นอลูมิเนียมฟอยด์ นำไปเก็บไว้ในตู้เย็นภายใต้อุณหภูมิ 5 ± 1 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ทดสอบกับลูกน้ำต่อไป

ข. การสกัดโดยวิธีหมักด้วยเอทานอล 95%

นำใบสนสองใบที่แห้งแล้วมาบดให้ละเอียด นำมาชั่งเพื่อผสมกับเอทานอล 95% ในอัตราส่วน 1 ต่อ 4 (น้ำหนักต่อปริมาตร) หมักนาน 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำมากรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกกากและสารละลายสกัดออกจากกัน เตรียมเป็นสารละลายเบื้องต้น (Stock Solution) เก็บไว้ในขวดสีชาที่มีฝาปิดสนิท และหุ้มด้วยแผ่นอลูมิเนียมฟอยด์ นำไปเก็บไว้ในตู้เย็นภายใต้อุณหภูมิ 5 ± 1 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ทดสอบกับลูกน้ำต่อไป

3.2.1.3 สารสกัดจากก้านสนสองใบ

ดำเนินการเช่นเดียวกับสารสกัดจากใบสนสองใบ โดยเปลี่ยนจากใบเป็นก้าน

3.2.2 การเตรียมลูกน้ำยุง

3.2.2.1 วัสดุอุปกรณ์

1. ถ้วยพลาสติก ถาดแก้ว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 7 เซนติเมตร ไว้ให้ยุงวางไข่
2. ถาดพลาสติกสีขาวหรือกอละมังสำหรับเลี้ยงลูกน้ำ
3. ที่ดูดลูกน้ำและตัวมด
4. ถ้วยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร สำหรับเก็บตัวมด
5. กรงยุงขนาด 30×30×30 เซนติเมตร
6. สำลี
7. ขวดแก้ว
8. กล้องกระดาษสำหรับดูดยุงเพื่อเปลี่ยนยุงจากกรงไปกล้อง
9. หลอดยางสำหรับดูดยุงเพื่อเปลี่ยนยุงจากกรงไปกล้อง
10. หลอดแก้วสำหรับสลบยุง
11. ยาสลบ (Ether)
12. กล้องผ่ายุง (กล้อง Stereomicroscope)
13. เข็มสำหรับปักยุง
14. กล้องพลาสติก
15. แปรง, พู่กัน
16. น้ำกลั่น
17. หลุม
18. น้ำตาล, วิตามิน (น้ำ)

Vitamin A 6200 units

Vitamin D 1250 units

Thiamine mononitrate 1.25 mg.

Riboflavin 5 phosphate sod. 2.30 mg.

Pyridoxine HCl 1.29 mg.

Nicotinamide 25.00 mg.

d-Panthenol 25.00 mg.

Vitamin B₁₂ 6.25 mg.

Vitamin C 6.25 mg.

19. อาหารลูกน้ำในกรณีนี้ คือ อาหารสุนัขชนิดอัดแท่งบดละเอียด

3.2.2.2 การเตรียมลูกน้ำยุงลาย (*Ae. aegypti*)

ดำเนินการโดย

ก. นำยุงลาย *Ae. aegypti* ที่เพาะเลี้ยงจากห้องปฏิบัติการมาทำการเลี้ยงภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้น 80 ± 10 %

ข. ทำการผสมพันธุ์ (Artificial Mating) แล้วนำยุงตัวเมียมาให้อาหารโดยใช้เลือดของหนูแฮมสเตอร์ (Hamster) ประมาณ 2-3 วัน ยุงก็จะเริ่มวางไข่

ค. นำไข่ยุงลายฟักในน้ำกรอง ย้ายลูกน้ำที่ฟักภายใน 1 ชั่วโมง ไปเลี้ยงในถาดเลี้ยงลูกน้ำ ขนาด $20 \times 30 \times 4$ เซนติเมตร แต่ละถาดใส่น้ำ 1000 มิลลิลิตร ซึ่งจะใช้เลี้ยงลูกน้ำ 500 ตัวต่อ 1 ถาด และใช้อาหารสุนัขชนิดอัดแท่งบดละเอียดเป็นอาหารสำหรับเลี้ยงลูกน้ำ โดยให้อาหารประมาณ 0.5 กรัม ต่อ ลูกน้ำ 1 ถาด

ง. ทำการเลี้ยงลูกน้ำโดยเปลี่ยนน้ำทุก 2-3 วัน และให้อาหารวันละ 2 ครั้ง ถ้ามีฝ้าหรือคราบน้ำมันบนผิวน้ำใช้กระดาษกรองซับออก เลี้ยงลูกน้ำจนกระทั่งลูกน้ำยุงลายมีอายุประมาณ 4 วัน หรือ อยู่ในระยะที่ 4 ตอนต้น (Early fourth instar larvae) ซึ่งเป็นระยะที่โตเต็มที่ เป็นลูกน้ำที่ใช้ในการทดสอบต่อไป

3.2.2.3 การเตรียมลูกน้ำยุงรำคาญ (*Cx. quinquefasciatus*)

ดำเนินการเช่นเดียวกับการเตรียมลูกน้ำยุงลาย (*Ae. aegypti*) แต่ใช้ลูกน้ำยุงรำคาญ (*Cx. quinquefasciatus*) แทน

3.2.2.4 การเตรียมลูกน้ำยุงก้นปล่อง (*An. maculatus*)

ดำเนินการเช่นเดียวกับการเตรียมลูกน้ำยุงลาย (*Ae. aegypti*) แต่ใช้ลูกน้ำยุงก้นปล่อง (*An. maculatus*) แทน ซึ่งจะแตกต่างกันในข้อ ค. คือ ในถาดเลี้ยงลูกน้ำยุงก้นปล่องจะเพิ่มฟางพวนหรือหญ้าลงไปเล็กน้อย เพื่อเป็นการเติมอากาศลงไป

3.2.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบในการควบคุมการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงพาหะ

3.2.3.1 วัสดุอุปกรณ์

1. ขันเคลือบ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร ลึก 6 เซนติเมตร ใช้ในการทดสอบกับลูกน้ำ
2. เครื่องแก้วชนิดต่างๆ
3. ที่กรองลูกน้ำ
4. ปิเปตดูดลูกน้ำ
5. ถังพลาสติกบรรจุน้ำ

3.2.3.2 การหาระดับความเข้มข้นที่จะใช้ในการทดลอง

ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ

ก. การทดลองเบื้องต้น (preliminary test) เป็นการทดลองเพื่อหาระดับความเข้มข้นช่วงกว้างๆ คือ ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากใบสนสองใบและสารสกัดจากก้านสนสองใบ ที่ทำให้ลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่องตาย 100 เปอร์เซ็นต์ และระดับความเข้มข้นสูงสุดที่ลูกน้ำยุงดังกล่าวมีชีวิตรอด 100 เปอร์เซ็นต์ โดยเติมสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในขันเคลือบที่ใส่น้ำทดลอง 249 มิลลิลิตร ให้มีปริมาตรรวม 250 มิลลิลิตร ต่อขันเคลือบ หลังจากนั้นใส่ลูกน้ำยุงลงไปขันละ 25 ตัว แต่ละความเข้มข้นทำการทดลอง 4 ซ้ำ สังเกตดูการเปลี่ยนแปลงว่ามีการตายเกิดขึ้นในระยะใดบ้าง บันทึกผลเป็นรายวัน จนกว่าลูกน้ำยุงจะกลายเป็นตัวเต็มวัยทั้งหมด ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 5 วัน และนำค่าความเข้มข้นที่ได้จากการทดลองขั้นต้นนี้ไปใช้ในการจัดระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม ในการทดลองขั้นละเอียดต่อไป

ข. การทดลองขั้นละเอียด (full scale test) เป็นการนำความเข้มข้นที่หาได้จากข้อ

ก. มาขยายผลความเข้มข้นอย่างละเอียดให้ครอบคลุมอัตราตายตั้งแต่ 100 เปอร์เซ็นต์ จนถึง 0 เปอร์เซ็นต์ โดยแบ่งความเข้มข้นออกเป็น 5 ระดับตามมาตรฐานลอการิทึม พร้อมกับมีกลุ่มควบคุม โดยแต่ละระดับความเข้มข้นทำการทดลอง 4 ซ้ำ โดยแต่ละซ้ำใช้ลูกน้ำยุงระยะที่ 4 ตอนต้น 25 ตัว สังเกตลักษณะอาการ และบันทึกจำนวนการตายในแต่ละระยะ จนกว่าลูกน้ำยุงจะกลายเป็นตัวเต็มวัยทั้งหมด เมื่อสิ้นสุดการทดลอง นำเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของลูกน้ำยุงในแต่ละระยะในแต่ละระดับความเข้มข้น ไปคำนวณหาค่าความเข้มข้นที่ทำให้ลูกน้ำยุงตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) ตามวิธีการทดสอบสารฆ่าแมลงขององค์การอนามัยโลก (12)

3.2.3.3 วิธีการทดสอบ

ดำเนินการโดย

ก. เลือกลูกน้ำยุงที่ใช้ทดสอบระยะที่ 4 ตอนต้นที่แข็งแรงเตรียมไว้ เพื่อใช้ในการทดสอบ

ข. เตรียมน้ำทดสอบโดยนำน้ำประปาใส่ถังพลาสติกพ่นอากาศ 1 วันแล้วตั้งทิ้งไว้ 1 คืนเพื่อให้ปราศจากคลอรีน

ค. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบในการควบคุมการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง ที่ระดับความเข้มข้น (treatment) ต่างๆ คือ

รูปแบบการทดลองเมื่อใช้ช่วงเวลากำหนดที่ 24 ชั่วโมง

Treatment 1 : ระดับความเข้มข้นที่ 1 ของสารสกัดจากใบ หรือก้านสนสองใบในน้ำกลั่น

Treatment 2 : ระดับความเข้มข้นที่ 2 ของสารสกัดจากใบ หรือก้านสนสองใบในน้ำกลั่น

Treatment 3 : ระดับความเข้มข้นที่ 3 ของสารสกัดจากใบ หรือก้านสนสองใบในน้ำกลั่น

Treatment 4 : ระดับความเข้มข้นที่ 4 ของสารสกัดจากใบ หรือก้านสนสองใบในน้ำกลั่น

Treatment 5 : ระดับความเข้มข้นที่ 5 ของสารสกัดจากใบ หรือก้านสนสองใบในน้ำกลั่น

C-W (Control Water Treatment) : ชุดควบคุมซึ่งใช้น้ำกลั่นเพียงอย่างเดียว

Treatment a : ระดับความเข้มข้นที่ 1 ของสารสกัดจากใบ หรือก้านสนสองใบในเอทานอล 95%

Treatment b : ระดับความเข้มข้นที่ 2 ของสารสกัดจากใบ หรือก้านสนสองใบในเอทานอล 95%

Treatment c : ระดับความเข้มข้นที่ 3 ของสารสกัดจากใบ หรือก้านสนสองใบในเอทานอล 95%

Treatment d : ระดับความเข้มข้นที่ 4 ของสารสกัดจากใบ หรือก้านสนสองใบในเอทานอล 95%

Treatment e : ระดับความเข้มข้นที่ 5 ของสารสกัดจากใบ หรือก้านสนสองใบในเอทานอล 95%

C-E (Control Ethanol Treatment) : ชุดควบคุมซึ่งมีน้ำอยู่ 249 มิลลิลิตร และใส่เอทานอล 95% ลงไป 1 มิลลิลิตร

ทำการทดสอบโดยนำน้ำ ปริมาตร 249 มิลลิลิตร ใส่ลงในภาชนะทดสอบ ให้น้ำมีอุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส (ไม่ต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส และไม่เกิน 30 องศาเซลเซียส) จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารละลายสกัด ณ ความเข้มข้นที่ต้องการทดสอบปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงไป แล้วคนให้ทั่วเป็นเวลาประมาณ 30 วินาที แล้วจึงนำลูกน้ำที่เตรียมไว้ใส่ในภาชนะทดสอบ (ขันเคลือบ) จำนวน 25 ตัว ต่อ 1 ภาชนะทดสอบ ทำการทดสอบ 24 ชั่วโมง บันทึกผลหลังจาก 24 ชั่วโมง เคลื่อนย้ายลูกน้ำไปใส่ในภาชนะที่มีน้ำประปาปราศจากคลอรีน สังเกตดูการเปลี่ยนแปลง ว่ามีการตายเกิด

ขึ้นในระยะใดบ้าง บันทึกผลเป็นรายวัน ส่วนตัวโม่ที่รอดชีวิตเคลื่อนย้ายไปใส่ในภาชนะที่มีน้ำ
ประปาปราศจากคลอรีน แล้วนำภาชนะใส่ในกรงตาข่ายสังเกตและทดสอบจนกระทั่งตายหรือเป็น
ตัวเต็มวัยไปทั้งหมด บันทึกผลการตายตั้งแต่ระยะลูกน้ำจนถึงระยะตัวเต็มวัย และในกรณีที่หาค
คควมมีจำนวนตัวโม่ไม่เกิน 10% หรือมีจำนวนลูกน้ำที่ตาย 20% ขึ้นไป ควรทำการทดสอบใหม่ และใน
หาคคควมเปรียบเทียบที่มีระดับความเข้มข้น 0 ppm. จะใช้ปีเปตดูตัวทำละลายในการสกัดนั้นๆ
ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงไปแทน

รวมทั้งรวม 24 ทรีตเมนต์ และมีจำนวนหน่วยทดลอง 4 ซ้ำในยูงแต่ละชนิด จึงมี
หาคคควมการทดลองย่อยรวม 288 หาคคควมการทดลอง ดังตารางที่ 3-1

ตารางที่ 3-1 จำนวน TREATMENT ของสารสกัดจากใบหรือก้านสนสองใบในยูง 1 ชนิด จากตัวทำ
ละลาย 2 ชนิด ที่ช่วงเวลาหมัก 24 ชั่วโมง

