

## ผลของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาข้างต่อหนอนใยผัก

สุนทร พิพิธแสงจันทร์<sup>1</sup> สนั่น สุภธีรสกุล<sup>2</sup> ทิวา บุตรผา<sup>3</sup> นฤบดี ผดุงสมบัติ<sup>4</sup>  
และ ก้าน จันทร์พรหมมา<sup>5</sup>

### Abstract

Pipithsangchan, S.<sup>1</sup>, Subhadhirasakul, S.<sup>2</sup>, Butpha, T.<sup>3</sup>, Phadoongsombat, N.<sup>4</sup>  
and Chantrapromma, K.<sup>5</sup>

Effects of extracts from Tiam seeds on diamondback moth  
(*Plutella xylostella* Linn.)

Songklanakarin J. Sci. Technol., 2004, 26(2) : 221-232

n-Hexane and methanolic extracts from the seeds of *Azadirachta excelsa* Jack. (Tiam) and *A. indica* var. *siamensis* Valetton, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* HD-1 and abamectin were tested for mortality effect on the 2<sup>nd</sup> and the 3<sup>rd</sup> instar larvae of diamondback moth (*Plutella xylostella* Linn.) by topical application and feeding methods. Among the seed extracts, the methanolic extract from *A. excelsa* was the most

<sup>1,3</sup>Department of Pest Management, Faculty of Natural Resources, <sup>2</sup>Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany, <sup>4</sup>Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90110 Thailand <sup>5</sup>Institute of Science, Walailak University, Thasala, Nakhon Si Thammarat, 80160 Thailand.

<sup>1</sup>Ph.D.(Entomology), <sup>3</sup>วท.ม.(เกษตร), ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ <sup>2</sup>Ph.D.(Chemistry of Natural Products) รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ <sup>4</sup>ภ.ม.(เภสัชเคมี) ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110 <sup>5</sup>Ph.D.(Organic Chemistry) รองศาสตราจารย์ สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ อำเภอท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช 80160

Corresponding e-mail: ssanan@ratree.psu.ac.th

รับต้นฉบับ 29 เมษายน 2546      รับลงพิมพ์ 24 ตุลาคม 2546

active. Its  $LC_{50}$  at 72 hours after testing on the 2<sup>nd</sup> and the 3<sup>rd</sup> instar larvae of diamondback moth using topical application was 16,298.4 mg/l and 28,225.4 mg/l, respectively, and that by feeding method was 3,921.1 mg/l and 5,136.2 mg/l, respectively. The methanolic extract was more active than the n-hexane extract in each plant. Among the tested samples, abamectin, a chemical insecticide, showed the highest insecticidal effect. Its  $LC_{50}$  at 72 hours after testing on the 2<sup>nd</sup> and the 3<sup>rd</sup> instar larvae of diamondback moth using topical application was 81.3 mg/l and 227.9 mg/l, respectively, and that by feeding was 44.2 mg/l and 112.8 mg/l, respectively. The methanolic extract of *A. excelsa* to reduce the population of the 2<sup>nd</sup> instar larvae of diamondback moth on Chinese kale (*Brassica alboglabra* Bailey) was not significantly different from that of the methanolic extract of *A. indica* var. *siamensis*. The n-hexane extract at the concentration of 5% of *A. excelsa* to show antioviposition effect of the diamondback moth on Chinese kale was more active than the n-hexane extract of *A. indica* var. *siamensis*.

**Key words :** diamondback moth, *Plutella xylostella*, *Azadirachta excelsa*, *Azadirachta indica* var. *siamensis*, topical application, antioviposition, contact poisoning, feeding poisoning

### บทคัดย่อ

สุนทร พิพิธแสงจันทร์ สนั่น ศุภธีรสกุล ทิวา บุตรผา นฤบดี ผดุงสมบัติ และ ก้าน จันทร์พรหมมา  
ผลของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาข้างต่อหนอนใยผัก  
ว. สงขลานครินทร์ วทท. 2547 26(2) : 221-232

สารสกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซล และเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างและสะเดาไทย เชื้อแบคทีเรียบาซิลลัส เธรริงจีโอเนซิส (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* HD-1) และอบาเมคติน (abamectin) เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ฆ่าหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* Linn.) วัยที่ 2 และวัยที่ 3 โดยวิธีการสัมผัสและการกิน พบว่าในบรรดาสารสกัดจากเมล็ด สารสกัดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างมีฤทธิ์ดีที่สุด มีค่า  $LC_{50}$  ที่เวลา 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบต่อหนอนใยผักวัยที่ 2 และวัยที่ 3 โดยวิธีการสัมผัส คือ 16,298.4 มก./ลิตร และ 28,225.4 มก./ลิตร ตามลำดับ และโดยวิธีกิน คือ 3,921.1 มก./ลิตร และ 5,136.2 มก./ลิตร ตามลำดับ สารสกัดด้วยเมธานอลมีฤทธิ์ดีกว่าสารสกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซลในพืชชนิดเดียวกัน ในบรรดาตัวอย่างที่นำมาทดสอบทั้งหมด อบาเมคตินซึ่งเป็นสารฆ่าแมลงที่เป็นสารเคมีออกฤทธิ์ในการฆ่าหนอนใยผักได้ดีที่สุด โดยมีค่า  $LC_{50}$  ที่เวลา 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบต่อหนอนใยผักวัยที่ 2 และวัยที่ 3 โดยวิธีการสัมผัส คือ 81.3 มก./ลิตร และ 227.9 มก./ลิตร ตามลำดับ และโดยวิธีกิน คือ 44.2 มก./ลิตร และ 112.8 มก./ลิตร ตามลำดับ สารสกัดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างมีฤทธิ์ในการลดจำนวนประชากรหนอนใยผักบนต้นผักกวางตุ้งไม่แตกต่างจากสารสกัดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาไทยอย่างมีนัยสำคัญ แต่สารสกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซลจากเมล็ดสะเดาข้างมีฤทธิ์ในการยับยั้งการวางไข่บนต้นผักกวางตุ้งดีกว่าสารสกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซลจากเมล็ดสะเดาไทยที่ความเข้มข้น 5%

หนอนใยผัก (*Plutella xylostella* Linn.) เป็นศัตรูพืชที่สร้างความเสียหายทางเศรษฐกิจ โดยเฉพาะพืชผักตระกูลกะหล่ำ โดยตัวหนอนจะกัดกินใบผักให้เป็นรูหรือกัดกินผิวใบทางด้านล่างเหลือแต่เยื่อบางๆ ทางด้านบนของใบ จึงได้มีการควบคุมกันอย่างกว้างขวาง ซึ่งส่วนใหญ่จะใช้วิธีการควบคุมโดยสารเคมี เช่น ในระหว่างปี 2508-2521

ได้มีการทดสอบประสิทธิภาพของสาร malathion, mevinphos, endrin, naled, azinphos-ethyl และ carbaryl ในเขตภาคเหนือของประเทศไทย พบว่าสารดังกล่าวสามารถใช้ควบคุมหนอนใยผักได้ดี ยกเว้นสาร carbaryl ต่อมาได้มีการนำ quinalphos, parathion, methamidophos, methomyl และ acephate เข้ามาใช้ในการควบคุมหนอน

