

## ผลของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาข้างต่อหนอนกระทู้ผัก

สุนทร พิพิธแสงจันทร์<sup>1</sup> สนั่น ศุภธีรสกุล<sup>2</sup> ปาริชาติ ปาลินทร์<sup>3</sup>  
สุปรียา ยืนยงสวัสดิ์<sup>4</sup> และ ก้าน จันทร์พรหมมา<sup>5</sup>

### Abstract

Pipithsangchan, S.<sup>1</sup>, Subhadhirasakul, S.<sup>2</sup>, Palintorn, P.<sup>1</sup>, Yuenyongsawad, S.<sup>2</sup>  
and Chantrapromma, K.<sup>3</sup>

Effects of extracts from Tiam seeds on cotton leafworm

Songklanakarin J. Sci. Technol., 2005, 27(3) : 511-521

Crude n-hexane and methanolic extracts from the seeds of *Azadirachta excelsa* Jack. (Tiam) and *A. indica* var. *siamensis* Valetton (Neem), *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* HD-1 and permethrin were tested for mortality effect on the 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup> and the 4<sup>th</sup> instar larvae of cotton leafworm (*Spodoptera litura* F.) by topical application and spraying methods. Among the seed extracts, crude methanolic extract from *A. excelsa* was the most effective. Its LC<sub>50</sub>, by topical application, at 72 hours after tested on the 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup> and the 4<sup>th</sup> instar larvae was 5.26, 8.83 and 19.69 g/l, respectively, and by feeding was 1.59, 3.67 and 4.72 g/l, respectively. Crude methanolic extract was more effective than the crude n-hexane extract in each particular plant.

<sup>1</sup>Department of Pest Management, Faculty of Natural Resources <sup>2</sup>Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90112 Thailand <sup>3</sup>Institute of Science, Walailak University, Thasala, Nakhon Si Thammarat, 80160 Thailand.

<sup>1</sup>Ph.D.(Entomology), <sup>3</sup>วท.ม.(กีฏวิทยา), ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ <sup>2</sup>Ph.D.(Pharmaceutical Sciences), รองศาสตราจารย์ <sup>4</sup>ภ.ม.(เภสัชพฤกษศาสตร์), ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112 <sup>5</sup>Ph.D.(Organic Chemistry), รองศาสตราจารย์, สถาบันวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ อำเภอท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช 80160

Corresponding e-mail: sanan.s@psu.ac.th

รับต้นฉบับ 25 กุมภาพันธ์ 2547      รับลงพิมพ์ 3 ตุลาคม 2547

Among tested samples, permethrin, a semi-synthetic chemical insecticide, showed the highest insecticidal effect. Its  $LC_{50}$ , by topical application, at 72 hours after tested on the 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup> and the 4<sup>th</sup> instar larvae was 0.12, 0.18 and 1.44 g/l, respectively, and by feeding was 0.08, 0.11 and 0.34 g/l, respectively. Use of the crude methanolic extract of *A. excelsa* to reduce the population of the 2<sup>nd</sup> instar larvae of cotton leafworm on Chinese kale (*Brassica alboglabra* Bailey) was more effective than that of crude methanolic extract of *A. indica* var. *siamensis*.

**Key words :** cotton leafworm, *Spodoptera litura*, *Azadirachta excelsa*, *Azadirachta indica* var. *siamensis*, contact poisoning, feeding poisoning

### บทคัดย่อ

สุนทร พิพิธแสงจันทร์ สนั่น ศุภธีรสกุล ปาริชาติ ปาลินทร สุปรียา ยืนยงสวัสดิ์  
และ ก้าน จันทร์พรหมมา  
ผลของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาข้างต่อหนอนกระทู้ผัก  
ว. สงขลานครินทร์ วทท. 2548 27(3) : 511-521

สารสกัดหยาบด้วยนอร์มอลเฮกเซน และเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างและสะเดาไทย เชื้อแบคทีเรียบาซิลลัส เรอริงจิเอ็นซิส สายพันธุ์เคอร์สตาไค เอชดี-วัน (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* HD-1) และเพอร์เมทริน (permethrin) เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ฆ่าหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* F.) วัยที่ 2, 3 และ 4 โดยการสัมผัสและการกิน พบว่า ในกลุ่มสารสกัดจากเมล็ด สารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างมีฤทธิ์ดีที่สุด มีค่า  $LC_{50}$  ที่เวลา 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบต่อหนอนกระทู้ผักวัยที่ 2, 3 และ 4 โดยการสัมผัส คือ 5.26, 8.83 และ 19.69 กรัม/ลิตร และโดยการกิน คือ 1.59, 3.67 และ 4.72 กรัม/ลิตร สารสกัดหยาบด้วยเมธานอลมีฤทธิ์ดีกว่าสารสกัดหยาบด้วยนอร์มอลเฮกเซนในพืชชนิดเดียวกัน จากตัวอย่างที่นำมาทดสอบทั้งหมด เพอร์เมทรินซึ่งเป็นยาฆ่าแมลงที่เป็นสารเคมีสังเคราะห์ ออกฤทธิ์ในการฆ่าหนอนกระทู้ผักได้ดีที่สุด โดยมีค่า  $LC_{50}$  ที่เวลา 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบต่อหนอนกระทู้ผักวัยที่ 2, 3 และ 4 โดยการสัมผัส คือ 0.12, 0.18 และ 1.44 กรัม/ลิตร ตามลำดับ และโดยการกิน คือ 0.08, 0.11 และ 0.34 กรัม/ลิตร ตามลำดับ สารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างมีฤทธิ์ในการลดจำนวนประชากรหนอนกระทู้ผักบนต้นผักกวางตุ้งดีกว่าสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาไทย

ผักเป็นพืชอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ ช่วยเสริมสร้างให้สุขภาพแข็งแรง เนื่องจากผักประกอบด้วยธาตุอาหารที่มีคุณค่าต่อร่างกาย เช่น วิตามิน เกลือแร่ และสารเบต้าแคโรทีน (กรมวิชาการเกษตร, 2537) ผักเป็นพืชที่ใช้ประกอบอาหารในชีวิตประจำวัน เกษตรกรจึงนิยมปลูกกันอย่างแพร่หลาย เพราะผักส่วนมากจะมีอายุสั้นสามารถเก็บเกี่ยวได้ในเวลาอันรวดเร็ว และจำหน่ายได้เงินหมุนเวียนหลายครั้งในรอบปี ในขณะที่เดียวกันเกษตรกรที่ปลูกผักก็ประสบปัญหาแมลงศัตรูผักก่อความเสียหายต่อผลผลิต แมลงศัตรูผักมีหลายชนิด แต่ละชนิดจะมีลักษณะการทำลายที่แตกต่างกันออกไป แมลงศัตรูผักที่สำคัญชนิดหนึ่งสร้างความเสียหายให้แก่เกษตรกรผู้ปลูกผักคือ

หนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* F., Lepidoptera : Noctuidae) (สมภพ, 2542)