จำนวนซ้ำ	ระดับความเข้มข้น (TREATMENT)					
1	C-W	1	2	3	4	5
	C-E	a	b	c	d	e
2	C-W	1	2	3	4	5
	C-E	a	b	c	d	e
3	C-W	1	2	3	4	5
	C-E	a	b	c	d	e
4	C-W	1	2	3	4	5
	C-E	a	b	c	d	e

หลังจากนั้นจะมีการบันทึกการตายในลักษณะต่างๆ

3.3 ลักษณะการตายของยุงที่เกิดจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (49,50)

ลักษณะการตายของยุงที่เกิดจากสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถสังเกตผลการตายของยุงในแต่ละขั้นตอนได้ โดยแยกลักษณะการตายได้เป็น 8 กลุ่ม คือ

1. L เป็นการตายในระยะลูกน้ำ โดยไม่มีลักษณะการเกิดของตัวโม่งเลย
2. L(P) (ตัวโม่งอยู่ข้างในผนังของลูกน้ำ) เป็นการตายในระยะแรกของการเกิดตัวโม่ง ส่วนท้องของตัวโม่งจะลอกคราบจากส่วนปลายสุดของท้องลูกน้ำ และระบบหายใจของตัวโม่งแยกออกจากระบบหายใจของลูกน้ำ ซึ่งสามารถสังเกตเห็นการแยกนี้ได้ระหว่างรูเปิดทางเดินหายใจของลูกน้ำและตัวโม่ง และเห็นส่วนนอก และท่อหายใจ
3. L-P (ลูกน้ำซึ่งมีตัวโม่งโผล่ออกมาบางส่วน) การตายในกลุ่มนี้ลูกน้ำเจริญถึงระยะที่จะเป็นตัวโม่งแต่มีความผิดปกติเกิดขึ้น ทำให้ลูกน้ำไม่สามารถจะลอกคราบเป็นตัวโม่งได้สมบูรณ์ คือมีส่วนนอกและท่อหายใจโผล่ และส่วนนอกได้เปลี่ยนแปลงเป็นลักษณะของรูปร่างตัวโม่ง แต่ส่วนท้องจะยังคงติดอยู่ที่ด้านปลายของส่วนท้องลูกน้ำ
4. WP (ตัวโม่งสีขาว) เป็นการตายที่ตัวโม่งลอกคราบออกมาจากผิวหนังของลูกน้ำสมบูรณ์แล้ว แต่ยัง ไม่มีการสร้างเมดสี ยกเว้นเมดสีที่ตา ส่วนท้องยังอยู่ในตำแหน่งผิดปกติ ในบางกรณียังสามารถสังเกตเห็นจุดเล็กๆของเมดสี
5. BP (ตัวโม่งสีน้ำตาล) เป็นการตายในระยะที่ตัวโม่งมีการสร้างเมดสี และส่วนท้องอยู่ในตำแหน่งปกติ
6. P(A) (ตัวโม่งซึ่งมีตัวเต็มวัยอยู่ด้านใน) การตายในกลุ่มนี้ศีรษะของตัวเต็มวัยส่วนมากจะแยก และปรากฏเมดสีปกติ ผิวหนังของตัวโม่งยังไม่แยก อย่างไรก็ตามส่วนท้องยังตรงหรือส่วนหลังโค้งแอ่นผิดปกติ ซึ่งจะไม่เหมือนกลุ่มที่ 5 การตายของยุงกลุ่มที่ 6 โดยปกติจะลอยน้ำเนื่องจากฟองอากาศภายใน
7. P-A (ตัวโม่งที่มีตัวเต็มวัยโผล่ออกมาบางส่วน) การตายกลุ่มนี้เกิดขึ้นระหว่างการเปลี่ยนเป็นตัวเต็มวัยปกติ แต่ไม่สามารถออกจากคราบของตัวโม่ง ขั้นตอนแรกของการลอกคราบโดยปกติจะเอาส่วนท้องออกก่อน ไม่เช่นนั้นก็จะเอาส่วนหัวและส่วนนอกออก ในบางกรณียุงลอกคราบหลุดออกมาเกือบสมบูรณ์ แต่คู่ขาหลังยังคงติดอยู่ที่คราบของตัวโม่ง
8. FA (ตัวเต็มวัย) ขั้นนี้จะเป็นการตายของตัวเต็มวัยที่ลอกคราบออกมาสมบูรณ์ แต่ไม่สามารถบินจากผิวหนังที่เกาะอยู่ได้ และตายในที่สุด

ในการศึกษารั้วนี้จะบันทึกผลลักษณะการตายของยุงที่เกิดจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็น 6 กลุ่ม คือ ระยะ L, ระยะ L(P) และ ระยะ L-P รวมกัน, ระยะ WP, ระยะ BP, ระยะ P(A) และ ระยะ P-A รวมกัน และ ระยะ FA

3.4 การบันทึกและการวิเคราะห์ผล

3.4.1 การบันทึกผล

ภายหลังการทดสอบ ทำการบันทึกข้อมูลจำนวนลูกน้ำที่ตายในแต่ละความเข้มข้นหรือในแต่ละวัน โดยเทียบเป็นร้อยละของจำนวนลูกน้ำที่ตาย หากชุดควบคุมเปรียบเทียบมีจำนวนลูกน้ำตายอยู่ระหว่าง 5%-20% ร้อยละของการตายของลูกน้ำที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลต้องคำนวณปรับค่าตาม ABBOTT' S FORMULA ก่อนจึงจะทำการบันทึกผล หากชุดควบคุมเปรียบเทียบมีจำนวนลูกน้ำตายเกิน 20% จะไม่ทำการบันทึกผล และทำการทดลองใหม่ การคำนวณปรับค่าตาม ABBOTT' S FORMULA (12) มีสูตรดังนี้

$$\% \text{ Mortality} = \frac{\% \text{ test mortality} - \% \text{ control mortality}}{100 - \% \text{ control mortality}} \times 100$$

โดย % test mortality = %การตายของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสมุนไพร

% control mortality = %การตายของกลุ่มควบคุม

3.4.2 การวิเคราะห์ผล

3.4.2.1 หาค่า LC_{50} (Lethal concentration at 50%) ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นของสารละลายสกัดที่มีผลทำให้ลูกน้ำตายร้อยละ 50 ของจำนวนลูกน้ำทดลองทั้งหมด หน่วยที่ใช้นิยมเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) หรือ ppm. (part per million) หมายถึง ปริมาณสารละลายสกัดหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อปริมาตรน้ำ 1 ลิตร บางครั้งใช้หน่วยความเข้มข้นเป็นกรัมต่อหนึ่งร้อยมิลลิลิตร (g/100ml) (51) โดยการวิเคราะห์โพรบิต (probit analysis) (52) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป spss for window สร้างกราฟด้วย log-dosage probit line รายละเอียดในภาคผนวก ก เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในรูปของความเข้มข้นในระดับเป็นมิลลิกรัมต่อลิตรของ LC_{50} ของสารสกัดจากใบและก้านสมุนไพรในการควบคุมการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงลาย *Ae. aegypti*, ยุงรำคาญ *Cx. quinquefasciatus*

และขุบก้านปล้อง *An. maculatus* โดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ หมักด้วยน้ำกลั่น และหมักด้วยเอธานอล 95 % เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.4.2.2 ดูการกระจายลักษณะการตายของยุงในระยะต่างๆ ที่เกิดจากสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบโดยนำเสนอในรูปของกราฟแท่ง (Histograms)

3.4.2.3 สถิติที่ใช้ในการทดสอบ คือ การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย (ANOVA) ของเปอร์เซ็นต์ตายจริง (% Mortality) ของยุงพาหะนำโรค ในสารสกัดแต่ละชนิด ณ ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และวิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ตายจริงระหว่างความเข้มข้นภายในกลุ่ม ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยวิธี Fisher's Least Significant Difference (LSD) (53,54) รายละเอียดในภาคผนวก ข



บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง

ในการหาระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ การทดลองเบื้องต้น (preliminary test) เป็นการทดลองเพื่อหาระดับความเข้มข้นช่วงกว้างๆ คือ ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากใบสนสองใบและสารสกัดจากก้านสนสองใบ ที่ทำให้ลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่องตาย 100 เปอร์เซ็นต์ (LC_{100}) และระดับความเข้มข้นสูงสุดที่ลูกน้ำยุงดังกล่าวมีชีวิตรอด 100 เปอร์เซ็นต์ (LC_0) นำค่าความเข้มข้นที่ได้จากการทดลองขั้นต้นนี้ไปใช้ในการจัดระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม ในการทดลองขั้นละเอียด (full scale test) โดยให้ครอบคลุมอัตราตายตั้งแต่ 100 เปอร์เซ็นต์ จนถึง 0 เปอร์เซ็นต์ โดยแบ่งความเข้มข้นออกเป็น 5 ระดับตามมาตราส่วนลอการิทึม พร้อมกับมีกลุ่มควบคุม สำหรับความเข้มข้นของสารสกัดจากใบสนสองใบและสารสกัดจากก้านสนสองใบในน้ำกลั่น และเอธานอล 95% ที่ใช้กับลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง แสดงในตารางที่ 4-1 เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำจำนวนการตายสะสมของลูกน้ำยุงพาหะนำโรค ไปคำนวณหาระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากใบสนสองใบและก้านสนสองใบที่ทำให้ลูกน้ำยุงพาหะนำโรคตายร้อยละ 50 จากการวิเคราะห์ค่าโพรบิท โดยใช้โปรแกรม spss for window รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก

ตารางที่ 4-1 แสดงระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากใบสนสองใบและก้านสนสองใบในน้ำกลั่น และเอธานอล 95% ที่ใช้กับลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง

สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของสน สองใบในตัวทำละลาย 2 ชนิด	ระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง (mg/l)		
	ยุงลาย	ยุงรำคาญ	ยุงก้นปล่อง
ใบ			
- ใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย	100,500,2500,12500,62500	100,500,2500,12500,62500	50,250,1250,6250,31250
- ใช้เอธานอล 95% เป็นตัวทำ ละลาย	20,100,500,2500,12500	10,50,250,1250,6250	10,50,250,1250,6250
ก้าน			
- ใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย	20,100,500,2500,12500	100,500,2500,12500,62500	50,250,1250,6250,31250
- ใช้เอธานอล 95% เป็นตัวทำ ละลาย	10,50,250,1250,6250	10,50,250,1250,6250	10,50,250,1250,6250

4.2 ผลของสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำชนิดต่างๆ

4.2.1 ผลของสารสกัดจากใบสนสองใบต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงลาย

ผลของสารสกัดจากใบสนสองใบต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงลายโดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิดที่แตกต่างกัน คือ น้ำกลั่น และเอธานอล 95 % ที่ระยะเวลาในการหมัก 24 ชั่วโมง ผลปรากฏดังนี้

4.2.1.1 สารสกัดใบสนสองใบโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

ผลของสารสกัดจากใบสนสองใบในน้ำกลั่นต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงลาย ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 100, 500, 2500, 12500 และ 62500 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) ตามลำดับ โดยใช้ระยะเวลาในการหมักนาน 24 ชั่วโมง พบว่าค่า LC_{50} ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 5067.56 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยหลักการเดียวกันก็สามารถหาค่า LC_{95} ได้ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4410080 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อนำไปทดสอบความสัมพันธ์ทางสถิติโดยวิธี Fisher's

Least Significant Difference (LSD) พบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ตายจริงของลูกน้ำแตกต่างกันไปตามระดับความเข้มข้นของสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 4-2

ตารางที่ 4-2 ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดใบสนสองใบที่หมักด้วยน้ำกลั่นที่มีผลต่อลูกน้ำยุงลาย ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (mg/l)	ลูกน้ำยุง (ตัว)	จำนวนการตาย (ตัว)	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ตายจริง (% Mortality)*	LC_{50} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{50})	LC_{95} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{95})	Slope
100	100	11	11.00 ± 1.00 a	5067.56 (3173.74 - 8523.57)	4410080 (1128172-35137289)	0.56
500	100	37	37.00 ± 1.91 b			
2500	100	43	43.00 ± 1.91 b			
12500	100	60	60.00 ± 7.12 c			
62500	100	70	70.00 ± 2.58 c			
0(Control)	100	0				

* Mean ± S.E. , คัดเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆ ละ 25 ตัว

หมายเหตุ : ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย LSD

4.2.1.2 สารสกัดใบสนสองใบโดยใช้เอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย

ผลของสารสกัดใบสนสองใบในเอธานอล 95% ต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงลาย ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 20, 100, 500, 2500 และ 12500 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) ตามลำดับ โดยใช้ระยะเวลาในการหมักนาน 24 ชั่วโมง พบว่าค่า LC_{50} ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 606.12 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยหลักการเดียวกันก็สามารถหาค่า LC_{95} ได้ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 48026.32 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อนำไปทดสอบความสัมพันธ์ทางสถิติโดยวิธี Fisher's Least Significant Difference (LSD) พบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ตายจริงของลูกน้ำแตกต่างกันไปตามระดับความเข้มข้นของสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 4-3

ตารางที่ 4-3 ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดใบสนสองใบที่หมักด้วยเอทานอล 95% ที่มีผลต่อลูกน้ำยุงลาย ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (mg/l)	ลูกน้ำยุง (ตัว)	จำนวน การตาย (ตัว)	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ ตายจริง (% Mortality)*	LC_{50} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{50})	LC_{95} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{95})	Slope
20	100	5	5.00 ± 1.91 a	606.12 (231.97 - 1591.20)	48026.32 (5177.08-544347.60)	0.87
100	100	34	34.00 ± 2.58 b			
500	100	48	48.00 ± 4.90 c			
2500	100	64	64.00 ± 5.16 d			
12500	100	89	89.00 ± 3.42 e			
0(Control)	100	0				

* Mean $\pm$ S.E. , คัดเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆ ละ 25 ตัว

หมายเหตุ : ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย LSD

4.2.2 ผลของสารสกัดจากใบสนสองใบต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงรำคาญ

ผลของสารสกัดจากใบสนสองใบต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงรำคาญ โดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิดที่แตกต่างกัน คือ น้ำกลั่น และเอทานอล 95% ที่ระยะเวลาในการหมัก 24 ชั่วโมง ผลปรากฏดังนี้