ใยผัก ผลปรากฏว่า methomyl มีประสิทธิภาพในการควบคุมเป็นที่น่าพอใจ (Rushtapakornchai and Vattanatangun, 1986) ปัญหาจากการใช้สารเคมีสังเคราะห์ในการกำจัดแมลงศัตรูพืชก็คือทำให้แมลงเกิดการดื้อยา ศัตรูธรรมชาติถูกทำลาย เกิดการระบาดของแมลงศัตรูชนิดใหม่ เกิดการตกค้างของสารเคมีในสิ่งแวดล้อม และเกิดความ เป็นพิษต่อมนุษย์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จากข้อเสียในการใช้สารเคมีสังเคราะห์ในการควบคุมแมลงที่กล่าวมานี้ (อารมณ, 2536) จึงทำให้มีการศึกษาสารสกัดจากธรรมชาติ เพื่อนำมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช โดยมีการศึกษา สารสกัดจากพืชหลายชนิดด้วยกันในการนำมาใช้เพื่อ ควบคุมหนอนใยผัก เช่น สารสกัดจากใบสาบเสือ เหง้า ว่านน้ำ เหง้าข่า เหง้าขมิ้นชัน ลำต้นไผ่ตม และลำต้น ตะไคร้หอม (สำนักวิจัยและพัฒนาการผลิตสารธรรมชาติ, 2541)

ปัจจุบันสะเดาเป็นพืชที่ได้รับความสนใจมากในแง่ ของการนำสารสกัดไปใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช โดยเฉพาะเมล็ดสะเดา ขวัญชัย (2540) ได้รายงานไว้ว่าสะเดา ที่พบในประเทศไทย มีทั้งหมด 3 ชนิด คือสะเดาอินเดีย (*Azadirachta indica* Juss.) ซึ่งพบมากในภาคเหนือ ภาค ตะวันออก และตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ใน ขณะที่สะเดาไทย (*A. indica* var. *siamensis* Valetton) จะ พบมากในภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียง เหนือ ซึ่งเป็นพืชที่นำมาใช้กันมากในการควบคุมแมลง ศัตรูพืช เนื่องจากในเมล็ดและใบของพืชชนิดนี้มีสาร azadirachtin ซึ่งมีผลในการยับยั้งการกินและการลอก คราบของแมลง ชนิดสุดท้ายคือ สะเดาข้างหรือไม้เทียม (*A. excelsa* Jack.) ซึ่งจะพบมากในภาคใต้ของประเทศไทย เท่านั้น (Somyos and Boonchoop, 1995) ในเมล็ด สะเดาข้างนอกจากประกอบด้วยสาร azadirachtin แล้วยัง พบว่ามี 1-tigloyl-3-acetylazadirachtol ซึ่งมีรายงานว่า สาร 1-tigloyl-3-acetylazadirachtol มีฤทธิ์ในการควบคุม หนอนใยผักและแมลงศัตรูพืชอื่นๆ ได้ดีกว่าสาร azadi- rachtin (Klaus *et al.*, 1998) ยังไม่พบรายงานการศึกษา ถึงผลของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาข้างต่อการควบคุมหนอน ใยผัก ในแง่การทดสอบพิษทางการสัมผัส การทดสอบพิษ ทางการกิน การลดปริมาณประชากรหนอนใยผักบนต้นพืช และการยับยั้งการวางไข่ ดังนั้นการศึกษาถึงผลในการ

ควบคุมหนอนใยผักจากสารสกัดเมล็ดสะเดาข้าง ซึ่งเป็น วัตถุประสงค์ที่สามารถหาได้ในภาคใต้ของไทย จึงเป็นสิ่งที่น่า สนใจ และคาดว่าจะจะเป็นประโยชน์ต่อการค้นพบการใช้สาร จากธรรมชาติ โดยเฉพาะจากทรัพยากรที่มีในท้องถิ่นภาค ใต้ ในการควบคุมหนอนใยผักหรือแมลงศัตรูพืชชนิดอื่นได้ ในอนาคต

### อุปกรณ์และวิธีการ

#### การเพาะเลี้ยงหนอนใยผัก

สำรวจและเก็บตัวอย่างหนอนใยผักจากแปลงของ เกษตรกรในพื้นที่บ้านแพรกสุวรรณ ต.บางเหริย อ.บางกล่ำ จ.สงขลา นำมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ ประมาณ 25°C ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 80% ใช้ใบ ค่ะนำปลอดสารพิษ ที่มีตราประทับของกรมวิชาการเกษตร ว่าเป็นผักปลอดสารพิษเป็นอาหารให้แก่หนอนใยผัก ทำ การเพาะเลี้ยงตัวอ่อนของหนอนใยผักในกล่องพลาสติก สีเหลี่ยมขนาดกว้าง × ยาว × สูง เท่ากับ 8 × 12 × 6 นิ้ว หนอนใยผักที่มีอายุประมาณ 7-10 วัน จะเริ่มหัดตัวและ สร้างใยหุ้มลำตัวเพื่อที่จะเข้าดักแด้ ประมาณ 3-4 วันจะ ลอกคราบออกเป็นตัวเต็มวัยซึ่งก็คือผีเสื้อหนอนใยผัก นำ ตัวเต็มวัยที่ได้ใส่กรงเลี้ยงแมลงที่มีสาลิซูปน้ำผึ้ง 10% และ น้ำ เป็นอาหารของตัวเต็มวัย เพื่อให้ตัวเต็มวัยผสมพันธุ์กัน ตัวเต็มวัยจะเริ่มวางไข่หลังจากลอกคราบออกจากดักแด้ ประมาณ 1 วัน วางดักแด้ค้ำค้ำที่ได้จากการเพาะเมล็ดไว้ในจานเพาะเลี้ยง (petri dish) ที่มีอายุประมาณ 7 วัน ไว้ ในกรงให้เป็นที่วางไข่ของผีเสื้อหนอนใยผัก ทำการเก็บไข่ โดยตัดเอาต้นคะน้าที่ผีเสื้อหนอนใยผักวางไข่แล้ว มาไว้ใน กล่องพลาสติกตั้งที่กล่าวมาข้างต้น นำก้นคะน้าต้นใหม่ที่ เพาะไว้ วางไว้ในกรงเลี้ยงผีเสื้อหนอนใยผักเพื่อทดแทน ดักแด้ที่ตักออกไป ทำการเก็บไข่และเปลี่ยนดักแด้ค้ำค้ำ ใหม่ทุกวัน ตัวเต็มวัยสามารถวางไข่ได้ 4-5 วัน หลังจาก นั้นจะตาย ไข่ใช้เวลาประมาณ 3-4 วันจึงฟักออกเป็นตัว หนอน ใช้ใบคะน้าปลอดสารพิษเป็นอาหารเลี้ยงหนอนใย ผักตลอดการทดลอง

#### การเตรียมสารสกัด

นำผลสะเดาข้างสุกที่เก็บรวบรวมจากจังหวัดตรัง

พัทลุง นครศรีธรรมราช และสงขลา และผลสะเดาไทยสุก ที่เก็บจากจังหวัดสุพรรณบุรี มาบีบและแยกเนื้อผลออกให้หมด จนเหลือแต่เมล็ด ล้างเมล็ดด้วยน้ำ ฟึ่งแดดจนแห้ง จากนั้นนำเมล็ดมาแกะเปลือกออกเหลือแต่เนื้อในเมล็ด นำเนื้อในเมล็ดมาบดเป็นผงหยาบด้วยเครื่องบดสมุนไพร

นำผงหยาบของเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง และสะเดาไทยอย่างละ 10 กก. แซ่สกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซน ในอัตราส่วน ตัวอย่าง: นอร์มอลเฮกเซน = 1:5 เป็นเวลา 7 วัน กรองแล้วระเหยให้แห้งภายใต้สภาพลดความดัน โดยใช้เครื่องกลั่นตัวทำลายแบบหมุนที่ใช้อุณหภูมิและความดันต่ำ ซึ่งจะได้สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซน (crude n-hexane extract) กากของเนื้อในเมล็ดนำมาแช่สกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซนอีก 2 ครั้ง กรองและระเหยแห้งด้วยวิธีการที่กล่าวมาแล้วข้างต้นนี้ นำสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซนทั้ง 3 ครั้งมารวมกัน ได้สารสกัดหยาบด้วยนอร์มอลเฮกเซน (n-hexane extract) ซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำมันของพืชแต่ละชนิด กากที่เหลือจากการสกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซนแล้ว นำมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 55°C แล้วนำมาแช่สกัดด้วยเมธานอลด้วยวิธีการเดียวกับที่สกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซน และทำการสกัดด้วยเมธานอลทั้งหมด 3 ครั้งเช่นเดียวกัน จนได้สารสกัดด้วยเมธานอล (methanolic extract) น้ำหนักที่ได้ของสารสกัดหยาบด้วยนอร์มอลเฮกเซนจากเมล็ดสะเดาช้างและสะเดาไทยคือ 4,315.3 ก. (43.2% ของเนื้อในเมล็ดแห้ง) และ 3,257.7 ก. (32.6% ของเนื้อในเมล็ดแห้ง) ตามลำดับ ส่วนน้ำหนักที่ได้ของสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลของเมล็ดสะเดาช้างและสะเดาไทยคือ 1,452.7 ก. (14.5% ของเนื้อในเมล็ดแห้ง) และ 1,132.9 ก. (11.3% ของเนื้อในเมล็ดแห้ง) ตามลำดับ

#### การทดสอบฤทธิ์ต่อหนอนใยผักของสารสกัด

นำสารสกัดหยาบด้วยนอร์มอลเฮกเซนและสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาช้างและเมล็ดสะเดาไทยมาทดสอบฤทธิ์ต่อหนอนใยผักในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบที่ระดับอุณหภูมิ 25°C ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 80% ใช้แผนการทดลองแบบสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) (สุรพล, 2536) ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 50, 100, 250, 500, 1,000, 2,000,

4,000, 6,000, 8,000, 12,000, 15,000, 20,000, 25,000, และ 30,000 มก./ลิตร โดยการเจือจางสารสกัดเพื่อใช้ทดสอบ สารสกัดหยาบด้วยนอร์มอลเฮกเซนใช้อะซีโตนเป็นตัวทำลาย สารสกัดหยาบด้วยเมธานอลใช้เอทานอลเป็นตัวทำลาย เปรียบเทียบกับสารละลายของเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสเทอริงจี้เอ็นซิส (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* HD-1, Thuricide®) และสารฆ่าแมลงอบาเมคติน (abamectin, Masmec®) ซึ่งใช้น้ำเป็นตัวทำลาย โดยตัวทำลายต่างๆ ที่กล่าวถึงนำมาใช้เป็นสารละลายของชุดควบคุม (control) ในการทดลองจะใช้หนอนใยผักวัยที่ 2 (น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 2.4 มก.) และหนอนใยผักวัยที่ 3 (น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 3.8 มก.) มาทดสอบ นำสารสกัดแต่ละความเข้มข้นมาทดสอบกับหนอนใยผัก 5 กลุ่ม ใช้หนอนใยผักกลุ่มละ 5 ตัว โดยแบ่งวิธีการทดสอบเป็น 4 วิธี คือ

#### 1. การทดสอบพิษทางการสัมผัส (contact toxicity)

นำสารละลายแต่ละความเข้มข้น และสารละลายชุดควบคุม หยดลงบนบริเวณอกปล้องแรก (pronotum) ของหนอนใยผักที่เตรียมไว้ในจานเพาะเลี้ยง (petri dish) โดยใช้เครื่อง micro application (Burkard microapplicator 900x) ในอัตรา 1 ไมโครลิตร/ตัว ให้ใบค่น้ำขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 ซม. เป็นอาหารของตัวหนอนในอัตราหนอน 1 ตัวต่อใบค่น้ำ 1 ชิ้น นับจำนวนตายของหนอนใยผักเมื่อเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง นำข้อมูลร้อยละการตายของหนอนใยผักไปวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS คำนวณหาความเข้มข้นที่ทำให้ตาย 50% (LC<sub>50</sub>) และ 95% (LC<sub>95</sub>) ที่ 72 ชั่วโมง โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป probit analysis ของ Raymond (1985) ตามวิธีการคำนวณของ Finney (1971) สังเกตการเข้าสู่ระยะดักแด้ของหนอนที่รอดชีวิตต่อไปอีก 48 ชั่วโมง

#### 2. การทดสอบพิษทางการกิน (feeding toxicity)

ตัดใบค่น้ำปลอดสารพิษให้เป็นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 ซม. จุ่มลงไปนสารละลายแต่ละความเข้มข้น และสารละลายชุดควบคุม เป็นเวลา 10 วินาที ผึ่งลมให้แห้ง แล้วนำไปให้หนอนใยผักที่เตรียมไว้กินเป็นอาหารในอัตราส่วนหนอน 1 ตัวต่อใบค่น้ำ 1 ชิ้น นับจำนวนตายของหนอนใยผักเมื่อเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง

จากนั้นนำไปคำนวณหาค่า  $LC_{50}$  และ  $LC_{95}$  ตามวิธีการในข้อ 1

### 3. การทดสอบการลดปริมาณประชากรหนอนใยผักบนต้นพืช

ใช้สารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างและสะเดาไทย เนื่องจากเป็นสารสกัดที่มีความเป็นพิษทางการสัมผัสและการกินมากกว่าสารสกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซน ในความเข้มข้นที่สูง 3 ความเข้มข้นคือที่ 20,000, 25,000 และ 30,000 มก/ลิตร มาทดสอบ เตรียมตัวอย่างที่จะทดสอบโดยใช้น้ำเป็นตัวละลาย ใช้พอลิออกซีเอธิลีนซอร์บิแทนโมโนโอเลต (polyoxyethylene sorbitan monooleate, tween 80) เข้มข้น 5% เป็นอิมัลซิฟายเออร์ (Attword and Florence, 1993; Rembold, 1989; Parma and Srivastava, 1986; Buchner, 1985) และใช้พอลิเอซิลแอลคอกซิลเลต (polyacyl alkoxyate, APSA 80) เข้มข้น 3% เป็นสารเพิ่มประสิทธิภาพ เตรียมตัวอย่างโดยการผสมสารสกัดอิมัลซิฟายเออร์และสารเพิ่มประสิทธิภาพเข้าด้วยกันให้ได้สารละลายตัวอย่างที่จะทดสอบมีความเข้มข้นของสารแต่ละชนิดตามที่กำหนดไว้ ใช้ส่วนผสมของพอลิออกซีเอธิลีนซอร์บิแทนโมโนโอเลต (เข้มข้น 5%) กับพอลิเอซิลแอลคอกซิลเลต (เข้มข้น 3%) ในน้ำเป็นสารละลายชุดควบคุม

