รายงานการวิจัย

ฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัดทุเรียนเทศ: ทางเลือกที่มีประสิทธิภาพและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมเพื่อการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก

Insecticidal Activity of *Annona muricata* L. Extracts: Environmentally Friendly and Effective Alternatives for *Plutella xylostella* L. Control

พัชราภรณ์ วาณิชย์ปกรณ์ Patcharaporn Vanichpakorn

ยืนยง วาณิชย์ปกรณ์ Yuenyong Vanichpakorn

รุสนี กุลวิจิตร Roosanee Kulvijitra

คณะเกษตรศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

งบประมาณแผ่นดินประจำปี พ.ศ. 2555-2556

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดินประจำปี 2555-2556 ขอขอบคุณเกษตรกร หมู่ 4 ตำบลท่าซอม อำเภอหัวไทร จังหวัดนครศรีธรรมราช ที่ กรุณาช่วยเก็บรวบรวมหนอนใยผักในแปลงปลูกคะน้า เพื่อนำมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการ ขอขอบคุณผศ.มุจลินท์ ติณสิริสุข และผศ. เยาวดี ติณสิริสุข ที่กรุณาช่วยเก็บรวบรวมผลทุเรียนเทศ เพื่อนำมาศึกษาฤทธิ์ฆ่าแมลงที่มีต่อหนอนใยผักในห้องปฏิบัติการ ขอขอบคุณผศ.ดร.เสาวณีย์ ชัยเพชร ที่ให้คำแนะในการทำสารผสมให้เป็นสารบริสุทธิ์ ขอขอบคุณบุคลากรของคณะเกษตรศาสตร์ประกอบด้วยคณะอนุกรรมการวิจัย สำหรับคำชี้แนะในการจัดทำโครงร่างงานวิจัย ให้มีความถูกต้องสมบูรณ์ ขอขอบคุณอาจารย์เพียงออ ยีสา ที่ให้คำแนะนำในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติและการแปรผล สุดท้ายนี้คณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้ช่วยนักวิจัยทุกท่านได้แก่ นางสาวอิสรา ตั่นสกุล นางสาวพิมพ์ชนา วงศ์พิศาล และนายสืบพงศ์ ขุนทอง ที่ช่วยทำงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ผศ.ดร. พัชราภรณ์ วาณิชย์ปกรณ์
หัวหน้าโครงการวิจัย
20 กันยายน 2557

บทคัดย่อ

การทดสอบฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารปิโตรเลียมอีเทอร์ สารสกัดเอทิลอะซีเตรท สารสกัดอะซิโตน และสารสกัดเอทานอลจากใบและเมล็ดทุเรียนเทศ ที่มีต่อหนอนใยผักในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธีจุ่มใบ ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดจากใบทุเรียนเทศมีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูงมาก ทำให้หนอนใยผักระยะตัวหนอนวัย 2 ตาย 85.00-100% ในขณะที่สารสกัดจากเมล็ดทุเรียนเทศ มีความเป็นพิษต่อแมลงในระดับปานกลาง (70.00-77.50%) สำหรับประสิทธิภาพของสารสกัดทั้ง 4 ชนิดจากใบทุเรียนเทศ พบว่าสารสกัดเอทานอลมีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูงสุด โดยมีค่า LC_{50} ที่เวลา 72 ชั่วโมงต่อหนอนใยผักระยะตัวหนอนวัย 2 และวัย 3 เท่ากับ 420.25 และ 840.89 พีพีเอ็ม ตามลำดับ รองลงมาได้แก่สารสกัดอะซิโตน สารสกัดเอทิลอะซิเตรทและสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศความเข้มข้น 1, 3 และ 5% (w/v) มาทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมหนอนใยผักในแปลงคะน้า ทั้งในฤดูแล้งและฤดูฝน เปรียบเทียบกับสารฆ่าแมลงสปินโนแซดและชุดควบคุม ผลการทดสอบในฤดูแล้งพบว่า สารฆ่าแมลงสปินโนแซดและสารสกัดเอทานอล มีฤทธิ์ควบคุมหนอนใยผักสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ นอกจากนี้สารสกัดเอทานอลทุกความเข้มข้น มีฤทธิ์ควบคุมหนอนใยผักในระดับน่าพอใจใกล้เคียงกับสารฆ่าแมลงสปินโนแซด ซึ่งเป็นสารที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างทางสถิติของการควบคุมหนอนใยผัก ระหว่างสิ่งทดลองในช่วงฤดูฝน การแยกสารออกฤทธิ์ฆ่าแมลงจากสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศ ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตรกราฟี สามารถแยกสารได้ทั้งหมด 18 fraction สาร fraction 3, 4, 14, 15 และ 16 มีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูงมาก ทำให้หนอนใยผักวัย 2 ตาย 80.00-92.50% ซึ่งสาร fraction 4 มีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูงสุดโดยมีค่า LC_{50} ต่อหนอนวัยผักวัย 2 และ 3 ที่เวลา 72 ชั่วโมง เท่ากับ 132.67 และ 288.34 พีพีเอ็ม ตามลำดับ เมื่อนำสาร fraction 4 มาแยกบริสุทธิ์ พบสารออกฤทธิ์ฆ่าแมลงที่มีรายงานแล้ว 1 ชนิด ได้แก่สาร sabadelin ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม acetogenins การทดสอบฤทธิ์ฆ่าแมลงของสาร sabadelin กับสารฆ่าแมลงอะบาเม็กตินและสารฆ่าแมลงไซเปอร์เมทริน ต่อหนอนใยผักระยะตัวหนอนวัย 2 และวัย 3 ระยะดักแด้และระยะตัวเต็มวัย ในห้องปฏิบัติการพบว่า สารฆ่าแมลงอะบาเม็คตินมีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูงสุด โดยมีค่า LC_{50} ที่เวลา 72 ชั่วโมง เท่ากับ 0.03, 0.05, 19.98 และ 39.69 พีพีเอ็ม ตามลำดับ สำหรับค่า LC_{50} ของสารฆ่าแมลงไซเปอร์เมทริน เท่ากับ 21.76, 34.58, 1551.60 และ 3471.87 พีพีเอ็มตามลำดับ ในขณะที่สาร sabadelin มีค่า LC_{50} เท่ากับ 34.72, 55.95, 2767.94 และ 4662.89 พีพีเอ็มตามลำดับ ซึ่งให้ผลการควบคุมแมลงในระดับน่าพอใจ ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่าสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศ มีสารออกฤทธิ์ฆ่าแมลงคือสาร sabadelin ซึ่งมีศักยภาพสูงในการนำไปใช้เป็นทางเลือก เพื่อการควบคุมหนอนใยผักอย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ: ทุเรียนเทศ, หนอนใยผัก, ฤทธิ์ฆ่าแมลง, สารสกัดจากพืช, สารฆ่าแมลงจากพืช

ABSTRACT

Petroleum ether, ethyl acetate, acetone and ethanol extracts of *Annona muricata* leaf and seed were screened for their insecticidal activity against *Plutella xylostella* larvae by a leaf dipping method in laboratory. The leaf extracts were highly effective to the second instar larvae with mortality of 85.00-100% whereas the seed extracts showed moderate insecticidal activity (70.00-77.50%). Among leaf extracts, the ethanol extract had the strongest insecticidal activity against the second and third instar larvae at 72 h with LC_{50} value of 420.25 and 840.89 ppm, respectively. Field trials were conducted to evaluate the efficacy of ethanol extract of *A. muricata* leaf at 1, 3 and 5% (w/v) against *P. xylostella* in Chinese kale in comparison with spinosad and control during dry and rainy seasons. In dry season, spinosad and ethanol extract were significantly effective against the insect than the control. The ethanol extract at all concentrations gave good results compared to spinosad which was the most effective. However, there was no significant difference among treatments in rainy season. The acetone extract was fractionated using a silica gel column. Among the eighteen fractions obtained the third, fourth, fourteenth, fifteenth, and sixteenth fractions showed strong insecticidal activity, causing 80.00-92.50% mortality at 72 h after treatment. The fourth fraction exhibited the strongest activity against the second and third larvae at 72 h, with LC50 value of 132.67 and 288.34 ppm, respectively. The fourth fraction were then purified and identified as sabadelin, an acetogenin. The insecticidal activity of sabadelin, isolated from ethanol extract of *Annona muricata* leaf, was evaluated against the second and third instar larvae, pupae and adults of *P. xylostella* in comparison with two insecticides, abamectin and cypermethrin in laboratory. Abamectin showed the strongest insecticidal activity with LC_{50} value for the second and third instar larvae, pupae and adults of .03, 0.05, 19.98 and 39.69 ppm, respectively. The LC_{50} value of cypermethrin were 21.76, 34.58, 1551.60 and 3471.87 ppm, respectively. Sabadelin gave satisfactory control to the insect with LC_{50} value 34.72, 55.95, 2767.94 and 4662.89 ppm, respectively. The results of this study clearly show that the ethanol extract of *A. muricata* leaf that contain sabadelin demonstrate strong insecticidal activity against *P. xylostella*. Thus, the ethanol extract of *A. muricata* leaf may be considered as potent source and sabadelin as a natural occurring agent for *P. xylostella* control.

Keywords: *Annona muricata*, *Plutella xylostella*, Insecticidal activity, Plant extract, Botanical insecticide

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
วิธีดำเนินการวิจัย	14
ผลการศึกษาและวิจารณ์	23
สรุป	40
เอกสารอ้างอิง	41

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	Insecticidal activity of 4 extracts of *A. muricata* leaf and seed against the 2nd instar larvae of *P. xylostella* using leaf dipping bioassay at 5000 ppm	24
2	LC_{50} values of 4 extracts of *A. muricata* leaf against the 2nd instar larvae of *P. xylostella* using leaf dipping bioassay	25
3	LC_{50} values of 4 extracts of *A. muricata* leaf against the 3rd instar larvae of *P. xylostella* using leaf dipping bioassay	26
4	Efficacy of ethanol extract of *A. muricata* leaf against *Plutella xylostella* on Chinese kale in dry season (January-March 2013)	29
5	Efficacy of ethanol extract of *A. muricata* leaf against *Plutella xylostella* on Chinese kale in rainy season (July-September 2013)	30
6	Insecticidal activity of 18 fractions of ethanol extract of *A. muricata* leaf against the 2nd instar larvae of *P. xylostella* using leaf dipping bioassay at 1000 ppm	32
7	LC_{50} values of the third and fourth fractions isolated from ethanol extract of *A. muricata* leaf against the 2nd instar larvae of *P. xylostella* using leaf dipping bioassay	33
8	LC_{50} values of the third and fourth fractions isolated from ethanol extract of *A. muricata* leaf against the 3rd instar larvae of *P. xylostella* using leaf dipping bioassay	34
9	^{1}H-and ^{13}C-NMR data ($CDCL_3$,δ) of compound I	35
10	Comparative toxicity of sabadelin, abamectin, and cypermethrin against the 2nd instar larvae of *P. xylostella*, using leaf dipping bioassay, 72 h	36
11	Comparative toxicity of of sabadelin, abamectin, and cypermethrin against the 3rd instar larvae of *P. xylostella*, using leaf dipping bioassay, 72 h	37
12	Comparative toxicity of sabadelin, abamectin, and cypermethrin against *P xylostella* pupae, using direct dipping bioassay	37

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
13	Comparative toxicity of sabadelin, abamectin, and cypermethrin against *P xylostella* adults, using residul bioassay, 72 h	38

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	Life cycle of *Plutella xylostella*	5
2	Plant damage caused by *Plutella xylostella*	6
3	Morphology of *Annona muricata*	10
4	Mass rearing of *Plutella xylostella* in laboratory	14
5	Extraction of insecticidal components from *Annona muricata* leaf and seed	15
6	Leaf dipping bioassay for *Plutella xylostella* larvae	16
7	Direct dipping bioassay for *Plutella xylostella* pupae	21
8	Resdual bioassay for *Plutella xylostella* adults	22
9	Chemical structure of compound I (Sabadelin)	36

บทที่ 1
บทนำ

คะน้าเป็นพืชผักตระกูลกะหล่ำ ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศ และยังเป็นผักที่มีปริมาณความต้องการในการบริโภคเพิ่มมากขึ้นทุกปี ทั้งนี้จากข้อมูลของศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร ปี 2552 รายงานเนื้อที่เพาะปลูกผักคะน้าทั้งประเทศประมาณ 92,541 ไร่ โดยเป็นเนื้อที่เก็บเกี่ยว 88,538 ไร่ ได้ผลผลิตจำนวน 1,540 กิโลกรัม/ไร่ คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 1,625 ล้านบาท ปัญหาสำคัญอย่างยิ่งที่ส่งผลกระทบต่อการผลิตคะน้าของเกษตรกรทั่วทุกภาค คือปัญหาการระบาดของแมลงศัตรูพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งหนอนใยผักจัดเป็นแมลงศัตรูร้ายแรงที่สุดของคะน้า เนื่องจากหนอนใยผักเป็นแมลงศัตรูพืชที่มีวงจรชีวิตสั้นและมีอัตราการขยายพันธุ์สูง จึงทำให้หนอนชนิดนี้แพร่ระบาดอย่างรวดเร็วและรุนแรง ซึ่งเกษตรกรชาวสวนผักส่วนใหญ่ นิยมควบคุมการแพร่ระบาดของหนอน ด้วยการฉีดพ่นสารฆ่าแมลงสังเคราะห์ เนื่องจากเป็นวิธีที่ให้ผลในการลดปริมาณการระบาดของหนอนอย่างรวดเร็ว

จากการที่เกษตรกรใช้สารเคมีเพื่อป้องกันกำจัดหนอนใยผักมากเกินความจำเป็นและใช้อย่างต่อเนื่อง ก่อให้เกิดผลกระทบในทางลบตามมาหลายประการ คือ (1) หนอนใยผักสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง (2) สารฆ่าแมลงตกค้างในผลผลิตคะน้า ซึ่งปัจจุบันพบว่า คะน้าเป็นผักที่ตรวจพบสารพิษตกค้างมากเป็นอับดับต้นๆ (เพ็ญนภาและคณะ, 2553) (3) พิษของสารฆ่าแมลงก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพอนามัยของเกษตรโดยตรง (4) เกษตรต้องลงทุนในการผลิตพืชสูงขึ้น ในแง่ของการซื้อสารฆ่าแมลงเพื่อใช้ป้องกันกำจัดหนอนใยผัก ซึ่งสารฆ่าแมลงบางชนิดมีราคาค่อนข้างแพง และ (5) สารฆ่าแมลงก่อให้เกิดอันตรายต่อระบบนิเวศวิทยาทั้งในแหล่งน้ำ ในดิน และในอากาศ

ด้วยความตระหนักถึงพิษภัยของการใช้สารฆ่าแมลง กอปรกับผู้บริโภคในยุคปัจจุบันมีความตื่นตัวในการบริโภคอาหารปลอดภัย รัฐบาลจึงได้กำหนดนโยบายลดการใช้สารเคมีเกษตร และเน้นให้มีการพัฒนาวิธีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชแบบยั่งยืน ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม การนำสารสกัดจากพืชมาใช้ป้องกันกำจัดหนอนใยผัก เป็นทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยลดปริมาณการใช้สารฆ่าแมลง เนื่องจากสารสกัดจากพืชมีข้อดีคือ สลายตัวได้ง่าย ไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้ใช้สาร รวมทั้งไม่ก่อให้เกิดมลภาวะในสภาพแวดล้อม สารสกัดจากพืชประกอบด้วยสารออกฤทธิ์หลายชนิด การที่แมลงจะสร้างความต้านทานต่อสารสกัดจากพืชจึงยากกว่า เมื่อเทียบกับสารฆ่าแมลงสังเคราะห์ ที่มีสารออกฤทธิ์เพียงชนิดเดียว นอกจากนี้เกษตรกรสามารถทำสารสกัดจากพืชได้เองด้วยวิธีง่ายๆ และมีวิธีการใช้ในแปลงปลูกพืชง่ายอีกด้วย ข้อดีของการใช้สารสกัดจาก

พืชอีกประการหนึ่งคือ สามารถนำมาใช้ผสมผสานกับการป้องกันกำจัดหนอนใยผักโดยวิธีการอื่นๆ เช่น วิธีเขตกรรมหรือวิธีชีวภาพหรือวิธีกลได้เป็นอย่างดี แม้นในปัจจุบันมีการผลิตสารสกัดจากพืช เช่น สารสกัดสะเดาจำหน่ายเป็นการค้า เพื่อป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชรวมทั้งหนอนใยผัก อย่างไรก็ตามยังมีความจำเป็นอย่างยิ่ง ที่จะต้องมีการศึกษาหาสารสกัดจากพืชชนิดใหม่ๆ ที่มีประสิทธิภาพสูง และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม เพื่อเป็นทางเลือกให้กับเกษตรกรในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก ในบรรดาพืชที่มีศักยภาพในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก ทุเรียนเทศจัดเป็นพืชอีกชนิดหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากมีรายงานวิจัยว่า สารสกัดจากเมล็ดและใบทุเรียนเทศมีฤทธิ์ควบคุมหนอนใยผัก (Sinchaisri et al, 1991; Trindade et al., 2011) อย่างไรก็ตามการวิจัยส่วนใหญ่เป็นการศึกษาฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัดทุเรียนเทศในระดับห้องปฏิบัติการ การวิจัยเชิงประยุกต์ที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในแปลงปลูกพืชยังน้อยมาก นอกจากนี้ยังไม่มีรายงานวิจัยชนิดของสารออกฤทธิ์ฆ่าแมลงจากสารสกัดทุเรียนเทศ ที่มีผลต่อหนอนใยผัก ดังนั้นการทำวิจัยครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัดจากเมล็ดและใบทุเรียนเทศ ต่อหนอนใยผักในสภาพห้องปฏิบัติการ และศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดที่คัดเลือกได้จากห้องปฏิบัติการ ต่อการควบคุมหนอนใยผักในแปลงปลูกคะน้า รวมทั้งหาชนิดของสารออกฤทธิ์ฆ่าแมลงจากสารสกัดทุเรียนเทศที่คัดเลือกได้ เพื่อเป็นทางเลือกของการควบคุมหนอนใยผักที่มีประสิทธิภาพ และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากส่วนใบและส่วนเมล็ดของทุเรียนเทศ ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและในแปลงปลูกพืช
2. เพื่อหาชนิดของสารออกฤทธิ์ฆ่าแมลงจากสารสกัดทุเรียนเทศ ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก
3. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก ระหว่างสารออกฤทธิ์ฆ่าแมลงที่แยกได้จากสารสกัดทุเรียนเทศกับสารฆ่าแมลงสังเคราะห์

บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

1. หนอนใยผัก

หนอนใยผัก หรือหนอนใย หรือตัวจรวด (Diamondback moth, Cabbage plutella, Short-hole worm, Small cabbage moth) เป็นแมลงศัตรูพืชในวงศ์ Plutellidae อันดับ Lepidoptera มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Plutella xylostella* L.