หนอนกระทู้ผักมีชื่อสามัญในภาษาอังกฤษ คือ cotton leafworm, tobacco cutworm และ cotton worm ตัวหนอนมีสีเขียวหรือสีเขียวคล้ำปนดำ หลังจากลอกคราบครั้งที่สองจะมีจุดสีดำชัดเจนที่บริเวณด้านข้างของปล้องอก ปล้องแรกข้างละจุด ตัวหนอนที่โตเต็มที่ มีรูปร่างค่อนข้างทู่ ยาวประมาณ 4-5 ซม. มีสีเขียวปนดำ และมีแถบสีเหลืองอ่อนพาดตามด้านบนและด้านข้างของลำตัวด้านบนของลำตัวมักพบลายสีดำรูปครึ่งวงกลมเรียงเป็นแถว ตัวหนอนจะหลบซ่อนตัวในเวลากลางวัน และออกหากินในช่วงเวลาเย็นหรือกลางคืน ในระยะตัวอ่อนหรือช่วงที่เป็นตัวหนอน

มีการลอกคราบ 5 ครั้ง มีระยะตัวอ่อน 6 วัย หนอนวัยที่ 1 และ 2 จะอยู่รวมกันเป็นกลุ่มกัดกินผิวด้านล่างของใบพืชอาหาร เหลือเฉพาะผิวใบด้านบนทำให้เห็นใบโปร่งแสงได้ชัดเจน ส่วนหนอนวัยที่ 3 เป็นต้นไปจะกัดกินใบพืชจนขาดทั้งแผ่น ระยะหนอนจากวัยที่ 1 ถึงวัยที่ 6 มีเวลาประมาณ 15-21 วัน จากนั้นจึงเข้าสู่ระยะดักแด้ ดักแด้มีสีน้ำตาลแดง มีอายุประมาณ 1 สัปดาห์ จึงออกมาเป็นตัวเต็มวัยหรือผีเสื้อหนอนกระทู้ผัก (สุรไกร, 2540; สุรไกร และคณะ, 2531) ผีเสื้อหนอนกระทู้ผักมีลำตัวยาวประมาณ 11-16 มม. ความกว้างเมื่อกางปีกเต็มที่ 24-30 มม. ปกติผีเสื้อชนิดนี้จะเกาะนิ่งอยู่กับที่ และหุบปีกเป็นรูปหลังคา ปีกคู่หน้ามีสีเทาปนดำและมีจุดสีเทาเข้มตรงปลายปีกข้างละหนึ่งจุด ขอบปีกด้านล่างมีจุดสีดำเรียงเป็นแถว 7-8 จุด ปีกคู่หลังมีสีอ่อนกว่าปีกคู่หน้า เห็นเป็นสีขาววอบบๆ บริเวณขอบปีก ขาและลำตัวปกคลุมด้วยเกล็ด ผีเสื้อหนอนกระทู้ผักวางไข่ได้ใบพืชอาหาร โดยวางเป็นกลุ่มๆ ละประมาณ 300-500 ฟอง เรียงซ้อนกันเป็นระเบียบ ไข่มีลักษณะกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.36 มม. สีเขียวปนน้ำตาล ผิวมัน ปกคลุมด้วยขนสีน้ำตาล เพื่อป้องกันการเปียกน้ำ และอันตรายจากสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ไข่ฟักเป็นตัวหนอนภายในเวลา 4 วัน (อินทวัฒน์, 2537)

หนอนกระทู้ผักมีพืชอาหารหลายชนิด เช่น ข้าวโพด มันเทศ ถั่วเหลือง ถั่วลิสง ถั่วแดง ผักทอง หม่อน ปอแก้ว กระเจี๊ยบ องุ่น กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก คะน้า ผักกาดหัว ผักกาดขาว ผักกวางตุ้ง มะเขือเทศ ถั่วฝักยาว ฯลฯ (พิมลพร และคณะ, 2534)

หนอนกระทู้ผักเป็นศัตรูพืชที่สร้างความเสียหายทางเศรษฐกิจ จึงได้มีการควบคุมกันอย่างกว้างขวาง ซึ่งส่วนใหญ่จะใช้วิธีการควบคุมโดยสารเคมี เช่น เพอร์เมทริน (permethrin) ซึ่งเป็นสารไพรีทรอยด์สังเคราะห์ มีข้อดีคือมีพิษต่อแมลงสูง ออกฤทธิ์เร็วและฆ่าแมลงได้หลายชนิด แต่ก็มีพิษต่อปลา ผึ้ง และแมลงตัวห้ำต่างๆ (สุภาณี, 2540)

ปัญหาจากการใช้สารเคมีสังเคราะห์ในการกำจัดแมลงศัตรูพืชก็คือ ทำให้แมลงเกิดการดื้อต่อสารดังกล่าว ศัตรูธรรมชาติถูกทำลาย เกิดการระบาดของแมลงศัตรูชนิดใหม่ เกิดการตกค้างของสารเคมีในสิ่งแวดล้อม และเกิดความเป็นพิษต่อมนุษย์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมในระบบห่วงโซ่อาหาร (อารมณ, 2536) จากข้อเสียในการใช้สาร

เคมีสังเคราะห์ในการควบคุมแมลงที่กล่าวมานี้ จึงทำให้มีการศึกษาสารสกัดจากธรรมชาติเพื่อนำมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช พบว่ามีรายงานการศึกษาสารสกัดจากพืชหลายชนิดด้วยกันในการนำมาใช้เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช เช่น การควบคุมหนอนใยผักโดยใช้สารสกัดจากใบสาบเสือ เหง้าว่านน้ำ เหง้าข่า เหง้าขมิ้นชัน ลำต้นไต้ดิน และลำต้นตะไคร้หอม (สำนักวิจัยและพัฒนาการผลิตรายการธรรมชาติ, 2541) นอกจากการใช้สารจากธรรมชาติในการควบคุมแมลงศัตรูพืชแล้ว การควบคุมด้วยชีวสารฆ่าแมลง (bio-insecticide) ก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่เป็นที่นิยมในปัจจุบัน โดยใช้เชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสธอริงจิวเอนซิส เชื้อเหล่านี้จะผลิตเดลตาเอ็นโดทอกซิน ( $\delta$ -endotoxin) ซึ่งจะ เป็นพิษต่อแมลงเมื่อเข้าสู่ทางเดินอาหารของแมลง แต่ปลอดภัยต่อมนุษย์ (Zhang *et al.*, 2000)