4.2.2.1 สารสกัดใบสนสองใบโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

ผลของสารสกัดจากใบสนสองใบในน้ำกลั่นต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงรำคาญ ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 100, 500, 2500 ,12500 และ 62500 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) ตามลำดับ โดยใช้ระยะเวลาในการหมักนาน 24 ชั่วโมง พบว่าค่า LC_{50} ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 4537.84 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยหลักการเดียวกันก็สามารถหาค่า LC_{95} ได้ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 25659730 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อนำไปทดสอบความสัมพันธ์ทางสถิติโดยวิธี Fisher's Least Significant Difference (LSD) พบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ตายจริงของลูกน้ำแตกต่างกันไปตามระดับความเข้มข้นของสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 4-4

ตารางที่ 4-4 ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดใบสนสองใบที่หมักด้วยน้ำกลั่นที่มีผลต่อลูกน้ำ
ยุงรำคาญ ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (mg/l)	ลูกน้ำยุง (ตัว)	จำนวน การตาย (ตัว)	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ ตายจริง (% Mortality)*	LC_{50} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{50})	LC_{95} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{95})	Slope
100	100	17	17.00 ± 1.91 a	4537.84 755.57 - 29149.94	25659730 19741.86-109701900000	0.44
500	100	35	35.00 ± 2.52 b			
2500	100	56	56.00 ± 5.16 c			
12500	100	60	60.00 ± 1.63 c			
62500	100	62	62.00 ± 4.16 c			
0(Control)	100	0				

* Mean $\pm$ S.E. , คัดเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆ ละ 25 ตัว

หมายเหตุ : ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย
LSD

4.2.2.2 สารสกัดใบสนสองใบโดยใช้เอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย

ผลของสารสกัดใบสนสองใบในเอธานอล 95% ต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำ
ยุงรำคาญ ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 10, 50, 250, 1250 และ 6250 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) ตาม
ลำดับ โดยใช้ระยะเวลาในการหมักนาน 24 ชั่วโมง พบว่าค่า LC_{50} ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
เซนต์ มีค่าเท่ากับ 134.77 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยหลักการเดียวกันก็สามารถหาค่า LC_{95} ได้ ซึ่งมีค่าเท่า
กับ 2532.19 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อนำไปทดสอบความสัมพันธ์ทางสถิติโดยวิธี Fisher's Least
Significant Difference (LSD) พบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ตายจริงของลูกน้ำแตกต่างกันไปตามระดับ
ความเข้มข้นของสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 4-5

ตารางที่ 4-5 ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดใบสนสองใบที่หมักด้วยเอธานอล 95% ที่มีผลต่อ
ลูกน้ำยุงรำคาญ ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (mg/l)	ลูกน้ำยุง (ตัว)	จำนวน การตาย (ตัว)	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ ตายจริง (% Mortality)*	LC_{50} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{50})	LC_{95} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{95})	Slope
10	100	10	$8.17 \pm 9.5E-02$ a	134.77 (102.58 - 175.12)	2532.19 (1642.19-4436.64)	1.29
50	100	28	26.42 ± 3.64 b			
250	100	69	68.46 ± 6.09 c			
1250	100	85	84.71 ± 3.06 d			
6250	100	100	100.00 ± 0.00 e			
0(Control)	100	2				

* Mean $\pm$ S.E. , คัดเลือกจาก 4 ซ้ำๆ ละ 25 ตัว

หมายเหตุ : ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
โดย LSD

4.2.3 ผลของสารสกัดจากใบสนสองใบต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงก้นปล่อง

ผลของสารสกัดจากใบสนสองใบต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงก้นปล่อง โดยใช้ตัว
ทำละลาย 2 ชนิดที่แตกต่างกัน คือ น้ำกลั่น และเอธานอล 95% ที่ระยะเวลาในการหมัก 24 ชั่วโมง
ผลปรากฏดังนี้

4.2.3.1 สารสกัดใบสนสองใบโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

ผลของสารสกัดจากใบสนสองใบในน้ำกลั่นต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุง
ก้นปล่อง ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 50, 250, 1250, 6250 และ 31250 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) ตาม
ลำดับ โดยใช้ระยะเวลาในการหมักนาน 24 ชั่วโมง พบว่าค่า LC_{50} ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
เซนต์มีค่าเท่ากับ 582.65 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยหลักการเดียวกันก็สามารถหาค่า LC_{95} ได้ ซึ่งมีค่าเท่า
กับ 23873.97 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อนำไปทดสอบความสัมพันธ์ทางสถิติโดยวิธี Fisher's Least
Significant Difference (LSD) พบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ตายจริงของลูกน้ำแตกต่างกันไปตามระดับ
ความเข้มข้นของสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 4-6

ตารางที่ 4-6 ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดใบสนสองใบที่หมักด้วยน้ำกลั่นที่มีผลต่อลูกน้ำ
ยุงก้นปล่อง ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (mg/l)	ลูกน้ำยุง (ตัว)	จำนวน การตาย (ตัว)	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ ตายจริง (% Mortality)*	LC_{50} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{50})	LC_{95} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{95})	Slope
50	100	18	17.17 ± 2.50 a	582.65 (424.00 - 786.90)	23873.97 (14014.32-48039.11)	1.02
250	100	36	35.38 ± 3.47 b			
1250	100	59	58.58 ± 3.40 c			
6250	100	82	81.79 ± 4.20 d			
31250	100	100	100.00 ± 0.00 e			
0(Control)	100	1				

* Mean $\pm$ S.E. , คัดเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆ ละ 25 ตัว

หมายเหตุ : ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย
LSD

4.2.3.2 สารสกัดใบสนสองใบโดยใช้เอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย

ผลของสารสกัดใบสนสองใบในเอธานอล 95% ต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำ
ยุงก้นปล่อง ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 10, 50, 250, 1250 และ 6250 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) ตาม
ลำดับ โดยใช้ระยะเวลาในการหมักนาน 24 ชั่วโมง พบว่าค่า LC_{50} ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
เซนต์ มีค่าเท่ากับ 351.97 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยหลักการเดียวกันก็สามารถหาค่า LC_{95} ได้ ซึ่งมีค่าเท่า
กับ 16195.50 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อนำไปทดสอบความสัมพันธ์ทางสถิติโดยวิธี Fisher's Least
Significant Difference (LSD) พบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ตายจริงของลูกน้ำแตกต่างกันไปตามระดับ
ความเข้มข้นของสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 4-7

ตารางที่ 4-7 ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดใบสนสองใบที่หมักด้วยเอทานอล 95% ที่มีผลต่อ
ลูกน้ำยุงก้นปล่อง ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (mg/l)	ลูกน้ำยุง (ตัว)	จำนวน การตาย (ตัว)	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ ตายจริง (% Mortality)*	LC_{50} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{50})	LC_{95} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{95})	Slope
10	100	4	4.00 ± 1.63 a	351.97 (260.39 - 479.12)	16195.50 (8934.01-35415.10)	0.99
50	100	22	22.00 ± 2.58 b			
250	100	50	50.00 ± 3.46 c			
1250	100	65	65.00 ± 3.42 d			
6250	100	90	90.00 ± 4.16 e			
0(Control)	100	0				

* Mean $\pm$ S.E. , คัดเลือกจาก 4 ซ้ำๆ ละ 25 ตัว

หมายเหตุ : ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
โดย LSD

4.2.4 ผลของสารสกัดจากก้านสนสองใบต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงลาย

4.2.4.1 สารสกัดก้านสนสองใบโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

ผลของสารสกัดจากก้านสนสองใบในน้ำกลั่นต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงลาย ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 20, 100, 500, 2500 และ 12500 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) ตามลำดับ โดยใช้ระยะเวลาในการหมักนาน 24 ชั่วโมง พบว่าค่า LC_{50} ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 581.18 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยหลักการเดียวกันก็สามารถหาค่า LC_{95} ได้ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 48020.32 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อนำไปทดสอบความสัมพันธ์ทางสถิติโดยวิธี Fisher's Least Significant Difference (LSD) พบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ตายจริงของลูกน้ำแตกต่างกันไปตามระดับความเข้มข้นของสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 4-8

ตารางที่ 4-8 ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดก้านสนสองใบที่หมักด้วยน้ำกลั่นที่มีผลต่อลูกน้ำ
ยุงลาย ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (mg/l)	ลูกน้ำยุง (ตัว)	จำนวน การตาย (ตัว)	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ ตายจริง (% Mortality)*	LC_{50} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{50})	LC_{95} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{95})	Slope
20	100	13	13.00 ± 1.00 a	581.18 (415.26 - 817.03)	48020.32 (23843.17-123285.20)	0.86
100	100	24	24.00 ± 2.83 b			
500	100	45	45.00 ± 3.00 c			
2500	100	69	69.00 ± 3.42 d			
12500	100	90	90.00 ± 3.83 e			
0(Control)	100	0				

* Mean ± S.E. , คัดเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆ ละ 25 ตัว

หมายเหตุ : ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
 โดย LSD

4.2.4.2 สารสกัดก้านสนสองใบโดยใช้เอธานอล 95%เป็นตัวทำละลาย

ผลของสารสกัดจากก้านสนสองใบในเอธานอล 95% ต่อการเจริญเติบโตของ
ลูกน้ำยุงลาย ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 10, 50, 250, 1250 และ 6250 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) ตาม
ลำดับ โดยใช้ระยะเวลาในการหมักนาน 24 ชั่วโมง พบว่าค่า LC_{50} ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
มีค่าเท่ากับ 209.96 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยหลักการเดียวกันก็สามารถหาค่า LC_{95} ได้ ซึ่งมีค่าเท่า
กับ 6511.89 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อนำไปทดสอบความสัมพันธ์ทางสถิติโดยวิธี Fisher's Least
Significant Difference (LSD) พบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ตายจริงของลูกน้ำแตกต่างกันไปตามระดับ
ความเข้มข้นของสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 4-9



ตารางที่ 4-9 ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดก้านสนสองใบที่หมักด้วยเอทานอล 95% ที่มีผลต่อลูกน้ำยุงลาย ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (mg/l)	ลูกน้ำยุง (ตัว)	จำนวน การตาย (ตัว)	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ ตายจริง (% Mortality)*	LC_{50} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{50})	LC_{95} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{95})	Slope
10	100	9	9.00 ± 1.00 a	209.96 (158.26 - 277.83)	6511.89 (3940.79-12453.09)	1.10
50	100	25	25.00 ± 1.91 b			
250	100	50	50.00 ± 2.58 c			
1250	100	77	77.00 ± 4.43 d			
6250	100	98	98.00 ± 1.15 e			
0(Control)	100	0				

* Mean ± S.E. , คิดเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆ ละ 25 ตัว

หมายเหตุ : ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย LSD

4.2.5 ผลของสารสกัดจากก้านสนสองใบต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงรำคาญ

4.2.5.1 สารสกัดก้านสนสองใบโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

ผลของสารสกัดจากก้านสนสองใบในน้ำกลั่นต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงรำคาญ ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 100, 500, 2500, 12500 และ 62500 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) ตามลำดับ โดยใช้ระยะเวลาในการหมักนาน 24 ชั่วโมง พบว่าค่า LC_{50} ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 415054.50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยหลักการเดียวกันก็สามารถหาค่า LC_{95} ได้ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1919457000 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อนำไปทดสอบความสัมพันธ์ทางสถิติโดยวิธี Fisher's Least Significant Difference (LSD) พบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ตายจริงของลูกน้ำแตกต่างกันไปตามระดับความเข้มข้นของสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 4-10

ตารางที่ 4-10 ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดก้านสนสองใบที่หมักด้วยน้ำกลั่นที่มีผลต่อลูกน้ำยุงรำคาญ ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (mg/l)	ลูกน้ำยุง (ตัว)	จำนวน การตาย (ตัว)	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ ตายจริง (% Mortality)*	LC_{50} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{50})	LC_{95} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{95})	Slope
100	100	5	5.00 ± 1.91 a	>100000		0.45
500	100	10	10.00 ± 2.58 b			
2500	100	16	16.00 ± 2.83 b			
12500	100	24	24.00 ± 2.83 c			
62500	100	36	36.00 ± 1.63 d			
0(Control)	100	0				

* Mean $\pm$ S.E. , คัดเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆ ละ 25 ตัว

หมายเหตุ : ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย LSD

4.2.5.2 สารสกัดก้านสนสองใบโดยใช้เอธานอล 95%เป็นตัวทำละลาย

ผลของสารสกัดจากก้านสนสองใบในเอธานอล 95% ต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงรำคาญ ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 10, 50, 250, 1250 และ 6250 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) ตามลำดับ โดยใช้ระยะเวลาในการหมักนาน 24 ชั่วโมง พบว่าค่า LC_{50} ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 274.21 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยหลักการเดียวกันก็สามารถหาค่า LC_{95} ได้ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 22572.54 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อนำไปทดสอบความสัมพันธ์ทางสถิติโดยวิธี Fisher's Least Significant Difference (LSD) พบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ตายจริงของลูกน้ำแตกต่างกันไปตามระดับความเข้มข้นของสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 4-11

ตารางที่ 4-11 ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดก้านสนสองใบที่หมักด้วยเอทานอล 95% ที่มีผลต่อลูกน้ำยุงรำคาญ ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (mg/l)	ลูกน้ำยุง (ตัว)	จำนวน การตาย (ตัว)	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ ตายจริง (% Mortality)*	LC_{50} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{50})	LC_{95} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{95})	Slope
10	100	9	9.00 ± 1.91 a	274.21 (195.85- 384.96)	22572.54 (11263.93-57525.94)	0.86
50	100	30	30.00 ± 2.58 b			
250	100	50	50.00 ± 2.00 c			
1250	100	66	66.00 ± 2.58 d			
6250	100	90	90.00 ± 6.63 e			
0(Control)	100	0				

* Mean $\pm$ S.E. , คิดเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆ ละ 25 ตัว

หมายเหตุ : ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย LSD

4.2.6 ผลของสารสกัดจากก้านสนสองใบต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงก้นปล่อง