1.1 รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ

หนอนใยผักเป็นแมลงที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างอย่างสมบูรณ์ (Complete metamorphosis) วงจรชีวิตของแมลงที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างแบบนี้ ประกอบด้วยระยะต่างๆ 4 ระยะคือ ระยะไข่ (egg) ระยะตัวอ่อน (larva) ระยะดักแด้ (pupa) และระยะตัวเต็มวัย (adult) โดยแต่ละช่วงของการเจริญเติบโต แมลงจะมีรูปร่างและพฤติกรรมการกินอาหารแตกต่างกันอย่างชัดเจน โดยทั่วไปหนอนใยผักมีวงจรชีวิตจากไข่จนถึงตัวเต็มวัยใช้เวลาประมาณ 32 วัน (Oke, 2008) อย่างไรก็ตามวงจรชีวิตของหนอนใยผัก ขึ้นอยู่กับพืชอาหารและสภาพแวดล้อม (Golizadeh et al., 2009) เช่น ในประเทศเขตร้อนหรือกึ่งร้อน ซึ่งมีสภาพอากาศร้อน หนอนใยผักจะมีวงจรชีวิตสั้นประมาณ 14 วัน (Wrights, 2004)

ระยะไข่

ไข่ของหนอนใยผักมีขนาดเล็กกว่า 1 มิลลิเมตร มีลักษณะค่อนข้างแบน ยาว และรี มีสีเหลืองอ่อนเป็นมัน มีผิวขรุขระ ระยะไข่มีอายุในช่วง 4 ถึง 8 วัน โดยเฉลี่ยมีอายุประมาณ 5.6 วัน เมื่อไข่ใกล้ฟักเป็นตัวหนอนจะมีสีเหลืองเข้ม (Harcourt, 1957)

ระยะตัวหนอน

ระยะหนอนแบ่งเป็น 4 วัย อายุประมาณ 16-20 วัน (Harcourt, 1957) หนอนแต่ละวัยมีอายุ 4-5 วัน ตัวหนอนวัย 1 มีสีครีมหรือสีใส หัวกะโหลกมีสีเข้ม และเปลี่ยนไปเป็นสีเขียวเข้มเมื่อเจริญเติบโต ตัวหนอนมีรูปแบบ euciform ส่วนหัวและท้ายเรียวแหลมเป็นแฉก ลำตัวปกคลุมไปด้วยขนสั้นสีดำคล้ายหนาม มีขาเทียม 5 คู่ หนอนใยผักอาจมีความยาวลำตัวถึง 13 มิลลิเมตร เมื่อถูกรบกวนจะบิดลำตัวไปมาอย่างรวดเร็ว เคลื่อนที่ถอยหลัง และจะทิ้งตัวลงข้างล่างโดยใช้เส้นใย ตัวหนอนวัย 1-4 มีขนาดลำตัวประมาณ 1.7, 3.5, 7.0 และ 11.2 มิลลิเมตร (Capinera, 2001) และมีความกว้างของหัวกะโหลกประมาณ 0.16, 0.26, 0.38 และ 0.63 มิลลิเมตร ตามลำดับ (Sayyed et al., 2002) เมื่อตัวหนอนเจริญเติบโตเต็มที่ จะเข้าดักแด้โดยถักเป็นใยสีเขียวห่อหุ้มลำตัว เกาะติดกับใบ ลำต้น หรือฝักของพืช

ระยะดักแด้

ดักแด้เป็นแบบ obtect ในระยะเริ่มแรกดักแด้จะมีสีเขียวอ่อน หลังจากนั้นจะเปลี่ยนไปเป็นสีน้ำตาล ขนาดของดักแด้ยาวประมาณ 7-9 มิลลิเมตร ดักแด้มีอายุประมาณ 5-15 วัน (Capinera, 2001; Oke, 2008) ในฤดูร้อนและฤดูฝน ระยะดักแด้ใช้เวลาประมาณ 4 และ 5 วัน ตามลำดับ ฤดูหนาวใช้เวลาประมาณ 5 - 6 วัน อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการพัฒนาของดักคือ 25-26 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 3.20 ± 0.62 วัน (Yamada and Kawasaki, 1983)

ระยะตัวเต็มวัย

ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืน มีลำตัวยาว 8-9 มิลลิเมตร เมื่อกางปีกเต็มที่วัดจากขอบหนึ่งไปยังอีกขอบหนึ่งยาวประมาณ 12-15 มิลลิเมตร เมื่อเกาะนิ่งอยู่กับที่จะหุบปีกเป็นรูปหลังคา ตัวเต็มวัยมีสีเทา ส่วนหลังมีแถบสีเหลืองส้ม และมีเกล็ดปกคลุมโดยตลอด ปีกคู่หน้ามีรอยสีดำอยู่ตรงกลางของปีกจนถึงโคนปีกมองเห็นชัดเจน ในเพศผู้ปีกคู่หน้ามีสีเทาและมีรอยสีดำจางๆ ทางด้านบนของปีกคู่หน้า ที่ปลายปีกมองเห็นเป็นจุดเล็กๆ และมีแถบสีเหลืองอยู่ที่ขอบปีกด้านใน ส่วนเพศเมียไม่มีแถบสีเหลืองอยู่ที่ขอบปีกด้านในของปีกคู่หน้า สำหรับปีกคู่หลังมีสีเทาทั้งเพศผู้และเพศเมีย หนวดเป็นแบบเส้นด้าย มีตาเดี่ยวสีดำ ปีกคู่หลังมีรูปร่างคล้ายใบหอก สีดำและมีขนขึ้นรอบๆปีก ขามีสีเทาและดำปนกัน (ณรรฐพล, 2526; Oke, 2008) ตัวเต็มวัยสามารถมีอายุถึง 7 หรือ 8 สัปดาห์ โดยทั่วไปตัวเต็มวัยมีอายุเฉลี่ย 14 วัน (Oke, 2008)

ผีเสื้อหนอนใยผักจะเริ่มผสมพันธุ์ หลังจากที่แมลงเจริญเป็นตัวเต็มวัยประมาณ 4-15 ชั่วโมง ตัวเต็มวัยเพศเมียจะวางไข่ทันทีหลังผสมพันธุ์ (Talekar and Shelton, 1993) อัตราการวางไข่สูงสุดหลังผสมพันธุ์ 24-48 ชั่วโมง (Abro et al., 1992) ตัวเต็มวัยเพศแมียแต่ละตัว สามารถวางไข่ได้ 18-356 ฟอง โดยเฉลี่ยวางไข่ประมาณ 159 ฟอง/ตัว (Harcourt, 1957) ตัวเต็มวัยเพศเมียมักวางไข่เป็นฟองเดี่ยวๆ หรือวางไข่เป็นกลุ่มๆละ 2-8 ฟอง บริเวณด้านหลังและด้านท้องใบ (Capinera, 2001) (Figure 1)

ช่วงอายุการเจริญเติบโตของหนอนใยผักในแต่ละวัย มักไม่แน่นอน ผันแปรไปตามสภาพแวดล้อม เช่น อาหาร อุณหภูมิ ความชื้น และพืชอาหาร เป็นต้น ในประเทศมาเลเซีย Ooi and Kelderman (1977) รายงานว่า หนอนใยผักที่ระบาดในมาเลซีย ระยะไข่มีอายุ 3 วัน ระยะหนอนมี 4 วัยใช้เวลา 6 วัน ระยะดักแด้ใช้เวลา 3-7 วัน จึงจะเป็นตัวเต็มวัย ผีเสื้อตัวเมีย 1 ตัว วางไข่ได้สูงสุด 288 ฟอง สำหรับประเทศไทย มีการศึกษาเรื่องหนอนใยผักมานานแล้ว จากการศึกษาของพิสิษฐ์และคณะ (2516) พบว่า หนอนใยผักมีอายุการเจริญเติบโตในช่วงหนอนเฉลี่ย 6.2 วัน มีการลอกคราบ 3 ครั้ง อายุดักแด้ประมาณ 3.3 วัน ตัวเต็มวัยสามารถผสมพันธุ์ได้ภายใน 1 วัน หลังออกจากดักแด้ วีรเทพ (2528) รายงานว่าหนอนใยผักมีระยะไข่ 1-2 วัน ระยะหนอน 6-17 วัน ระยะดักแด้ 2-4 วัน

และระยะตัวเต็มวัย 11-20 วัน ระยะพักตัวก่อนวางไข่ 1 วัน Singh and Singh (1982) กล่าวว่าอาหารมีผลต่อระยะเวลาในการเจริญเติบโตของหนอนใยผัก เช่น ถ้าเลี้ยงด้วยกระหล่ำดอก ระยะเวลาในการเจริญเติบโตเท่ากับ 16.9 วัน ถ้าเลี้ยงด้วยหัวผักกาด ใช้เวลา 18.1 วัน ถ้าเลี้ยงด้วยกระหล่ำปลี หัวผักกาดแดงและผักกาดเขียวปลี ใช้เวลา 18.9-19.5 วัน

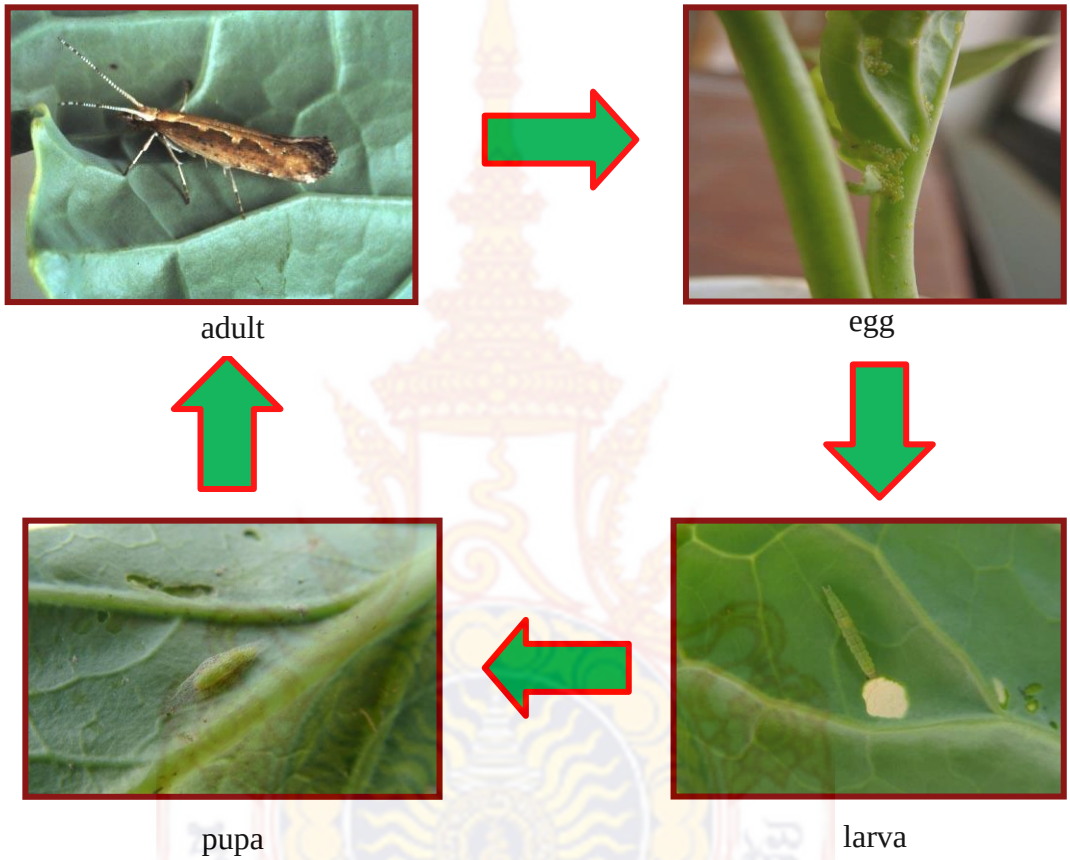

Figure 1 Life cycle of *Plutella xylostella*

1.2 ความเสียหายทางเศรษฐกิจที่เกิดจากหนอนใยผัก

หนอนใยผักเป็นแมลงศัตรูของพืชตระกูลกะหล่ำ เช่น กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก คะน้า ผักกาดหัว ผักกาดขาว บร็อคโคลี แรดิช เทอร์นิพ คาโนลา เป็นต้น ในพืชตระกูลนี้มีสารจำพวก mustard oils และ glucosides เป็นองค์ประกอบ ซึ่งหนอนชนิดนี้ต้องการในการเจริญเติบโต (Gupta and Thorsteinson, 1960) มีรายงานว่า sinigrin, sinalbin, glucocheirolin เป็น glucosides ที่มีบทบาทสำคัญในการดึงดูดหนอนใยผักให้เข้าทำลายพืช (Talekar and Shelton, 1993; Shelton, 2004) หนอนใยผักทำลายพืชโดยตัวหนอนกัดกินส่วนใบ ดอก ตาดอก ฝักและเมล็ดให้ได้รับความเสียหาย ซึ่งสามารถแยกการเข้าทำลายของหนอนใยผักได้ โดยตัวหนอนที่ฟักออกมาใหม่ จะกัดกินอยู่

ในเนื่อเยื่อใบคล้ายหนอนชอนใบ เมื่อหนอนเจริญเติบโตได้สักระยะหนึ่ง จะกัดกินใต้ใบพืชและกินเฉพาะเนื้อเยื่อใบ มองเห็นเป็นช่องหน้าต่าง (window type) ในกรณีที่หนอนระบาดอย่างรุนแรง ตัวหนอนจะกัดกินใบจนเหลือแต่เส้นใบ ทำให้ไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ ในระยะที่พืชกำลังออกดอก หนอนจะกัดกินตาดอกและดอก ส่งผลกระทบให้ผลผลิตเมล็ดลดลง (พิสมัย, 2538; กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูผักไม้ดอกและไม้ประดับ, 2542) (Figure 2)

หนอนใยผักจัดเป็นแมลงที่สร้างความเสียหายร้ายแรงแก่พืชผักตระกูลกะหล่ำทั่วโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศสหรัฐอเมริกา จีน อินเดีย ออสเตรเลีย เอธิโอเปีย เม็กซิโก ญี่ปุ่น สหพันธรัฐรัสเซีย มาเลย์เซีย อินโดนีเซีย เวียดนาม รวมทั้งประเทศไทย (Ayalew, 2005) Verkerk and Wright (1996) รายงานว่าหนอนใยผักสร้างความเสียหายแก่พืชตระกูลกะหล่ำ ในแถบประเทศเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมทั้งประเทศไทยสูงถึง 90 % สำหรับประเทศอินเดีย มีรายงานความเสียของผลผลิตที่เกิดจากการทำลายของหนอนใยผักอยู่ในช่วง 30-100 % และใช้ต้นทุนในการป้องกันกำจัดแมลงชนิดนี้ประมาณ 168 ล้านดอลล่าร์สหรัฐต่อปี (Lingappa et al, 2004) ในประเทศสหรัฐอเมริกาที่รัฐแท็กซัส มีรายงานว่า หนอนใยผักทำให้ผลผลิตกะหล่ำปลีเสียหายคิดเป็นมูลค่า 40-70 ล้านดอลล่าร์สหรัฐต่อปี และทำให้บร็อคโคลีเสียหายมีมูลค่า 400,000 ดอลล่าร์สหรัฐต่อปี ส่วนรัฐแคลิฟอร์เนียพบความเสียหายของบร็อคโคลีคิดเป็นมูลค่า 500 ล้านดอลล่าร์สหรัฐต่อปี นอกจากนี้ยังมีรายงานความเสียหายของกะหล่ำปลีที่เมืองนิวยอร์ค ซึ่งเกิดจากการทำลายของหนอนใยผักมีมูลค่า 80 ล้านดอลล่าร์สหรัฐต่อปี (Shelton, 2004) Macharia et al. (2005) กล่าวไว้ว่าหนอนใยผักสร้างความเสียหายแก่ผลผลิตกะหล่ำในประเทศเคนยาปีละประมาณ 6.8 ตัน/เฮกตาร์ หรือมีมูลค่า 7.9 ล้านดอลล่าร์สหรัฐต่อปี

Figure 2 Plant damage caused by *Plutella xylostella*

1.3 แนวทางการป้องกันกำจัด

การป้องกันกำจัดหนอนใยผักทำได้หลายวิธีร่วมกันดังนี้

1.3.1 การใช้วิธีชีวภาพ โดยอาศัยกิจกรรมของแมลงศัตรูธรรมชาติ และเชื้อโรคชนิดต่างๆ พบว่าหนอนใยผักวัยต่างๆ มีศัตรูธรรมชาติถึง 13 ชนิด ในจำนวนนี้ แตนเบียนไข่ *Trichogramma confusum* และ *Trichogrammatoidea bactrae* แตนเบียนหนอน *Cotesia plutellae* และแตนเบียนดักแด้ *Thyraeella collaris* ได้รับการพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวนและปล่อยสู่ธรรมชาติเพื่อป้องกันกำจัดหนอนใยผัก (วีรเทพ, 2546)

ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักมีหลายชนิด ทั้งเชื้อแบคทีเรียและไส้เดือนฝอย เชื้อแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักคือ เชื้อ บาซิลลัส ทูริงเยนซิส หรือเชื้อบีที (*Bacillus thuringiensis*) ปัจจุบันมีจำหน่ายในรูปการค้าสะดวกต่อการนำมาใช้ในลักษณะเดียวกับสารฆ่าแมลง ตัวอย่างชื่อผลิตภัณฑ์บีทีที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ได้แก่ เซนทารี, ฟลอร์แบคเอฟซี, แบคโทสปีน เอ็ชพี, เดลฟีน, ธูริไซด์ เอ็ชพี สำหรับไส้เดือนฝอยชนิดที่นำมาใช้ป้องกันกำจัดหนอนใยผักได้แก่สไตเนอร์นีมา คาร์โปแคบซี (*Steinernema carpocapsae*)

1.3.2 การใช้กับดักกาวเหนียวสีเหลือง การติดตั้งกับดักกาวเหนียวสีเหลืองอัตรา 60-80 กับดักต่อไร่ ระยะการติดตั้ง 4x4 เมตร สูง 50 เซนติเมตรจากพื้นดินหรือสูง 30 เซนติเมตรจากพุ่มพืช สามารถจับตัวเต็มวัยของหนอนใยผักได้อย่างมีประสิทธิภาพ และลดการใช้สารฆ่าแมลงได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ (ปิยรัตน์, 2545)

1.3.3 การใช้สารฆ่าแมลง การใช้สารฆ่าแมลงเพื่อป้องกันกำจัดหนอนใยผักควรกระทำเมื่อสำรวจพบหนอนใยผัก 1.25 ตัว ต่อคะน้า 10 ต้น (มาลี และคณะ, 2543) ชนิดของสารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักได้แก่ อะบาเม็กติน (เวอร์ทิเม็ค 1.8% EC), คลอร์ฟีนาเพอร์ (แรมเพจ 10% SC), ฟิโปรนิล (แอสเซ็นต์ 5% SC) หรือสารโพรไธโอฟอส (โตกุไธออน 50% EC) (สุภราดาและคณะ, 2553)

1.3.4 การใช้สารธรรมชาติจากพืช สารธรรมชาติที่ใช้กันมากในการป้องกันและกำจัดศัตรูพืช คือ สารสกัดจากพืช การคัดเลือกพืชชนิดใดมาใช้ ควรคำนึงถึงคุณสมบัติของพืช ที่สามารถป้องกันและกำจัดศัตรูพืชได้ เป็นพืชที่สามารถปลูกขึ้นได้ง่ายในดินที่ไม่อุดมสมบูรณ์นัก และมีจำนวนมากเกินพอ หาได้ง่ายในทุกฤดูกาล ดังนั้นหลักการในการเลือกพืชที่นำมาใช้ในการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชผัก มีดังนี้

1) เป็นพืชที่มีความต้านทานตามธรรมชาติจากการทำลายของแมลง ส่วนใหญ่เป็นวัชพืช วัชพืชที่ถูกแมลงทำลายก็ใช้ได้ เนื่องจากอาจมีผลในการทำลายแมลงชนิดอื่นได้

