

บทความวิจัย (Research Article)

การศึกษาเบื้องต้นถึงผลของสารสกัดหยาบจากผักชีช้างที่มีต่อการพัฒนาในระยะต่าง ๆ ของหอยเชอรี่
A preliminary study on the effect of crude extracts from *Eupatorium capillifolium* on the development stages of *Pomacea canaliculata* (Golden apple snail)

นุชจรินทร์ แกล้วกล้า* และกฤติยากร แสนพันธ์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี

Nutcharin Kleawkla* and Kittiyakorn Sanpan

Department of Biology, Faculty of Science, Burapha University, Chon Buri Province

*Corresponding author, E-mail: nutcharin@go.buu.ac.th

Received: June 23, 2024/ Revised: August 9, 2024/ Accepted: August 13, 2024

บทคัดย่อ

การศึกษาเบื้องต้นมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลกระทบของสารสกัดหยาบจากใบผักชีช้าง (*Eupatorium capillifolium*) ที่มีต่อการพัฒนาในระยะตัวอ่อนของหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*) ยับยั้งความสามารถในการฟักออกจากไข่ อัตราการตายของลูกหอยเชอรี่แรกฟักออกจากไข่ และหอยเชอรี่ตัวเต็มวัย การศึกษาครั้งนี้ใช้สารสกัดหยาบจากใบผักชีช้างที่มีความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (w/v) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม การศึกษาผลกระทบของสารสกัดหยาบจากใบผักชีช้างต่อการพัฒนาของตัวอ่อนและอัตราการฟักของไข่ด้วยวิธีการฉีดพ่นสารสกัดจากใบผักชีช้าง ลงบนไข่เป็นเวลา 7 วัน และประเมินการพัฒนาของตัวอ่อนและอัตราการฟักออกจากไข่ภายในวันที่ 10 ศึกษาอัตราการตายของลูกหอยแรกฟักออกจากไข่และหอยเชอรี่ตัวเต็มวัยด้วยการให้สัมผัสกับสารสกัดจากใบผักชีช้าง เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง และ 7 วัน ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบจากใบผักชีช้างความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการพัฒนาของตัวอ่อน ทำให้ความสามารถในการฟักออกจากไข่ของตัวอ่อนลดลงจำนวน 23.34 และ 76.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่มีอัตราการฟักออกจากไข่สูงกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ สารสกัดหยาบจากใบผักชีช้างความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ลูกหอยแรกฟักออกจากไข่มีอัตราการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ และหอยเชอรี่ตัวเต็มวัยมีอัตราการตาย 46.67 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีอัตราการตายเป็นศูนย์ แม้ว่าการศึกษาเบื้องต้นใช้สารสกัดหยาบจากใบผักชีช้างในความเข้มข้นเพียง 20 เปอร์เซ็นต์ แต่สารสกัดดังกล่าวมีผลกระทบต่อหอยเชอรี่ทุกระยะของการพัฒนา ผลการศึกษาบ่งชี้ว่าสารสกัดหยาบจากใบผักชีช้างมีศักยภาพในการกำจัดหอยเชอรี่ แต่อย่างไรก็ตาม ควรศึกษาเพิ่มเติมถึงชนิดของสารประกอบที่พบในใบผักชีช้างที่มีฤทธิ์ในการฆ่าหอย ประสิทธิภาพและความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ใช้ในการกำจัดหอยเชอรี่

คำสำคัญ: หอยเชอรี่ ผักชีช้าง สารสกัดหยาบจากผักชีช้าง

Abstract

The preliminary study aimed to assess the effect of a crude extract from leaves of *Eupatorium capillifolium* on the embryonic development stages, inhibiting egg hatching, and the

mortality rate of juvenile and adult golden apple snails (*Pomacea canaliculata*). This study used a leaf *E. capillifolium* crude extract with a concentration of 20% (w/v), compared with a control group. The effect of crude extracts from a leaf *E. capillifolium* on the development of embryos and the hatchability of eggs was evaluated by spraying the egg clutches with it for 7 days, and the development of embryos and the hatching rates of eggs were assessed within 10 days of treatment. The mortality rates of juvenile and adult golden snails were determined after exposure to a 20% plant leaf crude extract for 24 hours and 7 days, respectively. The results showed that a crude extract of 20% *E. capillifolium* obstructed embryonic development and significantly reduced the hatchability of snail eggs by 23.34% and 76.66%, respectively, in contrast, the control group had a hatch rate of over 90%. Additionally, a crude extract of *E. capillifolium* at a concentration of 20% caused a 100% mortality rate for juvenile snails and a 46.67% mortality rate for mature snails, compared to a zero-mortality rate in the control group. Although the preliminary study used crude extracts from a leaf of *E. capillifolium* with only a 20% concentration, its effects on all development stages of the snails. The results indicated that leaf extracts from *E. capillifolium* have the potential to act as a molluscicide against *P. canaliculata*. However, further research is required to determine the specific molluscicide substance that exists in *E. capillifolium* leaves and assess their effectiveness, suitable concentration, and potential for developing into molluscicides.

Keywords: Golden apple snail (*Pomacea canaliculata*), *Eupatorium capillifolium*, Crude extract

บทนำ

หอยเชอรี่ (Golden apple snail; *Pomacea canaliculata*, Lamarck) หรือหอยโข่งอเมริกันก็ได้ เป็นหอยทากน้ำจืด มีถิ่นกำเนิดในอเมริกาใต้ จัดเป็นชนิดพันธุ์ต่างถิ่นรุกรานที่ประสบความสำเร็จในการเข้าครอบครองเป็นชนิดพันธุ์เด่นในระบบนิเวศใหม่ๆ ที่ไม่ใช่ถิ่นกำเนิดสูง จึงมีสถานะภาพเป็นชนิดพันธุ์ต่างถิ่นรุกราน (Invasive alien species) 1 ใน 100 ของชนิดพันธุ์รุกรานร้ายแรงของโลกที่แพร่ระบาดทำลายความหลากหลายทางชีวภาพให้ลดลง ทำให้เกิดการสูญพันธุ์ของชนิดพันธุ์พื้นเมือง ทำให้สภาพแวดล้อมถิ่นที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติเกิดการเปลี่ยนแปลงส่งผลกระทบต่อวิถีชีวิต และสามารถส่งผลกระทบต่อสุขภาพของคนได้ (Lowe et al., 2000) เพราะหอยเชอรี่นั้นเป็นแหล่งอาศัยตัวกลาง (Intermediate host) ของพยาธิหลายชนิดรวมทั้งพยาธิปอดหนูที่ก่อให้เกิดโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบในคน โดยพยาธิปอดหนูเข้าไปอาศัยในหนูซึ่งเป็นแหล่งอาศัยจำเพาะ (Definitive host) เมื่อหนูถ่ายมูลออกมา หอยเชอรี่ หอยทาก หอยโข่ง หรือกุ้งฝอย (Shrimp) กินอุจจาระของหนูที่มีตัวอ่อนพยาธิเข้าไป เมื่อคนกินสัตว์เหล่านี้ที่ปรุงไม่สุกจะได้รับตัวอ่อนของพยาธิเข้าสู่ร่างกาย (Garcia et al., 2013) หอยเชอรี่เข้ามาในประเทศไทยเมื่อประมาณปี พ.ศ. 2525-2526 และแพร่ระบาดในพื้นที่นาข้าวกัดกินต้นกล้า ข้าวอ่อน ทำให้ผลผลิตข้าวลดลงอย่างมากจนกลายเป็นศัตรูข้าวและพืชหลักในช่วงปี พ.ศ. 2531 จนถึงปัจจุบัน ซึ่งยังพบหอยเชอรี่ได้ทั่วไปในพื้นที่ชุ่มน้ำ แหล่งน้ำ โดยเฉพาะแหล่งน้ำนิ่งทั่วประเทศ ดังนั้นหอยเชอรี่ในประเทศไทยจึงอยู่ในสถานะภาพเป็นชนิดพันธุ์ต่างถิ่นที่รุกรานแล้ว และมีการแพร่กระจายทุกภาคของประเทศ (สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2561)