4.2.6.1 สารสกัดก้านสนสองใบโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

ผลของสารสกัดจากก้านสนสองใบในน้ำกลั่นต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงก้นปล่อง ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 50, 250, 1250, 6250 และ 31250 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) ตามลำดับ โดยใช้ระยะเวลาในการหมักนาน 24 ชั่วโมง พบว่าค่า LC_{50} ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 741.80 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยหลักการเดียวกันก็สามารถหาค่า LC_{95} ได้ซึ่งมีค่าเท่ากับ 29418.61 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อนำไปทดสอบความสัมพันธ์ทางสถิติโดยวิธี Fisher's Least Significant Difference (LSD) พบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ตายจริงของลูกน้ำแตกต่างกันไปตามระดับความเข้มข้นของสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 4-12

ตารางที่ 4-12 ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดก้านสนสองใบที่หมักด้วยน้ำกลั่นที่มีผลต่อลูกน้ำยุงก้นปล่อง ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (mg/l)	ลูกน้ำยุง (ตัว)	จำนวน การตาย (ตัว)	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ ตายจริง (% Mortality)*	LC_{50} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{50})	LC_{95} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{95})	Slope
50	100	16	16.00 ± 3.65 a	741.80 (307.30 - 1776.86)	29418.61 (5212.87-188542.50)	1.03
250	100	30	30.00 ± 4.16 a			
1250	100	52	52.00 ± 4.32 b			
6250	100	80	80.00 ± 7.83 c			
31250	100	100	100.00 ± 0.00 d			
0(Control)	100	0				

* Mean ± S.E. , คัดเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆ ละ 25 ตัว

หมายเหตุ : ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย LSD

4.2.6.2 สารสกัดก้านสนสองใบโดยใช้เอธานอล 95%เป็นตัวทำละลาย

ผลของสารสกัดจากก้านสนสองใบในเอธานอล 95% ต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงก้นปล่อง ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 10, 50, 250, 1250 และ 6250 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) ตามลำดับ โดยใช้ระยะเวลาในการหมักนาน 24 ชั่วโมง พบว่าค่า LC_{50} ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 144.40 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยหลักการเดียวกันก็สามารถหาค่า LC_{95} ได้ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 7006.62 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อนำไปทดสอบความสัมพันธ์ทางสถิติโดยวิธี Fisher's Least Significant Difference (LSD) พบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ตายจริงของลูกน้ำแตกต่างกันไปตามระดับความเข้มข้นของสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 4-13

ตารางที่ 4-13 ค่า LC_{50} และ LC_{95} ของสารสกัดก้านสนสองใบที่หมักด้วยเอธานอล 95% ที่มีผลต่อลูกน้ำยุงก้นปล่อง ในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (mg/l)	ลูกน้ำยุง (ตัว)	จำนวน การตาย (ตัว)	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ ตายจริง (% Mortality)*	LC_{50} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{50})	LC_{95} (mg/l) (95% Confidence Limits of LC_{95})	Slope
10	100	16	14.44 ± 3.73 a	144.40 (53.64 - 384.03)	7006.62 (987.69-56904.28)	0.98
50	100	38	36.70 ± 2.57 b			
250	100	56	55.04 ± 2.99 c			
1250	100	75	74.57 ± 2.78 d			
6250	100	100	100.00 ± 0.00 e			
0(Control)	100	2				

* Mean $\pm$ S.E. , คิดเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆ ละ 25 ตัว

หมายเหตุ : ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย LSD

จากผลการทดลองค่า LC_{50} ของสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบในการควบคุมการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงลาย (*Ae. aegypti*), ยุงรำคาญ (*Cx. quinquefasciatus*) และ ยุงก้นปล่อง (*An. maculatus*) โดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือหมักด้วยน้ำกลั่น และหมักด้วยเอธานอล 95 % เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 4-14

ตารางที่ 4-14 ค่า LC_{50} ของสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบในการควบคุมการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุง 3 ชนิด โดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด

สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของสนสองใบในตัวทำละลาย 2 ชนิด	LC_{50} (mg/l)		
	ยุงลาย (<i>Ae. aegypti</i>)	ยุงรำคาญ (<i>Cx. quinquefasciatus</i>)	ยุงก้นปล่อง (<i>An. maculatus</i>)
ใบ			
- ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย	5067.56	4537.84	582.65
- ใช้เอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย	606.12	134.77	351.97
ก้าน			
- ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย	581.18	> 100000	741.80
- ใช้เอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย	209.96	274.21	144.40

4.3 การศึกษาการกระจายลักษณะการตายของยุงในระยะต่างๆ ที่เกิดจากสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบ

4.3.1 ลักษณะการตายของยุงที่เกิดจากสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบ

จากผลการทดลองของสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบในน้ำกลั่น และเอธานอล 95% ที่มีต่อลูกน้ำยุงพาหะนำโรค พบว่าเปอร์เซ็นต์การตายของยุงพาหะนำโรคจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดแต่ละชนิด จากการสังเกตและบันทึกผลลักษณะการตายเนื่องจากความผิดปกติของยุงที่เกิดจากสารสกัด สามารถแบ่งได้ดังนี้

1. L เป็นการตายในระยะลูกน้ำ โดยไม่มีลักษณะการเกิดของตัวโม่งเลย ดังแสดงในรูปที่ 4-1

2. L-P (ลูกน้ำซึ่งมีตัวโม่งโผล่ออกมาบางส่วน) การตายในกลุ่มนี้ลูกน้ำเจริญถึงระยะที่จะเป็นตัวโม่งแต่มีความผิดปกติเกิดขึ้น ทำให้ลูกน้ำไม่สามารถจะลอกคราบเป็นตัวโม่งได้สมบูรณ์ คือมีส่วนอกและท่อหายใจโผล่ และส่วนอกได้เปลี่ยนแปลงเป็นลักษณะของรูปร่างตัวโม่ง แต่ส่วนท้องจะยังคงติดอยู่ที่ด้านปลายของส่วนท้องลูกน้ำ ดังแสดงในรูปที่ 4-2

3. WP (ตัวโม่งสีขาว) เป็นการตายที่ตัวโม่งลอกคราบออกมาจากผิวหนังของลูกน้ำสมบูรณ์แล้ว แต่ยังไม่มีการสร้างเม็ดสี ขยี้วันที่ตา ดังแสดงในรูปที่ 4-3

4. BP (ตัวโม่งสีน้ำตาลและดำ) ในระยะนี้ตัวโม่งมีการสร้างเม็ดสีก่อนตาย และส่วนท้องอยู่ในตำแหน่งปกติ ดังแสดงในรูปที่ 4-4

5. P-A (ตัวโม่งที่เจริญเติบโตแบบครึ่งๆกลางๆ และตัวเต็มวัยโผล่ออกมาบางส่วน) การตายกลุ่มนี้เกิดขึ้นในช่วงการเปลี่ยนจากตัวโม่งเป็นตัวเต็มวัย ซึ่งไม่สามารถออกจากคราบของตัวโม่งได้อย่างสมบูรณ์ เช่น ส่วนหัวโผล่แต่ปีกและส่วนท้องยังติดอยู่ในคราบ หรือส่วนหัวและปีกโผล่แต่ส่วนท้องยังติดอยู่ ในบางกรณียุงลอกคราบหลุดออกมาเกือบสมบูรณ์ แต่คู่ขาหลังยังคงติดอยู่ที่คราบของตัวโม่ง ดังแสดงในรูปที่ 4-5

6. FA (ตัวเต็มวัย) ระยะนี้ยุงสามารถลอกคราบออกมาสมบูรณ์ แต่ไม่แข็งแรงพอที่จะบินขึ้นจากผิวน้ำได้ เนื่องจากปีกเหี่ยวและขาไม่สามารถรับน้ำหนักตัว ทำให้ตายในลักษณะนอนตะแคงอยู่บนผิวน้ำ ดังแสดงในรูปที่ 4-6



รูปที่ 4-1

แสดงลักษณะการตายในระยะลูกน้ำ (ระยะ L) ของยุง *Ae. aegypti*



รูปที่ 4-2 แสดงลักษณะการตายในระยะลูกน้ำซึ่งมีตัวม้องโผล่ออกมาบางส่วน (ระยะ L-P) ของยุง *Ae. aegypti*



รูปที่ 4-3 แสดงลักษณะการตายในระยะตัวม้องสีขาว (ระยะ WP) ของยุง *Ae. aegypti*



รูปที่ 4-4

แสดงลักษณะการตายในระยะตัวโม่งสีน้ำตาลและดำ (ระยะ BP) ของยุง
Cx. quinquefasciatus



รูปที่ 4-5

แสดงลักษณะการตายในระยะตัวโม่งที่เจริญเติบโตแบบครึ่งๆกลางๆ และตัว
เต็มวัยโผล่ออกมาบางส่วน (ระยะ P-A) ของยุง *Ae. aegypti*



รูปที่ 4-5 (ต่อ) แสดงลักษณะการตายในระยะตัวโม่งที่เจริญเติบโตแบบครึ่งๆกลางๆ และตัวเต็มวัยโผล่ออกมาบางส่วน (ระยะ P-A) ของยุง *Ae. aegypti*



รูปที่ 4-6

แสดงลักษณะการตายในระยะตัวเต็มวัย (ระยะ FA) ของยุง *Ae. aegypti*

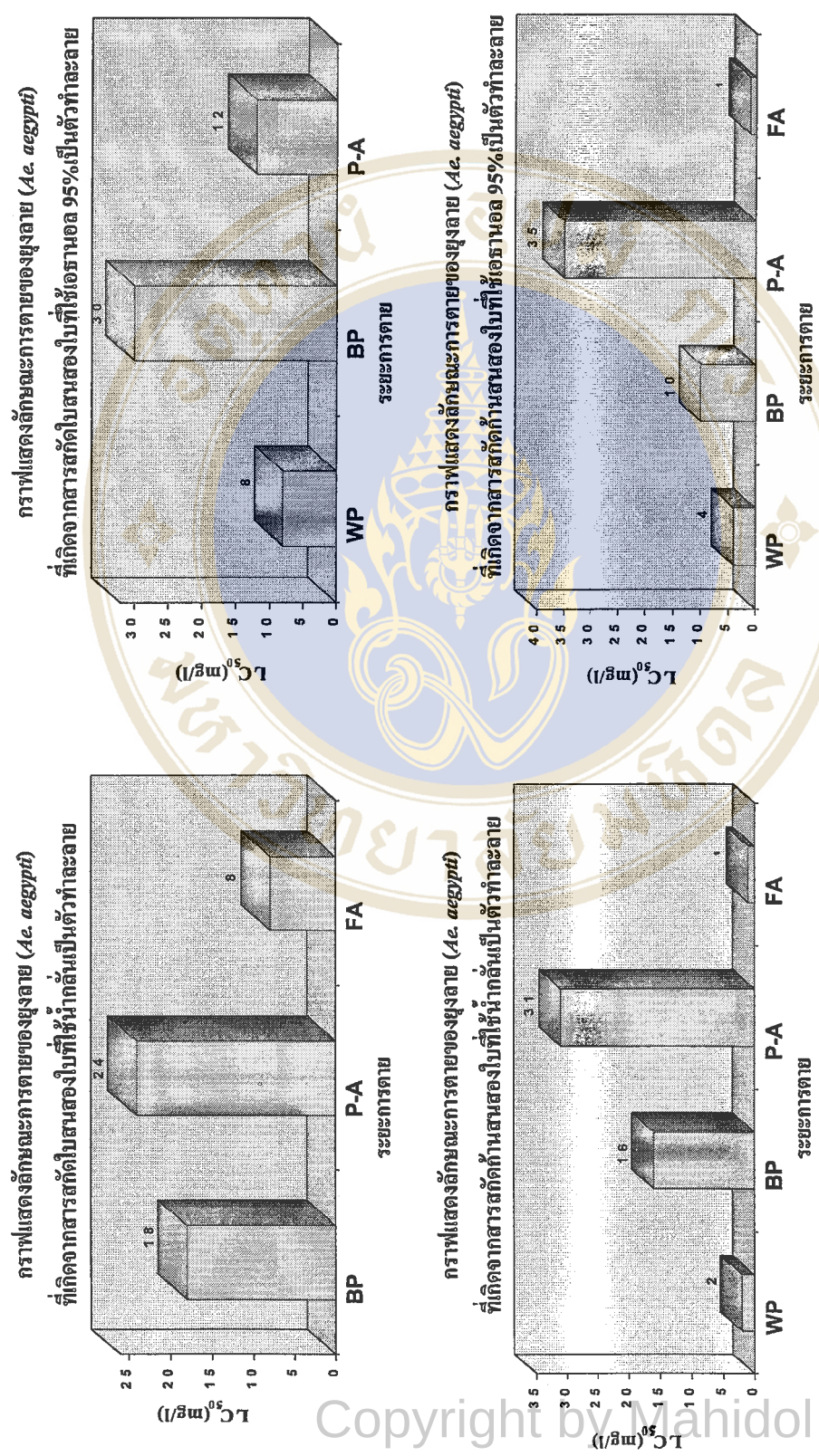
4.3.2 การศึกษาการกระจายลักษณะการตายของยุงลาย (*Ae. aegypti*) ที่เกิดจากสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบโดยใช้น้ำกลั่นและเอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย

ศึกษาโดยใช้ค่า LC_{50} เป็นตัวเปรียบเทียบ พบว่าการกระจายลักษณะการตายของยุงลาย ที่เกิดจากสารสกัดจากใบโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายนั้น ยุงลายจะตายในลักษณะครึ่งๆกลางๆ ระหว่างตัวโม่่งและตัวเต็มวัย (P-A) (48%) มากที่สุด รองลงมาจะเป็นการตายในระยะที่ลอกคราบเป็นตัวโม่่งแล้วและมีสีน้ำตาลหรือดำเกิดขึ้น (BP) (36%) และตายในระยะที่เป็นตัวเต็มวัย (FA) (16%) ตามลำดับ แต่เมื่อใช้เอธานอล 95 % เป็นตัวทำละลาย ยุงลายจะตายในระยะ BP (60%) มากที่สุด รองลงมาคือ ระยะ P-A (24%) และตายในระยะตัวโม่่งสีขาว (WP) (16%) ตามลำดับ