2) เป็นพืชที่ขยายพันธุ์ง่าย ไม่ต้องดูแลบำรุงมาก สามารถเก็บมาใช้ได้เรื่อยๆ

3) ไม่เป็นพืชที่เป็นที่อยู่อาศัยของแมลงชนิดอื่น

4) เป็นพืชที่ไม่เป็นพิษต่อมนุษย์ ซึ่งเป็นเรื่องที่สำคัญมาก

5) เป็นพืชที่สามารถใช้ประโยชน์อย่างอื่นได้ด้วย

6) เป็นพืชที่นำมาใช้กำจัดศัตรูพืชได้ด้วยกรรมวิธีที่ง่าย ไม่ยุ่งยาก

เมื่อคัดเลือกพืชได้แล้ว นำมาแยกส่วนต่างๆของพืช เช่นราก ใบ ดอก ลำต้น และเมล็ด การสกัดสารใช้หลายวิธีด้วยกัน แล้วทดสอบประสิทธิภาพแต่ละวิธีในห้องปฏิบัติการ เมื่อได้ผลเป็นที่น่าพอใจ นำสารสกัดที่ใช้ได้ผลดีนี้ไปทดสอบความเป็นพิษกับสัตว์เลือดอุ่น และสัตว์เลือดเย็น เพื่อให้แน่ใจในความปลอดภัยต่อผู้ใช้สารเหล่านี้ เมื่อทราบข้อมูลแล้วว่าพืชชนิดใดสามารถใช้ป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดใดได้และปลอดภัยจากผู้ใช้ จะนำสารสกัดนั้นมาผสมปรุงแต่งแล้วส่งเสริมให้เกษตรกรใช้ หรือแนะนำให้เกษตรกรผสมใช้เองในกรณีที่มีวิธีการสกัดสารที่ไม่ยุ่งยากนัก

Morallo-Rejesus (1986) รายงานว่าสารสกัดจากพืชหลายชนิดมีฤทธิ์ในการฆ่าหนอนใยผัก เช่น ฟ้าทะลายโจร น้อยหน่า ยี่โถ ขี้กาเทศ สะเดา ทับทิม และตำแยแมว เป็นต้น บางชนิดสามารถยับยั้งการกินอาหารของหนอนใยผัก เช่น มันเทศ กาบหอย แตงกวา ฤาษีผสม ชบาจีนและโคมญี่ปุ่น นอกจากนี้พืชบางชนิดยังมีผลในการไล่ผีเสื้อหนอนใยผัก เช่น พิทูเนียและคนทีเขมาเป็นต้น ดำริห์ (2535) ทำการศึกษาการใช้พืชสมุนไพรป้องกันกำจัดแมลงศัตรูคะน้า ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพร 7 ชนิดได้แก่ ดองดึง แคฝรั่ง สะเดา หนอนตายหยาก สารภี ขี้เหล็ก และคูณ สามารถลดการระบาดของหนอนใยผักได้ 79.01, 72.45, 64.37, 64.23, 51.53, 48.15 และ33.59 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สุนทรและคณะ (2543) ทดสอบประสิทธิภาพของพืชสมุนไพร 5 ชนิดในท้องถิ่นภาคใต้ของประเทศไทย ต่อการตายของหนอนใยผักในสภาพห้องปฏิบัติการ และพบว่าสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์จากใบสะเดาช้างออกฤทธิ์ฆ่าหนอนใยผักดีที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากลำต้นเล็บรอก สารกัดจากใบมันขี้หนู สารสกัดจากใบเมี่ยงอาม ส่วนสารสกัดจากลำต้นพระขรรค์ไชยศรีมีฤทธิ์ต่ำสุด โดยมีค่า LC_{50} ที่เวลา 72 ชั่วโมงภายหลังการทดสอบเท่ากับ 469.7, 806.7, 1,024.5, 1,900.6 และ 2,429.4 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ

นิรนาม (2544) รายงานว่าสารสกัดจากรากโล่ติ๊นอายุ 1 ปี หรือมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5 เซนติเมตร ที่บดละเอียดแล้ว ตราส่วน 1 กิโลกรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สามารถใช้ป้องกันกำจัดหนอนใยผักในแปลงปลูกคะน้าได้ดี มยุรา (2545) ทำการทดสอบประสิทธิภาพของพืชสมุนไพร 20 ชนิดในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักโดยวิธีการจุ่มใบในห้องปฏิบัติการ ผลปรากฏว่าสารสกัดจากใบยาสูบมีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยทำให้หนอนใยผักวัย 3 ตาย 96% ภายหลังการทดสอบ 24 ชั่วโมง สารสกัดที่มีประสิทธิภาพรองลงมา คือ สารสกัดจากเปลือกต้นอบเชยและผล

โป๊ยกั๊ก มีผลทำให้หนอนตาย 80 และ 78% ตามลำดับ สำหรับใบและดอกพันงูเขียว ดอกราตรี ใบฟ้าทะลายโจร และผลสะบ้าทำให้หนอนตาย 68, 54, 40 และ 30% ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า ดอกแพงพวยฝรั่ง ต้นตะไคร้ ดอกยี่โถ ใบกระทกรก เมล็ดสะเดา เมล็ดละหุ่ง และดอกพลับพลึงดอกขาว มีผลทำให้หนอนใยผักตายเพียงเล็กน้อยในระดับ 14-28% สุภาณีและคณะ (2546) รายงานว่า หนอนตายหยากเป็นพืชที่มีศักยภาพที่จะนำไปใช้ควบคุมหนอนใยผักได้ โดยสารสกัดหนอนตายหยากด้วยเมทานอลมีประสิทธิภาพสูงในลักษณะสัมผัสตาย โดยมีค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมงเท่ากับ 535 พีพีเอ็ม รติยาและคณะ (2546) รายงานว่า สารสกัดเมทานอลจากเมล็ดสะเดาช้าง สะเดาอินเดีย และสะเดาไทย มีความเป็นพิษต่อหนอนใยผักโดยมีค่า LC_{50} ที่ 72 ชั่วโมง เท่ากับ 8430, 9550 และ 14510 พีพีเอ็ม ตามลำดับ และผลยับยั้งการกินใบคะน้าของหนอนใยผักของสารสกัดดังกล่าวเท่ากับ 79.60, 55.69 และ 44.45% ตามลำดับ จรงค์ศักดิ์และคณะ (2548) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดดองดึง สีเสียดและเนียงในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดดองดึงที่สกัดด้วยเมทานอลและเอทานอลที่ความเข้มข้น 1% มีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนใยผักได้ 100 % ภายในเวลา 48 ชั่วโมง และมีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารของหนอนใยผักมากที่สุด

พัชราภรณ์และยืนยง (2550) รายงานว่าสารสกัดใบสาบแร้งสาบกาความเข้มข้นตั้งแต่ 3% ขึ้นไป สามารถนำมาใช้เป็นทางเลือกในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักในแปลงปลูกคะน้าอย่างมีประสิทธิภาพ อรทัย และ ศิริพรรณ (2551) กล่าวว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบชะพลูสกัดด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ฆ่าแมลงต่อหนอนใยผักด้วยวิธีจุ่มใบ ผลการทดสอบพบว่า มีค่า LC_{50} ทางปากที่เวลา 24 ชั่วโมงเท่ากับ 4.34 % จรงค์ศักดิ์และมณฑินี (2555) ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเอทานอลจากใบและรากของดาวเรือง ในการเป็นสารฆ่าแมลง สารยับยั้งการกิน และสารยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอนใยผักวัยที่ 2 ด้วยวิธีจุ่มใบ พบว่าที่ความเข้มข้น 10% สารสกัดจากรากมีประสิทธิภาพ ในการฆ่าหนอนใยผักสูงกว่าสารสกัดจากใบ โดยมีค่า LC_{50} ที่ 24 ชั่วโมง เท่ากับ 6.69 และ 8.13% ตามลำดับ สารสกัดจากส่วนรากและใบดาวเรือง สามารถยับยั้งการกินของหนอนใยผักได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยความเข้มข้น 8% สามารถยับยั้งการกินของหนอนใยผัก 100% ในเวลา 24 ชั่วโมง นอกจากนี้สารสกัดจากรากและใบความเข้มข้น 10% ยังมีประสิทธิภาพยับยั้งการเข้าดักแด้ 100% และที่ความเข้มข้น 4% มีประสิทธิภาพยับยั้งการฟักเป็นตัวเต็มวัยของหนอนใยผัก 100%

2. ทุเรียนเทศ

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ทุเรียนเทศ (*Annona muricata* L.) เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Annonaceae มีถิ่นกำเนิดในอเมริกากลางถึงอเมริกาใต้ ทุเรียนเทศเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กสูง 3 - 5 เมตร ลำต้นมีสีน้ำตาลอ่อน ใบเป็นใบเดี่ยวเรียงสลับสองด้านในระนาบเดียวกับกิ่ง ลักษณะใบเป็นรูปไข่กลับ ปลายใบเป็นติ่งแหลม โคนใบมน ดอกเป็นดอกเดี่ยวมีสีเหลืองกลิ่นแรง กลีบดอกอวบหนา มี 6 กลีบ แบ่งเป็น 2 ชั้น ชั้นนอก 3 กลีบ ลักษณะงองุ้มเป็นรูปหัวใจปลายกลีบแหลม ชั้นในมี 3 กลีบ ขนาดเล็กกว่า ผลเป็นผลกลุ่มมีรูปร่างและขนาดไม่แน่นอน มักเป็นรูปไข่ เมื่อสุกมีสีเหลือง เมล็ดในมีสีน้ำตาลเข้มจนถึงดำ (Sousa et al., 2010) (Figure 3)

Figure 3 Morphology of *Annona muricata*

2.2 ประโยชน์ด้านการรักษาโรคและด้านอาหาร

ทุกส่วนของทุเรียนเทศสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการรักษาโรค เช่น ใบมีสรรพคุณใช้รักษาอาการปวดหัว อาการนอนไม่หลับ โรคกระเพาะปัสสาวะอักเสบ โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง โรคท้องร่วง นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต่อต้านอาการอักเสบและต้านอนุมูลอิสระ (Sousa et al., 2010) Malviya et al. (2010) รายงานว่าใบทุเรียนเทศยังมีสรรพคุณในการรักษาโรคเบาหวาน ผลทุเรียนเทศใช้รักษาโรคท้องร่วง โรคบิด และช่วยเพิ่มน้ำนมแม่หลังคลอดบุตร ทางภาคใต้ของประเทศไทยนิยมนำผลอ่อนมาทำแกงส้มและเชื่อม ในประเทศฟิลิปปินส์และประเทศอินโดนีเซียนิยมนำผลอ่อนที่เมล็ดยังไม่แข็งมารับประทานเป็นผัก ผลแก่นำมาทำขนมหวาน เช่น นำเนื้อมา

ผสมในไอศกรีม เครื่องดื่มนมผสมผลไม้รวม เยลลี่ น้ำผลไม้ ในประเทศมาเลเซีย มีการทำน้ำทุเรียนเทศอัดกระป๋อง ซึ่งได้รับความนิยมมาก เนื่องจากทุเรียนเทศประกอบด้วย แคลเซียม ฟอสฟอรัส วิตามินเอ วิตามิน ซี น้ำตาลและกรดอินทรีย์อีกหลายชนิดซึ่งเป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เมล็ดใช้เป็นยาขับพยาธิ (Adewole and Caxton-Martins, 2006) Omena et al. (2007) รายงานว่ารากและลำต้นทุเรียนเทศใช้รักษาโรคไขข้ออักเสบ ใช้สมานแผล และใช้เป็นยาทำให้อาเจียน สำหรับประเทศไทย โครงการอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุ์พืช (2541) รายงานการใช้ประโยชน์จากทุเรียนเทศ ว่าใบทุเรียนเทศตำผสมปูนขาวเล็กน้อยทาแก้ท้องอืด ท้องเฟ้อในเด็ก ผลดิบใช้รักษาบิด เมล็ดใช้รักษาบิดและทำให้อาเจียน

2.3 ประโยชน์ด้านการควบคุมแมลง

จากรายงานการวิจัยยังพบว่า ทุเรียนเทศเป็นพืชที่มีศักยภาพสูงมาก ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช เช่น Sinchaisri et al. (1991) ได้ทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดหนอนใยผักของสารสกัดเอทานอลจากพืช 44 ชนิด ผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากเมล็ดทุเรียนเทศสามารถป้องกันกำจัดหนอนใยผักได้ 100 % ภายหลังการทดสอบ 72 ชั่วโมง สารสกัดเอทานอลจากใบและเปลือกลำต้นของทุเรียนเทศ สามารถป้องกันกำจัดหอย *Biomphalaria glabrata* ซึ่งเป็นพาหะนำโรคพยาธิในตับมาสู่คนได้ 100 % ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 100 พีพีเอ็ม (Santos and Sant'Ana, 2001) Leatemia and Isman (2004) รายงานว่า สารสกัดเอทานอลจากเมล็ดทุเรียนเทศ มีฤทธิ์ยับยั้งการจริญเติบโตในระยะตัวหนอนของหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) Promsiri et al. (2006) กล่าวว่าสารสกัดเอทานอลจากเมล็ดทุเรียนเทศ มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมลูกน้ำยุงลาย (*Aedes aegypti*) โดยมีค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมงภายหลังการทดสอบเท่ากับ 67.4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สารสกัดดังกล่าวยังมีฤทธิ์ฆ่าดักแด้และตัวเต็มวัยของยุงลาย รวมทั้งมีผลลดจำนวนการวางไข่ และเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ของยุงชนิดนี้อีกด้วย โดยไม่มีพิษต่อปลาหางนกยูงซึ่งเป็นตัวห้ำของยุงลาย

Llanos et al. (2008) เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และเอทานอลจากเมล็ดทุเรียนเทศ ในการป้องกันกำจัดด้วงงวงข้าวโพด (*Sitophilus zeamais*) ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดเอทิลอะซิเตรทมีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยมีค่า LC_{50} ที่ 72 ชั่วโมงภายหลังการทดสอบ เท่ากับ 2,542 พีพีเอ็ม นอกจากนี้สารสกัดเอทิลอะซิเตรท ความเข้มข้น 2500 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งการฟักเป็นตัวเต็มวัยของลูกรุ่นใหม่ 100% Magadula et al. (2009) รายงานว่าสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศมีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำวัย 3 ของยุงรำคาญ (*Culex quinquefascintus*) โดยมีค่า LC_{50} ที่ 24 ชั่วโมงภายหลังการทดสอบเท่ากับ 56.47 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร Narangoda and Karunaratne (2009) กล่าวว่า สารสกัดเมทานอลจากเมล็ดและใบทุเรียนเทศ มีความเป็นพิษต่ำ

ต่อระยะตัวหนอนของผีเสื้อข้าวสาร (*Corcyra cephalonica*)โดยพบอัตราการตายของแมลงเพียง 2.83 และ 5.67% ตามลำดับ

Hoe et al. (2010) ทดสอบฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัดเฮกเซน สารสกัดเมาทานอลและสารสกัดคลอโรฟอร์มจากเมล็ดทุเรียนเทศ ต่อการควบคุมลูกน้ำยุงลาย และพบว่าสารสกัดคลอโรฟอร์มมีความเป็นพิษสูงต่อแมลง โดยมีค่า LC_{50} ที่ 72 ชั่วโมงภายหลังการทดสอบ เท่ากับ 0.9005 ไมโครกรัม/มิลลิกรัม ในขณะที่สารสกัดเมทานอลและสารสกัดเฮกเซน มีความเป็นพิษต่อแมลงในระดับปานกลาง Adeoye and Ewete (2010) รายงานว่าสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศความเข้มข้น 10 กรัม/ลิตร มีพิษต่อด้วงถั่วเขียว (*Callosobruchus maculatus*) โดยทำให้แมลงตาย 40, 80 และ 95% ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบ และยังมีฤทธิ์ยับยั้งการวางไข่ของแมลงอีกด้วย Asmanizar et al. (2012) รายงานว่า สารสกัดอะซิโตนจากเมล็ดทุเรียนเทศ มีความเป็นพิษทางกระเพาะอาหาร และมีพิษทางสัมผัสต่อด้วงงวงข้าวโพด รวมทั้งมีฤทธิ์ยับยั้งการฟักเป็นตัวเต็มวัยของลูกรุ่นใหม่ และช่วยลดความเสียหายของเมล็ดข้าวโพด ที่เกิดจากการทำลายของแมลง Grzybowski et al. (2013) ทดสอบฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัดเอทานอลจากเมล็ดทุเรียนเทศ และสารสกัดเอทานอลจากผลพริกไทย ต่อลูกน้ำยุงก้นปล่อง (*A. aegypti*) ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดทั้งสองชนิดมีความเป็นพิษต่อยุง โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 93.48 และ 1.84 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

2.4 สารสำคัญในทุเรียนเทศ

ทุเรียนเทศประกอบด้วยสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) หลักได้แก่สาร acetogenins (Chang et al., 2003), alkaloids (Lebouef et al., 1981) และน้ำมันหอมระเหย (Kossouh et al., 2007) นอกจากนี้ยังพบสาร flavonoids, cardiac glycoside, saponins, tannins, phytosterol, terpenoids, carbohydrates, proteins (Vijayameena et al., 2013)

acetogenins เป็นกลุ่มสารสำคัญของทุเรียนเทศ ที่มีการศึกษาฤทธิ์ชีวภาพกันอย่างกว้างขวาง มีรายงานว่า acetogenins มีฤทธิ์ฆ่าแมลง จากรายงานวิจัยของ Hoe et al. (2010) พบว่าสารสกัดคลอโรฟอร์มจากเมล็ดทุเรียนเทศมีความเป็นพิษสูงต่อลูกน้ำยุงลายชนิด *A. aegypti* มีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.9005 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยมีสารสำคัญออกฤทธิ์ฆ่าแมลงคือสาร solamin ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม acetogenins โดยสาร acetogenins มีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งการขนส่งอีเล็คตรอนในไมโตคอนเดรีย โดยเฉพาะในขั้นตอนระหว่างการรวมตัวของ NADH กับ cytochrome oxidase complex ทำให้การขนส่งอีเล็คตรอนถูกขัดขวาง การหายใจของเซลล์จะถูกยับยั้ง ทำให้แมลงตายในที่สุด (Lümmen, 1998; Guadaño et al., 2000) นอกจากนี้ acetogenins ยังมีฤทธิ์ต้านมะเร็ง (Paulinus et al., 2013) มีฤทธิ์ต้านเนื้องอก (Hamizah et al., 2012) มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ มีฤทธิ์ต้านเชื้อ

แบคทีเรีย (Vijayameena et al., 2013) มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Sousa et al., 2010) และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และมีฤทธิ์ต้านเบาหวาน (Baskar et al., 2007; Foong and Hamid, 2012) อีกด้วย

Ravaomanarivo et al. (2014) รายงานว่า สารสกัดด้วยน้ำจากเมล็ดทุเรียนเทศมีฤทธิ์ฆ่ายุงลายชนิด *A. albopictus* และยุงรำคาญ โดยมีสารที่เป็นองค์ประกอบหลักคือ alkaloids และ flavonoids

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

1. การทดสอบฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัดทุเรียนเทศต่อหนอนใยผักในสภาพห้องปฏิบัติการ