มีปัจจัยหลายประการที่ทำให้หอยเชอร์ประสบความสำเร็จสูงในการแพร่กระจาย คุณค่า และครอบครองเป็นชนิดพันธุ์เด่นในพื้นที่ใหม่ๆ ที่สำคัญคือลักษณะเฉพาะของหอยเชอร์ได้แก่ การมีอวัยวะในการหายใจเหมาะสมกับสภาพแวดล้อมที่อาศัย หลายแบบ จึงสามารถนำออกซิเจนมาใช้ได้เกือบทุกสภาพแวดล้อมที่เข้าไปอยู่อาศัย เช่น มีเหงือกเป็นอวัยวะแลกเปลี่ยนก๊าซเมื่ออยู่ในน้ำ แต่เมื่ออยู่บนบกช่วงขึ้นมาวางไข่บนต้นข้าว พืชน้ำ กิ่งไม้ ขอนไม้แห้งเหนือน้ำ จะใช้อวัยวะคล้ายปอดเพื่อแลกเปลี่ยนก๊าซ และเมื่ออยู่ในโคลน เลนลึก หรือน้ำที่มีออกซิเจนต่ำ จะใช้โครงสร้างของท่อหายใจ (respiratory siphon) ช่วยนำออกซิเจนในอากาศไปใช้ได้ (Rodriguez et al., 2019) นอกจากนี้หอยเชอร์ยังมีระบบสืบพันธุ์ที่เอื้อให้สืบพันธุ์ได้อย่างต่อเนื่องตลอดชีวิต ด้วยวงจรชีวิตที่หอยเชอร์เพศเมียออกมาวางไข่เหนือน้ำตามต้นพืชน้ำวัสดุที่ไข่สามารถยึดเกาะได้ ซึ่งแม่หอยจะวางไข่ออกมาเป็นกลุ่มหรือฝักไข่ (Egg cluster) ที่มีจำนวนไข่ในแต่ละฝักแตกต่างกัน เช่น ฝักไข่ยาว 12-30 มิลลิเมตร มีไข่จำนวน 14-327 ฟอง (Wu et al., 2011) เป็นต้น และไข่จะใช้เวลาในการพัฒนาเป็นตัวอ่อน (Incubation period) แตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญ ตัวอ่อนของหอยเชอร์จะฟักออกจากไข่เร็วเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นโดยเฉพาะประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ตัวอ่อนของหอยเชอร์ จะฟักออกจากไข่เร็วที่อุณหภูมิ 28-34 องศาเซลเซียส ซึ่งใช้ระยะเวลาในการพัฒนาเป็นตัวอ่อนภายในไข่ 5-6 วัน และ 9-10 วัน ตามลำดับ (Ismail et al., 2019) เมื่อออกจากไข่แล้วลูกหอย (juvenile snail) จะใช้เวลาในการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยประมาณ 15-25 วัน และช่วงที่ลูกหอยมีขนาด 2.5 มิลลิเมตร จะเริ่มกัดกินต้นอ่อนของข้าว และพืชน้ำอื่น ๆ จำนวนมากเพื่อไปใช้เป็นอาหารสร้างพลังงานให้เข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยอย่างรวดเร็วในช่วงวันที่ 25-59 และหลังจากวันที่ 60 จะเจริญเติบโตเต็มที่ที่เป็นหอยวัยเจริญพันธุ์ นอกจากนี้หอยเชอร์ยังมีพฤติกรรมชอบฝังตัวในดินช่วงกลางวันโดยไม่สัมผัสกับอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นของช่วงวัน และจะคืบคลานออกมาช่วงเวลากลางคืน โดยสามารถหากินในเวลาากลางคืนด้วยการกัดกินส่วนอ่อนของพืชน้ำ ต้นอ่อนของข้าว ซากสัตว์ที่เน่าเปื่อยในน้ำหลากหลายชนิด ไข่ของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก และตัวอ่อนของหอยทากบางกลุ่มเป็นอาหาร (Chaichana & Joshi, 2018; Djeddour et al., 2021; Ip & Qiu JianWen, 2017) ประเทศไทยแม้ไม่มีรายงานระบุถึงการแพร่ระบาดของหอยเชอร์รุนแรง แต่การที่พบเห็นหอยเชอร์ในระบบนิเวศพื้นที่ชุ่มน้ำอย่างต่อเนื่องนั้นเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ชนิดพันธุ์พืชน้ำ หอยพื้นเมืองลดลงหรือสูญหายไปจากพื้นที่ (Chaichana & Joshi, 2018) ประกอบกับปัจจุบันประเทศไทยมีการส่งเสริมการเพาะเลี้ยงหอยเชอร์เพื่อสร้างรายได้ ทำให้มีหอยเชอร์ในระบบฟาร์มมากขึ้น ซึ่งเป็นการเพิ่มโอกาสให้หอยเชอร์จากแหล่งเพาะเลี้ยงหลุดออกสู่ธรรมชาติ ทั้งแบบตั้งใจและไม่ตั้งใจสูงขึ้น การแพร่ระบาดของหอยเชอร์ในหลาย ๆ ประเทศ ทำให้มีความพยายามในการกำจัดออกด้วยวิธีการต่าง ๆ และวิธีการที่ง่ายและสะดวกคือใช้สารเคมี แต่มีราคาแพง และมีผลเสียหลายประการ ทั้งเกิดการตกค้าง สะสมของสารพิษในธรรมชาติ ผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ใช้ สิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ที่ไม่ใช่สัตว์เป้าหมายและอาจมีการสะสมในห่วงโซ่การกินต่อกันของสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศ ซึ่งสุดท้ายส่งผลเสียต่อสุขภาพของคนจึงทำให้ประเทศที่ประสบกับปัญหาจากหอยเชอร์ได้พยายามหาทางเลือกในการกำจัดหอยเชอร์ที่เป็นมิตรต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม ด้วยการนำผลิตภัณฑ์ธรรมชาติและพืชมาสกัดเพื่อค้นหาสารประกอบไปใช้ประโยชน์ดังกล่าว ตลอดจนมีการศึกษาค้นคว้าทางเลือกนี้เพิ่มขึ้น เช่น รายงานการศึกษาของ ตรัย วงษ์ศิริ และคณะ (2023) พบว่าชาน้ำมัน (*Camellia oleifera*) ซึ่งสกัดจากพืชมอลลัสซิเดส 1 ใน 6 ชนิด มีประสิทธิภาพในการฆ่าหอยเชอร์สูงสุดด้วยค่า LC₅₀ ต่ำสุดเท่ากับ 6.21 ppm และรายงานการศึกษาของ Demetillo et al.(2015) พบว่าสารสกัดหยาบจากใบตะไคร้ (*Cymbopogon citratus*) ด้วยน้ำกลั่นความเข้มข้น 20, 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ มีฤทธิ์ในการฆ่าหอยเชอร์โดยมีผลยับยั้งการพัฒนาของตัวอ่อน (Embryo) และเปลี่ยนแปลงระยะเวลาในการฟักออกจากไข่ของตัวอ่อนหอยเชอร์

สำหรับผักชีช้าง(*Eupatorium capillifolium* (Lam.) Small) หรือ dog-fennel หรือโกลจุฬา เป็นพืชอยู่ในวงศ์ทานตะวัน (Asteraceae) สกุล *Eupatorium* มีลักษณะและกลิ่นคล้ายกับผักชีลาว สูง 60 เซนติเมตรถึง 2 เมตร

ออกดอกตามก้าน ดอกสีขาว ในประเทศไทยนำผักชีข้างมาใช้ประโยชน์เป็นผักสดขายในตลาดพื้นบ้าน การใช้ประโยชน์ทางยาไม่แพร่หลายแต่มีรายงานการใช้เป็นยาสมุนไพรในบางท้องถิ่น เช่น ชนพื้นเมืองของอเมริกาเหนือใช้พืชชนิดนี้ในการรักษาโรคลมบ้าหมูและอาการเจ็บคอ จากรายงานเกี่ยวกับสารประกอบในพืชวงศ์ทานตะวัน (Asteraceae) สกุล *Eupatorium* ของผักชีข้าง พบสารหอมระเหยหลายชนิด ส่วนที่เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้แก่อนุพันธ์เซสควิเทอร์พีนแลกโตน (Sesquiterpene lactones) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) อนุพันธ์ของกรดคาเฟอิก (Caffeic acid derivatives) สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) สารประกอบไตรเทอร์เพน (Triterpene Compound) (Hensel et al., 2011; Tabanca et al., 2010) และพบสารประกอบกลุ่ม เบนโซฟูแรน (Benzofuran compound) ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา แบคทีเรีย (Sobrinho et al., 2017) และยังมีสารหอมระเหยกลุ่ม ไทมอลเมทิล อีเทอร์ (Thymol methyl ether) จำนวน 36.3 เปอร์เซ็นต์ สารในกลุ่มโมโนเทอร์เพน (Monoterpenes) ได้แก่ 2,5-dimethoxy-p-cymene และสารไมซีน (Myrcene) จำนวน 20.8 และ 15.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์รวมในการฆ่าแมลง (Tabanca et al., 2010) นอกจากนี้ Sellers and Ferrell (2013) ได้รายงานว่ใบผักชีข้างมีส่วนประกอบของสารทริเมทอล (Tremetol) ซึ่งเป็นสารพิษที่มีฤทธิ์ต่ำ แต่เมื่อสัตว์เลี้ยง เช่น โค กินเข้าไปทำให้เกิดการสูญเสียน้ำมีการกระหายน้ำตามมา ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าจึงได้ใช้สารสกัดหยาบจากใบผักชีข้างด้วยน้ำในการประเมินฤทธิ์ของสารสกัดจากผักชีข้างเบื้องต้นที่มีต่อหอยเชอรี่ในระยะต่าง ๆ ด้วยวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากใบ ผักชีข้างด้วยน้ำต่อการพัฒนาเป็นตัวอ่อนในไข่ของหอยเชอรี่ ผลต่อความสามารถในการฟักออกจากไข่ของตัวอ่อน ผลต่ออัตราการตายของลูกหอยวัยแรกฟักออกจากไข่ และหอยเชอรี่ตัวเต็มวัย