ส่วนสารสกัดจากก้านที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายนั้น ยุงลายจะตายในระยะ P-A (62%) มากที่สุด รองลงมาคือ ระยะ BP (32%), WP (4%) และ FA (2%) ตามลำดับ แต่เมื่อใช้เอธานอล 95 % เป็นตัวทำละลาย ยุงลายจะตายในระยะ P-A (70%) มากที่สุด รองลงมาคือ ระยะ BP (20%), WP (8%) และ FA (2%) ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4-15 และนำเสนอผลในรูปของกราฟแท่งที่ 4-7

ตารางที่ 4-15 แสดงอัตราการตายยุงลายแยกตามลักษณะการตายเมื่อทดสอบด้วยสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบ โดยใช้น้ำกลั่นและเอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย

สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของสนสองใบ ในตัวทำละลาย 2 ชนิด	อัตราการตายยุงลาย (%) แยกตามลักษณะการตาย			
	WP	BP	P-A	FA
ใบ				
- ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย	-	36	48	16
- ใช้เอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย	16	60	24	-
ก้าน				
- ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย	4	32	62	2
- ใช้เอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย	8	20	70	2



รูปที่ 4-7 แสดงการกระจายลักษณะการตายของยุงลาย (*Ae. aegypti*) ที่เกิดจากสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบ โดยใช้น้ำกลั่นและเอทานอล 95% เป็นตัวทำละลาย

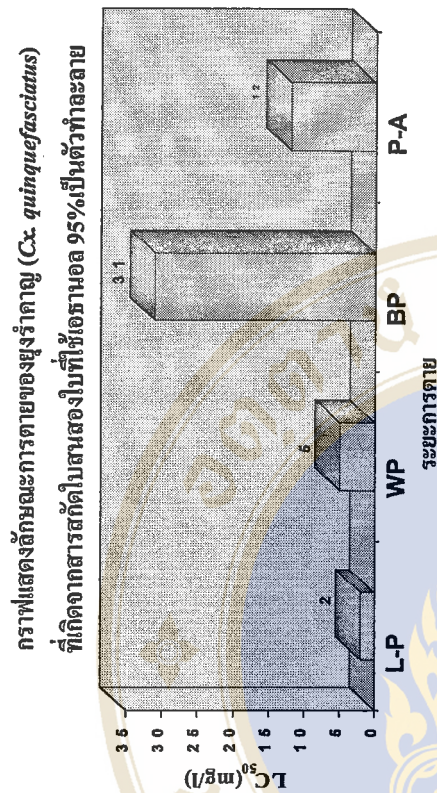
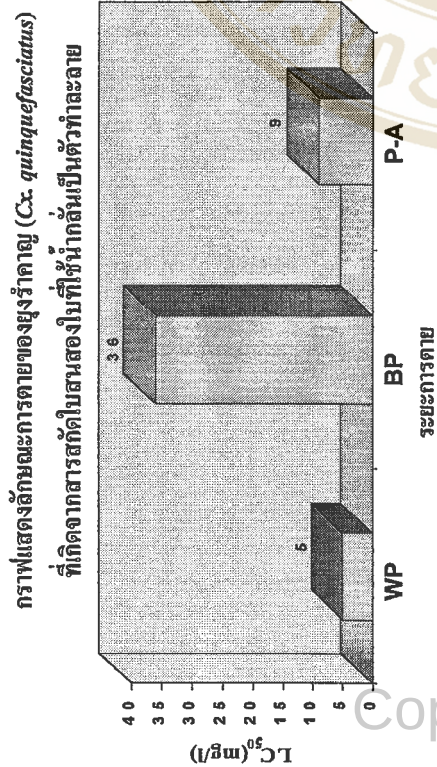
4.3.3 การศึกษาการกระจายลักษณะการตายของยุงรำคาญ (*Cx. quinquefasciatus*) ที่เกิดจากสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบโดยใช้น้ำกลั่นและเอธานอล 95%เป็นตัวทำละลาย

จากการศึกษาโดยใช้ค่า LC_{50} เป็นตัวเปรียบเทียบ พบว่าการกระจายลักษณะการตายของยุงรำคาญ ที่เกิดจากสารสกัดจากใบโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายนั้น ยุงรำคาญจะตายในระยะ BP (72%) มากที่สุด รองลงมาคือ ระยะ P-A (18%) และ WP (10%) ตามลำดับ แต่เมื่อใช้เอธานอล 95 % เป็นตัวทำละลาย ยุงรำคาญจะตายในระยะ BP (62%) มากที่สุด รองลงมาคือ ระยะ P-A (24%),WP (10%) และ L-P (4%) ตามลำดับ

ส่วนสารสกัดจากก้านที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายนั้น ยุงรำคาญจะตายในระยะ P-A (50%) มากที่สุด รองลงมาคือ ระยะ BP (44%) และ WP (6%) ตามลำดับ แต่เมื่อใช้เอธานอล 95 % เป็นตัวทำละลาย ยุงรำคาญจะตายในระยะ BP (48%) มากที่สุด รองลงมาคือ ระยะ P-A (32%) และ WP (20%) ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4-16 และนำเสนอผลในรูปของกราฟแท่งที่ 4-8

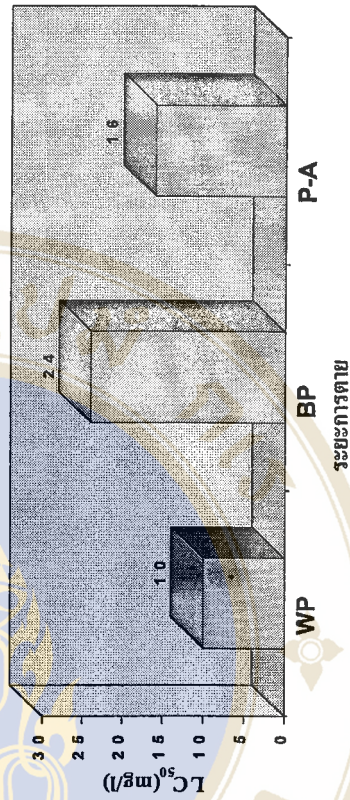
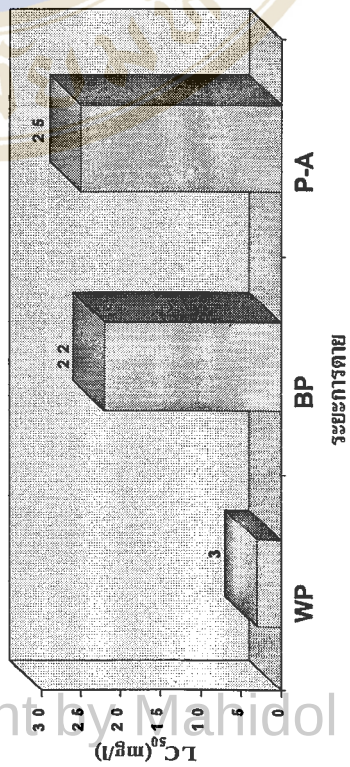
ตารางที่ 4-16 แสดงอัตราการตายยุงรำคาญแยกตามลักษณะการตายเมื่อทดสอบด้วยสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบ โดยใช้น้ำกลั่นและเอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย

สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของสนสองใบ ในตัวทำละลาย 2 ชนิด	อัตราการตายยุงรำคาญ (%) แยกตามลักษณะการตาย			
	L-P	WP	BP	P-A
ใบ				
- ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย	-	10	72	18
- ใช้เอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย	4	10	62	24
ก้าน				
- ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย	-	6	44	50
- ใช้เอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย	-	20	48	32



กราฟแสดงลักษณะการตายของยุงรำคาญ (*Cx. quinquefasciatus*) ที่เกิดจากสารสกัดก้านสนสองใบที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

กราฟแสดงลักษณะการตายของยุงรำคาญ (*Cx. quinquefasciatus*) ที่เกิดจากสารสกัดก้านสนสองใบที่ใช้เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลาย



รูปที่ 4-8 แสดงการกระจายลักษณะการตายของยุงรำคาญ (*Cx. quinquefasciatus*) ที่เกิดจากสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบ โดยใช้น้ำกลั่นและเอทานอล 95% เป็นตัวทำละลาย

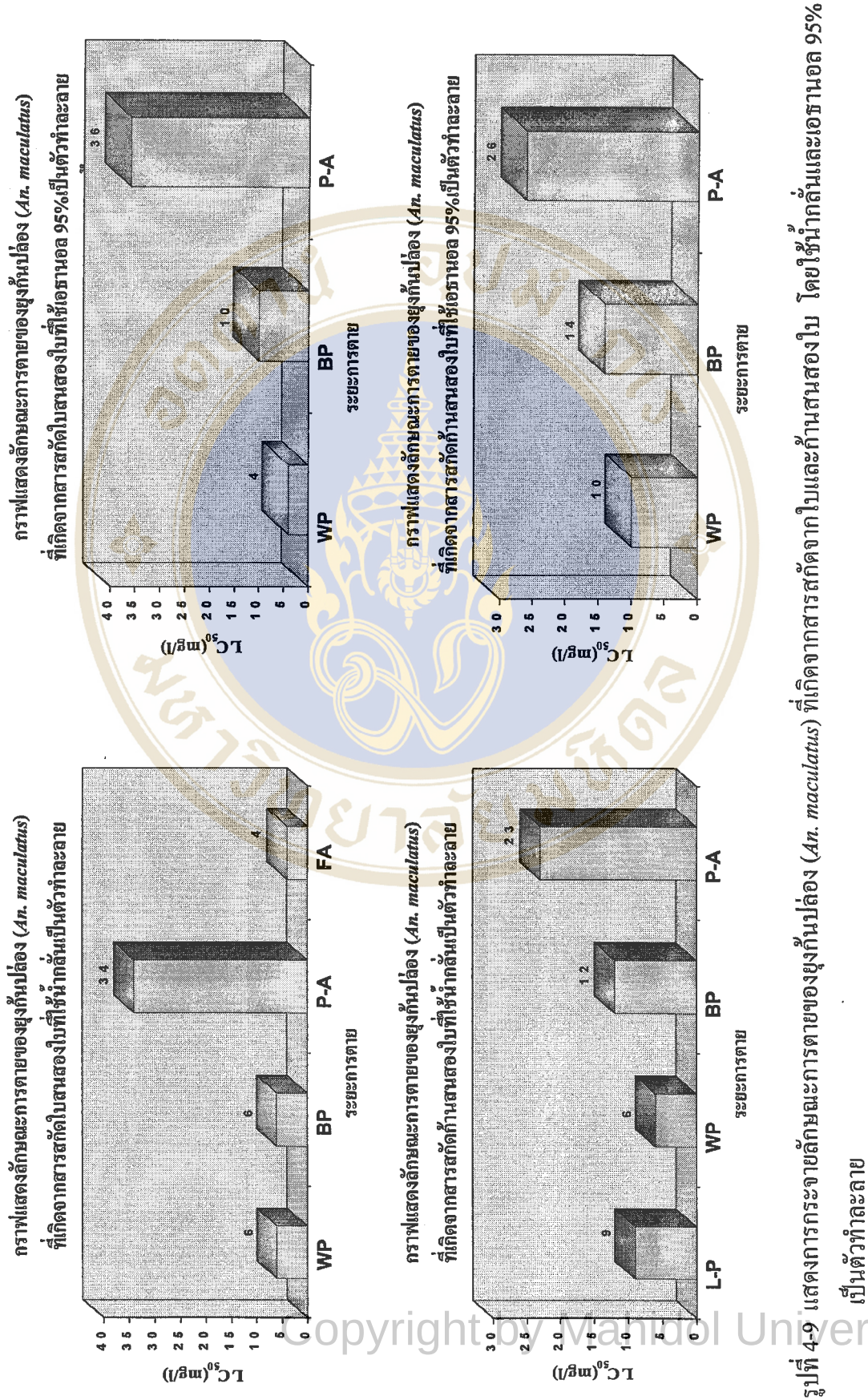
4.3.4 การศึกษาการกระจายลักษณะการตายของยุงก้นปล่อง (*An. maculatus*) ที่เกิดจากสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบโดยใช้น้ำกลั่นและเอธานอล 95%เป็นตัวทำละลาย

ศึกษาโดยใช้ค่า LC_{50} เป็นตัวเปรียบเทียบ พบว่าการกระจายลักษณะการตายของยุงก้นปล่อง ที่เกิดจากสารสกัดจากใบโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายนั้น ยุงก้นปล่องจะตายในระยะ P-A (68%) มากที่สุด รองลงมาคือ ระยะ BP, WP (12, 12%) และตายในระยะ FA (8%) ตามลำดับ แต่เมื่อใช้เอธานอล 95 % เป็นตัวทำละลาย ยุงก้นปล่องจะตายในระยะ P-A (72%) มากที่สุด รองลงมาคือ ระยะ BP (20%) และ WP (8%) ตามลำดับ

ส่วนสารสกัดจากก้านที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายนั้น ยุงก้นปล่องจะตายในระยะ P-A (46%) มากที่สุด รองลงมาคือ ระยะ BP (24%), L-P (18%) และ WP (12%) ตามลำดับ แต่เมื่อใช้เอธานอล 95 % เป็นตัวทำละลาย ยุงลายจะตายในระยะ P-A (52%) มากที่สุด รองลงมาคือ ระยะ BP (28%) และ WP (20%) ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4-17 และนำเสนอผลในรูปของกราฟแท่งที่ 4-9

ตารางที่ 4-17 แสดงอัตราการตายยุงก้นปล่องแยกตามลักษณะการตายเมื่อทดสอบด้วยสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบ โดยใช้น้ำกลั่นและเอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย

สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของสนสองใบ ในตัวทำละลาย 2 ชนิด	อัตราการตายยุงก้นปล่อง (%) แยกตามลักษณะการตาย				
	L-P	WP	BP	P-A	FA
ใบ					
- ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย	-	12	12	68	8
- ใช้เอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย	-	8	20	72	-
ก้าน					
- ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย	18	12	24	46	-
- ใช้เอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย	-	20	28	52	-