1.1 การเพาะเลี้ยงหนอนใยผัก

เก็บรวบรวมระยะตัวหนอนและดักแด้ของหนอนใยผัก จากแปลงปลูกผักของเกษตรกร ตำบลท่าซอม อำเภอหัวไทร ในเดือนมกราคม 2555 นำมาเพาะลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิประมาณ 25°C ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 75±10 % โดยเลี้ยงหนอนใยผักในกล่องพลาสติกขนาด 18.0 x 25.0 x 9.0 เซนติเมตร และให้ใบคะน้าปลอดสารพิษจากต้นอายุประมาณ 45 วัน จำนวน 1-2 ใบ เป็นอาหารแก่หนอนใยผัก เปลี่ยนอาหารและกล่องเลี้ยงหนอนทุกๆ 2 วัน เมื่อหนอนเข้าสู่ระยะดักแด้ นำดักแด้เพศผู้และเพศเมียจำนวน 20 คู่ใส่จานเพาะเชื้อ นำมาวางในกล่องพลาสติกเลี้ยงแมลง ประมาณ 3-4 วัน ดักแด้จะเจริญเป็นตัวเต็มวัย นำสำลีชุบสารละลาย 10 % ของน้ำผึ้งมาใส่ในกล่องพลาสติก เพื่อเป็นอาหารของตัวเต็มวัย พร้อมทั้งใส่ใบคะน้าปลอดสารพิษจำนวน 1-2 ใบ เพื่อใช้เป็นที่วางไข่ของตัวเต็มวัย หลังจากตัวเต็มวัยวางไข่ประมาณ 2 วัน นำใบคะน้าที่มีไข่ของหนอนใยผักมาใส่ในกล่องเลี้ยงแมลง ประมาณ 2 วัน ไข่จะฟักเป็นตัวหนอน ทำการเพาะเลี้ยงหนอนใยผักด้วยวิธีการดังกล่าว จนหนอนใยผักเข้าสู่รุ่นที่ 3 จึงนำระยะตัวหนอนวัย 2 และ 3 ของหนอนใยผักรุ่นที่ 3 มาใช้ทดสอบกับสารสกัดจากทุเรียนเทศต่อไป (Figure 4)

Figure 4 Mass rearing of *Plutella xylostella* in laboratory

1.2 การเตรียมสารสกัดจากใบและเมล็ดทุเรียนเทศ

เก็บรวบรวมใบระยะใบแก่และผลสุกของทุเรียนเทศ จากแปลงปลูกทุเรียนเทศ สาขาพืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อำเภอทุ่งใหญ่ จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยนำใบมาล้างทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆแล้วผึ่งลมจนแห้ง สำหรับผลแกะเมล็ดออกจากผล ล้างทำความสะอาดเมล็ด ผึ่งลมจนเมล็ดแห้ง แล้วนำชิ้นส่วนใบและเมล็ดไปบดให้เป็นผงละเอียด นำผงบดละเอียดจากส่วนใบและเมล็ด มาร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 80 เพื่อให้ได้ผงบดที่มีขนาดเท่ากัน จากนั้นชั่งน้ำหนักของบดผงละเอียดจากส่วนใบและเมล็ด แช่ในตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ หรือเอทานอล หรือเอทิลอะซิเตรท หรือตัวทำละลายอะซิโตน ในอัตราส่วนตัวอย่างพืช: ตัวทำละลาย 100 กรัม: 600 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบกำหนดกรองสารละลายโดยผ่านกรวยกรอง นำสารละลายที่กรองได้มาทำให้เข้มข้น โดยการระเหยตัวทำละลายออกจนแห้ง ด้วยเครื่องระเหยแห้งแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40°C จะได้สารสกัดหยาบ (crude extract) ของใบและเมล็ดทุเรียนเทศจำนวน 8 ชนิด บันทึกน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้และเก็บสารสกัดหยาบไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อรอการทดสอบความเป็นพิษกับหนอนใยผักวัย 2 และ 3 ต่อไป (Figure 5)

Figure 5 Extraction of insecticidal components from *Annona muricata* leaf and seed

1.3 การทดสอบฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัดทุเรียนเทศในสภาพห้องปฏิบัติการ

การทดสอบฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัดทุเรียนเทศ ต่อหนอนใยผักระยะตัวหนอนวัย 2 ทำโดยนำสารสกัดหยาบจากส่วนใบและเมล็ดทุเรียนเทศ มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ผสมสารจับใบ (Tween 80) ในอัตรา 0.05% จนได้ความเข้มข้น 5000 พีพีเอ็ม เพื่อคัดเลือกสารสกัดที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด การทดสอบใช้วิธีจุ่มใบ (Leaf dipping method) ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Tabasnik and Cushing (1987) โดยนำใบคะน้าปลอดสารพิษอายุประมาณ 45 วัน ล้างทำความสะอาดด้วนน้ำกลั่น ปล่อยทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นตัดใบคะน้าให้เป็นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.5 เซนติเมตร นำมาจุ่มในสารละลายของสารสกัดแต่ละชนิดเป็นเวลา 30 วินาที แล้วปล่อยทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นใส่ใบคะน้าในถ้วยพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร สูง 5 เซนติเมตร เพื่อใช้เป็นอาหารของตัวหนอน แล้วเขี่ยหนอนใยผักระยะตัวหนอนวัย 2 ที่ผ่านการอดอาหารเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จำนวน 10 ตัว ลงในถ้วยพลาสติก สำหรับชุดควบคุมคือ ใบคะน้าที่ผ่านการจุ่มในสารละลายของน้ำกลั่นที่ผสมสารจับใบ การทดสอบใช้แผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) จำนวน 9 สิ่งทดลอง 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้แมลงจำนวน 10 ตัว บันทึกผลการตายของแมลงที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมงภายหลังการทดสอบ ลักษณะของหนอนที่ตายคือตัวหนอนที่ไม่มีการเคลื่อนไหว เมื่อใช้พู่กันแตะที่ตัวหนอน (Figure 6)

จากผลการทดสอบในเบื้องต้นที่ความเข้มข้น 5000 พีพีเอ็มพบว่า สารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ สารสกัดเอทิลอะซิเตรท สารสกัดอะซิโตน และสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศ ทำให้แมลงตายสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการคัดเลือกสารสกัดทั้ง 4 ชนิด นำมาทดสอบความเป็นพิษโดยวิธีจุ่มใบกับหนอนใยผักระยะตัวหนอนวัย 2 ที่ระดับความเข้มข้น 78.125, 156.25, 312.50, 625, 1250, 2500 และ 5000 พีพีเอ็ม และระยะตัวหนอนวัย 3 ที่ระดับความเข้มข้น 156.25, 312.50, 625, 1250, 2500, 5000 และ 10000 พีพีเอ็ม เพื่อนำข้อมูลการตายของตัวหนอน มาวิเคราะห์หาความเป็นพิษในรูปมัธยฐานของระดับความเข้มข้น (Median lethal concentration, LC_{50}) ต่อไป

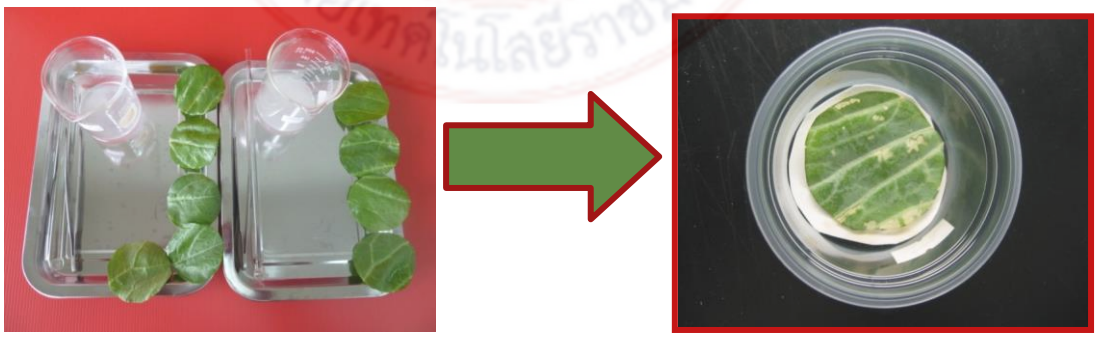

Figure 6 Leaf dipping bioassay for *Plutella xylostella* larvae

2. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดทุเรียนเทศที่คัดเลือกได้จากห้องปฏิบัติการต่อการควบคุมหนอนใยผักในแปลงปลูกคะน้า

นำสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศ ที่ผ่านการคัดเลือกในสภาพห้องปฏิบัติว่ามีประสิทธิภาพดีที่สุดในการควบคุมหนอนใยผักระยะตัวหนอนวัย 2 และ3 มาทดสอบผลการควบคุมหนอนใยผักในสภาพแปลงปลูก โดยทำการทดสอบ 2 ฤดูคือ ฤดูแล้งระหว่างเดือนมกราคม-มีนาคม 2556 และฤดูฝนระหว่างเดือนกรกฎาคม-กันยายน 2556

2.1 การปลูก

เตรียมแปลงปลูกขนาด 1x4 เมตร สูงประมาณ 25 เซนติเมตร จำนวน 20 แปลง เว้นระยะระหว่างแปลง 1 เมตร ย่อยดินให้ละเอียดใส่มูลไก่แปลงละ 1 กระสอบ คลุกเคล้าผสมกับดินให้เข้ากัน ปรับหน้าดินให้เสมอเหมาะต่อการปลูกผัก หยอดเมล็ดคะน้ายอดพันธุ์มิสไซค์เป็นหลุมๆละประมาณ 5 เมล็ด แต่ละแปลงจะแบ่งเป็น 4 แถวๆละ19 ต้น โดยใช้ระยะปลูก 20 x 20 เซนติเมตร หลังจากนั้นใช้หญ้าคาแห้งคลุมบนแปลง รดน้ำให้ชุ่ม ต้นกล้าจะงอกภายในเวลา 7 วัน หลังจากต้นคะน้างอกแล้วประมาณ 20 วันหรือต้นสูงประมาณ 10 เซนติเมตรให้เริ่มถอนแยก โดยถอนต้นที่ไม่สมบูรณ์ทิ้ง และเมื่อคะน้ามีอายุประมาณ 30 วัน ให้ถอนแยกครั้งที่ 2

2.2 การดูแลรักษาแปลงคะน้า

1) การให้น้ำ รดน้ำวันละ 2 ครั้งในช่วงเช้าและเย็น

2) การให้ปุ๋ย เมื่อคะน้าอายุได้ 20 วัน ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 โดยโรยปุ๋ยบริเวณรอบๆ โคนต้นแต่อย่าให้สัมผัสกับผิวใบ

3) การกำจัดวัชพืช ใช้วิธีถอนวัชพืชออกจากแปลง เพราะถ้าใช้จอบถากจะทำให้โดนต้นคะน้าได้ ส่วนระหว่างแปลงสามารถใช้จอบถากได้

2.3. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design: RCBD) ประกอบด้วย 5 สิ่งทดลอง จำนวน 4 ซ้ำดังนี้

-สิ่งทดลองที่ 1 สารฆ่าแมลงสปินโนแซด (spinosad) 12% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

-สิ่งทดลองที่ 2 สารสกัดเอทานอลความเข้มข้น 5%

-สิ่งทดลองที่ 3 สารสกัดเอทานอลความเข้มข้น 3%

-สิ่งทดลองที่ 4 สารสกัดเอทานอลความเข้มข้น 1%

-สิ่งทดลองที่ 5 น้ำเปล่า (ชุดควบคุม)

เตรียมสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศความเข้มข้น 1, 3 และ 5% โดยนำสารสกัดหยาบมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น ฉีดพ่นสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศความเข้มข้นต่างๆ หรือสารฆ่าแมลงสปินโนแซด หรือน้ำเปล่าจำนวน 3 ครั้ง เมื่อคะน้าอายุ 24, 31 และ 38 วันหลังปลูก โดยฉีดพ่นสารแต่ละชนิดปริมาตร 5 ลิตร ผสมสารจับใบ (Tween 80) ในอัตรา 0.05% เมื่อคะน้าอายุ 51 วัน ทำการเก็บเกี่ยวผลผลิต โดยสุ่มในพื้นที่ 1 ตารางเมตร บันทึกน้ำหนักสดของคะน้าทั้งหมด การบันทึกผลประสิทธิภาพของสารต่อการควบคุมหนอนใยผัก ทำโดยตรวจนับหนอนใยผักจากต้นคะน้าจำนวน 16 ต้น/แปลงย่อย รวม 4 ครั้ง คือนับก่อนพ่นสารครั้งแรก และหลังพ่นสารแต่ละครั้ง 7 วัน ดังนี้

- การนับแมลงครั้งแรก (ก่อนพ่นสารครั้งแรก) คะน้ามีอายุ 24 วัน
- การนับแมลงครั้งที่ 2 (หลังพ่นสารครั้งแรก) คะน้ามีอายุ 31 วัน
- การนับแมลงครั้งที่ 3 (หลังพ่นสารครั้งที่สอง) คะน้ามีอายุ 38 วัน
- การนับแมลงครั้งที่ 4 (หลังพ่นสารครั้งที่สาม) คะน้ามีอายุ 45 วัน

3. การหาชนิดของสารออกฤทธิ์ฆ่าแมลงจากสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศ

3.1 การคัดเลือกระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกสารสกัดเอทานอล

นำสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศ ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูงสุดต่อหนอนใยผักระยะตัวหนอนวัย 2 และ 3 ปริมาณ 0.05 กรัม ผสมตัวทำลายละลายเอทานอลปริมาตร 1 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน แล้วใช้หลอดคาปิลารี (capillary) ดูดของผสมของสารสกัด นำมาแต้ม (spot) ลงบนแผ่นโครมาโตกราฟีแผ่นบางหรือแผ่น TLC (Thin layer chromatography, TLC) แล้วจุ่มแผ่น TLC ในขวดแก้วที่มีตัวทำละลายผสมระหว่างคลอโรฟอร์มและเอทิลอะซิเตทในอัตราส่วนต่างๆ นำแผ่น TLC ที่แห้งแล้ว ตรวจดูแถบสีที่แยกได้โดยใช้ UV-cabinet ที่ช่วงความยาวคลื่น 254 และ 365 นาโนเมตร หรือนำไปวางในขวดที่มีเกล็ดไอโอดีนอยู่ 2-3 เกล็ด คำนวณค่า Retention factor (Rf) ที่ได้ คืออัตราส่วนระหว่างระยะทาง (มิลลิเมตร) ที่สารเคลื่อนที่ และระยะทาง (มิลลิเมตร) ที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ เพื่อนำมาคัดเลือกระบบตัวทำละลายและอัตราส่วนที่เหมาะสม สำหรับการแยกสารสกัดเอทานอลโดยใช้คอลัมน์โครมาโตกราฟีต่อไป

3.2 การแยกสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศโดยใช้คอลัมน์โครมาโตกราฟี

นำสารสกัดหยาบเอทานอลจากใบทุเรียนเทศจำนวน 10 กรัม มาแยกโดยใช้คอลัมน์โครมาโตกราฟี โดยใช้ซิลิกา เจล 60 (Merck ขนาด 200-300 เมช) จำนวน 400 กรัม บรรจุในคอลัมน์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร ยาว 78 เซนติเมตร เป็นตัวดูดซับ ชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมที่ผ่านการคัดเลือก ได้แก่คลอโรฟอร์ม/เอทิลอะซิเตท โดยใช้ตัวทำละลายผสม

ดังกล่าวในอัตราส่วน 10:2, 6:6, 4:8, 2:10 (v/v) และเอทิลอะซิเตท 100 % ตามด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซีเตท/เมทานอล ในอัตราส่วน 75: 25, 50:50, 40:60, 30:70, 20:80, 10:90 (v/v) และ 100% เมทานอล เก็บสารละลายที่ถูกชะออกมาจากคอลัมน์ครั้งละ 100 มิลลิลิตร แล้วระเหยตัวทำละลายออก โดยใช้เครื่องระเหยแห้งระบบสุญญากาศ จากนั้นตรวจสอบส่วนสกัด (fraction) ที่แยกได้ ด้วยโครมาโตกราฟีแผ่นบาง โดยตรวจสอบ UV สเปกตรัม ใช้ความยาวคลื่นแสงอัลตราไวโอเลตที่ 254 และ 365 นาโนเมตร นำส่วนสกัดที่มีค่า Rf ใกล้เคียงกัน รวมเป็น fraction เดียวกัน

3.3 การทดสอบฤทธิ์ฆ่าแมลงของส่วนสกัดที่แยกได้จากสารสกัดเอทานอล

การทดสอบฤทธิ์ฆ่าแมลงของส่วนสกัดที่แยกได้จากสารสกัดเอทานอล ซึ่งสามารถแยกส่วนสกัดได้ทั้งหมด 18 ส่วน กับระยะตัวหนอนวัย 2 ที่ความเข้มข้น 1000 พีพีเอ็ม โดยวิธีจุ่มใบดังกล่าวแล้วข้างต้น เพื่อคัดเลือกส่วนสกัดที่มีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูง ในระดับตั้งแต่ 90% ขึ้นไป จากผลการทดสอบพบว่าส่วนสกัดที่ 3 และ 4 ทำให้แมลงตาย 90.00 และ 92.50% ตามลำดับ จึงคัดเลือกส่วนสกัดทั้ง 2 ส่วน นำมาทดสอบฤทธิ์ฆ่าแมลงกับระยะตัวหนอนวัย 2 ที่ความเข้มข้น 15.625, 31.25, 62.50, 125, 250, 500, 1000 พีพีเอ็ม และระยะตัวหนอนวัย 3 ที่ความเข้มข้น 31.25, 62.50, 125, 250, 500, 1000 และ 2000 พีพีเอ็ม เพื่อคำนวณหาค่า LC_{50} ต่อไป

3.4 การพิสูจน์เอกลักษณ์และวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์

นำส่วนสกัดที่ 4 ซึ่งมีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูงสุดต่อหนอนใยผักมาแยกบริสุทธิ์โดยใช้คอลัมน์โครมาโตกราฟี โดยใช้ซิลิกา เจล 60 (Merck ขนาด 200-300 เมช) จำนวน 130 กรัม บรรจุในคอลัมน์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3.5 เซนติเมตร ยาว 69 เซนติเมตร เป็นตัวดูดซับ ชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายที่คลอโรฟอร์ม/เอทิลอะซิเตท โดยใช้ตัวทำละลายผสมดังกล่าวในอัตราส่วน 10:2, 9:3, 8:4, 7:5, 6:6, 5:7 และ 4:8 นำส่วนสกัดย่อยที่ 4-3 มาตกผลึกซ้ำหลายครั้ง ด้วยตัวทำละลายเมทานอล อบผลึกที่ได้ให้แห้งในตู้สุญญากาศ และตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค TLC โดยดูจากแถบเดี่ยวที่ปรากฏบนแผ่น TLC นำผลึกที่ได้มาศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ และวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์

1) วิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันนัลด้วยเครื่องมือด้วยเครื่อง Infrared spectrophotometer

2) วิเคราะห์หาโครงสร้างโมเลกุลด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปีของสารบริสุทธิ์ โดยใช้เครื่อง Bruker DRX-400 or Bruker AV-500 ซึ่งประกอบด้วยข้อมูลดังนี้

- 1H- NMR spectral data
- 13C- NMR spectral data
- DEPT, 1H,1H-COSY NMR spectral data
- NOESY NMR spectral data

- HMQC NMR spectral data

- HMBC NMR spectral data

3) วิเคราะห์หามวลโมเลกุล ด้วยวิธี Electro spray-ionization time-of-flight mass spectrometry (ESI-TOF-MS) โดยใช้เครื่อง Micromass-LCT mass spectrometer

4. การเปรียบเทียบฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ กับสารฆ่าแมลงอะบาเม็คตินและสารฆ่าแมลงไซเปอร์เมทริน