ปัจจุบันสะเดาเป็นพืชที่ได้รับความสนใจมากในแง่ของการนำสารสกัดไปควบคุมแมลงศัตรูพืช โดยเฉพาะเมล็ดสะเดา ขวัญชัย (2540) รายงานไว้ว่า สะเดาที่พบในประเทศไทย มีทั้งหมด 3 ชนิด คือ สะเดาอินเดีย (*Azadirachta indica* Juss.) สะเดาไทย (*A. indica* var. *siamensis* Valetton) ซึ่งเป็นพืชที่นำมาใช้กันมากในการควบคุมแมลงศัตรูพืช เนื่องจากในเมล็ดและใบของพืชชนิดนี้มีสาร azadirachtin ซึ่งมีผลในการยับยั้งการกินและการลอกคราบของแมลง และชนิดสุดท้ายคือ สะเดาข้างหรือไม้เทียม (*A. excelsa* Jack.) ซึ่งจะพบมากในภาคใต้ของประเทศไทยเท่านั้น (Somyos and Boonchoop, 1995) ในเมล็ดสะเดาข้างนอกจากมีสาร azadirachtin ยังมีสาร 1-tigloyl-3-acetylazadirachtol ซึ่งมีฤทธิ์ในการควบคุมหนอนใยผักและแมลงศัตรูพืชอื่นๆ ได้ดีกว่าสาร azadirachtin (Klaus *et al.*, 1998) แต่ยังไม่พบรายงานการศึกษาถึงผลของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาข้างต่อ การควบคุมหนอนกระทู้ผัก ในแง่การทดสอบพิษโดยการสัมผัส การทดสอบพิษโดยการกิน และการลดปริมาณประชากรหนอนกระทู้ผักบนต้นพืช ดังนั้นการศึกษาถึงผลในการควบคุมหนอนกระทู้ผักจากสารสกัดเมล็ดสะเดาข้าง ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่สามารถหาได้ในภาคใต้ของไทย จึงเป็นที่คาดว่า จะเป็นประโยชน์ต่อการค้นพบการใช้สารจากธรรมชาติ โดยเฉพาะจากทรัพยากรที่มีในท้องถิ่นภาคใต้ในการควบคุมหนอนกระทู้ผักในอนาคต

## อุปกรณ์และวิธีการ

### การเพาะเลี้ยงหนอนกระทู้ผัก

สำรวจและเก็บตัวอย่างหนอนกระทู้ผักจากแปลงของเกษตรกรใน 2 พื้นที่คือ บ้านคลองวาด ตำบลท่าช้าง และบ้านแพรกสุวรรณ ต.บางเหริ่ง อ.บางกล่ำ จ.สงขลา นำมาเพาะเลี้ยงรวมกันในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิประมาณ 25°C ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 70% เลี้ยงด้วยอาหารเทียมตามสูตรที่ดัดแปลงมาจากกรมวิชาการเกษตร (อุทัย, 2534) ในกล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาดกว้าง x ยาว x สูง เท่ากับ 8 x 12 x 6 นิ้ว จำนวน 20 ตัวต่อกล่อง และใส่อาหารเทียมขนาด 1 x 1 x 1 ซม. จำนวน 20 ชิ้นต่อกล่อง เปลี่ยนอาหารเทียมทุก 24 ชั่วโมง จนกระทั่งหนอนเข้าสู่วัยที่ 3 จึงแยกนำมาเลี้ยงเดี่ยวในกล่องพลาสติกกลมใสขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 นิ้ว ความจุ 5 ออนซ์ พร้อมฝาปิดที่มีรูระบายอากาศ ใส่อาหารเทียมขนาด 1.5 x 1.5 x 1.5 ซม. และเปลี่ยนอาหารทุก 24 ชั่วโมงจนหนอนเข้าดักแด่ นำดักแด่เข้าไปในกรงเลี้ยงแมลงขนาด กว้าง x ยาว x สูง เท่ากับ 2 x 2 x 2.5 ฟุต ในจำนวน 30 ดักแด่ต่อกรง เพื่อรอการลอกคราบออกมาเป็นตัวเต็มวัย

เมื่อตัวเต็มวัยออกจากดักแด่ นำต้นสดของหญ้าขน (*Brachiaria mutica* (Forssk.) Stapf) จัดลงในพลาสติก (flask) ขนาด 500 มล. ที่มีน้ำประมาณ 200 มล. เข้าไว้ในกรง เพื่อใช้เป็นที่วางไข่ของตัวเต็มวัย นำสาลีชุบ 10% น้ำผึ้งในน้ำและสาลีชุบน้ำสะอาดอย่างละก้อนวางบนเพทริดิช (petri dish) ใส่ไว้ในกรง เพื่อเป็นอาหารและน้ำแก่ตัวเต็มวัย เมื่อตัวเต็มวัยจับคู่ผสมพันธุ์กันแล้ว จะวางไข่บนใบหญ้าสดเป็นกลุ่มๆ ไข่มีสีเหลืองอ่อน สังเกตเห็นง่าย นำไข่ไปเพาะเลี้ยงต่อตามวิธีการที่กล่าวมาข้างต้นนี้ จนกระทั่งได้ปริมาณของหนอนที่มากพอในการทดสอบในการเพาะและเลี้ยงหนอนกระทู้ผักนี้จะทำการเพาะและเลี้ยงจนถึงรุ่นที่ 3 เท่านั้น ทั้งนี้เพื่อป้องกันความอ่อนแอกว่าปกติของหนอนกระทู้ผักที่ใช้ทดสอบ

### การเตรียมสารสกัด

ผลสะเดาข้างสุกที่เก็บรวบรวมจากจังหวัดตรัง พัทลุง นครศรีธรรมราช และสงขลา และผลสะเดาไทยสุกที่เก็บจากจังหวัดสุพรรณบุรี นำมาบีบและแยกเนื้อผลออกให้หมด

จนเหลือแต่เมล็ด ล้างเมล็ดด้วยน้ำ ผึ่งแดดจนแห้ง จากนั้นนำเมล็ดมาแกะเพาะเปลือกออกเหลือแต่เนื้อในเมล็ด นำเนื้อในเมล็ดมาบดเป็นผงหยาบด้วยเครื่องบดสมุนไพร

นำผงหยาบของเนื้อในเมล็ดสะเดาข้าง และสะเดาไทยอย่างละ 10 กก. แช่วสกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซน ในอัตราส่วน ตัวอย่าง : นอร์มอลเฮกเซน = 1:5 เป็นเวลา 7 วัน กรองแล้วระเหยให้แห้งภายใต้การลดความดัน โดยใช้เครื่องกลั่นตัวทำละลายแบบหมุนที่ใช้อุณหภูมิและความดันต่ำ ซึ่งจะได้สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซน (crude n-hexane extract) กากของเนื้อในเมล็ดนำมาแช่วสกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซนอีก 2 ครั้ง นำสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซนทั้ง 3 ครั้งมารวมกัน ได้สารสกัดหยาบด้วยนอร์มอลเฮกเซน (crude n-hexane extract) ของพืชแต่ละชนิด ซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำมัน กากที่เหลือจากการสกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซนแล้ว นำมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 55°C นำมาแช่วสกัดด้วยเมธานอลด้วยวิธีการเดียวกับที่สกัดด้วยนอร์มอลเฮกเซน และทำการสกัดด้วยเมธานอลทั้งหมด 3 ครั้งเช่นเดียวกัน จนได้สารสกัดหยาบด้วยเมธานอล (crude methanolic extract) น้ำหนักที่ได้ของสารสกัดหยาบด้วยนอร์มอลเฮกเซนจากเมล็ดสะเดาข้างและสะเดาไทยคือ 4,315.3 กรัม (43.2% ของเนื้อในเมล็ดแห้ง) และ 3,257.7 กรัม (32.6% ของเนื้อในเมล็ดแห้ง) ตามลำดับ ส่วนน้ำหนักที่ได้ของสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลของเมล็ดสะเดาข้างและสะเดาไทยคือ 1,452.7 กรัม (14.5% ของเนื้อในเมล็ดแห้ง) และ 1,132.9 กรัม (11.3% ของเนื้อในเมล็ดแห้ง) ตามลำดับ