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมสัตว์ทดลอง

ใช้ไข่หอยเชอรี่ และหอยเชอรี่ตัวเต็มวัยที่สำรวจและสุ่มเก็บจากคูระบายน้ำที่พบในมหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี สุ่มเก็บไข่หอยเชอรี่สีชมพูเข้มและหอยเชอรี่ตัวเต็มวัยที่มีขนาดใกล้เคียงกันจำนวน 60 ตัว มาปรับสภาพในห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การเตรียมน้ำสำหรับทดลอง

น้ำสำหรับให้หอยเชอรี่ตัวเต็มวัยปรับสภาพเป็นน้ำประปา ที่นำมาพักระเหยคลอรีนก่อนการทดลอง 7 วัน

การเตรียมสารสกัดหยาบจากใบผักชีข้าง

การสกัดสารจากผักชีข้างด้วยวิธีการแช่ (Maceration) ซึ่งผักชีข้างที่ใช้ได้จากการเพาะปลูกไว้เป็นพืชสวนครัวในพื้นที่ ตำบลบางพระ อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี นำมาจัดจำแนกข้อมูลพฤกษศาสตร์ ตาม Irsyam and Hariri (2016) และยืนยันโดยผู้เชี่ยวชาญด้านพฤกษศาสตร์ ใช้ส่วนใบแก่และอ่อนมาล้างน้ำฟุ้งลมให้แห้ง นำไปชั่งด้วยเครื่องชั่ง ทคณิม 2 ตำแหน่ง ให้ได้ผักชีข้างจำนวน 100 กรัม ไปสกัดด้วยวิธี ของ สุพรรณัญญา เล็งสาย และคณะ (2021) ด้วยการหั่นและปั่นด้วยเครื่องปั่นผลไม้ละเอียด เตรียมน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร ต้มเดือด นำใบผักชีข้างที่เตรียมไว้ไปแช่น้ำร้อนที่เตรียมไว้เป็นเวลา 1 คืน นำไปกรองด้วยผ้าขาวบางได้สารละลาย หรือสารสกัดหยาบ (Crude extract) อัตราส่วน 1:5 น้ำหนัก:ปริมาตร (w/v) หรือความเข้มข้น 20 % w/v เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ตลอดการศึกษา ความเข้มข้นนี้เป็นความเข้มข้นเดียวใช้ตลอดการศึกษา ซึ่งประยุกต์มาจากความเข้มข้นต่ำสุดในการศึกษาของ Demetillo et al. (2015) ในการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากใบตะไคร้ต่อการพัฒนาของหอยเชอรี่

ด้วยปริมาตร 25 มิลลิลิตร ที่ใช้ทดลองกับไข่หอยและลูกหอยวัยอ่อนแรกฟักจากไข่และเพิ่มปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เพื่อใช้ทดสอบกับหอยเชอร์รี่ตัวเต็มวัย

การวางแผนการทดลอง

การศึกษาใช้การวางแผนการทดสอบแบบสุ่มตลอด Completely Randomized Design) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

การวิเคราะห์ผลการทดลอง

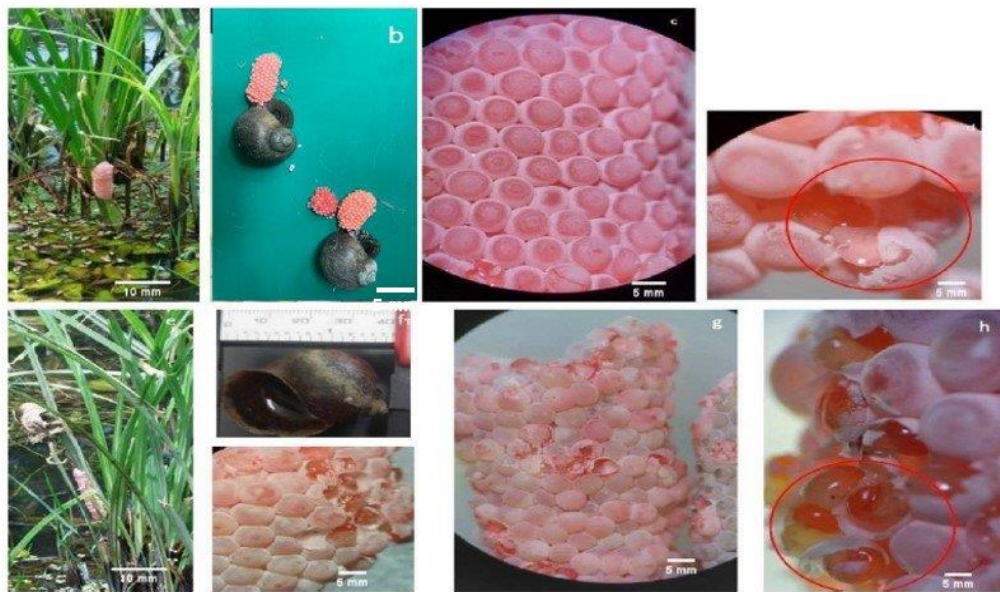
การวิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำหนักไข่ ขนาดความกว้างของช่องเปิดเปลือกหอยตัวเต็มวัย ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One way ANOVA) ด้วยวิธี Tukey test วิเคราะห์ความแตกต่างจำนวนหอยเชอร์รี่ตัวเต็มวัยระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มได้รับสารด้วยวิธี *t*-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Minitab v.18

วิเคราะห์อัตราการตาย (% Mortality) จากสูตร

$$\text{อัตราการตาย} = \frac{\text{จำนวนหอยเชอร์รี่ที่ทดสอบตาย}}{\text{จำนวนหอยเชอร์รี่ที่ทดสอบทั้งหมด}} \times 100$$

ศึกษาผลของสารสกัดหอยจากใบผักชีข้างความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ต่อการยับยั้งการพัฒนาดังตัวอ่อนภายในไข่ (embryo) และการฟักออกจากไข่ของลูกหอยเชอร์รี่

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือไข่หอยเชอร์รี่ และเพื่อให้ได้ผลตามวัตถุประสงค์ของการศึกษา ก่อนการศึกษาครั้งนี้ ได้เก็บข้อมูลเบื้องต้นของไข่หอยเชอร์รี่ ด้วยการเก็บไข่ที่มีสีชมพูเข้ม สีชมพูจาง มีสีขาวคล้ายเปลือกไข่มาวัดขนาด ชั่งน้ำหนัก นับจำนวนไข่ในแต่ละกลุ่มไข่ (ฝักไข่) ทำให้ได้ข้อมูลพื้นฐานที่ประกอบด้วย สีของฝักไข่ที่มีความสัมพันธ์กับการมีตัวอ่อน (Embryo) อยู่ภายในโดยไข่ระยะแรกวางจากตัวแม่จะมีสีชมพูเข้ม ภายในไม่มีตัวอ่อนอยู่ภายใน เมื่อกะเพาะเปลือกไข่ออกจะพบอาหารเลี้ยงตัวอ่อนอยู่ภายใน (ภาพที่ 1 a-d) ส่วนไข่ในระยะพร้อมฟักของตัวอ่อน ไข่ที่เห็นมีสีชมพูจาง เปลือกไข่มองเห็นเป็นสีขาวคล้ายเปลือกไข่ไก่ชัดเจนขึ้น และบางส่วนของกลุ่มไข่จะเห็นร่องรอยการแตกของเปลือกไข่ที่แสดงถึงการออกจากไข่ของลูกหอย และไข่สีจางที่ยังมีลักษณะปกติเมื่อแกะเปลือกไข่ออกจะพบมีตัวอ่อนอยู่ภายใน (ภาพที่ 1 e-h) และได้ข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักของไข่ ความยาวของฝักไข่ จำนวนไข่ที่มีต่อฝัก เช่น ไข่ที่มีน้ำหนัก 0.40, 3.58, 4.43 กรัม มีความยาวของฝักไข่เท่ากับ 20, 35, 42 มิลลิเมตร จะมีไข่จำนวน 200, 650 และ 530 ฟอง ตามลำดับ ข้อมูลที่ได้นี้ใช้ประกอบการพิจารณาการสุ่มเก็บตัวอย่างไข่หอยเชอร์รี่และหอยเชอร์รี่ตัวเต็มวัย



ภาพที่ 1 a-d) Newly egg deposited; a-c) apple snails clustered eggs above the waterline on the plant stem in bright pink-reddish mass with calcareous shells d) Eggs filled with yolk inside. e-h) Egg at the hatching stage; f-g) The egg clutch appears white or very light on the surface and has dark spots beneath the surface h) Egg masses with embryos developed inside.