การทดสอบนี้ใช้ผักกวางตุ้งเป็นอาหารของหนอนใยผักแทนผักคะน้าเนื่องจากต้องทำการเพาะและปลูกต้นผักกวางตุ้งในถุงเพาะเพื่อใช้ในการทดลอง ซึ่งผักกวางตุ้งมีอัตราการเจริญเติบโตดีกว่าผักคะน้า ทำการแยกผักกวางตุ้งอายุ 10 วัน ที่ไม่เคยได้รับสารใดๆ ลงในถุงเพาะถุงละ 1 ต้น เพาะเลี้ยงผักกวางตุ้งในโรงเรือนที่คลุมด้วยตาข่ายพลาสติกจนผักกวางตุ้งมีอายุได้ 20 วัน แบ่งชุดการทดลองตามลำดับความเข้มข้นๆ ละ 5 ซ้ำๆ ละ 5 ต้น ปล่อยหนอนใยผักวัยที่ 2 ลงบนต้นผักกวางตุ้งต้นละ 5 ตัวทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วัน เพื่อให้หนอนใยผักได้ปรับสภาพการดำรงชีวิต นำผักกวางตุ้งออกมาวางนอกโรงเรือนและตรวจนับจำนวนหนอนใยผักที่พบบนต้นผักกวางตุ้ง จากนั้นฉีดพ่นด้วยสารละลายของสารสกัดและสารละลายชุดควบคุมที่เตรียมไว้ด้วยเครื่องฉีดพ่นแบบสะพายหลัง (knapsack sprayer) ระยะห่างระหว่างหัวฉีดกับต้นผักกวางตุ้งคือ 30 ซม. ความดันในถังเท่ากับ 10 บาร์ ฉีดพ่นนาน 10 วินาที/ต้น นำผักกวางตุ้ง

ต้น แล้วนำต้นผักกวางตุ้งเข้าไปในโรงเรือน ปล่อยให้เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ตรวจนับและเปรียบเทียบจำนวนหนอนใยผักที่พบบนต้นผักกวางตุ้งต้นต่อต้น แล้วนำไปคำนวณหาจำนวนและร้อยละที่ลดลงของหนอนใยผักเมื่อเทียบกับชุดควบคุม กำหนดให้จำนวนที่ลดลงในชุดควบคุมเป็น 100%

### 4. การทดสอบการยับยั้งการวางไข่ (antioviposition)

การทดสอบนี้ใช้สารสกัดหยาบด้วยนอร์มอลเฮกเซนจากเมล็ดสะเดาข้างและสะเดาไทย เนื่องจากผลจากการศึกษาเบื้องต้น พบว่าสารสกัดหยาบด้วยนอร์มอลเฮกเซนมีฤทธิ์ในการไล่ผีเสื้อหนอนใยผักดีกว่าสารสกัดหยาบด้วยเมธานอล และการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการวางไข่ ต้องการฤทธิ์ในการไล่แมลงมากกว่า เพราะเมื่อแมลงถูกไล่ จะไม่มีการมาวางไข่ในต้นพืช ซึ่งไม่ก่อให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจ ใช้สารสกัดหยาบด้วยนอร์มอลเฮกเซนจากเมล็ดสะเดาข้างและสะเดาไทยในความเข้มข้น 5%, 10% และ 15% มาทดสอบ เตรียมตัวอย่างที่จะทดสอบในน้ำด้วยวิธีการเดียวกับที่เตรียมตัวอย่างเพื่อการทดสอบการลดประชากรหนอนใยผักบนต้นพืช ใช้พอลิออกซีเอธิลีนซอร์บิแทนโมโนโอเลตเข้มข้น 5% เป็นอิมัลซิฟายเออร์ (Attword and Florence, 1993; Buchner, 1985) และพอลิเอซิลแอลคอกซิลเลตเข้มข้น 3% เป็นสารเพิ่มประสิทธิภาพ และใช้ส่วนผสมของพอลิออกซีเอธิลีนซอร์บิแทนโมโนโอเลต (เข้มข้น 5%) กับพอลิเอซิลแอลคอกซิลเลต (เข้มข้น 3%) ในน้ำเป็นสารละลายชุดควบคุม

แยกผักกวางตุ้งอายุ 10 วัน ที่ไม่เคยได้รับสารใดๆ ลงในถุงเพาะถุงละ 1 ต้น เพาะเลี้ยงผักกวางตุ้งในโรงเรือนที่คลุมด้วยตาข่ายพลาสติกจนผักกวางตุ้งมีอายุได้ 20 วัน นำผักกวางตุ้งออกมาวางนอกโรงเรือน ฉีดพ่นด้วยสารละลายของสารสกัดและชุดควบคุมที่เตรียมไว้ด้วยเครื่องฉีดพ่นแบบสะพายหลัง (knapsack sprayer) ระยะห่างระหว่างหัวฉีดกับต้นผักกวางตุ้งคือ 30 ซม. ความดันในถังเท่ากับ 10 บาร์ ฉีดพ่นนาน 10 วินาที/ต้น นำผักกวางตุ้งที่ฉีดพ่นแล้วเข้าไปไว้ในกรงเลี้ยงแมลงขนาด กว้าง × ยาว × สูง เท่ากับ 10×15×8.5 นิ้ว กรงละ 1 ต้น ปล่อยให้ผีเสื้อหนอนใยผักเพศผู้และเพศเมียที่มีอายุ 1 วัน เข้าไปในกรงๆ ละ 5 คู่ ใช้สาลีชุบน้ำและน้ำผึ้ง 10% เป็นอาหารของผีเสื้อ

เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง ตรวจนับไข่ของผีเสื้อหนอนใยผักบนต้นผักกวางตุ้งแต่ละต้น นำไปคำนวณหาร้อยละที่ลดลงของไข่ผีเสื้อหนอนใยผักเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยกำหนดให้จำนวนไข่ที่พบในชุดควบคุมเป็น 100%

**ผลการทดลองและวิจารณ์**

ผลการทดสอบพิษทางการสัมผัสต่อหนอนใยผักวัยที่ 2 ตาม Table 1 พบว่า เมื่อพิจารณาจากความเข้มข้นที่ทำให้หนอนใยผักตาย 50% (LC<sub>50</sub>) สารสกัดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างมีฤทธิ์ดีที่สุด (LC<sub>50</sub> = 16,298.4 มก./ลิตร) รองลงมาคือสารสกัดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาไทย (LC<sub>50</sub> = 17,243.8 มก./ลิตร) โดยสารสกัดทั้งสองมีฤทธิ์แรงกว่าเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสเธรริงจີเอ็นซิสประมาณ 3 เท่า แต่มีฤทธิ์อ่อนกว่ามาก (ประมาณ 200 เท่า) เมื่อเทียบกับอบามาเมคติน (LC<sub>50</sub> = 81.3 มก./ลิตร) ซึ่งเป็นสารเคมีที่ใช้ควบคุมหนอนใยผักในทางเกษตรกรรมและใช้เป็นชุดควบคุมบวก (positive control) ในการวิจัยนี้ ทั้งนี้เนื่องจากสารที่ออกฤทธิ์ของอบามาเมคติน คือ อเวอเมคตินบี (avermectin B) จัดเป็นสารฆ่าแมลงที่มีความเป็นพิษทางการสัมผัสที่ออกฤทธิ์โดยตรงต่อระบบประสาท (กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2537; สมภาคมไทย-ผู้ประกอบการเคมีการเกษตร, 2537; Brooks and Uden, 1995) โดยบริเวณอกปล้องแรกของหนอนใยผักเป็นบริเวณที่มีปมประสาท (thoracic ganglia) อยู่ ดังนั้นเมื่อสารละลายซึมผ่านเข้าไปในผิวหนัง แล้วเข้าสู่ระบบประสาทดังกล่าวส่งผลให้แมลงเป็นอัมพาตและตายในที่สุด ส่วนสารสกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซนทั้งจากเมล็ดสะเดาข้างและเมล็ดสะเดาไทย มีฤทธิ์อ่อนกว่าสารสกัดด้วยเมธานอล และมีค่าใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสเธรริงจີเอ็นซิส ผลการทดสอบพิษทางการสัมผัสต่อหนอนใยผักวัยที่ 3 ให้ผลไปในทิศทางเดียวกับผลต่อหนอนใยผักวัยที่ 2 กล่าวคือสารสกัดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างมีฤทธิ์ดีที่สุด รองลงมาคือสารสกัดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาไทย และสารสกัดด้วยเมธานอลมีฤทธิ์ดีกว่าสารสกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซน แต่ปริมาณที่ใช้ของสารสกัดต่อหนอนใยผักวัยที่ 3 จะสูงกว่าต่อหนอนใยผักวัยที่ 2 ทั้งในส่วนที่เป็นสารสกัดและชุดควบคุมบวก ที่เป็นเช่นนี้เนื่องมาจากหนอนใยผักวัยที่ 3