4.1 การทดสอบกับระยะตัวหนอน

นำสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศ ได้แก่สาร sabadelin มาทดสอบฤทธิ์ฆ่าแมลงที่มีต่อหนอนใยผักระยะตัวหนอนวัย 2 และ 3 เปรียบเทียบกับฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารอะบาเม็คติน (abamectin) 1.8%EC และสารฆ่าแมลงไซเปอร์เมทริน (cypermethrin) 4.5%EC โดยใช้วิธีจุ่มใบ ที่ความเข้มข้น 7 ระดับ บันทึกการตายสะสมของแมลงที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบ แล้วคำนวณค่า LC_{50} ของสารแต่ละชนิด

4.2 การทดสอบกับระยะดักแด้

การทดสอบฤทธิ์ฆ่าแมลงระหว่างสาร sabadelin กับสารฆ่าแมลงอะบาเม็คตินและสารฆ่าแมลงไซเปอร์เมทริน ที่มีต่อระยะดักแด้ของหนอนใยผัก ด้วยวิธีจุ่มในสารละลาย (direct dipping) ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Idris และ Grafius (1996) ทำโดยนำสาร sabadelin และสารฆ่าแมลงทั้งสองชนิด มาเจือจางในน้ำกลั่นที่ผสมสารจับใบ Tween 80 อัตรา 0.05% จนได้ความเข้มข้น 7 ระดับ นำดักแด้อายุ 1 วันจำนวน 40 ตัว วางในผ้าขาวบาง แล้วจุ่มผ้าขาวบางที่มีดักแด้ของแมลงในสารละลายแต่ละความเข้มข้น เป็นเวลา 4 วินาที จึงย้ายดักแด้ลงบนกระดาษทิชชู ซับสารละลายจนแห้ง ใส่ดักแด้จำนวน 10 ตัว ลงในถ้วยพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร สูง 5 เซนติเมตร สำหรับชุดควบคุมคือ ดักแด้ที่ผ่านการจุ่มในน้ำกลั่นที่ผสมสารจับใบ Tween 80 การทดสอบแบ่งเป็น 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้แมลงทดสอบจำนวน 10 ตัว บันทึกผลการตายของดักแด้ทุกวัน จนดักแด้ตายหมดหรือเจริญเป็นตัวเต็มวัย แล้วคำนวณค่า LC_{50} ของสารแต่ละชนิด (Figure 7)

Figure 7 Direct dipping bioassay for *Plutella xylostella* pupae

4.3 การทดสอบกับระยะตัวเต็มวัย

การทดสอบพิษทางสัมผัสของสาร sabadelin กับสารฆ่าแมลงแมลงอะบาเม็คตินและสารฆ่าแมลงไซเปอร์เมทริน ที่มีต่อตัวเต็มวัยของหนอนใยผัก ใช้วิธีพ่นตกค้าง (residual bioassay) ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Idris และ Grafius (1996) ทำโดยเจือจางสาร sabadelin และสารฆ่าแมลงทั้งสองชนิดในตัวทำละลายอะซิโตน จนได้ความเข้มข้น 7 ระดับ แล้วพ่นสารแต่ละความเข้มข้นลงในผนังด้านในของภาชนะแก้วรูปทรงกระบอก (เส้นผ่าศูนย์กลาง 14 เซนติเมตร สูง 7.5 เซนติเมตร) ปล่อยทิ้งไว้ให้แห้ง จึงใส่ตัวเต็มวัยเพศเมียอายุ 1 วัน จำนวน 10 ตัวลงในภาชนะ ปิดปากภาชนะด้วยผ้าขาวบาง แล้วใช้ยางวงรัดที่ปากภาชนะ เพื่อป้องกันตัวเต็มวัยบินหนี ใช้สำลีจุ่มในสารละลายน้ำผึ้ง 10 % วางบนผ้าขาวบาง เพื่อใช้เป็นอาหารของตัวเต็มวัย สำหรับชุดควบคุมคือ ภาชนะที่พ่นด้วยตัวทำละลายอะซิโตนอย่างเดียว การทดสอบแบ่งเป็น 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้แมลงทดสอบจำนวน 10 ตัว บันทึกการตายของแมลงที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบ แล้วคำนวณค่า LC_{50} ของสารแต่ละชนิด (Figure 8)

Figure 8 Resdual bioassay for *Plutella xylostella* adults

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลอัตราการตายของแมลงในสภาพห้องปฏิบัติการ มาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ ด้วยโปรแกรม SPSS (V. 17) และหาค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) คำนวณค่า LC_{50} โดยใช้ Probit analysis ด้วยโปรแกรม SPSS (V. 17)

นำข้อมูลจำนวนแมลงที่สำรวจพบก่อนและหลังการพ่นสารแต่ละครั้ง เพื่อควบคุมหนอนใยผักในแปลงปลูกคะน้า ทั้งในฤดูแล้งและฤดูฝน และข้อมูลผลผลิตคะน้าที่ระยะเก็บเกี่ยวมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ ด้วยโปรแกรม SPSS (V. 17) และหาค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

บทที่ 4

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การทดสอบฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัดทุเรียนเทศต่อหนอนใยผักในสภาพห้องปฏิบัติการ

การทดสอบฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัด 4 ชนิด ได้แก่ สารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ สารสกัดเอทิลอะซิเตรท สารสกัดอะซิโตน และสารสกัดเอทานอลจากใบและเมล็ดทุเรียนเทศ ที่มีต่อหนอนใยผักระยะตัวหนอนวัย 2 ในห้องปฏิบัติการ การทดสอบเบื้องต้น เพื่อคัดเลือกสารสกัดที่มีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูง ใช้ความเข้มข้นที่ระดับ 5000 พีพีเอ็ม โดยวิธีจุ่มใบ พบว่า สารสกัดทั้ง 4 ชนิดจากส่วนใบมีความเป็นพิษสูงมากต่อหนอนใยผัก โดยพบอัตราการตายของหนอนประมาณ 85.00-100% ภายในเวลา 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบ ในขณะที่สารสกัดจากเมล็ดมีความเป็นพิษต่อหนอนใยผักในระดับปานกลาง โดยทำให้หนอนตาย 70.00-77.50% เมื่อพิจาราณาฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัดทั้ง 4 ชนิดจากส่วนใบพบว่า สารสกัดเอทานอลมีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูงสุด ทำให้แมลงตาย 70.00, 90.00 และ 100% ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมงภายหลังการทดสอบตามลำดับ สารสกัดที่มีฤทธิ์รองลงมาได้แก่ สารสกัดอะซิโตน สารสกัดเอทิลอะซิเตรท และสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยทำให้แมลงตายที่เวลา 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบเท่ากับ 87.50, 85.00 และ 85.00% ตามลำดับ สำหรับฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัดจากส่วนเมล็ดพบว่า สารสกัดเอทานอลมีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูงสุด รองลงมาคือสารสกัดอะซิโตน สารสกัดเอทิลอะซิเตรท และสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ ซึ่งพบการตายของแมลง 77.50, 72.50, 72.50 และ 70.00% ที่เวลา 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบตามลำดับ โดยไม่มีการตายของแมลงในชุดควบคุม (Table 1)

Table 1 Insecticidal activity of 4 extracts of *A. muricata* leaf and seed against the 2nd instar larvae of *P. xylostella* using leaf dipping bioassay at 5000 ppm

Plant part	Extract	Yield, %[1/]	Mortality (mean ± SE, %)[2/]		
			24h after treatment	48h after treatment	72h after treatment
Leaf	Petroleum ether	1.65	40.00±4.08c	52.50±2.50d	85.00±2.89bc
	Ethyl acetate	3.90	45.00±2.89c	75.00±2.89b	85.00±2.89bc
	Acetone	5.05	60.00±4.08ab	75.00±2.89b	87.50±2.50ab
	Ethanol	6.06	70.00±0.00a	90.00±4.08a	100.00±0.00a
Seed	Petroleum ether	16.88	37.50±4.79c	50.00±0.00d	70.00±4.08d
	Ethyl acetate	22.32	22.50±2.50d	52.50±2.50d	72.50±4.79cd
	Acetone	22.96	40.00±0.00c	57.50±4.79cd	72.50±2.50cd
	Ethanol	23.50	47.50±4.79bc	67.50±2.50bc	77.50±2.50bcd
	Control	-	0.00±0.00e	0.00±0.00e	0.00±0.00c

[1/] Yield=(dry weight of extract/dry weight of test plant)×100.

[2/] Mortality within a column followed by the same letter are not significantly different at P <0.01 by DMRT.

เมื่อนำสารสกัดเอทานอล สารสกัดอะซิโตน สารสกัดเอทิลอะซิเตรท และสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์จากใบทุเรียนเทศ ซึ่งเป็นสารที่ผ่านการคัดเลือก เนื่องจากทำให้แมลงตายตั้งแต่ 80.00% ขึ้นไป มาทดสอบความเป็นพิษโดยวิธีจุ่มใบกับหนอนใยผักระยะตัวหนอนวัย 2 ที่ระดับความเข้มข้น 78.125, 156.25, 312.50, 625, 1250, 2500 และ 5000 พีพีเอ็ม และระยะตัวหนอนวัย 3 ที่ระดับความเข้มข้น 156.25, 312.50, 625, 1250, 2500, 5000 และ 10000 พีพีเอ็ม เพื่อวิเคราะห์หาความเป็นพิษในรูปมัธยฐานของระดับความเข้มข้น (LC_{50}) ของสารสกัดแต่ละชนิด พบว่า สารสกัดเอทานอลมีความเป็นพิษสูงสุดต่อหนอนใยผักวัย 2 โดยมีค่า LC_{50} ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เท่ากับ 2301.60, 781.72 และ 420.25 พีพีเอ็ม ตามลำดับ ส่วนสารที่มีฤทธิ์รองลงมาได้แก่ สารสกัดอะซิโตน สารสกัดเอทิลอะซิเตรท และสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยค่า LC_{50} ของสารสกัดอะซิโตนที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมงเท่ากับ 3750.04, 1776.67 และ 653.03 พีพีเอ็ม ตามลำดับ สำหรับสารเอทิลอะซิเตรทมีค่า LC_{50}ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมงเท่ากับ 5168.10, 2293.76 และ 839.05 พีพีเอ็ม ตามลำดับ ในขณะที่โดยค่า LC_{50} ของสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมงเท่ากับ 6322.61, 3630.54 และ 1215.01 พีพีเอ็ม ตามลำดับ (Table 2)

Table 2 LC_{50} values of 4 extracts of *A. muricata* leaf against the 2nd instar larvae of *P. xylostella* using leaf dipping bioassay

Time	Extract	LC_{50}, ppm	95% CL, ppm[1/]	Slope±SE	χ^2(df)[2/]
24 h	Petroleum ether	6322.61	4733.69-10194.82	1.76±0.28	2.13(5)
	Ethyl acetate	5168.10	3770.29-8229.69	1.30±0.17	5.93(5)
	Acetone	3750.04	2875.87-5382.58	1.34±0.16	2.06(5)
	Ethanol	2301.60	1822.09-3058.56	1.27±0.13	3.96(5)
48 h	Petroleum ether	3630.54	2700.69-5406.54	1.15±0.13	5.64(5)
	Ethyl acetate	2293.76	1851.63-2961.06	1.41±0.14	6.29(5)
	Acetone	1776.67	1430.06-2281.25	1.28±0.12	2.80(5)
	Ethanol	781.72	654.51-932.49	1.53±0.12	2.44(5)
72 h	Petroleum ether	1215.01	1022.47-1452.18	1.63±0.13	0.83(5)
	Ethyl acetate	839.05	696.60-1012.75	1.41±0.11	3.19(5)
	Acetone	653.03	540.33-786.33	1.39±0.11	4.40(5)
	Ethanol	420.25	354.68-492.81	1.74±0.13	6.33(5)

[1/] CL denotes confidence limit.

[2/] NS, not significant at $P<0.05$.

สำหรับฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัดทั้ง 4 ชนิดต่อระยะตัวหนอนวัย 3 เป็นไปในทิศทางเดียวกับตัวหนอนวัย 2 กล่าวคือ สารสกัดเอทานอลมีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูงสุด โดยมีค่า LC_{50} ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบเท่ากับ 4364.71, 1436.21 และ 840.89 พีพีเอ็ม ตามลำดับ สารที่มีฤทธิ์ฆ่าแมลงรองลงมาได้แก่ สารสกัดอะซิโตน สารสกัดเอทิลอะซิเตรท และสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยค่า LC_{50} ที่เวลา 72 ชั่วโมงเท่ากับ 1785.59, 2044.28 และ 2240.74 พีพีเอ็ม ตามลำดับ (Table 3)

Table 3 LC_{50} values of 4 extracts of *A. muricata* leaf against the 3rd instar larvae of *P. xylostella* using leaf dipping bioassay

Time	Extract	LC_{50}, ppm	95% CL, ppm[1/]	Slope±SE	χ^2(df)[2/]
24 h	Petroleum ether	9671.34	7022.57-15166.14	1.22±0.14	5.71(5)
	Ethyl acetate	7948.25	5818.97-12275.92	1.14±0.14	0.87(5)
	Acetone	5420.46	4409.03-6981.57	1.56±0.17	1.82(5)
	Ethanol	4364.71	3414.91-5886.33	1.18±0.12	2.20(5)
48 h	Petroleum ether	5836.15	4522.67-8076.08	1.25±0.13	2.24(5)
	Ethyl acetate	4693.24	3555.86-6668.39	1.04±0.11	2.01(5)
	Acetone	2996.24	2471.57-3697.00	1.44±0.13	1.20(5)
	Ethanol	1436.21	1188.52-1731.67	1.18±0.12	2.90(5)
72 h	Petroleum ether	2240.74	1888.00-2670.11	1.63±0.13	2.93(5)
	Ethyl acetate	2044.28	1473.89-2899.90	1.38±0.11	8.50(5)
	Acetone	1785.59	1482.10-2158.97	1.41±0.11	2.18(5)
	Ethanol	840.89	710.80-984.94	1.80±0.13	6.35(5)

[1/] CL denotes confidence limit.

[2/] NS, not significant at $P<0.05$.

การนำสารธรรมชาติจากพืชมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช มีบทบาทสำคัญเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากสารธรรมชาติจากพืชสลายตัวเร็ว จึงมีความปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม และยังมีฤทธิ์เจาะจงต่อแมลงศัตรูพืช รวมทั้งสามารถนำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชด้วยวิธีง่ายๆ เหมือนการใช้สารฆ่าแมลงสังเคราะห์ (Liu at al., 2007) จากผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ สารสกัดเอทิลอะซิเตรท สารสกัดอะซิโตน และสารสกัดเอทานอล จากส่วนใบและเมล็ดทุเรียนเทศ ที่มีต่อหนอนใยผักระยะตัวหนอนวัย 2 และวัย 3 พบว่า สารสกัดเอทานอลจากส่วนใบทุเรียนเทศมีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูงสุด รองลงมาตามลำดับ ได้แก่สารสกัดอะซิโตน สารสกัดเอทิลอะซิเตรท และสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์จากใบทุเรียนเทศ ในขณะที่สารสกัดจากเมล็ดทุเรียนเทศ มีพิษต่อหนอนใยผักในระดับปานกลาง โดยสารสกัดเอทานอลมีพิษสูงสุด รองลงมาได้แก่สารสกัดอะซิโตน สารสกัดเอทิลอะซิเตรท และสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์

ตามลำดับ จากผลการทดสอบชี้ให้เห็นอย่างชัดเจนว่า ฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัดจากพืช ขึ้นอยู่กับส่วนของพืชที่นำมาสกัดสารออกฤทธิ์ และตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารออกฤทธิ์

จากรายงานการวิจัยพบว่า มีพืชหลายชนิดที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผัก เช่น จรงค์ศักดิ์และคณะ (2548) ศึกษาฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัดดองดึง สีเสียดและเนียงที่มีต่อหนอนใยผัก ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดดองดึงที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล และเอทานอลความเข้มข้น 1% มีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนใยผักได้ 100 % ภายในเวลา 48 ชั่วโมง และมีฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารของหนอนใยผักมากที่สุด พัชราภรณ์และยืนยง (2550) รายงานว่าสารสกัดใบสาบแร้งสาบกาความเข้มข้นตั้งแต่ 3% ขึ้นไป สามารถนำมาใช้เป็นทางเลือก ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักในแปลงปลูกคะน้าอย่างมีประสิทธิภาพ Jiwajinda et al. (2000) สรุปไว้ว่า สารสกัดจากรากหนอนตายหยาก มีฤทธิ์ฆ่าและยับยั้งการกินอาหารของหนอนใยผัก Trindade et al. (2008) ทดสอบความเป็นพิษทางกระเพาะอาหาร ของสารสกัดเอทานอลจากส่วนเปลือกลำต้น ผล และ ราก ของต้น *Aspidosperma pyrifolium* ที่มีต่อระยะตัวหนอนของหนอนใยผัก ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดเอทานอลจากเปลือกลำต้น มีความเป็นพิษต่อแมลงสูงสุด Vanichpakorn et al. (2010) เปรียบเทียบฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัด 25 ชนิดจากพืชสมุนไพร ที่มีต่อหนอนใยผักในห้องปฏิบัติการ ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดเอทิลอะซิเตรทจากรากและเหง้าของต้น *Veratrum nigrum* มีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูงสุด โดยมีค่า LC_{50} ต่อระยะตัวหนอนวัย 2 และ วัย 3 ที่เวลา 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบ เท่ากับ 225 และ 335 พีพีเอ็ม

ทุเรียนเทศเป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกากลางถึงอเมริกาใต้ สำหรับประเทศไทย มีการปลูกเฉพาะในเขตภาคใต้ นำมาใช้ประโยชน์ค่อนข้างน้อย สารสกัดจากใบทุเรียนเทศมีฤทธิ์ชีวภาพค่อนข้างกว้าง เช่น มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Sousa et al., 2010) มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย มีฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัส มีฤทธิ์ฆ่าหอย (Santos and Sant'Ana, 2001; Florence et al., 2014) รวมทั้งมีฤทธิ์ฆ่าแมลง (González-Esquinca et al., 2012) Magadula et al. (2009) รายงานว่า สารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศ มีฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำวัย 3 ของยุงรำคาญ (*C. quinquefascintus*) โดยมีค่า LC_{50} ที่ 24 ชั่วโมงภายหลังการทดสอบเท่ากับ 56.47 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร Adeoye and Ewete (2010) รายงานว่าสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศความเข้มข้น 10 กรัม/ลิตร มีพิษต่อด้วงถั่วเขียว (*C. maculatus*) โดยทำให้แมลงตาย 40, 80 และ 95% ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบ และยังมีฤทธิ์ยับยั้งการวางไข่ของแมลงอีกด้วย Trindade et al. (2011) รายงานว่าสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศสด ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ทำให้หนอนวัย 2 ตาย 100% ในเวลา 12 วันของการทดสอบ หนอนที่ตายมีลักษณะสีคล้ำและตัวเล็กลง และรายงานเพิ่มเติมว่า การเก็บใบทุเรียนเทศ เพื่อนำมาสกัดสารออกฤทธิ์ควบคุม

หนอนใยผัก ควรเก็บในช่วงเดือนตุลาคม-เดือนกุมภาพันธ์ของปี ซึ่งตรงกับงานวิจัยของ Gu et al. (1999)

สารหลักที่พบในสารสกัดจากใบทุเรียนเทศ ได้แก่สาร acetogenins (Chang et al., 2003) alkaloids (Leboeuf et al., 1981) และ essential oils (Owolabi et al., 2013). Isman (2006) รายงานว่าสารออกฤทธิ์ฆ่าแมลงที่แยกได้จากส่วนใบและเมล็ดพืชในสกุล *Annona* คือสาร acetogenins และ alkaloids สาร acetogenins เป็นพิษกับไมโตรครอนเดรีย โดยไปยับยั้งการขนส่งอีเล็คตรอนในไมโตคอนเดรีย โดยเฉพาะในขั้นตอนระหว่างการรวมตัวของ NADH กับ cytochrome oxidase complex ทำให้การสร้างพลังงานลดลง มีผลให้แมลงตายในที่สุด (Alali et al. 1999) นอกจากนี้ acetogenins ยังยับยั้งการเจริญเติบโตและพฤติกรรมของแมลงอีกด้วย