สารสกัดหยาบจากใบผักชีข้างที่เตรียมไว้ในความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ นำมาใช้ศึกษาในขั้นตอนนี้ด้วยวิธีการฉีดพ่นด้วยขวดสเปรย์ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงบนผักไผ่หอยเชอรี่ ตามวิธีของ Demetillo et al. (2015) และ Musman et al. (2013) เพื่อศึกษาผลยับยั้งการพัฒนของตัวอ่อนภายในไข่และการฟักออกจากไข่ของลูกหอยเชอรี่ ด้วยการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม รายละเอียดของวิธีการศึกษามีดังนี้

1. ผักไผ่หอยเชอรี่สีชมพูเข้ม (ภาพที่ 2 a) ที่สุ่มเก็บมานำไปชั่งน้ำหนัก
2. เตรียมกล่องพลาสติกขนาด $27 \times 17 \times 15$ เซนติเมตร ใส่ น้ำที่เตรียมไว้ลงในกล่องให้ห่างจากขอบกล่อง 3 เซนติเมตร นำตะแกรงที่มีขนาดความห่างของตา 3 มิลลิเมตร วางบนกล่องพลาสติก
3. สุ่มเลือกผักไผ่หอยเชอรี่ในการศึกษาแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม จำนวน 3 กลุ่ม คือกลุ่มที่ฉีดพ่นสารสกัดหยาบจากใบผักชีข้าง 1 กลุ่มและกลุ่มควบคุมจำนวน 2 กลุ่มๆ ละ 3 ซ้ำคือ
 - 3.1 กลุ่มควบคุมที่ไม่ฉีดพ่นสารสกัดหยาบและน้ำกลั่น
 - 3.2 กลุ่มควบคุมที่ฉีดพ่นน้ำกลั่นปริมาตร 25 มิลลิลิตร/ครั้ง
 - 3.3 กลุ่มศึกษาที่ฉีดพ่นสารสกัดหยาบ ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์บนผักไผ่หอยเชอรี่
 โดยรายละเอียดดัง ตารางที่ 1 ขั้นตอนมีดังนี้
 - 3.3.1 กลุ่มศึกษาใช้ผักไผ่จำนวน 3 ซ้ำแต่ละซ้ำมีผักไผ่จำนวน 10 ผักซึ่งมีน้ำหนักตามตารางที่ 1 นำสารสกัดหยาบจากผักชีข้างที่เตรียมไว้ปริมาตร 25 มิลลิลิตรต่อซ้ำฉีดพ่นในช่วงเวลา 16.00 น เป็นระยะเวลา 7 วัน

สังเกตการพัฒนาของตัวอ่อนภายในไข่และการฟักออกจากไข่ของตัวอ่อน เมื่อครบ 7 วัน หยุดการฉีดพ่นสารแต่สังเกตการฟักออกจากไข่ต่อเนื่องจนครบ 10 วัน

3.3.2 กลุ่มควบคุมทั้ง 2 กลุ่มใช้ไข่หอยเชอรี่จำนวน 3 ไข่ต่อกลุ่ม โดยแต่ละไข่ใช้ไข่หอยจำนวน 10 ฟักเท่ากับกลุ่มศึกษา ซึ่งไข่หอยในแต่ละกลุ่มมีน้ำหนักใกล้เคียงกัน ตามผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำหนักไข่หอยในแต่ละไข่ของการทดลองมีน้ำหนักไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังตารางที่ 1 การทดลองในกลุ่มควบคุมกลุ่มที่ 1 ไม่มีการฉีดพ่นน้ำหรือสารใดๆ และในกลุ่มควบคุมที่ 2 ใช้น้ำกลั่นปริมาตร 25 มิลลิลิตร ฉีดพ่นบนฝักไข่หอยเชอรี่ในเวลาเดียวกับกลุ่มศึกษา สังเกตการพัฒนาของตัวอ่อนภายในไข่ สังเกตการฟักออกจากไข่ของตัวอ่อนหอยเชอรี่ ในระยะเวลา 7 วัน และสังเกตต่อเนื่องถึงวันที่ 10

ตารางที่ 1 Complete Randomized Design with equal replications

Treatments	Replicates	Egg clusters per replicate	Total 10 Egg clusters weighted (g) per replicate
Control			
Control 1 (untreated anything)	3	10	1) 13.34, 2) 12.10, 3) 12.19
Control 2 (sprayed with only distilled water)	3	10	1) 13.33, 2) 12.09, 3) 11.12
Experimental group			
Sprayed with 20 % of leaf <i>E.capillifolium</i> extract	3	10	1) 13.34, 2) 12.10, 3) 11.12

ศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากใบผักชีข้างความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ต่อการตายของลูกหอยเชอรี่แรกฟักออกจากไข่ด้วยวิธีการสัมผัสกับสาร

ศึกษาอัตราการตายของลูกหอยเชอรี่แรกฟักออกจากไข่เมื่อสัมผัสกับสารสกัดหยาบจากใบผักชีข้างความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ด้วยการนำลูกหอยเชอรี่แรกฟักอายุ 1 วัน จากไข่หอยเชอรี่ในกลุ่มควบคุมที่ 1 ซึ่งไม่ฉีดพ่นน้ำหรือสารใด ๆ และฟักออกจากไข่ลงไปอยู่ในกล่องพลาสติกใต้ตะแกรง โดยขั้นตอนการศึกษามีดังนี้

1. ตรวจสอบความผิดปกติของลูกหอยเชอรี่แรกฟักออกจากไข่อายุ 1 วัน ด้วยการสุ่มเลือกลูกหอยจากกลุ่มควบคุมดังกล่าวมาซึ่ละ 100 ตัวส่องใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (Olympus รุ่น SZ 51) กำลังขยาย 10 เท่า เมื่อไม่พบความผิดปกติทำการสุ่มเลือกลูกหอยเชอรี่ชุดใหม่จำนวน 300 ตัวที่มีความแข็งแรง ซึ่งสังเกตจากการคืบคลานรวดเร็ว และยื่นหนวดออกมา ใช้ในการศึกษาจำนวน 2 กลุ่ม แต่ละกลุ่มทำ 3 ซ้ำๆ ละ 50 ตัว

2. วิธีการศึกษา ทำโดยนำสารสกัดหยาบจากผักชีข้าง ใส่ลงในจานแก้วเพาะเชื้อขนาด 90×15 มิลลิเมตร จานละ 25 มิลลิลิตรจำนวน 3 จาน จากนั้นสุ่มเลือกลูกหอยเชอรี่ที่เตรียมไว้ใส่ลงไปจานละ 50 ตัว และกลุ่มควบคุมใช้น้ำกลั่นปริมาตร 25 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานแก้วเพาะเชื้อเช่นเดียวกับกลุ่มทดสอบสารสกัดหยาบจากผักชีข้าง สังเกตการตายที่เวลา 24 ชั่วโมง และทำการวิเคราะห์อัตราการตายของลูกหอยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากใบผักชีข้างความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ต่อการตายของหอยเชอร์รี่ตัวเต็มวัยด้วยวิธีการสัมผัสกับสาร

การศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากผักชีข้างต่อพฤติกรรมและการตายของหอยเชอร์รี่ตัวเต็มวัยด้วยวิธีการสัมผัสกับสารเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ให้หอยเชอร์รี่สัมผัสกับน้ำกลั่น ขั้นตอนในการศึกษา คือ