### การทดสอบฤทธิ์ต่อหนอนกระทู้ผักของสารสกัด

นำสารสกัดหยาบด้วยนอร์มอลเฮกเซนและสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างและเมล็ดสะเดาไทยมาทดสอบฤทธิ์ต่อหนอนกระทู้ผักในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบที่อุณหภูมิ 25°C ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 70% ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) (สุรพล, 2536) ตรวจสอบผลการทดสอบที่เวลา 72 ชั่วโมง ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 0.05, 0.10, 0.25, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00, 6.00, 8.00, 12.00, 15.00, 20.00, 25.00, และ 30.00 กรัม/ลิตร โดยเจือจางสารสกัดที่ใช้ทดสอบด้วยตัวทำละลาย สารสกัด

หยาบด้วยนอร์มอลเฮกเซนใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลาย สารสกัดหยาบด้วยเมธานอลใช้เอธานอลเป็นตัวทำละลาย เชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสเทอริงจี้เอ็นซิสสายพันธุ์เคอร์स्ताโค เอชดี-วัน (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* HD-1, Thuricide®) และยาฆ่าแมลงกลุ่มไพรีทรอยด์สังเคราะห์คือ เพอร์เมทริน (permethrin, Ambush®) ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย โดยตัวทำละลายต่างๆ ที่กล่าวถึงนำมาใช้เป็นสารละลายของชุดควบคุม (control) ในการทดลองจะใช้หนอนกระทู้ผักวัยที่ 2 (น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ  $0.02 \pm 0.004$  กรัม) หนอนกระทู้ผักวัยที่ 3 (น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ  $0.06 \pm 0.004$  กรัม) และหนอนกระทู้ผักวัยที่ 4 (น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ  $0.15 \pm 0.004$  กรัม) มาทดสอบ แบ่งหนอนกระทู้ผักออกเป็นกลุ่ม มีจำนวนกลุ่มละ 5 ตัว สารสกัดแต่ละความเข้มข้นจะถูกนำมาทดสอบกับหนอนใยผัก 1 กลุ่ม และทดสอบซ้ำอีก 4 ครั้ง ในการทดสอบพิษโดยการสัมผัสและพิษโดยการกิน แบ่งวิธีการทดสอบเป็น 3 วิธี คือ

### 1. การทดสอบพิษโดยการสัมผัส (contact toxicity)

นำสารละลายแต่ละความเข้มข้นและชุดควบคุมหยดลงบนบริเวณอกปล้องแรก (pronotum) ของหนอนกระทู้ผักที่เตรียมไว้ใน petri dish จำนวนหนึ่งหยดต่อตัว โดยใช้ micro application (Burkard microapplicator 900x) ในอัตราหยดละ 1 ไมโครลิตร นับจำนวนตายของหนอนกระทู้ผักเมื่อเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง นำข้อมูลร้อยละการตายของหนอนไปวิเคราะห์หาค่า  $LC_{50}$  และ  $LC_{95}$  ที่ 72 ชั่วโมง โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป probit analysis ของ Raymond (1985) ตามวิธีการคำนวณของ Finney (1971) หนอนส่วนที่ยังไม่ตาย จะสังเกตการเข้าสู่ระยะดักแด้ จนกระทั่งเจริญไปเป็นตัวเต็มวัย

### 2. การทดสอบพิษโดยการกิน (feeding toxicity)

ผสมสารสกัดในแต่ละความเข้มข้นกับอาหารเทียมในอัตรา สารสกัด 1 กรัมต่ออาหารเทียม 100 กรัม และชุดควบคุม (ไม่ผสมสารทดสอบ) แล้วตัดอาหารเทียมให้เป็นชิ้นขนาดกว้าง x ยาว x สูง เท่ากับ  $1.5 \times 1.5 \times 1.5$  ซม. การเลี้ยงหนอนแต่ละวัย ใช้อาหารเทียม 1 ชิ้นต่อหนอนแต่ละตัว เปลี่ยนอาหารทุก 24 ชั่วโมง นับจำนวนตายของหนอนกระทู้ผักเมื่อเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง

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

### 3. การทดสอบการลดปริมาณประชากรหนอนใยผักบนต้นพืช

ใช้สารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างและสะเดาไทยในความเข้มข้น 20.00, 25.00 และ 30.00 กรัม/ลิตร มาทดสอบ เตรียมตัวอย่างที่จะทดสอบในน้ำโดยใช้ 5% พอลิออกซีเอธิลีนซอร์บิแทนโมโนโอเลต (polyoxyethylene sorbitan monooleate, tween 80) เป็นอิมัลซิฟายเออร์ (emulsifier) หรือสารที่ทำให้เปียกซึ่งเป็นสารที่ช่วยให้สารสกัดสามารถผสมกับน้ำได้ และช่วยเพิ่มพื้นที่ในการสัมผัสกับใบพืช (Attword and Florence, 1993; Rembold, 1989; Parma and Srivastava, 1986; Buchner, 1985) และ 3% พอลิเอซิลแอลคอกซิลเลต (polyacyl alkoxyate, APSA 80) เป็นสารเพิ่มประสิทธิภาพซึ่งเป็นสารที่เพิ่มฤทธิ์ให้แก่สารสกัด และใช้ 5% พอลิออกซีเอธิลีนซอร์บิแทนโมโนโอเลต และ 3% พอลิเอซิลแอลคอกซิลเลตในน้ำเป็นสารละลายของชุดควบคุม

การทดสอบนี้ใช้ผักกวางตุ้งเป็นอาหารของหนอนกระทู้ผักแทนผักคะน้าเนื่องจากต้องทำการเพาะและปลูกต้นผักกวางตุ้งในถุงเพาะเพื่อใช้ในการทดลอง ซึ่งผักกวางตุ้งมีอัตราการเจริญเติบโตดีกว่าผักคะน้า ทำการแยกผักกวางตุ้งอายุ 10 วัน ที่ไม่เคยได้รับสารใดๆ ลงในถุงเพาะถุงละ 1 ต้น เพาะเลี้ยงผักกวางตุ้งในโรงเรือนที่คลุมด้วยตาข่ายพลาสติกจนผักกวางตุ้งมีอายุได้ 20 วัน แบ่งชุดการทดลองตามลำดับความเข้มข้นๆ ละ 5 ซ้ำๆ ละ 5 ต้น ปลอ่ยหนอนกระทู้ผักวัยที่ 2 ลงบนต้นผักกวางตุ้งต้นละ 5 ตัว ทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วัน นำผักกวางตุ้งออกมาวางนอกโรงเรือนและตรวจนับจำนวนหนอนกระทู้ผักที่พบบนต้นผักกวางตุ้ง จากนั้นพ่นด้วยสารละลายของสารสกัดและชุดควบคุมที่เตรียมไว้ด้วยเครื่องฉีดพ่นแบบสะพายหลัง (knapsack sprayer) ระยะห่างระหว่างหัวฉีดกับต้นผักกวางตุ้งคือ 30 ซม. ความดันในถังเท่ากับ 10 บาร์ พ่นนาน 5 วินาที/ต้น แล้วนำต้นผักกวางตุ้งเข้าไปในโรงเรือนปล่อยให้เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนหนอนกระทู้ผักที่พบเหลืออยู่บนต้นผักกวางตุ้งแต่ละต้น แล้วนำไปคำนวณหาจำนวนและร้อยละที่ลดลงของหนอนกระทู้ผัก

## ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดสอบพิษโดยการสัมผัสต่อหนอนกระทู้ผักวัยที่ 2, 3 และ 4 แสดงไว้ใน Table 1 พบว่าเมื่อพิจารณาจากความเข้มข้นที่ทำให้หนอนกระทู้ผักตาย 50% ( $LC_{50}$ ) ในกลุ่มสารสกัดทั้งหมด สารสกัดหยาดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างมีฤทธิ์ดีที่สุด โดยมีค่า  $LC_{50}$  ในหนอนกระทู้ผักวัยที่ 2, 3 และ 4 เป็น 5.26, 8.83 และ 19.69 กรัม/ลิตร ตามลำดับ รองลงมาคือ สารสกัดหยาดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาไทย ( $LC_{50}$  ในหนอนกระทู้ผักวัยที่ 2, 3 และ 4 เป็น 11.04, 16.41 และ 22.68 กรัม/ลิตร ตามลำดับ) โดยที่สารสกัดทั้งสองมีฤทธิ์สูงกว่าเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสเรอริงจิเอนซิสสายพันธุ์เคอร์สเตาโค เอชดี-วัน ( $LC_{50}$  ในหนอนกระทู้ผักวัยที่ 2, 3 และ 4 มากกว่า 30 กรัม/ลิตร) แต่มีฤทธิ์ต่ำกว่ามากเมื่อเทียบกับเพอร์เมทริน ( $LC_{50}$  ในหนอนกระทู้ผักวัยที่ 2, 3 และ 4 เป็น 0.12, 0.18 และ 1.44 กรัม/ลิตร ตามลำดับ) ซึ่งเป็นสารเคมีที่ใช้ควบคุมหนอนกระทู้ผักในทางเกษตรกรรมและใช้เป็นชุดควบคุมบวก (positive control) ของการวิจัยนี้ ส่วนสารสกัดหยาดด้วยนอร์มอลเฮกเซนทั้งจากเมล็ดสะเดาข้างและเมล็ดสะเดาไทย มีฤทธิ์ต่ำกว่าสารสกัดหยาดด้วยเมธานอล ปริมาณของสารสกัดที่ทำให้หนอนกระทู้ผักตาย 50% ในวัยที่ 2, 3 และ 4 มีค่าสูงขึ้นตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากหนอนกระทู้ผักในวัยที่สูงกว่าจะมีความต้านทานหรือความทนต่อสารสกัดได้ดีกว่าโดยเฉพาะหนอนกระทู้ผักวัยที่ 4 ซึ่ง

ไม่มีการตายของหนอนวัยนี้ เมื่อทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสเรอริงจิเอนซิสสายพันธุ์เคอร์สเตาโค เอชดี-วัน น้ำมันเมล็ดสะเดาข้างและสะเดาไทย

ผลการทดสอบพิษโดยการกินต่อหนอนกระทู้ผักวัยที่ 2, 3 และ 4 แสดงไว้ใน Table 1 ให้ผลการทดสอบคล้ายคลึงกับการทดสอบพิษโดยการสัมผัส โดยสารสกัดหยาดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างมีฤทธิ์ต่อการตายดีที่สุด ( $LC_{50}$  ในหนอนกระทู้ผักวัยที่ 2, 3 และ 4 เป็น 1.59, 3.67 และ 4.72 กรัม/ลิตร ตามลำดับ) รองลงมาคือ สารสกัดหยาดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาไทย ( $LC_{50}$  ในหนอนกระทู้ผักวัยที่ 2, 3 และ 4 เป็น 1.62, 3.95 และ 9.91 กรัม/ลิตร ตามลำดับ) และสารสกัดหยาดด้วยนอร์มอลเฮกเซนมีฤทธิ์ต่ำกว่าสารสกัดหยาดด้วยเมธานอลในพืชแต่ละชนิด ปริมาณของสารสกัดที่ใช้ในหนอนกระทู้ผักวัยที่สูงกว่าจะใช้ปริมาณมากกว่าในหนอนกระทู้ผักวัยที่ต่ำกว่า และเมื่อพิจารณาฤทธิ์ในการฆ่าหนอนกระทู้ผักวัยเดียวกันเมื่อทดสอบพิษโดยการสัมผัสและการกินโดยการดูค่า  $LC_{50}$  (Table 1) พบว่าการทดสอบพิษโดยการกินใช้ปริมาณสารสกัดน้อยกว่า ซึ่งให้ผลในการควบคุมหนอนกระทู้ผักดีกว่า หากพิจารณาฤทธิ์ในการฆ่าหนอนกระทู้ผักของสารสกัดหยาดด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาทั้งสองชนิดเทียบกับเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสเรอริงจิเอนซิสสายพันธุ์เคอร์สเตาโค เอชดี-วัน ซึ่งเป็นสิ่งที่ได้จากธรรมชาติเหมือนกันและจัดเป็นสิ่งที่ใช้ฆ่าแมลงที่มีผลตกค้างหรือมีผลต่อสิ่งแวดล้อมน้อยตามข้อมูลใน Table 1 ทั้งในแง่พิษโดยการสัมผัสและ

**Table 1. The  $LC_{50}$  (g/l) values of seed extracts from tiam and neem for the 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup> and the 4<sup>th</sup> instar larvae of cotton leafworm by topical application and feeding method at 72 hours.**

Sample	Topical application method (g/ml)			Feeding method (g/ml)		
	2 <sup>nd</sup> Instar larvae	3 <sup>rd</sup> Instar larvae	4 <sup>th</sup> Instar larvae	2 <sup>nd</sup> Instar larvae	3 <sup>rd</sup> Instar larvae	4 <sup>th</sup> Instar larvae
Methanol extract of tiam seeds	5.26	8.83	19.69	1.59	3.67	4.72
Methanol extract of neem seeds	11.04	16.41	22.68	1.62	3.95	9.91
n-Hexane extract of tiam seeds	>30.00	>30.00	NE*	29.21	>30.00	NE*
n-Hexane extract of neem seeds	>30.00	>30.00	NE*	>30.00	>30.00	NE*
B. thuringiensis	>30.00	>30.00	NE*	17.50	18.03	>30.00
Permethrin	0.12	0.18	1.44	0.08	0.11	0.34

\* NE = Non effective (no killed number at 30.00 g/ml)