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในสภาพห้องปฏิบัติการ ต่อการควบคุมหนอนใยผักในแปลงปลูกคะน้า

เมื่อนำสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศ ซึ่งมีประสิทธิภาพดีที่สุดในระดับห้องปฏิบัติการ มาทดสอบผลการควบคุมหนอนใยผักในแปลงคะน้า ในช่วงฤดูร้อนและฤดูฝน โดยใช้ความเข้มข้น 3 ระดับ ได้แก่ความเข้มข้น 1, 3 และ 5% เปรียบเทียบกับสารฆ่าแมลงสปินโน-แซด ผลการทดสอบในฤดูร้อนดัง Table 4 กล่าวคือ หนอนใยผักที่พบในสิ่งทดลองต่างๆก่อนการฉีดพ่นสารครั้งที่ 1 มีจำนวนไม่ต่างกัน ภายหลังการฉีดพ่นสารทั้ง 3 ครั้ง พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ระหว่างสิ่งทดลองที่ฉีดพ่นสารกับไม่ใช้สาร โดยสารฆ่าแมลงสปินโนแซด เป็นสารที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการควบคุมหนอนใยผัก ซึ่งพบหนอนใยผักหลังการฉีดพ่นสารครั้งที่ 1 เฉลี่ย 10.50 ตัว ในขณะที่สารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศ สามารถควบคุมหนอนใยผักได้ดี ไม่แตกต่างจากสารฆ่าแมลงสปินโนแซด โดยสารสกัดความเข้มข้น 5, 3 และ 1% พบแมลงเฉลี่ย 11.00, 12.75 และ 14.50 ตัว ตามลำดับ ภายหลังการฉีดพ่นสารครั้งที่ 2 และ 3 ยังคงพบว่า สารฆ่าแมลงสปินโนแซดมีประสิทธิภาพดีที่สุด ในการควบคุมหนอนใยผัก โดยพบแมลงเฉลี่ย 8.00 และ 6.00 ตัว ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศทุกความเข้มข้นสามารถควบคุมหนอนใยผักในระดับที่น่าพอใจ ใกล้เคียงกับสารฆ่าแมลงสปินโนแซด โดยสารสกัดเอทานอลความเข้มข้น 5, 3 และ 1% พบหนอนใยผักเฉลี่ย 9.75, 11.25 และ 11.75 ตัว ตามลำดับ อย่างไรก็ตามสารฆ่าแมลงสปินโนแซด สามารถควบคุมหนอนใยผักสูงกว่าสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติหลังการฉีดพ่นสารครั้งที่ 3

เมื่อพิจารณาถึงผลผลิตที่ระยะเก็บเกี่ยว พบว่า ผลผลิตคะน้าแต่ละสิ่งทดลองมีปริมาณไม่แตกต่างกัน โดยสิ่งทดลองที่ฉีดพ่นด้วยสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศ ความเข้มข้น

5% ให้ผลผลิตสูงสุดเฉลี่ย 3390.00 กิโลกรัม/ไร่ รองลงมาคือ สิ่งทดลองที่ฉีดพ่นด้วยสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศความเข้มข้น 3 และ 1% ให้ผลผลิตเฉลี่ย 3265.00 และ 3250.00 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ ในขณะที่สิ่งทดลองที่ฉีดพ่นด้วยสารฆ่าแมลงสปินโนแซด ให้ผลผลิตต่ำสุดเฉลี่ย 3025.00 กิโลกรัม/ไร่ (Table 4) สาเหตุเนื่องจากแปลงที่ฉีดพ่นด้วยสารฆ่าแมลงสปินโนแซดมีการระบาดของเพลี้ยอ่อนอย่างรุนแรง ทำให้ใบหงิกเป็นคลื่น เจริญเติบโตช้ามาก เมื่อเทียบกับแปลงที่ฉีดพ่นด้วยสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศ หรือแปลงที่ไม่ใช้สาร ส่งผลให้ได้รับผลผลิตน้อย อย่างไรก็ตามผลผลิตคะน้าในทุกสิ่งทดลอง มีปริมาณสูงกว่าผลผลิตเฉลี่ยของประเทศ ซึ่งสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร รายงานไว้ว่าในปี 2552 ประเทศไทยมีผลผลิตเฉลี่ยของคะน้าประมาณ 1,540 กิโลกรัม/ไร่ (เพ็ญนภาและคณะ, 2553) สาเหตุเนื่องจากพื้นที่ที่ใช้ปลูกคะน้า เดิมเป็นพื้นที่ป่ายังไม่เคยปลูกพืช ดังนั้นดินจึงมีความอุดมสมบูรณ์สูงมาก ส่งผลให้ได้รับผลผลิตในปริมาณที่สูงมาก

Table 4 Efficacy of ethanol extract of *A. muricata* leaf against *Plutella xylostella* on Chinese kale in dry season (January-March 2013)

Treatment	Mean number of larvae/ 16 plants [1/]				Average yields (kg/rai)
	Before first spraying	After spraying (time)			
		1st	2nd	3rd	
Spinosad	21.25	10.50b	8.00b	6.00c	3025.00ab
Extract at concentration of 5%	24.50	11.00b	9.75b	11.00b	3390.00a
Extract at concentration of 3%	22.00	12.75b	11.25b	11.75b	3265.00ab
Extract at concentration of 1%	22.00	14.50b	11.75b	13.25b	3250.00ab
Control	23.00	22.50a	22.75a	22.75a	2605.00b

[1/] Mortality within a column followed by the same letter are not significantly different at P <0.01 by DMRT.

สำหรับผลการทดสอบในฤดูฝน (Table 5) ไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างสิ่งทดลองทั้งก่อนและหลังการพ่นสาร อย่างไรก็ตามสิ่งทดลองที่พ่นด้วยสารฆ่าแมลงสปินโนแซดพบหนอนใยผักต่ำสุดเฉลี่ย 5.75, 5.50 และ 5.25 ตัว หลังการพ่นสารครั้งที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ รองลงมาคือสิ่งทดลองที่พ่นด้วยสารสกัดเอทานอลความเข้มข้น 5, 3 และ 1% ตามลำดับ ในขณะที่สิ่งทดลองที่ไม่ใช้สารพบหนอนใยผักสูงสุดเฉลี่ย 6.50, 8.00 และ 9.00 ตัว หลังการพ่นสารครั้งที่ 1,

2 และ 3 ตามลำดับ จากผลการทดสอบยังพบว่า การปลูกคะน้าในฤดูฝน พบการระบาดของหนอนใยผักต่ำกว่าฤดูร้อน สอดคล้องกับการรายงานของ Capinera (2001) ที่กล่าวไว้ว่า ปริมาณน้ำฝนเป็นปัจจัยสำคัญต่อการตายของหนอนใยผักในธรรมชาติ นอกจากนี้น้ำฝนยังเป็นปัจจัยที่ชะล้างสารออกจากใบพืช ทำให้ประสิทธิภาพของสารในการควบคุมแมลงลดลง

สำหรับผลผลิตที่ระยะเก็บเกี่ยว (Table 5) ไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างสิ่งทดลอง สิ่งทดลองที่พ่นด้วยสารสปินโนแซด ให้ผลผลิตสูงสุดเฉลี่ย 1360.00 กิโลกรัม/ไร่ รองลงมาคือ สิ่งทดลองที่พ่นด้วยสารสกัดเอทานอลความเข้มข้น 5, 3 และ 1% และสิ่งทดลองที่ไม่-ใช้สาร ซึ่งให้ผลผลิตเฉลี่ย 1335.00, 1150.00, 1137.50 และ 1112.50 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ สาเหตุที่ทำให้การปลูกคะน้าในฤดูฝนได้รับผลผลิตต่ำกว่าฤดูร้อน ทั้งที่พบการระบาดของหนอนใยผักต่ำกว่าเนื่องจากฝนตกชุกตลอดฤดูปลูก ทำให้เกิดการระบาดของโรคอย่างรุนแรง โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคโคนเน่าเกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* โรคดังกล่าวระบาดตั้งแต่คะน้าอายุ 14 วันจนถึงระยะเก็บเกี่ยว นอกจากนี้ช่วงท้ายฤดูปลูกยังพบการระบาดของโรคใบจุดเกิดจากเชื้อรา *Alternaria brassicae* และโรคเน่าดำเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris pv. campestris* อีกด้วย ส่งผลให้ผลผลิตคะน้าได้รับความเสียหายมาก

Table 5 Efficacy of ethanol extract of *A. muricata* leaf against *Plutella xylostella* on Chinese kale in rainy season (July-September 2013)

Treatment	Mean number of larvae/ 16 plants				Average yields (kg/rai)
	Before first spraying	After spraying (time)			
		1st	2nd	3rd	
Spinosad	6.50	5.75	5.50	5.25	1360.00
Extract at concentration of 5%	7.00	5.50	6.25	6.00	1335.00
Extract at concentration of 3%	5.75	6.00	6.75	6.25	1137.50
Extract at concentration of 1%	7.00	6.25	7.00	7.50	1150.00
Control	6.50	6.50	8.00	9.00	1112.50

ผลการทดลองในภาพรวมชี้ให้เห็นว่า สปินโนแซดเป็นสารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมหนอนใยผัก สอดคล้องกับการทดลองของ Ranjbari et al. (2012) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงสปินโนแซด ที่มีต่อหนอนใยผักในสภาพห้องปฏิบัติการ

และสรุปไว้ว่าสปินโนแซดมีความเป็นพิษสูงต่อหนอนใยผัก โดยมีค่า LC_{50} ที่ 72 ชั่วโมงต่อหนอนใยผักวัย 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 0.276, 0.343, 0.514 และ 0.514 พีพีเอ็ม ตามลำดับ นอกจากนี้ยังรายงานว่าสปินโนแซดเป็นสารฆ่าแมลงที่ผลิตขึ้น เพื่อใช้ในการควบคุมหนอนผีเสื้อ มีพิษทางกระเพาะอาหารต่อแมลง รวมทั้งเป็นสารฆ่าแมลงที่มีพิษต่ำต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แมลงที่เป็นประโยชน์ นก ปลา และไส้เดือนดิน อย่างไรก็ตามพบว่า สปินโนแซดมีความเป็นพิษต่ำต่อการควบคุมเพลี้ยอ่อน โดยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Akbar et al. (2010) ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลง 4 ชนิด ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนกะหล่ำในแปลงกระหล่ำ ได้แก่สารฆ่าแมลงอิมิดาโคลพริด (imidacloprid) เอ็นโดซัลแฟน (endosulfan) โปรฟีโนฟอส (profenofos) และสารฆ่าแมลงสปินโนแซด และพบว่าสารฆ่าแมลงอิมิดาโคลพริด เป็นสารที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด สามารถลดประชากรของแมลงได้ 90.41 % ส่วนสารฆ่าแมลงสปินโนแซด มีประสิทธิภาพต่ำสุดลดประชากรเพลี้ยอ่อนกระหล่ำได้เพียง 11.26 % สำหรับประสิทธิภาพของสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศ ต่อการควบคุมหนอนใยผัก พบว่ามีประสิทธิภาพสูง สอดคล้องกับการรายงานของ Trindade et al. (2011) ซึ่งพบว่า สารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศ ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ทำให้หนอนใยผักตาย 100% ในสภาพห้องปฏิบัติการโดยประสิทธิภาพของสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศที่มีต่อหนอนใยผัก ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารสกัด อย่างไรก็ตามสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศ มีฤทธิ์ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนกะหล่ำในระดับปานกลาง

การทดสอบฤทธิ์ฆ่าแมลงของส่วนสกัด (fraction) ที่แยกได้จากสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศต่อหนอนใยผัก

การทดสอบฤทธิ์ฆ่าแมลงของส่วนส่วนสกัดทั้ง 18 fraction ที่แยกได้จากสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศ ต่อการควบคุมหนอนใยผักระยะตัวหนอนวัย 2 ที่ระดับความเข้มข้น 1000 พีพีเอ็ม โดยวิธีจุ่มใบ ผลการทดสอบพบความแตกต่างทางสถิติของฤทธิ์ฆ่าแมลงระหว่าง fraction ต่างๆ ที่เวลา 24, 48 และ72 ชั่วโมงหลังการทดสอบ โดยสารทั้ง 18 fraction มีฤทธิ์ฆ่าแมลงต่ำ ที่เวลา 24 ชั่วโมงหลังการทดสอบ ซึ่งพบอัตราการตายของแมลงอยู่ในช่วง 2.50-47.50% โดย fraction 4 มีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูงสุด อย่างไรก็ตามสารทั้ง 18 fraction มีฤทธิ์ฆ่าแมลงเพิ่มสูงขึ้นระหว่าง 22.50-80.00% ที่เวลา 48 ชั่วโมงหลังการทดสอบ โดย fraction 4 ยังคงมีความเป็นพิษสูงสุด ทำให้แมลงตาย 80.00% รองลงมาได้แก่ fraction 3 ทำให้แมลงตายในอัตรา 62.50% ฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารทั้ง 18 fraction ยังคงเพิ่มสูงขึ้นที่เวลา 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบ โดย fraction 4 มีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูงสุด ทำให้แมลงตาย 92.50% รองลงมาได้แก่ fraction 3 ซึ่งพบอัตราการตายของแมลง 90.00 % นอกจากนี้ยังพบว่า fraction 14, 15 และ 16 มีความเป็นพิษต่อแมลงสูงเช่นกัน ทำให้แมลงตายใน

อัตรา 85.00, 80.00 และ 80.00% ตามลำดับ ในขณะที่ fraction 2, 7, 10, 11, 12, 13 และ 17 มีฤทธิ์ฆ่าแมลงในระดับปานกลาง (50.00-65.00%) สำหรับ fraction ที่มีฤทธิ์ฆ่าแมลงต่ำได้แก่ fraction 1, 5, 6, 8, 9 และ 17 ทำให้แมลงตายอยู่ในช่วง 37.50-47.50% ผลการทดลองชี้ให้เห็นอย่างชัดเจนว่าสารออกฤทธิ์ฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดอยู่ใน fraction 4 และ 3 ตามลำดับ (Table 6)

Table 6 Insecticidal activity of 18 fractions of ethanol extract of *A. muricata* leaf against the 2nd instar larvae of *P. xylostella* using leaf dipping bioassay at 1000 ppm

Fractions	Mortality (mean ± SE, %)[1/]		
	24h after treatment	48h after treatment	72h after treatment
1	25.00±5.00cd	35.00±2.89def	40.00±4.08de
2	22.50±2.50cd	45.00±2.89cd	55.00±2.89bc
3	40.00±4.08ab	62.50±2.50b	90.00±0.00a
4	47.50±4.79a	80.00±4.08a	92.50±4.79a
5	12.50±2.50def	37.50±2.50de	47.50±2.50cde
6	2.50±2.50ef	25.00±2.89ef	45.00±2.89cde
7	7.50±2.50ef	40.00±5.77cde	55.00±2.89bc
8	5.00±2.89ef	25.00±5.00ef	37.50±4.79e
9	2.50±2.50ef	22.50±2.50f	37.50±4.79e
10	12.50±2.50def	40.00±0.00cde	52.50±2.50bcd
11	15.00±2.89de	40.00±5.77cde	50.00±4.08cde
12	22.50±2.50cd	45.00±2.89cd	65.00±2.89b
13	25.00±2.89cd	50.00±4.08bcd	65.00±2.89b
14	35.00±5.00bc	55.00±2.89bc	85.00±2.89a
15	15.00±2.89de	50.00±4.09bcd	80.00±0.00a
16	15.00±2.89de	55.00±2.89bc	80.00±0.00a
17	5.00±2.89ef	27.50±2.50ef	55.00±2.89bc
18	5.00±2.89ef	30.00±4.08ef	40.00±4.08de
Control	0.00±0.00f	0.00±0.00g	0.00±0.00f

[1/] Mortality within a column followed by the same letter are not significantly different at $P < 0.01$ by DMRT.

เมื่อนำ fraction 4 และ 3 ซึ่งมีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูงสุด มาวิเคราะห์หาค่า LC_{50} ต่อหนอนใยผักระยะตัวหนอนวัย 2 และ 3 ผลปรากฏว่า fraction 4 มีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูงสุด โดยมีค่า LC_{50} ต่อระยะตัวหนอนวัย 2 เท่ากับ 1370.26, 218.39 และ 132.67 พีพีเอ็ม ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ ขณะที่ค่า LC_{50} ของ fraction 3 เท่ากับ 1660.14, 311.25 และ 200.87 พีพีเอ็ม ตามลำดับ (Table 7) สำหรับฤทธิ์ฆ่าแมลงของ fraction 4 และ 3 ต่อระยะตัวหนอนวัย 3 เป็นไปในทิศทางเดียวกับระยะตัวหนอนวัย 2 กล่าวคือ fraction 4 มีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูงสุด โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 2094.83, 436.79 และ 288.34 พีพีเอ็ม ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมงตามลำดับ ส่วน fraction 3 มีค่า LC_{50} เท่ากับ 2761.80, 613.78 และ 381.84 พีพีเอ็มตามลำดับ (Table 8)

Table 7 LC_{50} values of the third and fourth fractions isolated from ethanol extract of *A. muricata* leaf against the 2nd instar larvae of *P. xylostella* using leaf dipping bioassay

Time	Fraction	LC_{50}, ppm	95% CL, ppm[1/]	Slope±SE	χ^2(df)[2/]
24 h	3	1660.14	866.31-8670.98	1.30±0.18	9.78(5)
	4	1370.26	947.10-2450.95	1.28±0.18	4.29(5)
48 h	3	311.25	195.26-562.37	1.51±0.12	18.57(5)
	4	218.39	157.78-310.20	1.47±0.11	9.18(5)
72 h	3	200.87	167.60-242.11	1.47±0.11	4.90(5)
	4	132.67	111.32-157.50	1.55±0.12	1.54(5)

[1/] CL denotes confidence limit.

[2/] NS, not significant at $P<0.05$.

Table 8 LC_{50} values of the third and fourth fractions isolated from ethanol extract of *A. muricata* leaf against the 3rd instar larvae of *P. xylostella* using leaf dipping bioassay

Time	Fraction	LC_{50}, ppm	95% CL, ppm[1/]	Slope±SE	χ^2(df)[2/]
24 h	3	2761.80	1572.98-10344.10	1.40±0.19	9.58(5)
	4	2094.83	1536.40-3282.77	1.34±0.17	3.45(5)
48 h	3	613.78	368.25-1195.53	1.48±0.12	21.56(5)
	4	436.79	315.56-620.41	1.47±0.11	9.18(5)
72 h	3	381.74	320.43-456.36	1.54±0.12	3.83(5)
	4	288.34	240.67-344.77	1.48±0.11	1.86(5)

[1/] CL denotes confidence limit.

[2/] NS, not significant at $P<0.05$.