1. นำหอยเชอร์รี่ตัวเต็มวัยซึ่งสุ่มเก็บมาวัดขนาดหน่วยเป็นมิลลิเมตร (Yu et al., 2020) และชั่งน้ำหนักหน่วยเป็นกรัม ซึ่งหอยเชอร์รี่ที่ใช้ในการศึกษามีขนาดความกว้างของช่องเปิดเปลือก (aperture) เฉลี่ยอยู่ในช่วง 34.45 ± 4.51 มิลลิเมตร ถึง 35.80 ± 4.13 มิลลิเมตร น้ำหนักเฉลี่ยอยู่ในช่วง 35.15 ± 13.56 กรัม ถึง 35.76 ± 9.48 กรัม ที่ได้พักปรับสภาพไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. สุ่มเลือกตัวอย่างหอยเชอร์รี่ที่เตรียมไว้นามาจัดกลุ่มศึกษา ที่ประกอบด้วยกลุ่มควบคุมและกลุ่มศึกษาที่ให้สัมผัสกับสารสกัดหยาบจากใบผักชีข้าง โดยใช้หอยเชอร์รี่กลุ่มละ 30 ตัว จำนวน 3 ซ้ำ ซึ่งในแต่ละซ้ำการทดลองหอยมีขนาด ความกว้างของช่องเปิดเปลือกและน้ำหนักตัวใกล้เคียงกัน

3. วิธีการศึกษาใช้สารสกัดหยาบจากใบผักชีข้างปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในกล่องพลาสติก จากนั้นใส่หอยเชอร์รี่ตัวเต็มวัยลงไปกล่องละ 10 ตัว สังเกตพฤติกรรมและการตายในระยะเวลา 24, 48, 72 ชั่วโมง และ 7 วัน สำหรับกลุ่มควบคุมใส่น้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใช้หอยเชอร์รี่ในจำนวน วิธีการ การสังเกตพฤติกรรมและการตายของหอยในระยะเวลา 24, 48, 72 ชั่วโมง และสังเกตผลต่อเนื่องจนครบ 7 วัน ตามลำดับ เช่นเดียวกับกลุ่มทดลอง

ผลการวิจัย

ตอนที่ 1 ผลของสารสกัดหยาบจากใบผักชีข้างความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ต่อการยับยั้งการพัฒนานเป็นตัวอ่อนภายในไข่ (Embryo) และการฟักออกจากไข่ของลูกหอยเชอร์รี่

ผลการศึกษาสารสกัดหยาบจากใบผักชีข้างความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ต่อการพัฒนาของตัวอ่อนระยะอยู่ในไข่และการฟักออกจากไข่ของลูกหอยเชอร์รี่ ด้วยวิธีการฉีดพ่นสารสกัดหยาบจากใบผักชีข้างลงบนไข่หอยเชอร์รี่ระยะเริ่มแรกจากการวางไข่ ซึ่งผักชีไม่มีสีชมพูเข้ม (ภาพที่ 2 a) เป็นระยะเวลา 7 วันและสังเกตผลต่อเนื่องจนครบ 10 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ 1 คือไม่มีการฉีดพ่นสารสกัดและน้ำ กลุ่มควบคุมที่ 2 คือกลุ่มที่ฉีดพ่นเฉพาะน้ำกลั่นในช่วงเวลาเดียวกันพบว่า

ไข่หอยเชอร์รี่กลุ่มที่ฉีดพ่นสารสกัดหยาบจากใบผักชีข้างในระยะเวลา 7 วันไม่มีลูกหอยเชอร์รี่ฟักออกมาจากไข่ และได้เลือกสุ่มผักไข่ (Egg cluster) ออกมาทดสอบการมีตัวอ่อนอยู่ภายในด้วยการใช้เข็มเย็บ (Needle) ทะทะเปลือกไข่ และส่องใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ กำลังขยาย 10 เท่า ซึ่งพบว่าผักไข่บางกลุ่มที่มีขนาดเล็กสีขาวจางคล้ายไข่ไก่ ปนกับสีดำดำของสารสกัดที่ใช้มีลักษณะเปราะนั้นภายในไม่พบตัวอ่อน (ภาพที่ 2f) แต่กลุ่มไข่ที่ยังมองเห็นเป็นสีชมพูจางเมื่อทะทะดูภายในพบตัวอ่อนที่ยังไม่ฟักออกจากไข่ (ภาพที่ 2e) เมื่อครบ 10 วัน พบผักไข่ที่ไม่มีตัวอ่อนภายในทั้งหมดจำนวน 7 ใน 30 ของจำนวนผักไข่ที่ทำการศึกษาทั้งหมด หรือคิดเป็น 23.34 เปอร์เซ็นต์ ที่ส่วนใหญ่เป็นผักไข่ขนาดเล็ก ลักษณะเปราะ โดยส่วนที่เหลือเป็นผักไข่ที่มีขนาดใหญ่กว่า ไข่ไม่มีสีชมพูจางปนสีดำดำของสารสกัด พบมีตัวอ่อนของหอยอยู่ภายในแต่ไม่ฟักออกมาเช่นเดียวกับการตรวจสอบครั้งแรก ซึ่งตัวอ่อนเหล่านั้นไม่มีการเคลื่อนไหวเมื่อใช้เข็มเย็บทดสอบดูภาวะการตายของตัวอ่อนพบว่าชิ้นส่วนของตัวอ่อน หลุดออกมาง่าย เช่น ตำแหน่งที่เห็นส่วนฝาปิดเปลือก (Operculum) (ภาพที่ 2 d-e) รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 2 การเปลี่ยนแปลงของไข่หอยในกลุ่มควบคุมพบว่ากลุ่มควบคุมที่ 1 และกลุ่มควบคุมที่ 2 สีของไข่เปลี่ยนแปลงจากสีชมพูเข้มเป็นสีชมพูอ่อนจาง มีสีขาวบริเวณเปลือกชัดเจน พบมีลูกหอยออกจากไข่ตั้งแต่วันที่ 4 ของการศึกษา และพร้อมรอยการแตกของเปลือกไข่ให้เห็นทั้งสอง

กลุ่ม ไข่ส่วนที่ยังไม่แตกเมื่อนำมาแกะเพาะเปลือกออกพบตัวอ่อนอยู่ด้านใน และเมื่อครบ 7 วัน พบตัวอ่อนออกจากไข่จำนวนมากขึ้น และเปลือกไข่มีสีขาวคล้ายเปลือกไข่ไก่ (ภาพที่ 2 a-b) ส่วนลูกหอยที่ออกมาอยู่ในกล่องน้ำได้ตะแกรงด้านล่าง เคลื่อนที่ว่องไว มีการรวมกลุ่มเกาะอยู่ด้านข้างและก้นของกล่อง ลูกหอยที่เพิ่งฟักจากไข่ เมื่อนำมาส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ พบมีลักษณะใส เปลือกยังไม่แข็ง มีส่วนแผ่นฝาปิดเปลือก ส่วนหนวดสั้น ๆ ยื่นออกมา สามารถมองเห็นเยื่ออ่อน ซึ่งต่อไปจะเป็นเปลือกแข็งเห็นอวัยวะภายในได้ (ภาพที่ 2 c และ e) และเมื่อศึกษาต่อจนครบ 10 วัน พบตัวอ่อนออกจากไข่เกือบหมด มีฝักไข่บางฝักที่ยังคงมีไข่เหลือไม่ฟักออกมาแต่ในจำนวนน้อยคือ 10-20 ฟอง และพบว่าลูกหอยที่อายุมากขึ้นจะเห็นลวดลายบนเปลือกชัดเจนขึ้น เปลือกมีลักษณะแข็งขึ้นกว่าเดิมและไม่สามารถมองเห็นอวัยวะภายในตัวได้



ภาพที่ 2 The effects of leaf *E. capillifolium* extract on the development and hatching of apple snail egg compared to the control group. a-c) Snail egg clusters of the control group c) The morphology of Juvenile snails from hatched eggs (4 x) d) Snail egg clusters treated with leaf *E. capillifolium* crude extract e) Eggs developed into embryos but were unsuccessful in hatching. f) Morphological characteristics of the developing embryo (4 x) remain in an unhatched egg. F) Eggs cluster undeveloped embryos.

ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบจากใบผักชีขางความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการพัฒนาของตัวอ่อนภายในไข่ (Embryo) 23.34 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการฟักออกจากไข่ของตัวอ่อนมาเป็นลูกหอย 76.66 เปอร์เซ็นต์ โดยในกลุ่มควบคุมทั้งสองแบบพบลูกหอยเชอร์รี่ฟักออกจากไข่ เกือบหมดภายในระยะเวลา 10 วัน ที่ทำการศึกษา ส่วนไข่ที่เหลือในบางฝักมีจำนวนเพียง 10-20 ฟอง ซึ่งอัตราการฟักออกจากไข่ของตัวอ่อนจากการศึกษาครั้งนี้เฉลี่ยสูงกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนับจำนวนลูกหอยเชอร์รี่ในกลุ่มควบคุมที่ 1 ซึ่งไม่มีการฉีดพ่นสารใด ๆ และ กลุ่มควบคุมที่ 2 ซึ่งได้ฉีดพ่นเฉพาะน้ำกลั่น พบว่ากลุ่มควบคุมที่ 1 มีลูกหอยเฉลี่ย 12111 ± 115 ตัว/กลุ่ม ส่วนกลุ่มควบคุมที่ 2 มีลูกหอยเฉลี่ยกลุ่มละ 1278 ± 179 ตัว/กลุ่ม (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 Effect of the leaf *E. capillifolium* extract on the development of *P. canaliculata* eggs

Treatments	Percent (%) of eggs With empty embryo	Percent (%) of eggs with developed embryos but did not hatch	Percent (%) hatched eggs
Control			
Control 1 (untreated anything)	0	0	> 90
Control 2 (spray with only distilled water)	0	0	> 90
Experimental group			
Sprayed with 20 % of leaf <i>E. capillifolium</i> extract	23.34	76.66	0

ตอนที่ 2 ผลของสารสกัดหยาบจากใบผักชีข้างความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ต่อการตายของลูกหอยเชอรี่แรกฟักออกจากไข่ของหอยเชอรี่ด้วยวิธีการสัมผัสกับสาร

ผลการศึกษาสารสกัดหยาบจากใบผักชีข้างความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ต่ออัตราการตายของลูกหอยเชอรี่แรกฟักอายุ 1 วัน จากการสัมผัสกับสารสกัดหยาบปริมาตร 25 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่าลูกหอย-เชอรี่ ในกลุ่มทดลองทั้ง 3 ซ้ำ เมื่อได้สัมผัสกับสารสกัดในระยะเวลาเพียง 5 นาทีแรก จะเก็บตัวอยู่นิ่ง ไม่มีการยื่นอวัยวะใดออกมาให้เห็น เมื่อทำการตรวจสอบผลในเวลา 24 ชั่วโมง พบลูกหอยในกลุ่มทดลองทั้ง 3 ซ้ำ ตายทั้งหมด เมื่อนำมาส่องใต้กล้องจุลทรรศน์และใช้เข็มเปีย แกะบริเวณฝาปิดเปลือก ซึ่งลักษณะยังไม่แข็งมากจะแยกออกจากตัวง่าย (ภาพที่3 c-d) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ให้ลูกหอยเชอรี่สัมผัสกับน้ำกลั่นปริมาตร 25 มิลลิลิตร ไม่พบการตายของลูกหอยเชอรี่ ทั้ง 3 ซ้ำ โดยการสัมผัสกับน้ำใน 5 นาทีแรกพบว่าลูกหอยส่วนหนึ่งมีการขยับบริเวณฝาปิดเปลือก บางส่วนยื่นหนวดออกมา เมื่อครบเวลา 24 ชั่วโมง แรกลูกหอยเหล่านั้นมีการคืบคลานทั่วทั้งจานแก้ว จากการสังเกตใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่าลูกหอยมีการคืบคลานค่อนข้างเร็ว (ภาพที่3 a-b) โดยอัตราการตายของลูกหอยเชอรี่ที่สัมผัสกับสารสกัดหยาบจากใบผักชีข้างเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงดังตารางที่ 3



ภาพที่ 3 Effect of treatments to Newly-hatched juveniles a) Fifty juvenile snails were exposed to distilled water for 24 hours. b) All juvenile snails were active and alive in the control treatment. c) Fifty juvenile stages snails were exposed to a crude extract of *E. capillifolium* leaf at a concentration of 20%. d) The juvenile snails were all inactive and died.

ตารางที่ 3 Mortality of Newly-hatched juveniles of *P. canaliculate* exposed to treatments for 24 hrs.

Treatments	Percent (%) mortality
Control (distilled water)	0
20% of leaf <i>E. capillifolium</i> extract	100

ผลการศึกษาของสารสกัดหอยจากใบผักชีขี้ช้างความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ต่อการตายของหอยเชอรี่ตัวเต็มวัย ด้วยวิธีการสัมผัสกับสาร

ผลการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหอยจากใบผักชีขี้ช้างความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต่อการตายของหอยเชอรี่ตัวเต็มวัย เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ด้วยการให้หอยเชอรี่จำนวน 10 ตัวต่อการทดลอง 1 ซ้ำ ทำการศึกษาทั้งหมดจำนวน 3 ซ้ำ สังเกตพฤติกรรมและการตายในระยะเวลา 24, 48, 72 ชั่วโมง และ 7 วัน ตามลำดับ โดยในกลุ่มควบคุมใช้น้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร แทนสารสกัด รายละเอียดผลการทดลองดังตารางที่ 4 จากการสังเกตพฤติกรรมของหอยเชอรี่ตัวเต็มวัยที่สามารถสืบคลานหนีสารได้มากกว่าลูกหอยเมื่อสัมผัสกับสารสกัด พบว่าหอยเชอรี่ตัวเต็มวัยเมื่อสัมผัสกับสารสกัดหอยจากใบผักชีขี้ช้างในระยะแรกยังคงมีการเคลื่อนที่ แต่ช่วงเวลา 30 นาทีต่อมา หอยมีการเคลื่อนที่ช้าลง และหอยตัวกลับเข้าไปในเปลือก (ภาพที่ 4b) และมีการตายของหอยเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น แตกต่างจากหอยเชอรี่ในกลุ่มควบคุมซึ่งให้สัมผัสกับน้ำกลั่นในปริมาตรและระยะเวลาเท่ากัน หอยในกลุ่มควบคุมมีการเคลื่อนไหว ปีนป่ายด้านข้างกล่องและสืบคลานอยู่บริเวณก้นกล่องที่มีน้ำเล็กน้อย พร้อมกับยื่นส่วนหัวออกมา (ภาพที่ 4) และไม่พบการตายของหอยเชอรี่ในกลุ่มควบคุมเมื่อศึกษาจนครบ 7 วัน

ผลการศึกษาของหอยเชอรี่ตัวเต็มวัยเมื่อสัมผัสกับสารสกัดหอยจากใบผักชีขี้ช้างหลังจากเวลา 72 ชั่วโมง พบเริ่มมีการตายของหอยให้เห็น ส่วนหอยที่ไม่ตายจะอยู่นิ่งๆ ไม่มีการยื่นส่วนใดออกมา และบริเวณฝาปิดเปลือกยังคงปิดสนิท ถ้าหอยตายฝาปิดเปลือกจะเปิดง่าย หรือหลุดออกมา และเมื่อทำการทดสอบด้วยการใช้ปากคีบ ดึงฝาปิดเปลือก พบยังมีแรงต้านการดึงในกรณีที่ยังไม่ตาย และหอยในกลุ่มทดลองมีการปล่อยเมือกซึ่งมีลักษณะเป็นสายออกจากตัวหอย

เล็กน้อย เมื่อทำการศึกษาครบ 7 วัน พบมีหอยตายทั้งหมดจำนวน 14 ตัว คิดเป็นอัตราการตายทั้งหมด 46.67 เปอร์เซ็นต์ ตารางที่ 4 ซึ่งจำนวนหอยที่ลดลงเนื่องจากการตายในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



ภาพที่ 4 Effect of Treatments to adult *P. canaliculate* a) active adult snails exposed to distilled water. b) inactive snails exposed to 20% of leaf *E. capillifolium* extract, dead adults. *canaliculate* after treated with 100 ml leaf *E. capillifolium* extract for 7 days.