**Table 1. The LC<sub>50</sub> and LC<sub>95</sub> values of seed extracts from tiam and neem for the 2<sup>nd</sup> and the 3<sup>rd</sup> instar larvae of diamondback moth by topical application method at 72 hours.**

Sample	The 2 <sup>nd</sup> instar larvae of diamondback moth			The 3 <sup>rd</sup> instar larvae of diamondback moth		
	LC <sub>50</sub>	LC <sub>95</sub>	Fiducial limit	LC <sub>50</sub>	LC <sub>95</sub>	Fiducial limit
<b>Tiam seeds</b>						
n-Hex. Ext.	66,739.1	38,436.7	297,748.1	91,184.0	46,366.7	78,755.2
	< LC <sub>50</sub>	< 4,147,483.0	< LC <sub>95</sub>	< 3,389,327.0	IR*	IR*
MeOH ext.	16,298.4	11,292.8	734,816.3	270,808.0	28,225.4	871,920.5
	< LC <sub>50</sub>	< 26,529.9	< LC <sub>95</sub>	< 3,817,773.0	< LC <sub>50</sub>	< LC <sub>50</sub>
						< 7,331,522.0
<b>Neem seeds</b>						
n-Hex. ext.	53,378.4	IR*	125,078.3	IR*	46,366.7	78,755.2
MeOH ext.	17,243.8	12,201.9	482,897.4	169,552.3	34,435.3	445,527.2
	< LC <sub>50</sub>	< 28,571.7	< LC <sub>95</sub>	< 3,963,435.0	< LC <sub>50</sub>	< LC <sub>50</sub>
						< 9,572,207.0
<i>B. thuringiensis</i>	52,056.4	IR*	102,057.0	IR*	53,378.9	125,079.6
Abamectin	81.3	35.1 < LC <sub>50</sub>	132.7	849.4 < LC <sub>95</sub>	227.9	9,204.7
						4,152.4 < LC <sub>50</sub>
						< 37,345.0

\* IR = Impossible range (g > 1)

มีความทนทานต่อสารฆ่าแมลงสูงกว่าหนอนใยผักวัยที่ 2

Verkerk และ Wright (1993) ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสาร azadirachtin ต่อหนอนใยผักวัยที่ 2 พบว่าการทดสอบพิษทางการสัมผัสโดยหยดสารละลาย azadirachtin ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มล. ลงบนอกปล้องแรก เมื่อเวลาผ่านไป 6 วัน มีค่า  $LC_{50}$  และ  $LC_{95}$  เท่ากับ 11.9 ไมโครกรัม/มล. (fiducial limit 5.6-215.0 ไมโครกรัม/มล.) และ 147.0 ไมโครกรัม/มล. (fiducial limit 65.9-769.0 ไมโครกรัม/มล.) ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบค่า  $LC_{50}$  และ  $LC_{95}$  ของ azadirachtin กับสารสกัดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างและเมล็ดสะเดาไทย มีความแตกต่างกันมาก เนื่องจากสารสกัดดังกล่าวมีสารอื่นที่ไม่มีฤทธิ์ต่อหนอนใยผักปะปนอยู่มาก

ผลการทดสอบพิษทางการกินต่อหนอนใยผักวัยที่ 2 และวัยที่ 3 ตาม Table 2 ให้ผลการทดสอบคล้ายคลึงกับการทดสอบพิษทางการสัมผัส โดยสารสกัดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างมีฤทธิ์ที่สูงสุด รองลงมาคือสารสกัดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาไทย และสารสกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซนมีฤทธิ์อ่อนกว่าสารสกัดด้วยเมธานอลในพืชแต่ละชนิด ปริมาณของสารสกัดที่ใช้ในหนอนใยผักวัยที่ 3 จะสูงกว่าหนอนใยผักวัยที่ 2 และเมื่อพิจารณาฤทธิ์ในการฆ่าหนอนใยผักวัยเดียวกันเมื่อทดสอบด้วยวิธีการทางการสัมผัสและการกินโดยการดูค่า  $LC_{50}$  (Table 1 และ Table 2) พบว่าการทดสอบทางการกินใช้ปริมาณสารสกัดน้อยกว่า ซึ่งให้ผลในการควบคุมหนอนใยผักดีกว่า หากพิจารณาฤทธิ์ในการฆ่าหนอนใยผักของสารสกัดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาทั้งสองชนิดเทียบกับเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสเรอริงจิเอ็นซิส ซึ่งเป็นสิ่งที่ได้จากธรรมชาติเหมือนกันและจัดเป็นสารฆ่าแมลงที่มีผลตกค้างหรือมีผลต่อสิ่งแวดล้อมน้อยตามข้อมูลใน Table 1 และ Table 2 สรุปได้ว่าสามารถใช้สารสกัดด้วยเมธานอลทดแทนเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสเรอริงจิเอ็นซิสได้ และมีฤทธิ์ดีกว่า

จากการรายงานของขวัญชัย (2540) เมล็ดสะเดาไทยมีสาร azadirachtin, triterpenoids และ malantriol และจากการรายงานของ Klaus และคณะ (1998) เมล็ดสะเดาข้างมีสาร azadirachtin และ 1-tigloyl-3-acetylazadirachtol ซึ่งมีฤทธิ์ในการควบคุมหนอนใยผักและแมลงศัตรูพืชอื่นๆ ได้ดีกว่าสาร azadirachtin ดังนั้นการ

ออกฤทธิ์ฆ่าหนอนใยผักของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาทั้งสองชนิดทั้งการทดสอบพิษทางการสัมผัสและทางการกิน จึงเป็นฤทธิ์ของสารในกลุ่ม azadirachtin ที่มีอยู่ในสารสกัดดังกล่าว โดยสาร azadirachtin เมื่อเข้าไปในร่างกายของแมลงโดยการกิน จะไม่มีผลโดยตรงต่อการทำงานของยี่ดหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในกระเพาะส่วนกลางของการยี่ดหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบในกระเพาะส่วนกลางของแมลงทดสอบ ซึ่งจะมีผลทำให้การย่อยอาหารผิดปกติและมีผลต่อการกินอาหารของแมลงในที่สุด (อัญชลี, 2543) เมื่อแมลงไม่กินอาหารแมลงจะหยุดการสร้างสารไคติน (chitin) ซึ่งเป็นสารที่มีความจำเป็นต่อการลอกคราบของแมลงแมลงจึงไม่เจริญเติบโตและอ่อนแอลงจนตายในที่สุด (Jilani and Saxena, 1990; Rembold *et al.*, 1983) เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ในการฆ่าแมลงโดยพิจารณาจากค่า  $LC_{50}$  ของสารสกัดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างและเมล็ดสะเดาไทย ทั้งการทดสอบพิษทางการสัมผัสและทางการกิน พบว่าสารสกัดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างมีฤทธิ์แรงกว่าสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทย ทั้งนี้เนื่องจากเมล็ดสะเดาข้างมีสาร 1-tigloyl-3-acetylazadirachtol ซึ่งมีฤทธิ์ในการควบคุมหนอนใยผักและแมลงศัตรูพืชอื่นๆ ได้ดีกว่าสาร azadirachtin (Klaus *et al.*, 1998)

