

ผลของสารสกัดจากพืชบางชนิดต่อหนอนกระทู้ผัก

Effect of Certain Plant Extracts Against Common Cutworm, *Spodoptera litura*

วิชัย สรพงษ์ไพศาล¹ ปภพ สินชยกุล^{2*} อารยา บุญศักดิ์³ วณิชญา จิมนาค⁴

Wichai Sorapongpaisal¹ Pabhop Sinchayakul^{2*} Araya Bunsak³ Vanidchaya Chimnak⁴

Received: October 25, 2021

Revised: November 11, 2021

Accepted: November 12, 2021

Abstract: Insecticidal property is found in many plants and can be applied in organic farm because they are all natural products. Therefore, the effect of certain plant extracts against common cutworm, *Spodoptera litura*, one of seriously cruciferous vegetable insect pests, was carried out under the objective of screening on the extracts of 10 plants: neem (*Azadirachta* sp.), tobacco (*Nicotiana* sp.), eucalyptus (*Eucalyptus* sp.), citronella (*Cymbopogon nardus*), kaffir lime (*Citrus hystrix*), stemona (*Stemona* sp.), cloth of gold (*Lantana* sp.), derris (*Derris* sp.), myrtle grass (*Acorus* sp.) and Siam weed (*Chromolaena* sp.) to control the third instar larvae of *S. litura*. The maceration technique with the ratio of plant/alcohol at 1:5 was applied. At 5 days later, alcohol was evaporated to receive the 100% concentrated plant extracts and adjusted to 5% concentration for the screening experiments. Then the plant extract with the highest efficiency was selected and proceeded to determine its toxicity on *S. litura*. The result revealed that all plant extracts had clearly potential to control *S. litura* compared to the control at 48 hours after application. The highest efficacy (78.3% mortality at 48 hours after application, HAA) was found on eucalyptus extract with LT_{50} value at 16.82 HAA and the toxicity of the extract based on LC_{50} value was at 3.39% at 24 HAA.

Keywords: Plant extracts, *Spodoptera litura*,

บทคัดย่อ: พืชหลายชนิดมีคุณสมบัติเป็นสารฆ่าแมลงสามารถใช้ควบคุมแมลงศัตรูผักในระบบเกษตรอินทรีย์ได้เนื่องจากเป็นสิ่งที่ได้จากธรรมชาติ ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดจากพืชบางชนิดต่อหนอนกระทู้ผัก ซึ่งจัดเป็นหนึ่งในแมลงศัตรูสำคัญของพืชผักกะหล่ำ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกสารสกัดจากพืช 10 ชนิดคือ สะเดา (*Azadirachta* sp.) ยาสูบ (*Nicotiana* sp.) ยูคาลิปตัส (*Eucalyptus* sp.) ตะไคร้หอม (*Cymbopogon nardus*) มะกรูด (*Citrus hystrix*) หนอนตายหยาก (*Stemona* sp.) ผกากรอง (*Lantana* sp.) หางไหล (*Derris* sp.)

¹ ศูนย์วิจัยและบริการวิชาการ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140
Center for Research and Academic Outreach, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom, 73140.

² ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140
Department of Entomology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom, 73140.

³ คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000
Faculty of Food and Agricultural Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok, 65000

⁴ ศูนย์วิจัยเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์ สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร ต.สะเดาะพง อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
Phetchabun Highland Agricultural Research Center, Horticulture Research Institute, Department of Agriculture, Sado Phong sub-district, Khaokho district, Phetchabun, 67270.

*Corresponding author : agrsci@ku.ac.th.