4.4 ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตของยุงพาหะนำโรคจากลูกน้ำระยะที่ 4 ถึงระยะตัวเต็มวัย เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบ โดยใช้น้ำกลั่นและเอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย

จากการสังเกตพบว่า ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงลายเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ใช้เวลา 7, 8, 9, 8 และ 5 วัน ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด ไม่มีผลต่อระยะเวลาการเจริญเติบโตของลูกน้ำ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมแล้ว ปรากฏว่าสารสกัดทั้ง 4 ชนิด มีผลชะลอระยะเวลาการเจริญเติบโตประมาณ 3 วัน

การชะลอการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงรำคาญเมื่อทดสอบกับสารสกัดจากใบและก้านในน้ำกลั่น และเอธานอล 95% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมก็ให้ผลเช่นเดียวกันกับยุงลาย คือ การเจริญเติบโตจะช้าไปกว่าปกติประมาณ 2 วัน

จากผลการทดลองเมื่อใช้สารสกัดจากใบและก้านในน้ำกลั่น และเอธานอล 95% พบว่า ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงก้นปล่องเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ใช้เวลา 9 และ 6 วัน ตามลำดับ แสดงว่า มีผลชะลอระยะเวลาการเจริญเติบโตประมาณ 3 วัน ดังแสดงในตารางที่ 4-18

ตารางที่ 4-18 แสดงระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตของยุงพาหะนำโรคจากลูกน้ำระยะที่ 4 ถึงระยะตัวเต็มวัย เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบ โดยใช้ น้ำกลั่น และเอทานอล 95% เป็นตัวทำละลาย

สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของสน สองใบในตัวทำละลาย 2 ชนิด	ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโต		
	ยุงลาย	ยุงรำคาญ	ยุงก้นปล่อง
ใบ			
- ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย	7	8	9
- ใช้เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลาย	8	7	9
ก้าน			
- ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย	9	7	9
- ใช้เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลาย	8	8	9
กลุ่มควบคุม	5	5	6

บทที่ 5

อภิปราย

จากผลการทดลองการใช้สารสกัดจากสนสองใบในการควบคุมลูกน้ำยุงพาหะนำโรค
สามารถอภิปรายผลได้ดังนี้

5.1 จากผลของสารสกัดจากใบสนสองใบต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง พบว่าเมื่อใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกันจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงทั้ง 3 ชนิด ต่างกัน กล่าวคือ ค่า LC_{50} ของสารสกัดจากใบสนสองใบที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายต่อลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ มีค่าเท่ากับ 5067.56, 4537.84 และ 582.65 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่เมื่อใช้เอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย พบว่าค่า LC_{50} ของลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง มีค่าเท่ากับ 606.12, 134.77 และ 351.97 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแสดงว่า เอธานอล 95% เป็นตัวทำละลายที่ดีกว่าน้ำกลั่น ทั้งนี้เป็นเพราะสารที่มีฤทธิ์ (active ingredient) ในใบสนสองใบจะสามารถถูกดึงออกมาได้ดีกว่าเมื่อใช้เอธานอล 95% เป็นตัวทำละลายสกัด ซึ่งจากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบในน้ำกลั่น และในเอธานอล 95% ต่อการควบคุมการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง พบว่าสารสกัดจากใบในเอธานอล 95% มีประสิทธิภาพดีกว่า 8, 34 และ 2 เท่า ตามลำดับ ซึ่งจากการศึกษาของ Sherif A และ Hall RG (55) พบว่า เมื่อสกัด *Macrocystis pyrifera* และ *Artemesia cana* ด้วยน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ พบว่าสารสกัดในตัวทำละลายอินทรีย์ทำให้ยุง *Cx. quinquefasciatus* ตายมากกว่า เนื่องจากสารที่ออกฤทธิ์ถูกสกัดออกมาได้มากกว่าเมื่อใช้ตัวทำละลายมีขี้ผึ้ง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Hartzell A (56) ในกรณีที่ใช้อะซิโตนและน้ำเป็นตัวสกัด พบว่า สารสกัดพืชในอะซิโตน ทำให้ลูกน้ำยุง *Cx. quinquefasciatus* ตายมากกว่าใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ในปี ค.ศ. 1985 Ameen M ul และคณะ (57,58) ได้ทำการสกัดสารจากรากของหางไหลแดง (*Derris elliptica*) พบว่า สารสกัดที่ใช้เอธิลแอลกอฮอล์ 100 % ทำให้ลูกน้ำระยะที่ 4 ของยุง *Ae. aegypti* ตายมากที่สุด เป็นการสนับสนุนว่าตัวทำละลายอินทรีย์สามารถสกัดสารออกฤทธิ์ออกมาได้ดีกว่าน้ำ นอกจากนี้จากการศึกษาของ Qureshi SA และคณะ (59) พบว่าสารสกัดของ *Ercatanua coronama* ในแอลกอฮอล์มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำ

ระยะที่ 4 ของยุง *Ae. aegypti* ในขณะที่สารสกัดในปิโตรเลียม อีเทอร์ ไม่มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำเลย แต่ในทางกลับกันการศึกษาของ Chavan และคณะ (60) พบว่าว่านน้ำ (*Acorus calamus*) (rhizomes) เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน เช่น ปิโตรเลียม อีเทอร์, อีเทอร์, คลอโรฟอร์ม และแอลกอฮอล์ พบว่าสารสกัดในปิโตรเลียม อีเทอร์ ฆ่าลูกน้ำ *Cx. quinquefasciatus* ดีที่สุด แสดงว่าสารที่ออกฤทธิ์ในพืชแต่ละชนิดจะถูกสกัดออกมาได้แตกต่างกันในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

5.2 ในกรณีที่สกัดจากก้านสนสองใบโดยใช้น้ำกลั่นและเอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย พบว่าสารสกัดโดยใช้เอธานอล 95% ยังคงให้ผลดีกว่าน้ำกลั่นเช่นกัน โดยค่า LC_{50} ของสารสกัดจากก้านสนสองใบที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายต่อลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 581.18, > 100000 และ 741.80 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่เมื่อใช้เอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย พบว่าค่า LC_{50} ของลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง มีค่าเท่ากับ 209.96, 274.21 และ 144.40 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากก้านในน้ำกลั่น และในเอธานอล 95% ต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง พบว่าสารสกัดจากก้านในเอธานอล 95% มีประสิทธิภาพดีกว่า 3, >365 และ 5 เท่า ตามลำดับ

5.3 เมื่อพิจารณาจากค่า LC_{50} จะเห็นว่ายุงลายมีความไวต่อสารสกัดจากก้านในน้ำกลั่นได้ดีที่สุด กล่าวคือ ค่า LC_{50} ของสารสกัดจากก้านในน้ำกลั่นมีค่าเท่ากับ 581.18 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่ยุงรำคาญมีความไวดีที่สุดต่อสารสกัดจากใบในเอธานอล 95% โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 134.77 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนยุงก้นปล่องมีความไวต่อสารสกัดจากใบในน้ำกลั่น และสารสกัดจากก้านในเอธานอล 95% ได้ดีที่สุดในลำดับที่สาม มีค่า LC_{50} เท่ากับ 582.65 และ 144.40 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

5.4 เมื่อเปรียบเทียบสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบในน้ำกลั่น และเอธานอล 95% กับลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง พบว่าสารสกัดจากก้านในเอธานอล 95% ใช้ได้ดีที่สุดกับยุงทั้ง 3 ชนิด โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 209.96, 274.21 และ 144.40 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง ตามลำดับ จากการศึกษาสารประกอบของใบสนสองใบ โดยวนิดา สุบรรณเสนี และคณะ (8) พบว่า มีสาร α - pinene (31%), 1, β cineole (39%), caryophyllene (7%) และ nerolidol (5%) ส่วนสารประกอบจากก้านสนสองใบ มีสาร α - pinene เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ประมาณ 90% จะเห็นว่าสนสองใบ มีสาร α - pinene เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งอาจจะเป็นสารออกฤทธิ์เลียนแบบ Juvenile hormone ทำให้ลูกน้ำตายผิดปกติ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Patterson BD และคณะ (61) ที่พบว่าสารสกัดจากพืชชนิดต่างๆ ของ Dakota ทางเหนือ แสดงความเป็น Moulting hormone และ Juvenile hormone ที่ระดับต่างๆ ขึ้นอยู่กับส่วนต่างๆ ของพืชที่ใช้ในการสกัด

5.5 สำหรับการสกัดกั้นโดยใช้น้ำกลั่นนั้น พบว่าค่า LC_{50} ของยุงรำคาญ มีค่ามากกว่า 100000 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่ยุงลายมีค่า LC_{50} เท่ากับ 581.18 มิลลิกรัมต่อลิตร และยุงก้นปล่องมีค่า LC_{50} เท่ากับ 741.80 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากยุงต่างชนิดกันมีความไวต่อสารที่ทดสอบได้ต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Amonkar SV และ Reeves EL (23) ได้ทำการสกัดสารจากกระเทียมแห้ง (*Allium sativum* L.) โดยใช้เมธานอลในการสกัดจะมีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำระยะที่ 3 ได้ดีในยุง 4 ชนิด คือ *Cx. peus* Speiser, *Cx. tarsalis* Coquillett, *Ae. aegypti* Linnaeus และ *Ae. triseriatus* Say โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 34 ppm. LC_{90} 68 ppm., ค่า LC_{50} 25 ppm. LC_{90} 50 ppm., ค่า LC_{50} 33 ppm. LC_{90} 70 ppm. และ ค่า LC_{50} 62 ppm. LC_{90} 130 ppm. ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีผลในการฆ่าลูกน้ำระยะที่ 3 และ 4 ของยุง *Ae. nigromaculis* Ludlow ซึ่งเป็นยุงที่มีความต้านทานต่อสารกำจัดแมลงสูง โดยมีค่า LC_{50} 62 ppm. LC_{90} 84 ppm.

5.6 จากการพิจารณาลักษณะการตายที่ผิดปกติของลูกน้ำยุงพาหะนำโรคเมื่อทดสอบด้วยสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบ พบว่าอัตราการตายสูงสุดอยู่ในลักษณะครึ่งๆกลางๆ ระหว่างตัวโม่งและตัวเต็มวัย (P-A) มากที่สุด รองลงมาจะเป็นการตายในระยะที่ลอกคราบเป็นตัวโม่งแล้วและมีสีน้ำตาลหรือดำเกิดขึ้น (BP) ซึ่งอาจจะกล่าวได้ว่า ประสิทธิภาพของสนสองใบแสดงฤทธิ์เป็น Insect Growth Regulator ซึ่ง Insect Growth Regulator มีทั้ง Moulting hormone และ Juvenile hormone แต่ในระยะการเจริญเติบโตตามปกติของลูกน้ำ จากลูกน้ำลอกคราบเป็นตัวโม่ง และจากตัวโม่งเป็นตัวยุง จะต้องการเพียง Moulting hormone อย่างเดียว เมื่อสารสกัดจากสนสองใบแสดงฤทธิ์เลียนแบบเป็น Juvenile hormone และนำไปทดสอบกับลูกน้ำยุงในระยะที่ 4 ตอนต้น ซึ่งในระยะนี้ไม่ต้องการ จะทำให้ลูกน้ำเกิดความผิดปกติขึ้น และตายในที่สุด

5.7 นอกจากการตายด้วยลักษณะผิดปกติต่างๆ ในระยะที่จะเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยแล้ว ยังพบว่ามีช่วงการเจริญเติบโตจากลูกน้ำระยะที่ 4 ถึงระยะตัวเต็มวัย ช้าลงไปประมาณ 3, 2 และ 3 วัน สำหรับกลุ่มยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง ตามลำดับ อาจจะเป็นผลมาจากสารสกัดจากสนสองใบแสดงฤทธิ์เลียนแบบเป็น Juvenile hormone ซึ่งยุงจะต้องการใช้มากในระยะการเจริญเติบโตในระยะไข่เป็นลูกน้ำ แต่จากลูกน้ำลอกคราบเป็นตัวโม่ง และจากตัวโม่งเป็นตัวยุง จะต้องการเพียง Moulting hormone อย่างเดียว ซึ่งถ้ายังมี Juvenile hormone อยู่ ยุงจะอยู่ในระยะลูกน้ำนานขึ้น ทำให้ช่วงการเจริญเติบโตจากลูกน้ำระยะที่ 4 ถึงระยะตัวเต็มวัย ใช้เวลานานขึ้นตามไปด้วย

บทที่ 6

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุปผลการวิจัย

ผลการศึกษาการใช้สารสกัดจากสนสองใบในการควบคุมลูกน้ำยุงพาหะนำโรค สรุปได้ดังนี้

6.1.1 ในการศึกษาเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบในการควบคุมลูกน้ำยุงพาหะนำโรค สรุปผลได้ดังนี้

สารสกัดจากใบสนสองใบต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง พบว่าเมื่อใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกันจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงทั้ง 3 ชนิด ต่างกัน กล่าวคือ ค่า LC_{50} ของสารสกัดจากใบสนสองใบที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายต่อลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 5067.56, 4537.84 และ 582.65 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่เมื่อใช้เอธานอล 95 % เป็นตัวทำละลายพบค่า LC_{50} ของลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง มีค่าเท่ากับ 606.12, 134.77 และ 351.97 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแสดงว่า เอธานอล 95 % เป็นตัวทำละลายที่ดีกว่าน้ำกลั่น ทั้งนี้เพราะสารที่มีฤทธิ์ในใบสนสองใบจะสามารถถูกดึงออกมาได้ดีกว่า