ลักษณะของหนอนใยผักที่ตายด้วยสารสกัดจากเมล็ดสะเดาทั้งสองชนิดโดยการทดสอบทางการกิน เทียบกับที่ตายด้วยอบาเมคตินและเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสเรอริงจิเอ็นซิสที่ระดับความเข้มข้น 30,000 มก./ลิตร ให้ลักษณะต่างกัน หนอนใยผักที่ตายด้วยสารสกัดจากเมล็ดสะเดาทั้งสองชนิดให้ผลเหมือนกัน คือมีลำตัวสีดำคล้ำ ลำตัวพองไม่พองบวม เมื่อแทงด้วยเข็ม ไม่มีของเหลวกลิ่นเหม็นไหลออกมา ทั้งนี้เนื่องจากผลจากสาร azadirachtin ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารของแมลง (อัญชลี, 2543) หนอนใยผักที่ตายด้วยอบาเมคตินมีลำตัวสีดำคล้ำเช่นกัน แต่ลำตัวพองบวม ส่วนหนอนใยผักที่ตายด้วยเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสเรอริงจิเอ็นซิสมีลำตัวสีน้ำตาลแดง พองบวม และเมื่อแทงลำตัวด้วยเข็ม มีของเหลวกลิ่นเหม็นไหลออกมา ทั้งนี้เนื่องจากสารพิษที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสเรอริงจิเอ็นซิสทำให้เกิดการสลายของเซลล์ในแมลง (Guihard *et al.*, 2001) นอกจากนี้ยังพบว่า หนอนใยผักวัยที่ 2 ที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดสะเดาข้างโดยการกินและยังไม่ตายภายใน 72 ชั่วโมง มีการพัฒนาเจริญเติบโตที่ผิดปกติ โดย

**Table 2. The LC<sub>50</sub> and LC<sub>95</sub> values of seed extracts from tiam and neem for the 2<sup>nd</sup> and the 3<sup>rd</sup> instar larvae of diamondback moth by feeding method at 72 hours.**

Sample	The 2 <sup>nd</sup> instar larvae of diamondback moth			The 3 <sup>rd</sup> instar larvae of diamondback moth		
	LC <sub>50</sub> (mg/l)	Fiducial limit	LC <sub>95</sub> (mg/l)	LC <sub>50</sub> (mg/l)	Fiducial limit	LC <sub>95</sub> (mg/l)
<b>Tiam seeds</b>						
n-Hex. Ext.	45,289.5 < LC <sub>50</sub> < 116,568.9	31,451.3 < LC <sub>50</sub> < 116,568.9	229,853.7 < LC <sub>95</sub> < 2,601,123.0	47,785.7 187,120.1	33,374.1 < LC <sub>50</sub> < 4,784,895.0	168,469.9 < LC <sub>50</sub> < 74,734.6
MeOH ext.	3,921.1 < LC <sub>50</sub> < 5,609.9	2,728.8 < LC <sub>50</sub> < 5,609.9	241,120.8 < LC <sub>95</sub> < 760,304.0	5,136.2 < LC <sub>50</sub> < 7,262.6	3,661.7 < LC <sub>50</sub> < 743,912.9	243,966.3 < LC <sub>50</sub> < 743,912.9
<b>Neem seeds</b>						
n-Hex. ext.	65,053.0 < LC <sub>50</sub> < 1,203,514.0	37,115.6 < LC <sub>50</sub> < 1,203,514.0	287,781.3 < LC <sub>95</sub> < 726,317.0	71,167.5 19,188.5	IR* 13,357.7	277,926.7 570,852.6
MeOH ext.	12,008.7 < LC <sub>50</sub> < 17,891.8	8,652.1 < LC <sub>50</sub> < 17,891.8	344,528.1 < LC <sub>95</sub> < 1,841,311.0	19,188.5 < LC <sub>50</sub> < 33,600.3	13,357.7 < LC <sub>50</sub> < 5,659,261.0	570,852.6 < LC <sub>50</sub> < 5,659,261.0
<i>B. thuringiensis</i>	32,145.9 < LC <sub>50</sub> < 60,144.7	24,302.1 < LC <sub>50</sub> < 60,144.7	167,483.2 < LC <sub>95</sub> < 3,479,844.0	38,607.9 < LC <sub>50</sub> < 108,653.9	28,141.0 < LC <sub>50</sub> < 3,632,819.0	167,916.6 < LC <sub>50</sub> < 3,632,819.0
Abamectin	44.2 12.4 < LC <sub>50</sub> < 81.5	12.4 < LC <sub>50</sub> < 81.5	1,119.7 566.3 < LC <sub>95</sub> < 4,955.8	112.8 56.5 < LC <sub>50</sub> < 205.4	4,708.9 2,260.6 < LC <sub>50</sub> < 17,288.8	4,708.9 2,260.6 < LC <sub>50</sub> < 17,288.8

\* IR = Impossible range (g > I)



เกิดความผิดปกติในระยะดักแด้ หนอนใยผักไม่สามารถเข้าสู่ระยะดักแด้ได้ เนื่องจากเส้นใยที่ห่อหุ้มตัวดักแด้ขาดไม่สมบูรณ์ ดักแด้มีลำตัวสีคล้ำ และมีการขับของเหลวออกนอกร่างกาย ดักแด้ดังกล่าวไม่สามารถเจริญไปเป็นตัวเต็มวัยและตายในที่สุดเช่นกัน ส่วนหนอนใยผักวัยที่ 3 ที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดสะเดาข้างโดยการกินและยังไม่ตายภายใน 72 ชั่วโมง ไม่สามารถสร้างเส้นใยห่อหุ้มลำตัว ลำตัวมีสีเหลืองซีด บางตัวมีสีน้ำตาลแดง บางตัวไม่สามารถเจริญไปเป็นตัวเต็มวัย แต่ยังมีบางตัวที่สามารถเจริญไปเป็นตัวเต็มวัย แต่เป็นตัวเต็มวัยที่ผิดปกติ เช่น ปีกไม่สามารถกางได้ หรือมีปีกไม่หลุดออกจากปลอกดักแด้