การกิน พอจะสรุปได้ว่าสามารถใช้สารสกัดหยาบด้วย เมธานอลทดแทนเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสเธรริงจีโอเนซิส สายพันธุ์เคอร์สตาโค เอชดี-วันได้ และมีฤทธิ์ดีกว่า

ในกลุ่มตัวอย่างที่นำมาทดสอบทั้งหมดทั้งตัวอย่าง ที่มาจากธรรมชาติ และที่เป็นสารกึ่งสังเคราะห์ มีเพียง เพอร์เมทรินเท่านั้นที่สามารถหาความเข้มข้นที่ทำให้หนอน กระทู้ผักทุกวัยที่นำมาทดสอบตาย 95% (LC<sub>95</sub>) ได้ (Table 2) สารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างมีค่า LC<sub>95</sub> ในหนอนกระทู้ผักวัยที่ 2 เป็น 28.75 กรัม/ลิตร เมื่อ ทดสอบพิษโดยการสัมผัส และมีค่า LC<sub>95</sub> ในหนอนกระทู้ ผักวัยที่ 2 และ 3 เป็น 13.11 และ 23.75 กรัม/ลิตร ตาม ลำดับเมื่อทดสอบพิษโดยการกิน น้ำมันจากเมล็ดสะเดาข้าง และสะเดาไทย เชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสเธรริงจีโอเนซิสสาย พันธุ์เคอร์สตาโค เอชดี-วัน ไม่สามารถทำให้หนอนกระทู้ ผักวัยที่ 4 ตายได้เมื่อทดสอบพิษโดยการสัมผัสที่ความ เข้มข้นสูงสุดที่ใช้ของการวิจัยนี้คือ 30.00 กรัม/ลิตร และ น้ำมันจากเมล็ดสะเดาทั้งสองไม่สามารถทำให้หนอนกระทู้ ผักวัยที่ 4 ตายได้แม้แต่ในความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ทดสอบ เมื่อทดสอบพิษโดยการกิน ซึ่งแสดงว่าน้ำมันจากเมล็ด สะเดาข้างและสะเดาไทย ไม่เหมาะที่จะใช้ควบคุมหนอน กระทู้ผักวัยที่ 4

จากการรายงานของขวัญชัย (2540) เมล็ดสะเดา ไทยมีสาร azadirachtin, triterpenoids และ malantriol และจากการรายงานของ Klaus และคณะ (1998) เมล็ด สะเดาข้างมีสาร azadirachtin และ 1-tigloyl-3-acetyl-

azadirachtol ซึ่งมีฤทธิ์ในการควบคุมหนอนใยผักและ แมลงศัตรูพืชอื่นๆ ได้ดีกว่าสาร azadirachtin นอกจากนี้ Schmutterer และ Doll (1993) ยังได้รายงานไว้ว่าสาร 1-tigloyl-3-acetylazadirachtol สามารถควบคุม *Epilaca varivestis* และ *Schistocer gragaris* ดังนั้นการออกฤทธิ์ ฆ่าหนอนกระทู้ผักของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาทั้งสองชนิด ทั้งการทดสอบพิษโดยการสัมผัสและโดยการกินจึงเป็นฤทธิ์ ของสารในกลุ่ม azadirachtin ที่มีอยู่ในสารสกัดดังกล่าว สาร azadirachtin เมื่อเข้าไปในร่างกายของแมลงโดยการ กิน จะไปยับยั้งการทำงานของน้ำย่อยโมโนออกซีเจเนส (monooxygenase enzyme) ของแมลง น้ำย่อยโมโน ออกซีเจเนสมีหน้าที่ในการทำลายสารแปลกปลอมที่เข้าสู่ ร่างกายแมลง โดยการทำให้สารแปลกปลอมละลายน้ำแล้ว ถูกขับออกจากร่างกายแมลง เมื่อน้ำย่อยโมโนออกซีเจเนส ถูกยับยั้งการทำงาน จะทำให้ระบบการขับถ่ายของเสีย และ ระบบการย่อยอาหารของแมลงบกพร่อง เป็นการยับยั้งการ กินอาหารของแมลง เมื่อแมลงไม่กินอาหารแมลงจะหยุด การสร้างสารไคติน (chitin) ซึ่งเป็นสารที่มีความจำเป็น ต่อการลอกคราบของแมลง แมลงจึงไม่เจริญเติบโตและ อ่อนแอลงจนตายในที่สุด (Jilani and Saxena, 1990; Rembold *et al.*, 1983) เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ในการฆ่า แมลงโดยพิจารณาจากค่า LC<sub>50</sub> ของสารสกัดหยาบด้วย เมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างและเมล็ดสะเดาไทย ทั้งการ ทดสอบพิษโดยการสัมผัสและโดยการกิน พบว่าสารสกัด หยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างมีฤทธิ์สูงกว่าสาร

**Table 2. The LC<sub>95</sub> (g/l) values of seed extracts from tiam and neem for the 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup> and the 4<sup>th</sup> instar larvae of cotton leafworm by topical application and feeding method at 72 hours.**

Sample	Topical application method (g/ml)			Feeding method (g/ml)		
	2 <sup>nd</sup> Instar larvae	3 <sup>rd</sup> Instar larvae	4 <sup>th</sup> Instar larvae	2 <sup>nd</sup> Instar larvae	3 <sup>rd</sup> Instar larvae	4 <sup>th</sup> Instar larvae
Methanol extract of tiam seeds	28.75	>30.00	>30.00	13.11	23.75	>30.00
Methanol extract of neem seeds	>30.00	>30.00	>30.00	18.75	>30.00	>30.00
n-Hexane extract of tiam seeds	>30.00	>30.00	NE*	>30.00	>30.00	NE*
n-Hexane extract of neem seeds	>30.00	>30.00	NE*	>30.00	>30.00	NE*
B. thuringiensis	>30.00	>30.00	NE*	>30.00	>30.00	>30.00
Permethrin	4.36	7.96	11.67	3.59	4.53	12.14

\* NE = Non effective (no killed number at 30.00 g/ml)

สกัดหยาบจากเมล็ดสะเดาไทย ทั้งนี้คงเป็นเพราะเมล็ดสะเดาซึ่งมีสาร 1-tigloyl-3-acetylazadirachtol ซึ่งมีฤทธิ์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชได้ดีกว่าสาร azadirachtin (Klaus *et al.*, 1998)