ตารางที่ 4 Percentage mortalities of an adult *P. canaliculate* exposed to 20% of leaf *E. capillifolium* extract

Treatments	Treatment volume (ml)	Percentage of mortalities of golden snails after			
		24h	48h	72h	7 days
Control (water)	100	0	0	0	0
20% of leaf <i>E. capillifolium</i> extract	100	0	0	0	46.67

อภิปรายผลการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากใบผักชีข้าง ซึ่งเป็นผักสวนครัวที่นำมาสกัดด้วยการแช่น้ำร้อน ได้สารสกัดหยาบความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (w/v) และใช้สารสกัดหยาบเพียงความเข้มข้นเดียวทดสอบฤทธิ์ที่มีต่อการพัฒนาของไข่หอยเชอรี่ไปเป็นตัวอ่อน (Embryo) การฟักออกจากไข่ของตัวอ่อนมาเป็นลูกหอยวัยอ่อน (juvenile snail) ฤทธิ์ที่มีต่ออัตราการตายของหอยวัยอ่อนแรกฟักออกจากไข่ และฤทธิ์ต่อการตายของหอยเชอรี่ตัวเต็มวัย จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าสารสกัดหยาบจากใบผักชีข้างในความเข้มข้นที่ใช้ยับยั้งการพัฒนากาเจริญเติบโตของไข่ของหอยเชอรี่ ไม่ให้เกิดการพัฒนาเป็นตัวอ่อนภายในไข่ได้บางส่วน และยับยั้งการฟักออกจากไข่ของตัวอ่อนได้เกือบทั้งหมด แต่ทั้งนี้การพบไข่ที่ยังไม่มีตัวอ่อนภายในและตัวอ่อนที่ยังไม่ฟักออกจากไข่นั้นเกิดขึ้นได้เนื่องจากการพัฒนาเป็นตัวอ่อนของไข่และการฟักออกจากไข่ของลูกหอยในแต่ละฝักไข่นั้นต้องใช้เวลาประมาณ

9-10 วัน (Ismail et al., 2019) และผลการศึกษาค้นคว้าเมื่อทำการตรวจสอบใบ ตัวอ่อนภายในใบช่วงวันที่ 7 และวันที่ 10 พบมีผักใบที่ไม่มีตัวอ่อนอยู่ใน 23.34 เปอร์เซ็นต์ และใบที่อยู่รวมในฝักนั้นมีตัวอ่อนแต่ไม่พื้กออกมา 76.66 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งให้ผลตรงข้ามกับใบหอยเชอรี่ในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ฉีดพ่นสารใดกับใบหอยในกลุ่มควบคุมที่ฉีดพ่นเฉพาะ น้ำกลั่น และพบว่าใบที่อยู่รวมกันเป็นกลุ่มในแต่ละฝักใบของกลุ่มควบคุมภายในมีตัวอ่อนให้เห็น และตัวอ่อนเหล่านั้นสามารถพื้กออกมาเป็นลูกหอยได้สูงกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าน้ำซึ่งเป็นตัวทำลายของสารสกัดไม่มีผลไปรบกวน การพัฒนาการเป็นตัวอ่อนภายในใบที่เรียงซ้อนกันเป็นชั้นๆ ภายในฝักใบ และใบเหล่านั้นมีออกซิเจนเพียงพอที่นำไปใช้ในกระบวนการดังกล่าว (Horn et al., 2008) จากการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่าลูกหอยวัยแรกพื้กออกจากใบเมื่อสัมผัสกับ สารสกัดหยาบจากผักชีข้างแล้วตายทั้งหมดด้วยอัตราการตายสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างจากกลุ่มควบคุม อย่างชัดเจน และหอยตัวเต็มวัยเมื่อสัมผัสกับสารสกัดหยาบจากใบผักชีข้างปริมาณ 100 มิลลิลิตร ในระยะเวลา 7 วันนั้นอัตราการตาย 46.67 เปอร์เซ็นต์ ทำให้หอยในกลุ่มทดลองลดลงแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ($p < 0.05$)

ดังนั้นการที่ใบบางส่วนไม่สามารถพัฒนาไปเป็นตัวอ่อนได้ การที่ตัวอ่อนของหอยเชอรี่ไม่สามารถพื้กออกจากใบได้ การตายของลูกหอยเชอรี่วัยแรกพื้กออกจากใบทั้งหมด และการตายของหอยเชอรี่ตัวเต็มวัย เมื่อสัมผัสกับ สารสกัดหยาบจากใบผักชีข้างนั้นเป็นผลมาจากสารประกอบที่อยู่ในสารสกัดหยาบจากใบผักชีข้าง จากรายงานถึง สารประกอบที่พบในผักชีข้างและสารที่พบในพืชซึ่งอยู่ในสกุลผักชีข้างของ Tabanca et al. (2010) ระบุว่าในผักชีข้าง มีสารมาลาไธออล ที่มีฤทธิ์หลักในการฆ่าแมลง และจากรายงานที่ระบุว่าพืชวงศ์ทานตะวัน (*Asteraceae*) สกุล *Eupatorium* ซึ่งเป็นสกุลของผักชีข้างมีสารหลายชนิดที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น อนุพันธ์เซสควิเทอร์พีนแลกโตน ฟลาโวนอยด์ อนุพันธ์ของกรดคาเฟอิก สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบไตรเทอร์พีน (Hensel et al., 2011; Tabanca et al., 2010) นอกจากนี้ Sellers and Ferrell. (2013) ยังพบว่าใบผักชีข้างมีส่วนประกอบของ สารทรินเทออล ซึ่งเป็นสารพิษที่มีความเป็นพิษต่ำ แต่ทำให้สัตว์เลี้ยง เช่น โคเกิดการสูญเสียน้ำเมื่อกินผักชีข้าง และผล การศึกษาสารสกัดจากใบผักชีข้างในครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Demetillo et al. (2015) ที่พบว่าสกัด หยาบจากใบตะไคร้ (*Cymbopogon citratus*) เมื่อฉีดพ่นลงบนใบหอยเชอรี่ มีผลยับยั้งการพัฒนาเป็นตัวอ่อน ภายในใบ สามารถยับยั้งการพื้กออกจากใบของตัวอ่อน และสารสกัดจากใบตะไคร้ที่มีความเข้มข้นระดับสูงมีผลทำให้หอย เชอรี่ตัวเต็มวัยตาย เนื่องจากสารสกัดหยาบของใบตะไคร้มีส่วนประกอบของสารกลุ่มซาโปนิน (Saponins) และ ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) โดยสารเหล่านี้มีฤทธิ์ในการฆ่าหอย ด้วยการทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงช่วงเวลาการพัฒนา เป็นตัวอ่อนภายในใบ เปลี่ยนแปลงช่วงเวลาในการพื้กออกจากใบของตัวอ่อน จนเกิดความผิดปกติของตัวอ่อนจนไม่ สามารถพื้กออกมาได้ ซึ่งการศึกษาดังกล่าวนับสนับสนุนรายงานการศึกษาของ Musman et al. (2013) ที่พบว่าสารสกัด หยาบจากเมล็ดของจิกสวน (*Barringtonia racemose*) มีผลยับยั้งการพื้กออกจากใบของตัวอ่อนหอยเชอรี่ เพราะใน สารสกัดนั้นมีส่วนประกอบของสารกลุ่มซาโปนินและฟลาโวนอยด์ ที่มีฤทธิ์ฆ่าหอยและยับยั้งการพื้กออกจากใบของ ตัวอ่อน และผลการศึกษาดังกล่าวนี้ได้มีการยืนยันจากรายงาน ของ Sisa et al. (2016) ที่พบว่ายาฆ่าหอย เมทอลดีไฮด์ (Metaldehyde) และนิโคซามิเด (Niclosamide) นอกจากสามารถฆ่าหอยได้แล้วยังมีฤทธิ์ยับยั้งการพื้กออกจากใบ ของตัวอ่อนหอยเชอรี่ได้ด้วยจากผลการทดสอบโดยการนำยาฆ่าหอย เมทอลดีไฮด์และนิโคซามิเด มาผสมกับน้ำกลั่นใน ความเข้มข้น 5 และ 81.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และนำไปฉีดพ่นบนฝักใบหอยเชอรี่แล้วพบว่าตัวอ่อนของหอยเชอรี่ไม่ สามารถพื้กออกจากใบได้