การพิสูจน์เอกลักษณ์และวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์

การพิสูจน์เอกลักษณ์และวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ ที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศ โดยใช้เทคนิคสเปคโตสโกปี ได้แก่ UV, IR, MS และ NMR พบว่าสารบริสุทธิ์มีลักษณะเป็นไขสีขาว มีน้ำหนักโมเลกุล 530 โดย CI-MS ([M+H]+: *m/z* = 531) มีสูตรโมเลกุลคือ.$C_{35}H_{62}O_3$ จากข้อมูล IR พบหมู่ carbonyl ที่ 1,750 ซม.$^{-1}$ ความยาวคลื่นที่สารมีการดูดกลืนรังสีสูงสุด เท่ากับ 209.2 นาโนเมตร จากข้อมูล ^{1}H-NMR มี α,β-unsaturated γ-lactone ในโครงสร้างของสาร (Table 9) นอกจากนี้ข้อมูล ^{1}H และ ^{13}C-NMR แสดงให้เห็นว่าไม่มี tetrahydrofuran rings มี epoxide group เนื่องจากมี two-proton multiplet ที่ δ 2.91-2.93 (H-17, H-18) มี carbon resonances ที่ δ 56.8 (C-18) และ δ 57.3 (C-17) มี olefinic protons ที่ δ 5.39-5.41 (H-13, H-14) มี two carbon peaks ที่ δ 128.3 (C-13) และ δ 131.0 (C-14). จากสเปคตรัม ^{13}C-NMR, DEPT และ HMQC แสดงสัญญาณของคาร์บอน 35 คาร์บอน จากการเปรียบเทียบเอกลักษณ์ของสารบริสุทธิ์กับเอกสารอ้างอิง สารบริสุทธิ์ที่ได้คือสาร sabadelin (Gleye el al., 1999)

Table 9 ^{1}H-and ^{13}C-NMR data ($CDCL_3$, δ) of compound I

Atom no.	^{1}H-NMR	^{13}C-NMR
1	-	172.2
2	-	133.3.3
3	2.26 *t*	26.2
4	1.55 *m*	27.2[h]
5/10	1.25-1.29	26.5-29.7
11	1.30 *m*	26.6-29.7
12	2.04 *m*	27.4[h]
13	5.41 *m*	128.3
14	5.39 *m*	130.0
15	2.22 *m*	24.1
16	1.58 *m*	28.0[h]
17	2.93 *m*	57.3[c]
18	2.91 *m*	56.8[c]
19	1.50 *m*	27.9[h]
20/29	1.25-1.29	26.6-29.7
30	1.25-1.29	31.9
31	1.25-1.29	22.9
32	0.88 *t*	14.1
33	6.98 *d*	147.8
34	4.99 *dq*	77.54
35	1.41 *d*	19.2

[a] $J_{3\text{-}4}$ = 7.3 Hz; $J_{12\text{-}13}$ = 11 Hz; $J_{31\text{-}32}$ = 6.8 Hz; $J_{33\text{-}34}$ = 1.6 Hz; $J_{34\text{-}35}$ = 6.8 Hz.

[b,c] interchangcables.

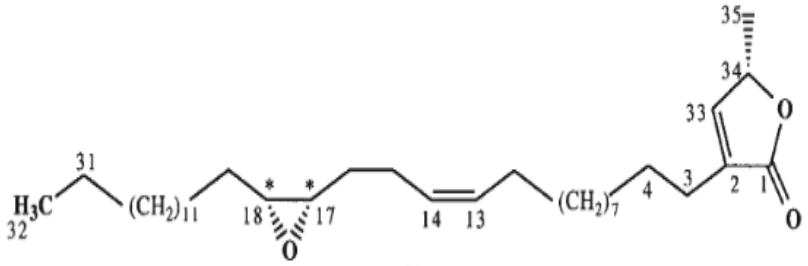

Figure 9 Chemical structure of compound I (Sabadelin)

การเปรียบเทียบฤทธิ์ฆ่าแมลงของสาร sabadelin ที่แยกได้จากสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศกับสารฆ่าแมลงอะบาเม็คตินและไซเปอร์เมทริน ในห้องปฏิบัติการ

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างสาร sabadelin กับสารฆ่าแมลงอะบาเม็คติน และสารฆ่าแมลงไซเปอร์เมทริน ที่มีต่อหนอนใยผักระยะตัวหนอนวัย 2 และวัย 3 ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธีจุ่มใบ พบว่า สารฆ่าแมลงอะบาเม็คติน มีพิษสูงสุดต่อหนอนใยผักวัย 2 และ 3 โดยมีค่า LC_{50} ที่ 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบ เท่ากับ 0.03 และ 0.05 พีพีเอ็ม ตามลำดับ และมีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูงกว่าสารฆ่าแมลงไซเปอร์เมทรินและสาร sabadelin อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สารที่มีประสิทธิภาพรองลงมาได้แก่สารฆ่าแมลงไซเปอร์เมทรินและสาร sabadelin ตามลำดับ ค่า LC_{50} ของสารฆ่าแมลงไซเปอร์เมทรินต่อหนอนใยผักวัย 2 และวัย 3 มีค่าเท่ากับ 21.76 และ 34.58 พีพีเอ็ม ตามลำดับ ส่วนสาร sabadelin มีค่าความเป็นพิษเท่ากับ 34.72 และ 55.95 พีพีเอ็ม ตามลำดับ (Tables 10 and 11)

Table 10 Comparative toxicity of sabadelin, abamectin, and cypermethrin against the 2rd instar larvae of *P. xylostella*, using leaf dipping bioassay, 72 h

Insecticide	2nd instar larvae			
	LC_{50}, ppm	95 % CL[a]	Slope±SE	χ^2(df)[b]
Sabadelin	34.72	28.76-41.54	1.34±0.10	1.69(5)
Abamectin 1.8%EC	0.03	0.02-0.04	1.90±0.13	12.16(5)
Cypermethrin 4.5%EC	21.76	18.26-25.76	1.57±0.11	4.35(5)

[a] CL denotes confidence limit.

[b] NS, not significant at $P<0.05$.

Table 11 Comparative toxicity of sabadelin, abamectin, and cypermethrin against the 3rd instar larvae of *P. xylostella*, using leaf dipping bioassay, 72 h

Insecticide	3rd instar larvae			
	LC_{50}, ppm	95 % CL[a]	Slope±SE	χ^2(df)[b]
Sabadelin	55.95	46.46-66.46	1.42±0.10	7.10(5)
Abamectin 1.8%EC	0.05	0.04-0.06	1.55±0.10	2.20(5)
Cypermethrin 4.5%EC	34.58	28.22-41.91	1.23±0.09	5.50(5)

[a] CL denotes confidence limit.

[b] NS, not significant at $P<0.05$.

การเปรียบเทียบพิษทางสัมผัสระหว่างสาร sabadelin กับสารฆ่าแมลงอะบาเม็คติน และสารฆ่าแมลงไซเปอร์เมทริน ที่มีต่อดักแด้ของหนอนใยผักด้วยวิธีจุ่มในสารละลาย ผลการทดสอบ ดัง Table 12 กล่าวคือ สารฆ่าแมลงอะบาเม็คตินมีพิษสูงสุดต่อดักแด้ของหนอนใยผัก และมีพิษสูงกว่าสารฆ่าแมลงไซเปอร์เมทรินและสาร sabadelin อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่าความเป็นพิษของสารฆ่าแมลงอะบาเม็คตินเท่ากับ 19.98 พีพีเอ็ม ในขณะที่ค่าความเป็นพิษของสารฆ่าแมลงไซเปอร์เมทริน และสาร sabadelin มีค่าเท่ากับ 1551.60 และ 2767.94 พีพีเอ็ม ตามลำดับ

Table 12 Comparative toxicity of sabadelin, abamectin, and cypermethrin against *P xylostella* pupae, using direct dipping bioassay

Insecticide	pupae			
	LC_{50}, ppm	95 % CL[a]	Slope±SE	χ^2(df)[b]
Sabadelin	2767.94	2391.23-3204.82	1.69±0.12	3.62(5)
Abamectin 1.8%EC	19.98	16.05-24.64	1.10±0.09	2.23(5)
Cypermethrin 4.5%EC	1551.60	1284.78-1887.49	1.25±0.10	2.90(5)

[a] CL denotes confidence limit.

[b] NS, not significant at $P<0.05$.

การทดสอบพิษทางสัมผัส โดยวิธีพ่นตกค้างของสาร sabadelin กับสารฆ่าแมลงอะบาเม็คติน และสารฆ่าแมลงไซเปอร์เมทริน ที่มีต่อตัวเต็มวัยของหนอนใยผัก พบว่า สารฆ่าแมลงอะบาเม็คตินยังคงมีพิษทางสัมผัสสูงสุดต่อตัวเต็มวัยของแมลง โดยมีค่า LC_{50} ที่เวลา 72 ชั่วโมง เท่ากับ 39.69 พีพีเอ็ม เมื่อเปรียบเทียบกับสารฆ่าแมลงไซเปอร์เมทริน และสาร sabadelin ซึ่งมีค่า LC_{50} ที่เวลา 72 ชั่วโมงเท่ากับ 3471.87 และ 4662.89 พีพีเอ็ม (Table 13)

Table 13 Comparative toxicity of sabadelin, abamectin, and cypermethrin against *P xylostella* adults, using residul bioassay, 72 h

Insecticide	adults			
	LC_{50}, ppm	95 % CL[a]	Slope±SE	χ^2(df)[b]
Sabadelin	4662.89	3884.24-5584.30	1.31±0.10	2.48(5)
Abamectin 1.8%EC	39.69	32.96-47.35	1.48±0.11	5.01(5)
Cypermethrin 4.5%EC	3471.87	2833.86-4295.05	1.20±0.10	1.86(5)

[a] CL denotes confidence limit.

[b] NS, not significant at $P<0.05$.

ผลการทดสอบฤทธิ์ฆ่าแมลงระหว่างสาร sabadelin กับสารฆ่าแมลงอะบาเม็คติน และสารฆ่าแมลงไซเปอร์เมทริน ต่อการควบคุมหนอนใยผักในห้องปฏิบัติการ ชี้ให้เห็นอย่างชัดเจนว่าสารฆ่าแมลงอะบาเม็คตินและไซเปอร์เมทริน มีความเป็นพิษต่อหนอนใยผักทั้งระยะตัวหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย สูงกว่าสาร sabadelin โดยสารทดสอบทั้งสามชนิดมีพิษทั้งทางสัมผัสและทางกระเพาะอาหารต่อหนอนใยผัก โดยระยะตัวหนอนอ่อนแอต่อสารมากที่สุด ในขณะที่ระยะตัวเต็มวัยมีความทนทานต่อสาร ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Sengonca and Liu (2001) ผลการทดสอบยังแสดงให้เห็นว่า สารฆ่าแมลงอะบาเม็คตินมีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูงสุด ตรงกับการศึกษาของ Shi et al. (2004) ซึ่งพบว่าสารฆ่าแมลงอะบาเม็คติน ให้ผลการควบคุมหนอนใยผักในห้องปฏิบัติการสูงถึง 100 % ที่เวลา 72 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับสารฆ่าแมลงเมโทมิล (methomyl) เฟนวาเลอเรต (fenvalerate) และคลอร์ฟลูอาซูรอน (chlorfluazuron) อะบาเม็คตินเป็นสารฆ่าแมลงที่มีพิษทั้งทางกระเพาะอาหารและพิษสัมผัสตาย ออกฤทธิ์ตรงระบบประสาท (nerve action) และการทำงานของกล้ามเนื้อ (muscle action) ตรงช่องรอยต่อระหว่างเซลล์ (synaptic transmission) โดยสารจะกระตุ้นการเข้าออกของคลอไรด์ ในขบวนการรับส่งกระแสประสาททำให้แมลงตายในที่สุด (Clark et al., 1995) Shi et al. (2004) ศึกษาผลกระทบของสารฆ่าแมลงอะบาเม็ค-

ติน ที่มีต่อแตนเบียนในระยะตัวหนอนของหนอนใยผักจำนวน 2 ชนิด ได้แก่แตนเบียน *Cotesia plutellae และ Oomyzus sokolowskii* ในประเทศจีน และพบว่า สารฆ่าแมลงอะบาเม็คตินมีพิษน้อยต่อแตนเบียน *C. plutellae* แต่มีพิษสูงมากต่อแตนเบียน *O. sokolowskii* ปัจจุบันมีรายงานว่า หนอนใยผักพัฒนาความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงอะบาเม็คตินแล้ว ในหลายประเทศรวมทั้งประเทศไทย ตัวอย่างเช่น มีรายงานว่าในเมือง Naning ของประเทศจีน หนอนใยผักสายพันธุ์ Aba-R strain สร้างความต้านทานต่อสารอะบาเม็คตินสูงถึง 303 เท่าของสายพันธุ์อ่อนแอ (Qian et al., 2008)

ไซเปอร์เมทรินเป็นสารฆ่าแมลงที่เกษตรกร ในพื้นที่ปลูกผักตระกูลกระหล่ำนิยมใช้เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช เช่นประเทศมาเลย์เซีย ไทย (Mohan and Gujar, 2003) อินเดีย และจีน (Sengonca and Liu, 2001) สารฆ่าแมลงไซเปอร์เมทริน มีพิษต่อแมลงทางกระเพาะอาหารและทางสัมผัส (Dukare et al., 2009) มีกลไกการออกฤทธิ์ต่อระบบสมดุลย์ของโซเดียมในระบบประสาท Sengonca and Liu (2001) รายงานว่าสารฆ่าแมลงไซเปอร์เมทรินมีพิษสูงต่อแตนเบียน *C. plutellae* ปัจจุบันมีรายงานว่าหนอนใยผักในหลายประเทศพัฒนาความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงดังกล่าว เช่น หนอนใยผักบางสายพันธุ์ในประเทศเกาหลี สร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงไซเปอร์เมทรินสูงถึง 1813 เท่าของสายพันธุ์อ่อนแอ (Baek et al., 2010)

sabadelin เป็นสารออกฤทธิ์ฆ่าแมลง ที่แยกได้จากสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศ สารดังกล่าวมีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมหนอนใยผักทั้งในระยะตัวหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย นอกจากนี้ยังพบสารดังกล่าวในส่วนรากและผลของทุเรียนเทศ sabadelin เป็นสารในกลุ่ม acetogenins ซึ่งสารในกลุ่มนี้ มีกลไกการออกฤทธิ์ต่อแมลงโดยไปยับยั้งการขนส่งอีเล็คตรอนในไมโตคอนเดรีย โดยเฉพาะในขั้นตอนระหว่างการรวมตัวของ NADH กับ cytochrome oxidase complex ทำให้การขนส่งอีเล็คตรอนถูกขัดขวาง การหายใจของเซลล์จะถูกยับยั้ง ทำให้แมลงตายในที่สุด (Guadaño et al., 2000) อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานฤทธิ์ชีวภาพของสาร sabadelin ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชอื่นๆ รวมทั้งฤทธิ์ชีวภาพในด้านอื่นๆ

สรุป

การเปรียบเทียบฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัด 4 ชนิดได้แก่สารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ สารสกัดเอทิลอะซิเตรท สารสกัดอะซิโตน และสารสกัดเอทานอลจากใบและเมล็ดทุเรียนเทศ ที่มีต่อหนอนใยผักในห้องปฏิบัติการ สรุปได้ว่า สารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศ มีฤทธิ์ฆ่าแมลงสูงสุด โดยมีสารออกฤทธิ์ฆ่าแมลงคือสาร sabadelin ระยะตัวหนอนวัย 2 มีความอ่อนแอต่อสารออกฤทธิ์มากที่สุด รองมาคือระยะตัวหนอนวัย 3 และระยะดักแด้ ในขณะที่ตัวเต็มวัยของหนอนใยผักมีความทนทานต่อสารออกฤทธิ์มากกว่าระยะอื่นๆ สารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศความเข้มข้นตั้งแต่ 1 % ขึ้นไป สามารถใช้ควบคุมหนอนใยผัก ในแปลงปลูกคะน้าอย่างมีประสิทธิภาพ นำไปสู่การลดปริมาณการใช้สารฆ่าแมลงสังเคราะห์ ช่วยให้ผลผลิตคะน้ามีความปลอดภัยต่อการบริโภคยิ่งขึ้น รวมทั้งช่วยลดมลภาวะในสภาพแวดล้อม

เพื่อให้การใช้สารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศเกิดประสิทธิภาพสูงสุด ในการควบคุมหนอนใยผัก จึงควรมีการศึกษาผลกระทบทั้งทางตรงและทางอ้อม ของสารสกัดเอทานอลและสารออกฤทธิ์ sabadelin ต่อศัตรูธรรมชาติของหนอนใยผัก เช่นแตนเบียนหนอน *C. plutellae* ทั้งในห้องปฏิบัติการและแปลงทดสอบ ถ้าสารไม่มีผลกระทบต่อศัตรูธรรมชาติ ก็สามารถนำสารสกัดมาใช้ผสมผสานกับการควบคุมหนอนใยผักโดยชีววิธีได้ โดยทั่วไปสารธรรมชาติจากพืชเป็นสารที่สลายตัวง่ายเมื่อถูกแสงแดด ทำให้ประสิทธิภาพของสารเสื่อมลงอย่างรวดเร็ว รวมทั้งฝนเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่ง ที่ทำให้สารสกัดถูกชะล้างจากต้นพืช ดังนั้นจึงควรทำการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องรูปลักษณ์ที่จะพัฒนาให้สารธรรมชาติมีความคงทน และมีประสิทธิภาพสูงเมื่อนำไปใช้ในสภาพแปลงปลูก

ในสภาพธรรมชาติคะน้าเป็นพืชที่มีแมลงศัตรูหลายชนิด เช่น หนอนกระทู้ผัก (*S. litura*) หนอนเจาะยอดกะหล่ำ (*Hellula undalis*) หนอนกระทู้หอม (*S. exigua*) หนอนคืบกะหล่ำ (*Trichoplusia ni*) ด้วงหมัดผักแถบลาย (*Phyllotreta flexuosa*) เพลี้ยอ่อนกะหล่ำ (*Lipaphis eryimi*) หนอนแมลงวันชอนใบกะหล่ำ (*Liriomyza brassicae*) ดังนั้นจึงควรศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดเอทานอลและสารออกฤทธิ์ sabadelin ที่มีต่อแมลงศัตรูดังกล่าว ทั้งในห้องปฏิบัติการและในแปลงปลูก และผลกระทบต่อแมลงศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูพืชดังกล่าว เพื่อให้การใช้สารสกัดทุเรียนเทศเกิดประโยชน์สูงสุด ในการควบคุมแมลงศัตรูคะน้า

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูผักไม้ดอกและไม้ประดับ. 2542. แมลงศัตรูผัก. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

โครงการอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุ์พืช. 2541. ทรัพยากรพันธุ์พืชเพื่อการอนุรักษ์. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล, ปทุมธานี.

จรงค์ศักดิ์ พุมนวล,วีระณีย์ ทองศรี, พงษ์ศักดิ์ กฤตยพรพงศ์ และ สุมลรัตน์ จินตนาสิรินุรักษ์. 2548. ประสิทธิภาพของสารสกัดดองดึง (*Gloriosa superba* Linn.) สีเสียด (*Acacia catechu* Wild) และเนียง (*Archidendron jiringa*Linn.) ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก. ว. สงขลานครินทร์ วทท. 27, 1037-1045.

จรงค์ศักดิ์ พุมนวล และ มณทินี ธีรารักษ์. 2555. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากดาวเรือง (*Tagetes erecta* L.) ในการควบคุมหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* L.). วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 30, 1-7.

ณรรฐพล วัลลีย์ลักษณ์. 2526. แมลงศัตรูผักของประเทศไทย. ภาควิชากีฏวิทยา, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ดำริห์ รุ่งสุข. 2535. ผลของสารสกัดจากพืชที่มีต่อหนอนใยผัก *Plutella xylostella* (L). วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบันฑิต. สาขากีฏวิทยา, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นิรนาม. 2544. สารสกัดจากโล่ติ๊น. กสิกร. 1, 106-107.