ลักษณะของหนอนกระทู้ผักวัยที่ 2 และ 3 ที่ตายด้วยสารสกัดจากเมล็ดสะเดาทั้งสองชนิดโดยการทดสอบพิษโดยการสัมผัสที่ระดับความเข้มข้น 25.00 และ 30.00 กรัม/ลิตร มีลักษณะลำตัวเหี่ยวและเล็ก สีคล้ำ โดยที่หนอนที่ตายด้วยสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาซึ่งจะมีสีที่คล้ำกว่าที่ตายด้วยสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาไทย ส่วนหนอนกระทู้ผักวัยที่ 2 ที่ตายด้วยสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาทั้งสองชนิดโดยการทดสอบพิษโดยการกิน ที่ระดับความเข้มข้น 30.00 กรัม/ลิตร มีลักษณะลำตัวเหี่ยวและเล็ก ลำตัวมีสีคล้ำ และมีคราบติดอยู่บนตัวหนอน เนื่องจากหนอนไม่สามารถลอกคราบได้ตามปกติ ทั้งนี้เนื่องจากผลจากสาร azadirachtin ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารของแมลง (อัญชลี, 2543) ในชุดที่ทดสอบพิษด้วยสารเพอร์เมทรินหนอนที่ตายมีลักษณะสีคล้ำจัด ลำตัวบวมพอง หนอนกระทู้ผักวัยที่ 3 ที่ตายจากการทดสอบพิษโดยการกินสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาทั้งสองชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 25.00 และ 30.00 กรัม/ลิตร พบว่าหนอนมีลำตัวเหี่ยว สีคล้ำ ไม่สามารถลอกคราบได้ตามปกติ ในชุดที่ทดสอบด้วยเพอร์เมทรินหนอนมีลำตัวสีคล้ำจัด บวมพอง และชุดที่ทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสเธรริงจีโอเนซิสสายพันธุ์

เคอร์स्ताไค เอชดี-วัน พบว่าหนอนมีลำตัวบวมพอง เน่าและ มีน้ำสีขาวขุ่นก้นหมื่นไหลออกมานอกลำตัว ทั้งนี้เนื่องจากสารพิษที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสเธรริงจีโอเนซิสสายพันธุ์เคอร์स्ताไค เอชดี-วัน ทำให้เกิดการสลายของเซลล์ในแมลง (Guihard *et al.*, 2001) นอกจากนี้ยังพบว่า หนอนกระทู้ผักที่ได้รับสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาทั้งสองชนิด มีบางส่วนที่ยังไม่ตายภายใน 72 ชั่วโมง เมื่อนำมาเลี้ยงต่อในสภาพปกติเพื่อสังเกตลักษณะการเจริญเติบโต ผลปรากฏว่าหนอนสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ แต่มีลักษณะที่ผิดปกติไป เช่น มีรูปร่างที่เล็กกว่าปกติ ลำตัวอ่อน ไม่สามารถเจริญเติบโตเข้าสู่ระยะดักแด้ได้ หรือหากมีการเจริญเติบโตเข้าสู่ระยะดักแด้ ก็จะปรากฏอาการของดักแด้ที่ผิดปกติ เช่น มีขนาดเล็ก บวมพอง และส่วนมากไม่สามารถเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย หรือผีเสื้อหนอนกระทู้ผักได้ แม้มีบางดักแด้ที่สามารถเจริญไปเป็นตัวเต็มวัย แต่ก็เป็นตัวเต็มวัยที่ผิดปกติ เช่น ตัวเล็กกว่าปกติ มีปีกอวบไม่สามารถบินได้ และไม่สามารถผสมพันธุ์กับผีเสื้อหนอนกระทู้ผักที่ปกติได้

การที่หนอนกระทู้ผักที่ได้รับสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาแล้วมีลักษณะของดักแด้ที่ผิดปกติและดักแด้นั้นตายในที่สุด หรือหากแม้เจริญเติบโตต่อไปได้ ก็เป็นตัวเต็มวัยที่ผิดปกติ เช่น มีตัวเล็กกว่าปกติ หรือมีปีกที่ไม่สมบูรณ์ที่ไม่สามารถบินได้ ตลอดจนไม่สามารถสืบพันธุ์ได้ เป็นผลมาจากสาร azadirachtin เพราะสารตัวนี้มีผลในการยับยั้งการสังเคราะห์ฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ

**Table 3. The diminishable number of the 2<sup>nd</sup> instar larvae of cotton leafworm on Chinese kale after treated with crude methanol extract from tiam and neem seeds by spraying method at 72 hours**

Sample	Concentration (g/l)	Diminishable No. of the 2 <sup>nd</sup> instar larvae of cotton leafworm (% $\pm$ SD)
Tiam seeds	20.00	40.0 $\pm$ 8.9
	25.00	64.0 $\pm$ 16.8
	30.00	76.0 $\pm$ 11.0
Neem seeds	20.00	32.0 $\pm$ 11.0
	25.00	44.0 $\pm$ 10.8
	30.00	60.0 $\pm$ 8.9
Control	-	0



การเปลี่ยนรูปร่าง (metamorphosis) ของแมลง (สุภาณี, 2540)

จากผลการทดสอบการลดจำนวนประชากรหนอนกระทู้ผักวัยที่ 2 บนต้นผักกวางตุ้งโดยการพ่นด้วยสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างและเมล็ดสะเดาไทย (Table 3) พบว่าสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างมีผลต่อการลดจำนวนประชากรหนอนกระทู้ผักวัยที่ 2 ได้ดีกว่าสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาไทย ในความเข้มข้นที่เท่ากัน และสามารถลดจำนวนประชากรหนอนกระทู้ผักวัยที่ 2 ลงได้อย่างเด่นชัดเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยที่ชุดควบคุมไม่พบการลดจำนวนลงของหนอนกระทู้ผัก ผลที่ปรากฏเช่นนี้คงเนื่องมาจากเหตุผลสองประการด้วยกัน ประการแรกสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างและเมล็ดสะเดาไทยมีฤทธิ์ฆ่าหนอนกระทู้ผักวัยที่ 2 อยู่แล้ว ซึ่งเป็นไปตามการทดสอบพิษโดยการสัมผัสและการทดสอบพิษโดยการกิน ตามผลการทดลองที่ได้แสดงไว้ใน Table 1 และสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างก็ให้ผลที่ดีกว่าเช่นเดียวกัน ประการที่สองเนื่องจากสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลดังกล่าวมีกลิ่นฉุน โดยเฉพาะสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้าง การที่สารสกัดมีกลิ่นเนื่องจากมีสารบางชนิดที่ระเหยได้ ออกมารบกวนการได้รับกลิ่นของสารกลูโคซิโนเลท (glucosinolate) ที่มีอยู่ในผักกวางตุ้งที่ทำหน้าที่ในการดึงดูดแมลงศัตรูพืช (Panda and Khush, 1995) เมื่อแมลงศัตรูพืชได้รับกลิ่นของสารเคมีเหล่านี้แทนกลิ่นกลูโคซิโนเลท จึงไม่เข้ามากินใบพืช

การทดสอบการลดปริมาณประชากรหนอนกระทู้ผักบนต้นพืช ถ้าสารที่นำมาทดสอบไม่ละลายน้ำ มักมีการผสมกับสารที่ทำให้เปียก (wetting agent) หรือสารอิมัลซิฟายเออร์เพื่อช่วยให้สามารถผสมกับน้ำได้ และช่วยเพิ่มพื้นที่ในการสัมผัสกับใบพืช เป็นการเพิ่มปริมาณสารให้จับติดบนใบพืชได้ดีและมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีการผสมสารเพิ่มประสิทธิภาพลงไปด้วย ซึ่งในการทดลองนี้มีการใช้ tween 80 เป็นอิมัลซิฟายเออร์ (ใช้ในปริมาณ 5%) และใช้ APSA 80 เป็นสารเพิ่มประสิทธิภาพ (ใช้ในปริมาณ 3%) มีรายงานการศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารสกัดจากเนื้อในเมล็ดสะเดาไทยต่อหนอนกระทู้ผักวัยที่ 2 และวัยที่ 4 โดยทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจาก

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

### สรุปผลการทดลอง

ในการทดสอบฤทธิ์ต่อหนอนกระทู้ผักวัยที่ 2, 3 และ 4 ของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาข้างและเมล็ดสะเดาไทย โดยการทดสอบพิษโดยการสัมผัสและพิษโดยการกิน เมื่อพิจารณาจากค่า  $LC_{50}$  สารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดของพืชทั้งสองชนิดมีฤทธิ์ดีกว่าสารสกัดหยาบด้วยนอร์มอลเฮกเซน และสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างมีฤทธิ์ดีที่สุดในกลุ่มสารสกัดทั้งหมด สารสกัดหยาบด้วยนอร์มอลเฮกเซนและเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสเรอริงจีเอ็นซิสสายพันธุ์เคอร์สเตาโค เอชดี-วัน มีค่า  $LC_{50}$  มากกว่า 30.00 กรัม/ลิตร ในหนอนกระทู้ผักทุกวัยที่นำมาทดสอบ สารสกัดทั้งหมดมีฤทธิ์ต่ำกว่าสารฆ่าแมลงเพอร์เมทรินที่นำมาใช้เป็นชุดควบคุมบวก แต่หากเปรียบเทียบฤทธิ์ในการฆ่าหนอนกระทู้ผักวัยที่ 2, 3 และ 4 ของสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างกับเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัสเรอริงจีเอ็นซิสสายพันธุ์เคอร์สเตาโค เอชดี-วัน ซึ่งถือว่าเป็นสิ่งควบคุมหนอนกระทู้ผักจากธรรมชาติเหมือนกัน สารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างมีฤทธิ์สูงกว่าหลายเท่า นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ในการลดปริมาณประชากรหนอนกระทู้ผักบนต้นพืช ระหว่างสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างและเมล็ดสะเดาไทย ปรากฏว่าสารสกัดหยาบด้วยเมธานอลจากเมล็ดสะเดาข้างให้ผลดีกว่า ดังนั้นเมล็ดสะเดาข้างจึงเป็นทรัพยากรจากท้องถิ่นภาคใต้ที่มีศักยภาพที่จะพัฒนาไปสู่การนำไปใช้เป็นตัวควบคุมแมลงศัตรูพืชได้ เช่นเดียวกับเมล็ดสะเดาไทยที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน

### กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัย และขอขอบคุณ ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ ภาควิชาเภสัชเวชและเภสัชพันธุศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ได้อำนวยความสะดวกและสนับสนุนให้ใช้สถานที่ ตลอดจนเครื่องมือต่างๆ ในการวิจัย

### เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2537. หลักและวิธีการผลิตผักกอกน้ามัย: โครงการนำร่องการผลิตผักผลไม้สดอนามัย กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพมหานคร.
- ขวัญชัย สมบัติศิริ. 2540. สะเดามิติใหม่ของสารกำจัดแมลง. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. บางเขน กรุงเทพมหานคร.
- พิมลพร นันทะ จุฑารัตน์ อรรถจารุสิทธิ์ สถิติ ปฐมรัตน์ รัตนาชนะพงษ์ และ รุจ มรกต. 2534. รายชื่อแมลงศัตรูธรรมชาติของพืชเศรษฐกิจบางชนิดในประเทศไทย ในเอกสารวิชาการการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพมหานคร.
- สมภพ ฐิตะวสันต์. 2542. หลักการผลิตผัก ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืชและเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร.
- สำนักวิจัยและพัฒนาการผลิตสารธรรมชาติ. 2541. เอกสารประกอบมหกรรมวิชาการเกษตร'41. รายงานการประชุมวิชาการประจำปี 2541. กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพมหานคร.
- สุภาณี พิมพ์สมาน. 2540. สารฆ่าแมลง ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น.
- สุไรกร เพิ่มคำ. 2540. เอกสารคำสอนรายวิชาแมลงศัตรูสำคัญทางเศรษฐกิจ. ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา.
- สุไรกร เพิ่มคำ อนุชิต ชินาจริยวงศ์ และจิตผกา ธนปัญญาธิวงศ์. 2531. รายงานวิจัยเรื่อง การศึกษาขั้นพื้นฐานของการนำเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดมาใช้ในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* Fabr.) ในเขตเพาะปลูกจังหวัดสงขลา, ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา.
- สุรพล อุบัติสกุล. 2536. สถิติการวางแผนการทดลอง เล่ม 1. พิมพ์ครั้งที่ 3 สหมิตรอพเพชท์. กรุงเทพมหานคร.
- อารมณิ แสงวนิชย์. 2536. การใช้สารธรรมชาติในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ใน รายงานการสัมมนาการใช้สารสกัดจากพืชเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูทางการเกษตร, คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 6-8 พฤษภาคม 2536: 118-122.
- อัญชลี สวงนพงษ์. 2543. เทคโนโลยีการผลิตสารสกัดสะเดา, พิมพ์ครั้งที่ 1. ปาปิรุส พับลิเคชั่น จำกัด กรุงเทพมหานคร.
- อินทวัฒน์ บุรีคำ. 2537. บทปฏิบัติการกีฏวิทยาทางการเกษตร ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร.
- อุทัย เกตุนุติ. 2534. การเลี้ยงแมลงด้วยอาหารเทียม ใน รายงานการสัมมนา การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี กลุ่มวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพมหานคร. 2534: 118-147.
- Attword, E.J. and Florence, A.T. 1993. Surfactant System: Their Chemistry, Pharmacy and Biology, Chapman and Hall., London.
- 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.
- 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.
- 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.

- 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. Presentation 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., Rauscholzhausen, Germany, May 25-28, 1983, pp.153-162.
- Rembold, J.E.F. 1989. Matindale: The Extra Pharmacopoeia, Pharmaceutical Press, London.
- Schmutterer, H. and Doll, M. 1993. The marrango of philippine neem tree, *Azadirachta excelsa* (A. integrifoliola): a new source of insecticides with growth regulating properties, *Phytoparasitica* 21(1): 79-86.
- Sombatsiri, K. and Temboonkeat, K. 1986. Efficacy of an improved neem kernel extract in the control of *Spodoptera litura* and *Plutella xylostella* under laboratory conditions and in field trials, Proc. of the 2<sup>nd</sup> Int. Neem Conf., Nairobi, Kenya, July 10-15, 1986, pp. 195-204.
- 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.
- Zhang, J.H., Wang, C.Z. and Qin, J.D. 2000. The interactions between soybean trypsin inhibitor and  $\delta$ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis* in *Helicoverpa armigera* larva, *J. Invertebrate Pathology* 75: 259-266.