ในทำนองเดียวกัน จากผลของสารสกัดจากก้านสนสองใบโดยใช้น้ำกลั่น และเอธานอล 95% เป็นตัวทำละลาย พบว่าสารสกัดโดยใช้เอธานอล 95% ยังคงให้ผลดีกว่าน้ำกลั่น โดยค่า LC_{50} ของสารสกัดจากก้านที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายต่อลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 581.18, >100000 และ 741.80 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่เมื่อใช้เอธานอล 95 % เป็นตัวทำละลายพบค่า LC_{50} ของลูกน้ำยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง มีค่าเท่ากับ 209.96, 274.21 และ 144.40 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

6.1.2 เมื่อพิจารณาจากค่า LC_{50} จะเห็นว่ายุงลายมีความไวต่อสารสกัดจากก้านในน้ำกลั่นได้ดีที่สุด กล่าวคือ ค่า LC_{50} ของสารสกัดจากก้านในน้ำกลั่นมีค่าเท่ากับ 581.18 มิลลิกรัมต่อ

ลิตร ในขณะที่ยุงรำคาญมีความไวดีที่สุดต่อสารสกัดจากใบในเอธานอล 95% โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 134.77 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนยุงก้นปล่องมีความไวต่อสารสกัดจากใบในน้ำกลั่น และสารสกัดจากก้านในเอธานอล 95% ได้ดีที่สุด กล่าวคือ มีค่า LC_{50} เท่ากับ 582.65 และ 144.40 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

6.1.3 สารสกัดก้านสนสองใบในเอธานอล 95% ใช้ได้ดีที่สุดกับยุงทั้ง 3 ชนิดคือ ยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง

6.1.4 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบและก้านสนสองใบแสดงฤทธิ์เป็น Juvenile hormone เนื่องจากอัตราการตายสูงสุดอยู่ในลักษณะครึ่งๆกลางๆ ระหว่างตัวโม่ง และตัวเต็มวัย (P-A) มากที่สุด รองลงมาเป็นการตายในระยะที่ลอกคราบเป็นตัวโม่งแล้ว และมีสีน้ำตาลหรือดำเกิดขึ้น (BP) ซึ่งในระยะการเจริญเติบโตตามปกติของลูกน้ำ จากลูกน้ำลอกคราบเป็นตัวโม่ง และจากตัวโม่งเป็นตัวยุง จะต้องการเพียง Moulting hormone อย่างเดียว เมื่อฤทธิ์ของสนสองใบเป็น Juvenile hormone และนำไปทดสอบกับลูกน้ำยุงในระยะที่ 4 ตอนต้น ซึ่งในระยะนี้ไม่ต้องการ จะทำให้ลูกน้ำเกิดความผิดปกติขึ้น และตายในที่สุด

6.1.5 สารสกัดจากสนสองใบนอกจากจะทำให้การเจริญเติบโตของลูกน้ำยุงมีลักษณะผิดปกติขณะที่จะเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยแล้ว ยังพบว่ามีช่วงการเจริญเติบโตจากลูกน้ำระยะที่ 4 ถึงระยะตัวเต็มวัย ช้าลงไปประมาณ 3, 2 และ 3 วัน สำหรับกลุ่มยุงลาย, ยุงรำคาญ และยุงก้นปล่อง ตามลำดับ

6.2 ข้อเสนอแนะในการวิจัยที่ควรศึกษาต่อไป

6.2.1 เนื่องจากผลการศึกษาพบว่าสารสกัดแสดงฤทธิ์เป็น Juvenile hormone จึงควรมีการศึกษาพิสูจน์ให้แน่ชัดว่า สนสองใบประกอบด้วยสารออกฤทธิ์อะไรบ้าง โดยเฉพาะตัวที่ออกฤทธิ์ทำให้ลูกน้ำยุงตายผิดปกติ

6.2.2 ควรมีการศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบสนสองใบและก้านสนสองใบ ในการควบคุมลูกน้ำยุงสายพันธุ์อื่นๆ ที่อยู่ใน Genus Aedes, Genus Culex, Genus Anopheles และ Genus Mansonia เนื่องจากยุงต่างชนิดกันมีความไว หรือ ต้านทาน (resist) ต่อสารชนิดเดียวกันได้ต่างกัน

6.2.3 ควรมีการศึกษาโดยใช้ตัวทำละลายอื่นๆ เช่น บีโทโรเลียม อีเทอร์ เนื่องจากสารที่ใช้เป็นตัวทำละลายที่ต่างกันจะมีความสามารถในการสกัดสารได้ต่างกัน เพื่อให้ได้สารออกฤทธิ์ในปริมาณที่สูงพอ

6.2.4 ควรทำการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากสนสองใบที่มีแหล่งเพาะปลูกต่างกันในการควบคุมลูกน้ำยุง เนื่องจากแหล่งกำเนิดและฤดูกาลที่ต่างกันอาจมีผลต่อปริมาณสารเฉพาะที่ออกฤทธิ์ที่มีอยู่ภายใน

6.2.5 ควรทำการศึกษาถึงค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดใบสนสองใบและก้านสนสองใบในหนูทดลอง (LD_{50}) สัตว์อื่นๆ รวมทั้งสัตว์น้ำ ซึ่งเป็นข้อมูลที่บ่งชี้ถึงค่าความปลอดภัยในการนำพืชชนิดนี้มาใช้ประโยชน์ทางด้านอื่นต่อไปได้อย่างกว้างขวาง



รายการอ้างอิง

1. ยุทธพันธ์ ทองโคตร. ตัวจิ๋วแต่อันตราย. วารสารมาลาเรีย 2537;29(4):187-190.
2. ขวลิท ทศนสว่าง. โรคติดต่อ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข; 2532:373-450.
3. กองระบาดวิทยา. สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรค 2538. กรุงเทพฯ: สำนักงานปลัดกระทรวงกระทรวงสาธารณสุข; 2538.
4. งามอาจ เจริญสุข. ระบาดวิทยาของโรคไข้เลือดออกในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: กองระบาดวิทยา กระทรวงสาธารณสุข; 2538:13-5.
5. ยุพา ร่องศรีแย้ม, คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล, personal communication; 2540.
6. สุภัทร สุจริต, ประมวลมัลย์ สุจริต. กัญญาวิทยาการแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: พิษณุการพิมพ์; 2531.
7. พงศ์ศรี ใบอู่คูลย์. การศึกษาวิจัยวัดภูมิแพ้ตกค้างในดินเกษตรกรรม. กรุงเทพฯ: กองวัดภูมิแพ้การเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์; 2532:105-14.
8. กรมป่าไม้. กองวิจัยผลิตผลป่าไม้. เอกสารการประชุมวิชาการป่าไม้ เรื่อง สารประกอบของน้ำมันจากใบของสนสองใบ; 16-20 พฤศจิกายน 2535. ม.ป.ท.; ม.ป.ป.
9. มหาวิทยาลัยมหิดล. คณะเภสัชศาสตร์. เภสัชวินิจฉัย เล่ม 3. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย; 2530.
10. Hsing-Yun Fan., Chung-Lo Liu., Shao-Tseng Yang. Studies on the eucalyptus oils. Science Repls Natl 1947;4:519-522.
11. กองบำรุง. ฝ่ายวนวัฒนวิจัย. เอกสารส่งเสริมการปลูกไม้ป่า. กรุงเทพฯ: กรมป่าไม้ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์; 2536:31-45.
12. World Health Organization. Insecticide resistance and vector control; Seventeenth report of the WHO expert committee on insecticides. Geneva: WHO; 1970. WHO technical report series. no. 443.
13. ศรัชัย หล่ออารีย์สุวรรณ, ดนัย บุญนา, ตระหนักจิต หะรินสุต, บรรณาธิการ. ตำราอายุศาสตร์เขตร้อน. กรุงเทพฯ: รวมทรัพย์; 2533.

14. Esparar DG. Efficacy of impregnated blankets for personal protection against mosquito bites [M.S. Thesis in Tropical Medicine]. Bangkok: Faculty of Graduate Studies, Mahidol University; 1994.
15. สุภัทร สุจิต. โรคเท้าช้างฟิลาเรียซิสในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: กรุงเทพมหานครพิมพ์; 2531.
16. เสาวนิต วิชัยชิตะ. โรคมาลาเรียในประเทศไทย. วารสารมาลาเรีย 2537;29(2):57-9.
17. สดศรี ไทยทอง. ชีวิตวิทยาและพันธุกรรมของเชื้อมาลาเรีย. ใน: จันทรา เหล่าถาวร, ศรชัย หล่ออารีย์สุวรรณ, บรรณาธิการ. มาลาเรีย. กรุงเทพฯ: ศักดิ์โสการพิมพ์; 2540. หน้า 16-28.
18. Radomyos P, Supavej S, Looareesuwan S, editors. Text book of clinical parasitology. Bangkok: Medical media; 1996.
19. Bryndum K, editor. Thai-Danish pine project. Bangkok: DANIDA; 1970.
20. Novak VJA. Insect hormones. 2nd ed. London: Chapman and Hall; 1975.
21. Wilailuckana C. Stenogamous populations of *Culex tritaeniorhynchus* Giles and their response to chemical and biological insecticides [M.S. Thesis in Tropical Medicine]. Bangkok: Faculty of Graduate Studies, Mahidol University; 1985.
22. World Health Organization. Classification of pesticides by hazard and guidelines to classification. Geneva: WHO; 1986.
23. Amonkar SV, Reeves EL. Mosquito control with active principle of garlic (*Allium sativum*). J Econ Ent 1970;63:1172-5.
24. มหาวิทยาลัยมหิดล. คณะเวชศาสตร์เขตร้อน. สรุปผลงานการวิจัยของภาควิชากีฏวิทยา. รายงานประจำปี 2528-2531. ม.ป.ท.; ม.ป.ป.
25. Palakul K, Kerdpibule V, Sucharit S, Rongsriyam Y. Preliminary study on larvicidal property of extracts from leaf of *Agave* in Thailand for control of *Aedes*, *Culex* and *Anopheles* larvae. Bangkok: Department of Medical Entomology, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University; n.d.
26. Watt JM, Breyer-Brandwijk MG. The medicinal plants of Southern and Eastern Africa. 2nd ed. London: E&S Livingstone; 1962.
27. ประคอง พันธุ์ไธ. รายงานการศึกษาชีววิทยาและโรคของรูกหนอนตายหยาก. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2520;19(3):145-54.

28. ญัตตรา วีระนัทร. ผลของสารสกัดหนอนตายหยาก (*Stemona collinsae* Craib) ต่อสัตว์น้ำบางชนิด [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม]. กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2528.
29. เทพ เชียงทอง, วิจิตร ภัคเกษม. รายงานการวิจัย เรื่อง สารประกอบเคมีบางอย่างที่มีในรากหนอนตายหยาก. กรุงเทพฯ: สภาวิจัยแห่งชาติ; 2517.
30. ประคอง พันธุ์ไธ. รายงานข้อค้นพบที่การสังเกตพบว่า น้ำออกฤทธิ์ทำให้ยุงลายตายได้. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2520;19(4):251.
31. Deb-Kirtaniya S, Ghosh MR, Adityachaudhury N, Chatterjee A. Extracts of garlic as possible source of insecticides. *Indian J agric Sci* 1980;50(6):507-9.
32. Angerilli NPD. Influences of extracts of freshwater vegetation on the survival and oviposition by *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Can Ent* 1980;112:1249-52.
33. Kalyanasundaram M, Babu CJ. Biologically active plant extracts as mosquito larvicides. *Indian J Med Res* 1982;76(Suppl):102-6.
34. Saxena SC, Yadav RS. A new plant extract to suppress the population of yellow fever and dengue vector *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Curr Sci* 1983;52(15):713-5.
35. Girdhar G, Deval K, Mittal PK, Vasudevan P. Mosquito control by *Calotropis* latex. *Pesticides* 1984;26-9.
36. Arnason JT, Philogene BJR, Duval F, McLachlan D. Effects of sesquiterpene lactones on development of *Aedes atropalpus* and relation to partition coefficient. *Journal of Natural Products* 1985;48(4):581-4.
37. Kalyanasundaram M, Das PK. Larvicidal & synergistic activity of plant extracts for mosquito control. *Indian J Med Res* 1985;82:19-23.
38. Saxena SC, Sumithra L. Laboratory evaluation of leaf extract of a new plant to suppress the population of malaria vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). *Curr Sci* 1985Feb;54(4):201-2.
39. Thangam TS, Kathiresan K. Toxic effect of seaweed extracts on mosquito larvae. *Indian J Med Res* 1988Jul;88:35-7.
40. Zarroug Isam MA, Nugud AD, Bashir AK, Mageed AA. Evaluation of Sudanese plant extracts as mosquito larvicides. *Int J Crude Drug Res* 1988;26(2):77-80.

41. Green MM, Singer JM, Sutherland DJ, Hibben CR. Larvicidal activity of *Tagetes minuta* (marigold) toward *Aedes aegypti*. J Am Mosq Control Assoc 1991Jun;7(2):282-6.
42. Monzon RB, Alvior JP, Luczon LLC, Morales AS, Mutuc FES. Larvicidal potential of five Philippine plants against *Aedes aegypti* (Linnaeus) and *Culex quinquefasciatus* (Say). Southeast Asian J Trop Med Public Health 1994;25(4):755-9.
43. Perich MJ, Wells C, Bertsch W, Tredway KE. Toxicity of extracts from three *Tagetes* against adults and larvae of yellowfever mosquito and *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). J Med Entomol 1994;31(6):833-7.
44. วลัยรัตน์ ตันหาประศาสน์. การศึกษาประสิทธิภาพ ประสิทธิผล และความคงทนของสารสกัดจากใบและเมล็ดคันทรงในการควบคุมลูกน้ำยุงลาย [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีที่เหมาะสมเพื่อการพัฒนาทรัพยากร]. กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล; 2539.
45. ลัดดาวัลย์ บุญรัตนกรกิจ, ถนอมจิต สุภาวัตร. ชื่อพืชสมุนไพรและประโยชน์. ม.ป.ท.; 2538.
46. สุวรรณ เวชอภิกุล. พืชสมุนไพรและพืชพิษ. เชียงใหม่: ภาควิชาเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2528
47. Macedo ME, Consoli RAGB, Grandi TSM, Anjos AMG, Olivira AB, Mendes NM, Queiroz RO, Zani CL. Screening of Asteracea (compositae) plant extracts for larvicidal activity against *Aedes fluviatilis*, Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 1997;92 (4):565-570.
48. งามพ่อง คงคาทิพย์, บรรณาธิการ. เหมืองของสะเดาและวิธีการสกัดสารจากสะเดา. การจัดฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การใช้สะเดาในการป้องกันและกำจัดแมลง ครั้งที่ 3; 5-6 สิงหาคม 2537. ม.ป.ท.; ม.ป.ป.
49. Busvine JR, Rongsriyam Y, Bruno D. Effects of some insect development inhibitors on mosquito larvae. Pestic Sci 1976;7:153-60.
50. Bonifacia P. Paragas. Cross-Resistance in DDT-Resistant Strains of *Culex quinquefasciatus* Say (DIPTERA : CULICIDAE) [M.S. Thesis in Tropical Medicine]. Bangkok: Faculty of Graduate Studies, Mahidol University; 1979.
51. จริยา เล็กประยูร, ดวงแข นุกุลกิจ, สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ, และคณะ. กล้วยไม้เบงกอลต้าน ภาควิชา. กรุงเทพฯ: คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2531.