ว่านน้ำ (*Acorus sp.*) และสาบเสือ (*Chromolaena sp.*) สำหรับควบคุมหนอนกระทู้ผักวัยที่ 3 โดยสกัดพืชด้วยเทคนิคการแช่พืชในตัวทำละลายแอลกอฮอล์อัตรา 1:5 w/v เป็นระยะเวลา 5 วัน ระเหยแอลกอฮอล์ออกจนได้สารสกัดพืชเข้มข้นร้อยละ 100 จากนั้นปรับความเข้มข้นที่ร้อยละ 5 เพื่อให้ทดสอบคัดเลือกลำไส้จากพืชที่มีประสิทธิภาพสูงสุด จากนั้นศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดที่ผ่านการคัดเลือกอีกครั้งกับหนอนกระทู้ผัก ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากพืชทั้ง 10 ชนิดมีผลต่อการตายของแมลงศัตรูผักแตกต่างจากไม่พ่นสารอย่างชัดเจนที่ 48 ชั่วโมงหลังพ่นสาร โดยสารสกัดจากยูคาลิปตัสมีประสิทธิภาพสูงสุด โดยทำให้หนอนกระทู้ผักตายร้อยละ 78.3 ที่ 48 ชั่วโมงหลังได้รับสาร มีระยะเวลาที่ทำให้แมลงตายร้อยละ 50 (LT₅₀) ที่ 16.82 ชั่วโมงหลังสัมผัสสาร มีระดับความเป็นพิษของสารสกัดจากค่าความเข้มข้นของสารที่ทำให้หนอนกระทู้ผักตายร้อยละ 50 (LC₅₀) ที่ ร้อยละ 3.39 ที่ 24 ชั่วโมงหลังสัมผัสสาร

คำสำคัญ: สารสกัดจากพืช หนอนกระทู้ผัก

คำนำ

หนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* จัดอยู่ในวงศ์ Noctuidae อันดับ Lepidoptera จัดเป็นหนึ่งในแมลงศัตรูผักที่สำคัญของพืชตระกูลกะหล่ำ พบแพร่กระจายได้โดยทั่วไป จัดอยู่ในกลุ่ม cosmopolitan species เนื่องจากหนอนกระทู้ผักมีศักยภาพในการปรับตัวได้ดีและอยู่รอดในสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย สามารถดำรงชีพได้ด้วยพืชอาหารหลายชนิด การลงทำลายพืชอาศัยโดยหนอนกัดกินทุกส่วนของพืชได้อย่างรวดเร็ว และทำให้ใบพืชมีร่องรอยการเข้าทำลายเสียหาย ไม่เป็นที่ต้องการของตลาดและผู้บริโภค ในการผลิตผักเพื่อการค้าทำให้เกษตรกรต้องหาวิธีการต่างๆ ในการควบคุม ซึ่งส่วนใหญ่นิยมใช้สารเคมีฆ่าแมลงเพราะสะดวก รวดเร็วและให้ผลที่ชัดเจน แต่สารต่างๆ ดังกล่าวอาจส่งผลกระทบต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค ผู้ผลิตและสิ่งแวดล้อมได้

ในการแก้ปัญหาเพื่อตอบสนองต่อความต้องการของตลาดที่มีแนวโน้มเปลี่ยนไปสู่ผักปลอดสารหรือผักอินทรีย์ ซึ่งให้ความสำคัญต่อการป้องกันกำจัดศัตรูพืชมาก โดยในแต่ละขั้นตอนการผลิตเกษตรกรไม่ได้รับอนุญาตให้ใช้สารเคมี ดังนั้นจึงมีความเสี่ยงสูงที่ผลผลิตผักจะถูกทำลายโดยแมลงศัตรูพืช อย่างไรก็ตามทางเลือกที่สำคัญในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูผักที่แนะนำโดยทั่วไปนั้น ประการแรกคือการปลูกผักกางมุ้ง การปลูกผักแบบไร้ดิน และการใช้สารจากธรรมชาติ เช่น เชื้อจุลินทรีย์ หรือการใช้สารสกัดจากพืชในธรรมชาติ