ปิยรัตน์ เขียนมีสุข. 2545. แมลงศัตรูผักและการป้องกันกำจัด, น. 1-22. *ใน* เอกสารวิชาการการจัดการคุณภาพพืชผัก. โครงการนำร่องการผลิตผักอนามัย, กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

พรรณเพ็ญ ชโยภาส. 2543. ปัญหาความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงของหนอนใยผัก. วารสารกีฏและสัตววิทยา. 22, 49-52.

พัชราภรณ์ วาณิชย์ปกรณ์ และ ยืนยง วาณิชย์ปกรณ์. 2550. แนวทางการป้องกันกำจัดหนอนใยผักในคะน้าโดยใช้สารสกัดจากพืช. แก่นเกษตร. 35, 487-495.

พิสมัย ชวลิตวงษ์พร. 2538. แนวทางการบริหารหนอนใยผัก. วารสารกีฏและสัตววิทยา. 17, 43-46.

พิสิษฐ์ เสพสวัสด, วิชชุดา นิธิอุทัย และอรนุช กองกาญจนะ. 2516. ชีวประวัติของแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ. วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร. 6, 523-542.

เพ็ญนภา กาญจนมั่งศักดิ์, เวณิกา เบ็ญจพงษ์, นริศรา ม่วงศรีจันทร์ และ วีรยา การพานิช. 2553. ปัจจัยที่ทำให้เกิดปัญหาการใช้สารป้องกันกาจัดศัตรูพืชอย่างไม่เหมาะสมในการเพาะปลูกผักคะน้า. วารสารพิษวิทยาไทย. 25, 133 – 143.

มยุรา สุนย์วีระ. 2545. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก *Plutella xylostella* Linn. วารสารกีฏและสัตววิทยา. 24, 197-202.

รติยา คูเขตพิทักษ์วงศ์, สังวาล สมบูรณ์, สุภาณี พิมพ์สมาน และวัชรี คูณกิติ. 2546. การเปรียบเทียบปริมาณสาร azadirachtin และฤทธิ์การยับยั้งการกินของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาสามชนิดต่อหนอนใยผัก. วารสารวิจัย มข. 8, 11-17.

วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ. 2528. การศึกษาทางนิเวศวิทยาของหนอนใยผักและศัตรูธรรมชาติในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ .

วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ. 2546. การเปรียบเทียบความหลากหลายของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติในแปลงผักคะน้า ที่ควบคุมด้วยสารฆ่าแมลงและสารชีวภาพ. วารสารเกษตร. 19, 249-258.

ศูนย์สารสนเทศ สานักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2552. ระบบสารสนเทศการผลิตทางด้านการเกษตร. Online. Available from: http:/production.doae.go.th.

สุนทร พิพิธแสงจันทร์,ทิวา บุตรผา, ปาริชาต ปาลินทร, สุปรียา ยืนยงสวัสดิ์ และ สนั่น ศุภธีรสกุล. 2543. การศึกษาฤทธิ์ของพืชบางชนิดในท้องถิ่นภาคใต้ต่อการตายของหนอนใยผัก. ว. สงขลานครินทร์ วทท. 22, 447-455.

สุภรดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง, สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น, พฤทธิชาติ ปุณวัฒโท, ยุราพร หนูนารถ และ จิระนุช เอกอำนวย. 2553. ระดับความเป็นพิษของสารฆ่าแมลงต่อหนอนใยผัก: *Plutella xylostella* (Lineaus) จากพื้นที่ปลูกสำคัญ 3 แห่ง. วารสารกีฏและสัตววิทยา. 28, 19-32.

สุภาณี พิมพ์สมาน, รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธาและสังวาล สมบูรณ์. 2546. การสกัดสารจากหนอนตายหยาก (*Stemona* sp.) เพื่อการควบคุมแมลงศัตรูพืช, น. 22. *ใน* บทคัดย่อ เอกสารประชุมวิชากาอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 6. 24-27 พฤศจิกายน 2546.โรงแรมโซฟิเทลราชาออคิด, ขอนแก่น.

อรทัย วรสุทธิ์พิศาล และศิริพรรณ ตันตาคม. 2551. ประสิทธิภาพในการเป็นสารฆ่าหนอนใยผักของน้ำมันหอมระเหยจากใบชะพลู. ว. วิทย์. กษ. 39(3) (พิเศษ), 309-312.

Abro, G.H., Soomro, R.A., Syed, T.S., 1992. Biology and behavior of Plutella xylostella L. Pak. J. Zool. 24, 7-10.

Adeoye, O.T., Ewete, F.K., 2010. Potentials of *Annona muricata* Linnaeus (Annonaceae) as a botanical Insecticide against C*allosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera: Bruchidae). JAFSS. 8, 147-151.

Adewole1, S.O., Caxton-Martins, E.A., 2006. Morphological changes and hypoglycemic effects of *Annona muricata* Linn. (Annonaceae) leaf aqueous extract on pancreatic B-Cells of streptozotocin-treated diabetic rats. African Journal of Biomedical Research. 9, 173 -187.

Akbar, M.F., Rana, H.U., Perveen, F., 2014. Management of cauliflower aphid (*Myzus persicae* (Sulzer) Aphididae: Hemiptera) through environment friendly bioinsecticides. Pak. Entomol. 36, 25-30.

Alali, F.Q., Xiao-Xi, L., McLaughlin, J., 1999. Annonaceous acetogenins: recent progress. J. Nat. Prod. 62, 504–540.

Asmanizar, Djamin, A., Idris, A.B., 2012. Evaluation of *Jatropha curcas* and *Annona muricata* seed crude extracts against *Sitophilus zeamais* infesting stored rice. Journal of Entomology. 9, 13-22.

Ayalew, G., 2005. Comparison of yield loss on cabbage from diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), using two insecticides. Crop Prot. 25, 915-919.

Baek, J.H., Clark, J.M., Lee, S.H., 2010. Cross–strain of cypermethrin–induced cytochrome P450 transcription under different induction conditions in diamondback moth. Pesticide Biochemistry and Physiology. 96, 43-50.

Baskar, R., Rajeswari, V., Kumar, T.S., 2007. In vitro antioxidant studies in leaves of annona species. Indian J Exp Biol. 4, 480-5.

Capinera, J.L., 2001. Handbook of Vegetable Pests. Academic Press, New York.

Chang, F.R., Liaw, C.C., Lin, C.Y., Chou, C.J., Chiu, H.F., Wu, Y.C., 2003. New adjacent bis-tetrahydrofuran Annonaceous acetogenins from *Annona muricata*. Planta Med. 69, 241-246.

Clark, J.K., Scott, J.G., Campos, F., Bloomquist, J.R., 1995. Resistance to avermectins: extent, mechanisms, and management implications. Annu. Rev. Entomol. 40, 1–30.

Dukare, A.S., Moharil, M.P., Ghodki, B.S., Rao, N.G., 2009. Role of glutathione-S-transferase in imparting resistance to pyrethroids in Plutella xyllostella. IJIB. 6, 17-21.

Florence, N.T., Benoit, M.Z., Jonas, K., 2014. Antidiabetic and antioxidant effects of *Annona muricata* (Annonaceae), aqueous extract on streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology 151, 784-90.

Foong, C.P., Hamid, R.A., 2012. Evaluation of anti-inflammatory activities of ethanolic extracts of *Annona muricata* leaves. Rev. Bras. Farmacogen. Braz. J. Phamacogen. 22, 1301-1307.

González-Esquinca, A.R., Luna-Cazáres, L.M., Schlie Guzmán, M.A., Chacón, Iván de la Cruz., Laguna Hernández, G., Breceda, S.F., Montoya Gerarda, P., 2012. In vitro larvicidal evaluation of *Annona muricata* L., *A. diversifolia* Saff. and *A. lutescens* Saff. extracts against *Anastrepha ludens* larvae (Diptera: Tephridae). Interciencia 37, 284-289.

Grzybowski, A., Tiboni, M., Silva, M.A., Chitolina, R.F., Passos, M., Fontana, J.D., 2013. Synergistic larvicidal effect and morphological alterations induced by ethanolic extracts of *Annona muricata* and *Piper nigrum* against the dengue fever vector *Aedes aegypti*. Pest Manag Sci. 69, 589–601.

Gu, Z., Zhou, D., Lewis, N.J., Wu, J., Johnson, H.A., McLaughlin, J.L., Gordon, J., 1999. Quantitative evaluation of annonaceous acetogenins in monthly sample of paw paw (*Asimina triloba*) twigs by liquid chromatography/electrospray ionization/tandem mass spectrometry. Phytochem. Anal. 10, 32-38.

Guadaño, A., Gutiérrez, C., De la Peña, E., Cortes, D., González-Coloma, A., 2000. Insecticidal and mutagenic evaluation of two annonaceous acetogenins. J. Nat. Prod. 63, 773-776.

Gupta, P.D., Thorsteinson, A.J., 1960. Food plant relationship of diamondback moth (*Plutella maculipennis*) (Curt.) I. Gestation and olfaction in relation to botanical specificity of larvae. Entomol. Exp. Appl. 3, 241-250.

Kossouoh, C., Moudachirou, M., Adjakidje, V., Chalchat, J,C., Figuérédo, G., 2007. Essential oil chemical composition of *Annona muricata* L. leaves from Benin. J. Essent. Oil Res. 19, 307-309.

Hamizah, S., Roslida, A.H., Fezah, O., Tan, K.L., Tor, Y.S., Tan, C.I., 2012. Chemopreventive potential of *Annona muricata* L leaves on chemically-induced skin papillomagenesis in mice. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 13, 2533-2539.

Harcourt, D.G., 1957. Population dynamics of the diamondback moth in Southern Ontario. In: Talekar, N.S., Griggs, T.D. (Eds.), Diamondback Moth Management. Proceeding of The First International Workshop, 11-15 March 1985, Tainan, Taiwan. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhau, Taiwan. pp. 1-15.

Hoe, P.K., Yiu, P.H., Eea, G.C.L., Wong, S.C., Rajan, A., Bong, C.F.J., 2010. Biological activity of *Annona muricata* seed extracts. Malaysian Journal of Science. 29, 153-159.

Idris, A.B., Grafius, E., 1996. Effect of wild and cultivated host plants on oviposition, survival, and development of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) and its parasitoid *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae). Environ. Entomol. 25, 825-833.

Isman, M.B. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annu. Rev. Entomol. 51, 45-66.

Jiwajinda, S., Hirai, N., Watanabe, K., Santisopasri, V., Chuengsamarnyart, N., Koshimizu, K., Ohigashi, H., 2000. Occurance of the insecticidal 16, 17–didehydro-16(*E*)–stemofoline in *Stemona collinsae*. Phytochemistry. 56, 693-695.

Leatemia, J.A., Isman. M.B., 2004. Insecticidal activity of crude seed extracts of *Annona* spp., *Lansium domesticum* and *Sandoricum koetjape* against lepidopteran larvae. Phytoparasitica. 32, 30-37.

Leboeuf, M., Legueut, C., Cavé, A., Desconclois, J.F., Forgacs, P., Jacquemin, H. 1981. Alkaloids of Annonaceae. XXIX. Alkaloids of *Annona muricata*. Planta Med. 42, 37-44.

Llanos, C.A.H., Arango, D.L., Giraldo, M.C., 2008. Insecticidal activity of *Annona muricata* (Anonaceae) seed extracts on *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). Revista Colombiana de Entomologa. 34, 76-82.

Lingappa, S., Basavanagound, K., Kulkarni, K.A., Patil, R.S., Kambreaker, D.N., 2004. Treated to vegetable production by diamondback moth and its management strategies. *In*: Mukerji, K.G. (Ed.), Fruit and Vegetable Diseases, Vol. 1. Sringer, Nertherlands, pp. 357-396.

Liu, P., Guo, H., Guo, H.Z., Sheng, Y.X., Wang, W.X., Xu, M., Feng, S.X., Chen, F., Guo, D.A., 2007. Simultaneous determination of seven major diterpenoids in *Pseudolarix kaempferi* by high-performance liquid chromatography DAD method. Journal of Phamarceutical and Biomedical Analysis. 44, 730-736.

Lümmen, P. 1998. Complex I inhibitors as insecticides and acaricides. BBA. 1364: 287-296.

Macharia, I., Löhr, B., Groote, H.D., 2005. Assessing the potential impact of biological control of *Plutella xyllostella* (diamondback moth) in cabbage production in Kenya. Crop Prot. 24, 981-989.

Magadula, J.J., Innocent, E., Otieno, J.N., 2009. Mosquito larvicidal and cytotoxic activities of 3 Annona species and isolation of active principles. Journal of Medicinal Plants Research. 3, 674-680.

Malviya, N., Jain, S., Malviya, S., 2010. Antidiabetic potential of medicinal plants. Acta Poloniae Pharmaceutica. 67, 113-118.

Mohan, M., Gujar, G.T., 2003. Local variation in susceptibility of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linneaus) to insecticides and role of detoxification enzymes. Crop. Prot. 22, 495-504.

Morallo-Rejesus, B. 1986. Botanical insecticides against the diamondback moth, In: Proceeding of the First International Workshop: Diamondback Moth Management.The Asian Vegetable Research and Development Center. Taiwan, pp. 241-255.

Narangoda, S.R.C.N.K., Karunaratne, M.M.S.C., 2009. Oviposition deterrent and insecticidal activities of some indigenous plant extracts against the rice moth, *Corcyra cephalonica* (Stainton). Vidyodaya J. of Sci. 14, 43-150.

Oke, O.A., 2008. Evaluation of the effectiveness of three insecticides to control diamondback moth (*Plutella xylostella*) in cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* L). European Journal of Scientific Research. 3, 391-395.

Omena, M.C., Navarro, D.M.A.F., Paula, J.E., Luna, J.S., Lima, M.R.F., Sant'Ana, A.E.G., 2007. Larvicidal activities against *Aedes aegypti* of some Brazilian medicinal plants. Bioresource Technology. 98, 2549-2556.

Ooi, A. C. P., Kelderman, W., 1977. A parasite of the diamondback moth in Cameron Highlands, Malaysia. Malays. Agric. J. 5 1, 54-61.

Owolabi, M.S., Ogundajo, A.L., Dosoky, N.S., Setzer, W.N., 2013. The cytotoxic activity of *Annona muricata* leaf oil from Badagary, Nigeria. American Journal of Essential Oils and Natural Products. 1, 1-3.

Promsiri, S., Naksathit, A., Kruatrachue, M., Thavara, U., 2006. Evaluations of larvicidal activity of medicinal plant extracts to *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) and other effects on a non target fish. Insect Science. 13, 179-188.

Paulinus, O.N., Kinsley, A., Ikechi, E.C., 2013. Protective effect of ethanolic leaf extract of *Annona muricata* Linn. on some early events in cycas-inducccced colorectal carcinogenesis in rats. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 13, 14-21.

Qian, L., Cao, G., Song, J., Yin, Q., Han, Z., 2008. Biochemical mechanism conferring cross-resistance between tebufenozide and abamectin in *Plutella xylostella*. Pestic. Biochem. Physiol. 91, 175-179.

Ranjbari, S., Safaralizadeh, M.H., Aramideh, S., 2012. Insecticidal effect of spinosad on larvae of *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) under laboratory conditions. Afr. J. Microbiol. Res. 6, 552- 555.

Ravaomanarivo, L.H.R., Razafindraleva, H.R., Raharimalala, F.N., Beby Rasoahantaveloniaina, B., Ravelonandro, P.H., Mavingui, P., 2014. Efficacy of seed extracts of *Annona squamosa* and *Annona muricata* (Annonaceae) for the control of *Aedes albopictus* and *Culex quinquefasciatus* (Culicidae). Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 4, 787-795.

Santos, A.F., Sant'Ana, A.E.G., 2001. Molluscicidal properties of some specied of *Annona*. Phytomedicine. 8, 115-120.

Sayyed, K., Rizvi, M.R., Alvi, A.H., 2002. Management of diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): A lesson from Southeast Asia for sustainable integrated pest management. Pakistan Journal of Biology Science. 5, 234-245.

Sengonca, C., Liu, B., 2001. Influence of mixed biocide GCSC-BtA on the pupae and adult stages of *Apantetes plutellae* Kurd. (Hym., Braconidae) and it host, *Plutella xylostella* (L.) (Lep., Plutellidae). J. Pest Sci. 74, 145-149.

Shelton, A.M., 2004. Management of the diamondback moth: déjà all over again? In: Endersby, N.M., Ridland, P.M. (Eds.), The Management of Diamondback Moth and Other Crucifer Pests. Proceedings of the Fourth International Workshop, 26-29. November 2001. Department of Natural Resources and Environment, Melbourne, Australia, pp. 3-8.

Shi, Z.H., Guo, S.J., Lin, W.C., Liu, S.S., 2004. Evaluation of selective toxicity of five pesticides against *Plutella xylostella* (Lep: Plutellidae) and their side-effects against *Cotesia plutellae* (Hym: Braconidae) and *Oomyzus sokolowskii* (Hym: Eulophidae). Pest. Manag. Sci. 60, 1213-1219.

Sinchaisri, N., Roongsook, D., Chungsamarnyart, N., 1991. Insecticidal activity of plant crude-extracts on diamondback moth larvae. Kasetsart J. (Nat. Sci. Suppl.). 25, 06-110.

Singh, S.P., Singh, D., 1982. Influence of cruciferous host plants on the survival and development of *Plutella xylostella* L. Rev. Appl. Entomol. Ser. A. 71: 154.

Sousa, O.V., Del-Vechio-Vieira, G., Pinho, J.J.R.G., Yamamoto, C.H., Alves, M.S. 2010. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the ethanol extract of *Annona muricata* L. leaves in animal models. Int. J. Mol. Sci. 11, 2067-2078.

Vanichpakorn, P., Ding, W., Cen, X.X., 2010. Insecticidal activity of five Chinese medicinal plants against *Plutella xylostella* L. larva. Journal of Asia-Pacific Entomology. 13, 169-173.

Vijayameena, C., Subhashini, G., Loganayagi, M., Ramesh, B., 2013. Phytochemical screening and assessment of antibacterial activity for the bioactive compounds in *Annona muricata*. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 2, 1-8.

Verkerk, R.H.J., Wright, D.J., 1996. Multitrophic interactions and management of the diamondback moth: a review. Bull. Entomol. Res. 86, 205-216.

Wright, D., 2004. Biological control of DBM: A global perspective. In: Bordat, D., Kirk, A.A. (Eds.), Improving Biocontrol of *Plutella xylostella*. Proceedings of the International Symposium, 21-24 Oct 2002. Montpellier, France, pp. 9-14.

Santos, A.F., and A.E.G. Sant'Ana. 2001. Molluscicidal properties of some species of *Annona*. Phytomedicine. 8: 115-120.

Tabashnik, B. E., Cushing, N.L.., 1987. Leaf residue vs. topical bioassays for assessing insecticide resistance in the diamondback moth (*Plutella xylostella* L.). FAO Plant Protect. Bull. 35: 11-14.

Talekar, N.S., Shelton, A.M., 1993. Biology, ecology and management of the diamondback moth. Annu. Rev. Entomol. 38, 275-301.

Trindade, R.C.P., Silva, P.P.da., Arau′jo-Ju′nior, J.X.de., Lima, I.S.de., Paula, J.E.de., Sant'Ana, A.E.G., 2008. Mortality of *Plutella xylostella* larvae treated with *Aspidosperma pyrifolium* ethanol extracts. Pesq. Agropec. Bras. 43, 1813-1816.

Yamada, H., Kawasaki, K., 1983. The effect of temparature and humidity on the development, fecundity and multiplication of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). Review of Applied Entomology. 71, 636.