52. Finney, DJ. Probit Analysis. 3rd ed. Great Britian University: Printing House Cambridge; 1989.
53. รัชนี ตียพันธ์. การวิเคราะห์ความแปรปรวน. พิมพ์ครั้งที่ 3. เชียงใหม่: ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2528.
54. Durongwatana S. Experimental Design. Bangkok: Department of Statistics, Faculty of Accountancy and Business Administration, Chulalongkorn University; n.d.
55. Sherif A, Hall RG. The utilization of plant ingredients as aids in mosquito control. Proc Calif Mosq Vector Control Assoc 1985;53:113-6.
56. Hartzell, A. Further tests on plant products for insecticidal properties. Contrib Boyce Thompson Inst 1944;13:243-52.
57. Ameen M ul, Shahjahan RM, Khan HR, Chowdhury AKA. Toxicity of rotenone extracted from indigenous *Derris* roots on mosquito larvae. J Bangladesh Acad Sci 1983;7:39-47.
58. Ameen M ul, Shahjahan RM, Khan HR, Chowdhury AKA. Larvicidal effect of indigenous *Derris elliptica* root on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Int J Entomol 1985;1:39-43.
59. Qureshi SA, Mohiuddin S, Fatima B, Badar Y. Laboratory studies on some plant extracts as mosquito larvicides. Pakistan J Sci Ind Res 1986;29:361-5.
60. Chavan SR, Deshmukh PB, Renapurkar DM. Investigation of indigenous plants for larvicidal activity. Bull Haffkine Inst 1979;7:23-33.
61. Patterson BD, Khalil SKW, Schermeister LJ, Quraishi MS. Plant-insect interactions in biological and phytochemical evaluation of selected plants. J Nat Prod (Ulovodia) 1975;38:391-403.



ภาคผนวก ก

ตัวอย่างการวิเคราะห์ไพรบิท

การวิเคราะห์ไพรบิทเพื่อหาระดับ LC_{50} จากการทดสอบการใช้สารสกัดจากสนสองใบในการควบคุมลูกน้ำยุงพาหะนำโรค โดยใช้โปรแกรม spss for window โดยการเขียนข้อมูลและคำสั่งตามรูปแบบและข้อกำหนดของการใช้โปรแกรม จะได้ค่าระดับ LC_{50} ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ดังตัวอย่างการหาค่า LC_{50} ของสารสกัดใบสนสองใบที่หมักด้วยน้ำกลั่นที่มีผลต่อลูกน้ำยุงลายในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง

***** PROBIT ANALYSIS *****

DATA Information

20 unweighted cases accepted.
0 cases rejected because of missing data.
0 cases are in the control group.
0 cases rejected because LOG-transform can't be done.

MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

***** PROBIT ANALYSIS *****

Parameter estimates converged after 11 iterations.

Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model: $(\text{PROBIT}(p)) = \text{Intercept} + \text{BX}$):

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
CONC	.55954	.03153	17.74705

	Intercept	Standard Error	Intercept/S.E.
	-2.07299	.11346	-18.27072

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 59.713 DF = 18 P = .000

Since Goodness-of-Fit Chi square is significant, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

***** PROBIT ANALYSIS *****

Observed and Expected Frequencies

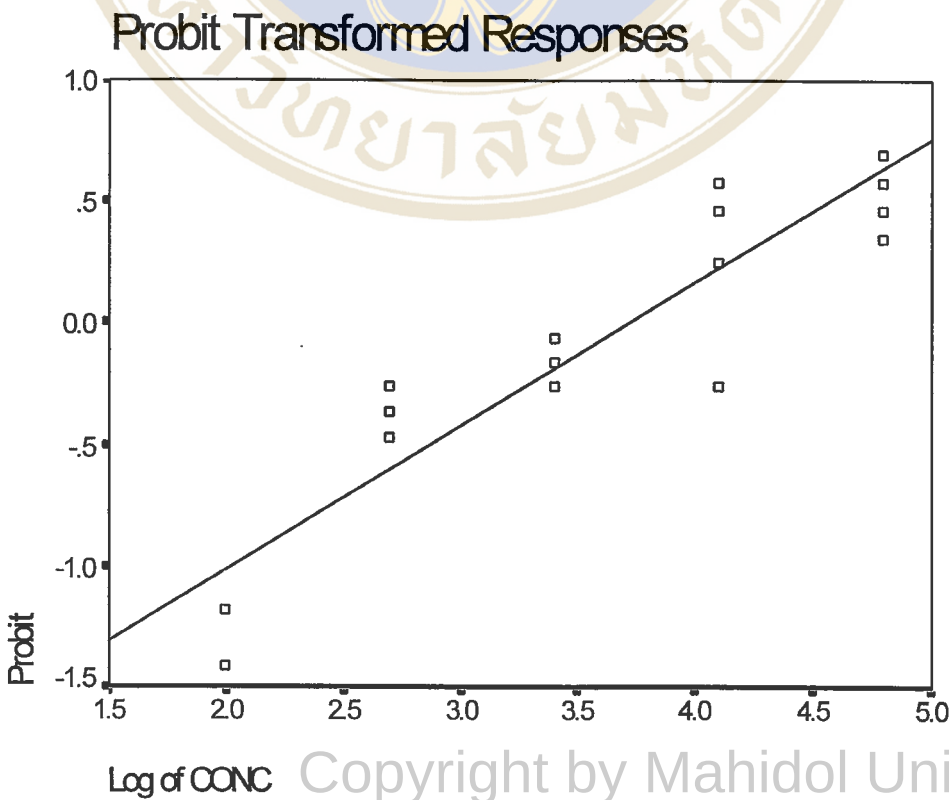
CONC	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
2.00	100.0	8.0	17.007	-9.007	.17007
2.00	100.0	12.0	17.007	-5.007	.17007
2.00	100.0	12.0	17.007	-5.007	.17007
2.00	100.0	12.0	17.007	-5.007	.17007
2.70	100.0	40.0	28.678	11.322	.28678
2.70	100.0	36.0	28.678	7.322	.28678
2.70	100.0	32.0	28.678	3.322	.28678
2.70	100.0	40.0	28.678	11.322	.28678
3.40	100.0	48.0	43.184	4.816	.43184
3.40	100.0	44.0	43.184	.816	.43184
3.40	100.0	40.0	43.184	-3.184	.43184
3.40	100.0	40.0	43.184	-3.184	.43184
4.10	100.0	68.0	58.683	9.317	.58683
4.10	100.0	72.0	58.683	13.317	.58683
4.10	100.0	60.0	58.683	1.317	.58683
4.10	100.0	40.0	58.683	-18.683	.58683
4.80	100.0	68.0	72.924	-4.924	.72924
4.80	100.0	64.0	72.924	-8.924	.72924
4.80	100.0	72.0	72.924	-.924	.72924
4.80	100.0	76.0	72.924	3.076	.72924

***** PROBIT ANALYSIS *****

Confidence Limits for Effective CONC

95% Confidence Limits			
Prob	CONC	Lower	Upper
.01	.35253	.02780	1.85179
.02	1.08239	.11529	4.69527
.03	2.20539	.28396	8.48267
.04	3.76713	.55899	13.24674
.05	5.82307	.96918	19.04748
.06	8.43608	1.54739	25.96082
.07	11.67608	2.33108	34.07506
.08	15.62015	3.36286	43.48967
.09	20.35309	4.69108	54.31518
.10	25.96794	6.37049	66.67353
.15	71.20452	22.49573	156.63333
.20	158.73462	60.75381	311.66643
.25	315.76607	140.91933	568.60073
.30	585.60089	295.83203	989.37770
.35	1037.91697	577.57300	1683.29557
.40	1786.58060	1064.85871	2852.29831
.45	3021.48125	1872.97465	4882.04821
.50	5067.56302	3173.73593	8523.56581
.55	8499.20710	5241.00904	15269.87010
.60	14373.93586	8543.89684	28199.49194
.65	24742.05131	13933.20090	54021.42682
.70	43852.72543	23047.46626	108481.00972
.75	81326.64424	39304.80004	232359.61639
.80	161780.67946	70684.05971	546763.11692

95% Confidence Limits			
Prob	CONC	Lower	Upper
.85	360654.02280	139179.68967	1492189.51591
.90	988919.12206	324386.00065	5311237.48552
.91	1261734.43536	397646.65914	7222582.94118
.92	1644042.67663	495972.85575	10088602.1735
.93	2199385.80641	632195.53145	14572658.4551
.94	3044089.25723	828758.01805	21980576.8870
.95	4410080.33280	1128172.51591	35137289.3107
.96	6816916.77095	1620212.19655	60995642.6984
.97	11644300.5776	2526998.29184	120223977.452
.98	23725503.1035	4559313.48841	296512105.273
.99	72844785.3444	11542355.2187	1231744758.43



ภาคผนวก ข

**ตัวอย่างการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of Variance, ANOVA) และการ
วิเคราะห์เปรียบเทียบภายหลัง (Fisher's Least Significant Difference)**

การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแบบทางเดียว (One-Way ANOVA) เป็นวิธีการทางสถิติที่ใช้ทดสอบเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของกลุ่มประชากร ในกรณีที่มีกลุ่มประชากรตั้งแต่ 2 กลุ่มขึ้นไป โดยมีตัวแปรอิสระเพียงตัวเดียว วิธีนี้บอกได้เพียงว่ามีค่าเฉลี่ยของกลุ่มประชากรอย่างน้อย 1 กลุ่มที่แตกต่างไปจากกลุ่มอื่น ซึ่งจะต้องทำการวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยของประชากรคู่ใดที่แตกต่างกัน โดยวิธี Fisher's Least Significant Difference การวิเคราะห์ค่าทางสถิติทั้งสองวิธีนี้สามารถวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม spss for window โดยเขียนข้อมูลและคำสั่งตามรูปแบบและข้อกำหนดของการใช้โปรแกรม ผลลัพธ์ที่ได้มีค่าความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ดังตัวอย่างของการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ตายจริงของลูกน้ำยุงลายในสารสกัดใบสนสองใบที่หมักด้วยน้ำกลั่นในระยะเวลาหมัก 24 ชั่วโมง

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
MORTA CONC	100.00	4	11.0000	2.0000	1.0000	7.8176	14.1824	8.00	12.00
	500.00	4	37.0000	3.8297	1.9149	30.9062	43.0938	32.00	40.00
	2500.00	4	43.0000	3.8297	1.9149	36.9062	49.0938	40.00	48.00
	12500.00	4	60.0000	14.2361	7.1181	37.3475	82.6525	40.00	72.00
	62500.00	4	70.0000	5.1640	2.5820	61.7831	78.2169	64.00	76.00
	Total	20	44.2000	21.8502	4.8859	33.9738	54.4262	8.00	76.00

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
MORTAL	Between Groups	8283.200	4	2070.800	39.419	.000
	Within Groups	788.000	15	52.533		
	Total	9071.200	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MORTAL
LSD

(I) CONC	(J) CONC	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
100.00	500.00	-26.0000*	5.125	.000	-36.9239	-15.0761
	2500.00	-32.0000*	5.125	.000	-42.9239	-21.0761
	12500.00	-49.0000*	5.125	.000	-59.9239	-38.0761
	62500.00	-59.0000*	5.125	.000	-69.9239	-48.0761
500.00	100.00	26.0000*	5.125	.000	15.0761	36.9239
	2500.00	-6.0000	5.125	.260	-16.9239	4.9239
	12500.00	-23.0000*	5.125	.000	-33.9239	-12.0761
	62500.00	-33.0000*	5.125	.000	-43.9239	-22.0761
2500.00	100.00	32.0000*	5.125	.000	21.0761	42.9239
	500.00	6.0000	5.125	.260	-4.9239	16.9239
	12500.00	-17.0000*	5.125	.005	-27.9239	-6.0761
	62500.00	-27.0000*	5.125	.000	-37.9239	-16.0761
12500.00	100.00	49.0000*	5.125	.000	38.0761	59.9239
	500.00	23.0000*	5.125	.000	12.0761	33.9239
	2500.00	17.0000*	5.125	.005	6.0761	27.9239
	62500.00	-10.0000	5.125	.070	-20.9239	.9239
62500.00	100.00	59.0000*	5.125	.000	48.0761	69.9239
	500.00	33.0000*	5.125	.000	22.0761	43.9239
	2500.00	27.0000*	5.125	.000	16.0761	37.9239
	12500.00	10.0000	5.125	.070	-.9239	20.9239

*. The mean difference is significant at the .05 level.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ

นางสาวทรงพร จุลเจนวิทย์

วัน เดือน ปีเกิด

9 สิงหาคม 2514

สถานที่เกิด

จังหวัดลำปาง ประเทศไทย

ประวัติการศึกษา

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, พ.ศ. 2533-2537

วิทยาศาสตรบัณฑิต (ประมง, เกษตรนิยามอันดับ 2)

มหาวิทยาลัยมหิดล, พ.ศ. 2537-2542

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการบริหารสิ่งแวดล้อม)