พืชหลากหลายชนิดมีสารออกฤทธิ์ที่มีคุณสมบัติในการฆ่าแมลงได้ เช่น นิโคติน (nicotine) จากใบยาสูบ โรทีโนน (rotenone) จากต้นหางไหล และมันแกว ไพรีทริน (pyrethrin) จากดอกแห่งของต้นไพรีทรัม (pyrethrum) อะซาดีแรคติน (azadirachtin) จากเมล็ดสะเดา เป็นต้น แม้ว่าการผลิตผักเชิงการค้าในอดีตการใช้สารสกัดจากพืชไม่ได้รับความนิยม เพราะระบบการปลูกมีขนาดใหญ่ และเป็นระบบเปิด จำต้องใช้สารสกัดจากพืชเป็นจำนวนมากในแต่ละครั้งที่พ่นสาร ทำให้เกิดข้อจำกัดในการจัดหาพืชเพื่อสกัดสารออกฤทธิ์ ประกอบกับปัญหาระบวนการสกัดสารและการจัดการของเสียต่างๆ ที่เกิดขึ้นมากมาย แต่ด้วยแนวทางการผลิตที่เปลี่ยนแปลงไป โดยมีการเน้นคุณภาพและความปลอดภัยจากสารพิษต่อผู้ผลิต ผู้บริโภคและสภาพแวดล้อม ทำให้ระบบการปลูกผักมีขนาดเล็กลง ซึ่งสะดวกต่อการจัดการปลูกที่มีการหมุนเวียนต่อเนื่อง ทำให้สารสกัดจากพืชจึงถูกนำมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชผักในระบบการผลิตได้

ในช่วงหลายทศวรรษที่ผ่านมา การศึกษาวิจัยสารสกัดจากพืชส่วนใหญ่เน้นการควบคุมแมลงศัตรูในกลุ่มหนอนผีเสื้อ เช่น หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนใยผัก ซึ่งลงทำลายพืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับ (อำนาจ, 2535 ; สุเทพ และ ลักขณา, 2546; ต.ชาตรี, 2553; ขวัญชัย, 2555; Bomford and Isman, 1996) แม้ว่าการใช้สารสกัดจากพืชควบคุมแมลงมีหลักฐานเบื้องต้นยืนยันถึงประสิทธิภาพและความปลอดภัยมากกว่าการใช้สารฆ่าแมลง

แต่อย่างไรก็ตามควรทำการคัดเลือก คัดกรองพืชเฉพาะที่มีศักยภาพและประสิทธิภาพ และที่สำคัญต้องมีความปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม เพื่อสร้างความมั่นใจในการใช้สารสกัดจากพืชต่างๆ และขับเคลื่อนให้เกิดการยอมรับ ตลอดจนทั้งเส้นทาง ตั้งแต่การคัดสรรพืช การปลูก การผลิต จนถึงการใช้อย่างต่อเนื่อง

ในช่วง 3 ปีที่ผ่านมาคณะผู้วิจัยได้ศึกษาพืชหลายชนิดที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติของประเทศไทย ในการควบคุมแมลงศัตรูข้าว ส้ม และกุหลาบ (นิสา และคณะ, 2563) และพบว่าพืชหลายชนิดมีคุณสมบัติฆ่าแมลงได้อย่างมีประสิทธิภาพเทียบเท่าสารฆ่าแมลง ดังนั้นคณะผู้วิจัยเห็นความสำคัญในการศึกษาต่อยอดถึงประสิทธิภาพในการใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชอื่นๆ และด้วยความสำคัญของการผลิตผักปลอดสารและการผลิตผักอินทรีย์ที่ต้องประสบปัญหาแมลงศัตรูผักลงทำลายและกำลังต้องการแนวทางในการควบคุมที่มีประสิทธิภาพ มีความเป็นรูปธรรมที่ชัดเจน คณะผู้วิจัยจึงได้ศึกษาวิจัยผลของสารสกัดพืชบางชนิดต่อหนอนกระทู้ผักในพืชผักทะเล้านี้ขึ้น เพื่อค้นหาและคัดเลือกสารสกัดจากพืชที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ผักสำหรับใช้ในระบบเกษตรปลอดสารหรือเกษตรอินทรีย์ และเป็นแนวทางในการศึกษาต่อยอดสู่แมลงศัตรูผักอื่น ๆ รวมทั้งการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในลักษณะเช่นเดียวกับสารฆ่าแมลงในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