จากผลการทดสอบการลดจำนวนประชากรหนอนใยผักวัยที่ 2 บนต้นผักกวางตุ้งโดยการฉีดพ่นด้วยสารสกัดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างและเมล็ดสะเดาไทย (Table 3) พบว่าสารสกัดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างมีผลต่อการลดจำนวนประชากรหนอนใยผักวัยที่ 2 ไม่แตกต่างจากสารสกัดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาไทยในความเข้มข้นที่เท่ากัน เมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบโดย two-tailed test (ชูศรี, 2541) แต่สารสกัดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาสามารถลดจำนวนประชากรหนอนใยผักวัยที่ 2 ลงได้อย่างเด่นชัดเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ผลที่ปรากฏเช่นนี้เนื่องมาจากเหตุผลสองประการด้วยกัน ประการแรก สารสกัดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างและเมล็ดสะเดาไทยมีฤทธิ์ฆ่าหนอนใยผักวัยที่ 2 อยู่แล้ว ซึ่งเป็นไปตามการทดสอบพิษทางการสัมผัสและการทดสอบพิษทางการ

กิน ตามผลการทดลองที่ได้แสดงไว้ใน Table 1 และ 2 ประการที่สองเนื่องจากสารสกัดด้วยเมธานอลดังกล่าวมีกลิ่นฉุน โดยเฉพาะสารสกัดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้าง การที่สารสกัดมีกลิ่นเนื่องจากมีสารบางชนิดที่ระเหยได้ ออกมารบกวนการได้รับกลิ่นของสารกลูโคซิโนเลท (glucosinolate) ที่มีอยู่ในผักกวางตุ้งที่ทำหน้าที่ในการดึงดูดแมลงศัตรูพืช (Panda and Khush, 1995) เมื่อแมลงศัตรูพืชได้รับกลิ่นของสารเคมีเหล่านี้แทนกลิ่นกลูโคซิโนเลทจึงไม่เข้ามากินใบพืช นอกจากนี้ยังพบว่าสาร azadirachtin ยังมีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารของแมลง โดยมีผลต่อการทำงานของกรวยยึดหัวของกล้ามเนื้อเรียบในกระเพาะส่วนกลางของแมลง ซึ่งมีผลทำให้การย่อยอาหารผิดปกติ (อัญชลี, 2543) เมื่อแมลงไม่กินอาหารแมลงจะอ่อนแอและตายในที่สุด

การทดสอบการลดปริมาณประชากรหนอนใยผักบนต้นพืช ถ้าสารที่นำมาทดสอบไม่ละลายน้ำ มักมีการผสมกับสารที่ทำให้เปียก (wetting agent) หรือสารพวกอิมัลซิฟายเออร์ (emulsifier) เพื่อช่วยให้สามารถผสมกับน้ำได้ และช่วยเพิ่มพื้นที่ในการสัมผัสกับใบพืช เป็นการเพิ่มปริมาณสารให้จับติดบนใบพืชได้ดีและมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีการผสมสารเพิ่มประสิทธิภาพลงไปด้วย ซึ่งในการทดลองนี้มีการใช้ tween 80 เป็นอิมัลซิฟายเออร์ (ใช้ในปริมาณ 5%) และใช้ APSA 80 เป็นสารเพิ่มประสิทธิภาพ (ใช้ในปริมาณ 3%) มีรายงานการศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารสกัดจากเนื้อในเมล็ดสะเดาไทยต่อ

**Table 3. The diminishable number of the 2<sup>nd</sup> instar larvae of diamondback moth on Chinese kale after treating with crude methanol extract from tiam and neem seeds at 72 hours**

Sample	Concentration (mg/l)	Diminishable No. of the 2 <sup>nd</sup> instar larvae of diamondback moth (% ± SD)
Tiam seeds	20,000	32.0±11.0
	25,000	48.0±11.0
	30,000	64.0±16.8
Neem seeds	20,000	28.0±11.0
	25,000	40.0±8.9
	30,000	52.0±16.7
control	-	0±16.7

หนอนใยผักวัยที่ 2 และวัยที่ 4 โดยทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเนื้อในเมล็ดสะเดาไทยที่ไม่มีการผสมสารไพเพอโรนิลบิวทอกไซด์ (piperonyl butoxide, PBO) ซึ่งจัดเป็นสารเพิ่มประสิทธิภาพชนิดหนึ่ง กับสารสกัดหยาบจากเนื้อในเมล็ดสะเดาไทยที่มีการผสม PBO พบว่าสารสกัดหยาบที่มีการผสม PBO ทำให้เกิดการตาย 93.3% และ 74.4% ในหนอนใยผักวัยที่ 2 และ 4 ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดหยาบที่ไม่มีการผสม PBO ทำให้เกิดการตายเพียง 51.1% และ 23.3% ในหนอนใยผักวัยที่ 2 และ 4 ตามลำดับ (Sombatsiri and Temboonkeat, 1986)

จากผลการทดสอบการยับยั้งการวางไข่บนต้นผักกวางตุ้งโดยการฉีดพ่นด้วยสารสกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซนจากเมล็ดสะเดาข้างและเมล็ดสะเดาไทย หรือน้ำมันเมล็ดสะเดาข้างและเมล็ดสะเดาไทย (Table 4) พบว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาข้างให้ผลการยับยั้งการวางไข่ได้ดีกว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาไทยที่ความเข้มข้น 5% เมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบโดย two-tailed test (ชูศรี, 2541) และน้ำมันทั้งสองชนิดมีผลในการยับยั้งการวางไข่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างเด่นชัด ผลที่ปรากฏนี้คงเนื่องมาจากน้ำมันจากพืชทั้งสองชนิดไปรบกวนการได้รับกลิ่นของสารดึงดูดแมลงของพืชตระกูลกะหล่ำในผีเสื้อหนอนใยผัก จึงทำให้ผีเสื้อหนอนใยผักเข้ามาวางไข่น้อย ทั้งนี้เนื่องจากการวางไข่ของผีเสื้อหนอนใยผักนั้นจะชอบเลือกวางไข่ในแหล่งที่จะเป็นอาหารของตัวอ่อนของมัน มีรายงานการวิจัยที่พบว่าสาร

azadirachtin สามารถยับยั้งการวางไข่ของแมลงวันผลไม้ชนิด western cheery fruit fly ได้ (Van Randen and Roitberg, 1998) และสาร azadirachtin มีผลโดยตรงต่อการสร้างฮอร์โมนที่มีผลต่อการสร้างและสูกแก่ของไข่นิวรีของแมลงทดสอบ (อัญชลี, 2543)

### สรุปผลการทดลอง

ในการทดสอบฤทธิ์ต่อหนอนใยผักวัยที่ 2 และวัยที่ 3 ของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาข้างและเมล็ดสะเดาไทย โดยการทดสอบพิษทางการสัมผัสและพิษทางการกิน เมื่อพิจารณาจากค่า  $LC_{50}$  สารสกัดด้วยเมธานอลจากเมล็ดของพืชทั้งสองชนิดมีฤทธิ์ดีกว่าสารสกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซน และสารสกัดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างมีฤทธิ์ที่ดีที่สุดในบรรดาสารสกัดทั้งหมด สารสกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซนมีฤทธิ์ต่อหนอนใยผักใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสเรอริงจิเอ็นซิส สารสกัดทั้งหมดมีฤทธิ์อ่อนกว่าสารฆ่าแมลงอบาเมคตินที่นำมาใช้เป็นชุดควบคุมบวก (positive control) แต่หากเปรียบเทียบฤทธิ์ในการฆ่าหนอนใยผักวัยที่ 2 และวัยที่ 3 ของสารสกัดด้วยเมธานอลเมล็ดจากสะเดาข้างกับเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสเรอริงจิเอ็นซิส ซึ่งถือว่าเป็นสารควบคุมหนอนใยผักที่มาจากธรรมชาติเหมือนกัน สารสกัดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างมีฤทธิ์แรงกว่าอย่างน้อย 2-3 เท่า นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ในการลดปริมาณประชากรหนอนใยผักบนต้นพืช ระหว่างสารสกัดด้วย