จากรายงานสารที่พบในพืชวงศ์ทานตะวัน (Asteraceae) สกุล *Eupatorium* ซึ่งเป็นสกุลเดียวกับผักชีช้างที่มี ฟลาโวนอยด์ เป็นส่วนประกอบเช่นเดียวกับรายงานการศึกษาของ Demetillo et al. (2015) และ Musman et al. (2013) และรายงานการศึกษาที่พบสารพิษ มาลาไธออล และ สารพรีไมทอลในผักชีช้างตามที่กล่าวข้างต้นนั้น จึงน่าจะเป็นสารที่มีผลต่อการยับยั้งการพัฒนานเป็นตัวอ่อนของไข่หอยเชอรี่ ที่สามารถยับยั้งการฟักออกจากไข่ของ ตัวอ่อน และทำให้ลูกหอยเชอรี่วัยแรกฟักและหอยเชอรี่ตัวเต็มวัยตายได้ จากผลการศึกษาในเบื้องต้นครั้งนี้พบว่า สารสกัดหยาบจากใบผักชีช้างที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อการพัฒนาของการเจริญเติบโตในทุกระยะของหอย เชอรี่ และมีผลสูงสุดต่อลูกหอยเชอรี่วัยแรกฟักออกจากไข่ทำให้มีอัตราการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ จึงเป็นไปได้ที่ จะนำไปผักชีช้างไปพัฒนาประยุกต์ใช้เป็นสารกำจัดหอยเชอรี่ แต่มีข้อแนะนำคือควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงสารที่เป็น องค์ประกอบในผักชีช้าง (Chemical composition) ซึ่งมีฤทธิ์ต่อหอยเชอรี่ในระยะต่าง ๆ วิธีการสกัด และทำ การทดสอบประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ที่มีผลต่อการควบคุมและกำจัดหอยเชอรี่ต่อไป

สรุปผลการวิจัย

สารสกัดหยาบจากใบผักชีช้างด้วยวิธีแช่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร สามารถยับยั้ง การพัฒนานเป็นตัวอ่อนของไข่หอยเชอรี่ได้บางส่วน สามารถยับยั้งการฟักออกจากไข่ของตัวอ่อนได้ 76.66 เปอร์เซ็นต์ และมีประสิทธิภาพสูงสุดต่อการกำจัดลูกหอยเชอรี่แรกฟักออกจากไข่ซึ่งทำให้มีอัตราการตายสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ สาร สกัดหยาบจากใบผักชีช้างความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำให้หอยเชอรี่ตัวเต็มวัยมีอัตราการตาย 46.67 เปอร์เซ็นต์ จึงมีแนวโน้มที่สามารถพัฒนาหรือนำใบผักชีไปเป็นยาฆ่าหอยเชอรี่ได้โดยไม่มีสารตกค้างในธรรมชาติ และเป็นอันตรายต่อผู้ใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่สนับสนุนอุปกรณ์ในการศึกษา

เอกสารอ้างอิง

- ตรัย วงษ์ศิริ อภิญญา โชติญาโณ และ รัชดาภรณ์ เบญจวัฒนานนท์. (2023). ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชมอลลัส ซิเดสเพื่อการควบคุมหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*) *วารสารเกษตรพระวรุณ*, 20(2): 167–176.
- สุพรรณภูมิ เลี้ยงสาย แพรพลอย วงศ์สุรินทร์ และ กรกษ ชันจิรกุล.(2021). ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจาก ผักตบชวาต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักกระเฉดโคก *แก่นเกษตร*, 1, 924-928.
- สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. (2561). มติคณะรัฐมนตรี เมื่อวันที่ 20 กุมภาพันธ์ 2561 เรื่อง มาตรการป้องกัน ควบคุม และกำจัดชนิดพันธุ์ต่างถิ่น กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและ สิ่งแวดล้อม กรุงเทพฯ 30
- Azmi, W. A., Khoo, S. C., Ng, L. C., Baharuddin, N., Abd Aziz, A., & Ma, N. L. (2022). The current trend in biological control approaches in the mitigation of golden apple snail *Pomacea* spp. *Biological Control*, 175, 105060.
- Chaichana, R., & Joshi, R. C. (2018). Invasive apple snails (*Pomacea* spp) in Thailand: current status and integrated management. *Agriculture Development*, 3, 26-30. Access June 25, 2024,

Retrieved from https://taa-international.org/wp-content/uploads/2018/07/Ag4Dev33Web_version.pdf#page=28

- Demetillo, M. T., Baguio, M. L., Limitares, D. E., Madjos, G. G., & Abrenica-Adamat, L. R. (2015). Effect of *Cymbopogon citratus* (lemon grass) crude leaf extracts on the developmental stages of *Pomacea canaliculata* (golden apple snail). *AES Bioflux*, 7(3), 460-467.
- Djeddour, D., Pratt, C., Makale, F., Rwomushana, I., & Day, R. (2021). The apple snail, *Pomacea canaliculata*: an evidence note on invasiveness and potential economic impacts for East Africa. *CABI Work. Pap*, 21, 77.
- Hensel, A., Maas, M., Sendker, J., Lechtenberg, M., Petereit, F., Deters, A., ... & Stark, T. (2011). *Eupatorium perfoliatum* L.: phytochemistry, traditional use and current applications. *Journal of Ethnopharmacology*, 138(3), 641-651.
- Horn, K. C., Johnson, S. D., Boles, K. M., Moore, A., Siemann, E., & Gabler, C. A. (2008). Factors affecting hatching success of golden apple snail eggs: effects of water immersion and cannibalism. *Wetlands*, 28, 544-549.
- Ip, K. K., & Qiu JianWen, Q. J. (2017). Invasive apple snails: *Ecology and Management in Hong Kong*. pp. 146-65. Accessed July 5, 2024, Retrieved from file:///C:/Users/ASUS/Downloads/RO_hkbu_staff_publication-6401.pdf
- Irsyam, A. S. D., & Hariri, M. R. (2016). *Eupatorium capillifolium* (Lam.) Small ex Porter & Britton (Asteraceae: *Eupatorieae*), Rekaman Baru untuk Flora Jawa. *Jurnal Al-Kauniah*, 9(2), 80-86.
- Ismail, H. N., Mazlan, M. F., Ahmad Fajri, F. A., Syed Ihsan, S. A. I., & Musa, N. N. (2019). Combined effect of temperature and light on the egg hatchability in *Pomaceae canaliculata* (Gastropoda: Ampuliriidae) from Malaysia. *Journal of Academia*, 7(2), 97-103.
- Lowe S., Browne M., Boudjelas S., De Poorter M. (2000) 100 of the World's Worst Invasive Alien Species A selection from the Global Invasive Species Database. Published by The Invasive Species Specialist Group (ISSG) a Specialist Group of the Species Survival Commission (SSC) of the World Conservation Union (IUCN), 12pp. Accessed July 2, 2024, Retrieved from <https://portals.iucn.org/library/sites/library/files/documents/2000-126.pdf>
- Musman, M., Kamaruzzaman, S., Karina, S., Rizqi, R., & Arisca, F. (2013). A preliminary study on the anti-hatching of freshwater golden apple snail *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae) eggs from *Barringtonia racemosa* (Magnoliopsida: Lecythidaceae) seeds extract. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 6(4), 394-398.
- Rodriguez, C., Prieto, G. I., Vega, I. A., & Castro-Vazquez, A. (2019). Functional and evolutionary perspectives on gill structures of an obligate air-breathing, aquatic snail. *PeerJ*, 7, e7342.
- Sellers, B. A., & Ferrell, J. A. (2013). Dogfennel (*Eupatorium capillifolium*): Biology and control. SS-AGR-224. University of Florida Institute of Food and Agricultural Sciences, Gainesville,

F l o r i d a . Accessed July 5, 2567, Retrieved from
[file:///C:/Users/nutch/Downloads/cmcgillicuddy,+AG233%20\(4\).pdf](file:///C:/Users/nutch/Downloads/cmcgillicuddy,+AG233%20(4).pdf)

- Sisa, M. H., Aspani, F., Massaguni, R., Awang Damit, H., & Joseph, H. (2016). Inhibition of Egg Hatching of the Golden Apple Snail by Synthetic Molluscicides. In N.A. Yacob et al. (eds), *Regional Conference on Science, Technology and Social Sciences (RCSTSS 2014) Science and Technology (pp. 463-471)*. Springer Singapore.
- Sobrinho, A. C. N., de Morais, S. M., de Souza, E. B., & dos Santos Fontenelle, R. O. (2017). The genus *Eupatorium* L. (Asteraceae): A review of their antimicrobial activity. *Journal of Medicinal Plants Research*, 11(3), 43-57.
- Tabanca, N., Bernier, U. R., Tsikolia, M., Becnel, J. J., Sampson, B., Werle, C., ... & Wedge, D. E. (2010). *Eupatorium capillifolium* essential oil: chemical composition, antifungal activity, and insecticidal activity. *Natural Product Communications*, 5(9), 1934578X1000500913.
- Wu, J. Y., Wu, Y. T., Li, M. C., Chiu, Y. W., Liu, M. Y., & Liu, L. L. (2011). Reproduction and Juvenile Growth of the Invasive Apple Snails *Pomacea canaliculata* and *P. scalaris* (Gastropoda: Ampullariidae) in Taiwan. *Zoological Studies*, 50(1), 61-68.