**Table 4. The diminishable number of egg of diamondback moth on Chinese kale after treating with crude n-hexane extract from tiam and neem seeds at 24 hours**

Sample	Concentration (%)	Diminishable No. of egg of diamondback moth (% $\pm$ SD)
Tiam seeds	5	28.6 $\pm$ 2.4
	10	37.1 $\pm$ 7.0
	15	49.2 $\pm$ 9.4
Neem seeds	5	19.6 $\pm$ 5.8
	10	30.2 $\pm$ 4.1
	15	37.7 $\pm$ 4.0
control	-	0 $\pm$ 7.4

เมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างและเมล็ดสะเดาไทย ปรากฏว่าให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบโดย two-tailed test แต่สารสกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซนจากเมล็ดสะเดาข้างหรือน้ำมันเมล็ดสะเดาข้างให้ผลในการยับยั้งการวางไข่ของผีเสื้อหนอนใยผักบนต้นผักกวางตุ้งได้ดีกว่าสารสกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซนจากเมล็ดสะเดาไทยหรือน้ำมันเมล็ดสะเดาไทยที่ความเข้มข้น 5% ดังนั้นเมล็ดสะเดาข้างจึงเป็นทรัพยากรจากท้องถิ่นภาคใต้ที่มีศักยภาพที่จะพัฒนาไปสู่การนำไปใช้เป็นตัวควบคุมแมลงศัตรูพืชได้ในอนาคต

### กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สถาบันพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช) และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัย และขอขอบคุณภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ ภาควิชาเภสัชเวชและเภสัชพฤกษศาสตร์ และภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่ได้อำนวยความสะดวกและสนับสนุนให้ใช้สถานที่ตลอดจนเครื่องมือต่างๆ ในการวิจัย

### เอกสารอ้างอิง

- กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2537. การขึ้นทะเบียนวัตถุมีพิษทางการเกษตรในประเทศไทย กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพมหานคร.
- ขวัญชัย สมบัติศิริ. 2540. สะเดามีดีใหม่ของสารกำจัดแมลง. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพมหานคร.
- ชูศรี วงศ์รัตน์. 2541. เทคนิคการใช้สถิติเพื่อการวิจัย. พิมพ์ครั้งที่ 7. ศูนย์หนังสือจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร.
- สมาคมไทย-ผู้ประกอบการธุรกิจสารเคมีเกษตร. 2537. การขึ้นทะเบียนวัตถุมีพิษทางการเกษตรในประเทศไทย. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร.
- สำนักวิจัยและพัฒนาการผลิตสารธรรมชาติ. 2541. เอกสารประกอบมหกรรมวิชาการเกษตร' 41 รายงานการประชุมวิชาการประจำปี 2541 กรมวิชาการเกษตร

- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพมหานคร.
- สุรพล อุบัติสสกุล. 2536. สถิติการวางแผนการทดลอง, เล่ม 1. พิมพ์ครั้งที่ 3. สหมิตรออฟเซต กรุงเทพมหานคร.
- อารมณี แสงวนิชย์. 2536. การใช้สารสกัดธรรมชาติในการป้องกันศัตรูพืช. รายงานการสัมมนาการใช้สารสกัดจากพืชเพื่อป้องกันการกำจัดศัตรูทางการเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ หน้า 118-127.
- อัญชลี สงวนพงษ์. 2543. เทคโนโลยีการผลิตสารสกัดสะเดา, พิมพ์ครั้งที่ 1. ปาปรัส พับลิเคชัน จำกัด กรุงเทพมหานคร.
- Attwood, E.J. and Florence, A.T. 1993. Surfactant System: Their Chemistry, Pharmacy and Biology. Chapman and Hall., London.
- British Pharmacopoeia Commission. 1998. The British Pharmacopoeia 1998 vol. I & II. The Stationary Office, London.
- Brooks, M.W. and Uden, P.C. 1995. The determination of abmectin from soil and animal tissue by supercritical fluid extraction and fluorescence detection. J. Pestic. Sci. 43: 141-146.
- Bucher, D.Z. 1985. Application in Agriculture. In Encyclopedia of Emulsion Technology, vol. 2. Marcer Dekker, New York.
- Finney, D.J. 1971. Probit analysis. Cambridge University Press, 3<sup>rd</sup> edition, Cambridge.
- Jilani, G. and Sexena, R.C. 1990. Repellent and feeding deterrent effects of tumeric oil, sweetflag oil and a neem insecticide against lesser grain borer (Coleoptera: Bostrychidae). J. Econ. Entomol. 83: 629-634.
- Guihard, G., Laprade, R. and Schwartz, J.L. 2001. Unfold affects infect cell permeabilization by *Bacillus thuringiensis* Cry1C toxin. Biochim. Biophys. Acta 1515: 110-119.
- Klaus, E., Chaiyapat, C. and Arom, S. 1998. Azadirachtin Content and Bioefficiency of Neem Product. 2<sup>nd</sup> Conference of Agricultural Toxic Substances Division, pp. 101-120.
- Panda, N. and Kush, G.S. 1995. Host Plant Resistance to Insect. Biddles Ltd., Guildford.
- Parma, M.S. and Srivastava, K.P. 1986. Development of some neem formulations and their evaluation for the control of *Spilosoma obliqua* in the laboratory and *Euchrysops cnejus* in the field. Proc. of the 3<sup>rd</sup> Int. Neem Conf., Nairobi, Kenya, 10-15 July 1986, pp. 205-215.

- Raymond, M. 1985. Pre'sentation d'un programme d' analyse log-probit pour micro-ordinateur. *J. Parasitology* 22(2): 117-121.
- Rembold, H., Foster, H., Czoppelt, C., Rao, P.J. and Sieber, K.P. 1983. The azadirachtin, a group of insect growth regulators from the neem tree. Proc. 2<sup>nd</sup> Inter. Neem Conf., Rauischolzhusen, Germany, 25-28 May 1983, pp. 153-162.
- Rembold, J.E.F. 1989. Matindale: The Extra Pharmacopoeia. Pharmaceutical Press, London.
- Rushtapakornchai, W. and Vattanatangum, A. 1986. Present Status of Insecticidal Control of Diamondback Moth in Thailand. Proc. 1<sup>st</sup> Int. Workshop, Tainan, Taiwan, 1986, pp. 11-15.
- Sombatsiri, K. and Choeikamhaeng, A. 1996. Thai neem extract from pilot plant (KU.) for the control of beet armyworm (*Spodoptera exigua*) on asparagus. The 2<sup>nd</sup> Int. Symp. on Toxicity, Safety and Proper Use of Biopesticides, Phitsanulok, Thailand, 27-31 October 1996, pp. 195-168.
- Somyos, K. and Boonchoob, B. 1995. *Azadirachta excelsa* (Jack): A lesser known species. Review Paper No. 3. ASEAN Forest Tree Seed Centre Project. Muak-lek, Saraburi.
- Van Randen, E.J. and Roitberg, B.D. 1998. Effects of neem (*Azadirachta indica*) based insecticide on oviposition deterrence, survival, behavior and reproduction of adult western cherry fruit fly (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* 91(11): 123-131.
- Verkerk, R.H.J. and Wright, D.J. 1993. Biological activity of neem seed kernel extract and synthetic azadirachtin against larvae of *Plutella xylostella* L.J. *Pestic. Sci.* 37: 83-91.