การสกัดสารจากพืช

ทำการเก็บรวบรวมพืชที่นำมาใช้ในการศึกษา ได้แก่ สะเดา (*Azadirachta* sp.) ยาสูบ (*Nicotiana* sp.) ยูคาลิปตัส (*Eucalyptus* sp.) ตะไคร้หอม (*Cymbopogon nardus*) มะกรูด (*Citrus hystrix*) หนอนตายหยาก (*Stemona* sp.) ผกากรอง (*Lantana* sp.) หางไหล (*Derris* sp.) ว่านน้ำ (*Acorus* sp.) และสาบเสือ (*Chromolaena* sp.) จากพื้นที่ในจังหวัด ราชบุรี กาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี อุทัยธานี และตาก ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำผึ่งให้แห้งและอบพืชเพื่อไล่ความชื้นด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นบดให้เป็นผงละเอียดด้วยเครื่องบดไฟฟ้า

สกัดสารจากผงพืชบดที่ได้ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย โดยนำผงพืชบดละเอียดที่น้ำหนักแห้ง 200 กรัม ใส่ในบีกเกอร์เติมสารตัวทำละลายเอทานอลจนครบปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปิดปากบีกเกอร์ด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ กวนด้วยเครื่อง magnetic stirrer ที่ความเร็วรอบ 1,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และบ่มที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน กรองสารละลายด้วยผ้าขาวบาง ก่อนที่จะนำมากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1 แล้วนำไประเหยเอาสารเอทานอลออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator) จากนั้นเก็บสารสกัดจากพืชซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลวหนืดในขวดสีชาขนาด 30 มิลลิลิตร เก็บไว้ในที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการศึกษาในลำดับถัดไป

การเพาะเลี้ยงหนอนกระทู้ผักเพื่อการทดสอบ

เก็บรวบรวมหนอนกระทู้ผักจากแปลงผักเกษตรกรในพื้นที่อำเภอท่าม่วง และอำเภอนมทวน จังหวัดกาญจนบุรี คัดกรองหนอนที่อ่อนแอออก และเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการ ด้วยผักคะน้าปลอดสารฆ่าแมลงปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 17 เซนติเมตร ในกรงเลี้ยงขนาดเล็ก 20x20x30 เซนติเมตร จนได้จำนวนประชากรของหนอนวัยที่ 3 รุ่นที่ 1 (F1) มากเพียงพอเพื่อใช้ในการศึกษา

การศึกษาผลของสารสกัดจากพืชต่อหนอนกระทู้ผัก

การทดสอบสารสกัดพืชใช้แผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design (RCBD)) มีชนิดของสารสกัดจากพืช 10 ชนิดเป็นสิ่งที่ทดลอง ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 ทำ 3 ซ้ำ หน่วยทดลองคือหนอนกระทู้ผักวัยที่ 3 จำนวน 10 ตัว บนต้นผักคะน้าอายุ 40 วัน ปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 17 เซนติเมตร ในกรงเลี้ยงแมลงขนาดเล็ก 20x20x30 เซนติเมตร พ่นสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดลงบนตัวหนอนและต้นผักคะน้า ตรวจนับจำนวนหนอนกระทู้ผักที่คงเหลือบนต้นผักคะน้าที่ 1, 12, 24 และ 48 ชั่วโมงหลังทำการพ่นสารสกัดจากพืช โดยมีน้ำกลั่นเป็นสิ่งควบคุมเปรียบเทียบ คำนวณอัตราตายของหนอนกระทู้ผักเพื่อวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบ

ค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan' s New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p>0.05$) และวิเคราะห์ระยะเวลาที่ทำให้แมลงตายร้อยละ 50 (LT_{50}) คัดเลือกสารสกัดจากพืชที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดเพื่อใช้ทดลองลำดับถัดไป

การทดสอบระดับความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชที่ผ่านการคัดเลือกต่อหนอนกระทู้ผัก ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดสอบประสิทธิภาพข้างต้น แต่ใช้สารสกัดจากพืชที่ผ่านการคัดเลือกเป็นระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 เป็นสิ่งทดลองทำการตรวจนับหนอนกระทู้ที่ตายผักที่ 24 ชั่วโมงหลังทำการพ่นสารสกัดจากพืช และวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชที่ทำให้แมลงตายร้อยละ 50 (LC_{50}) ด้วยการใช้การวิเคราะห์โพรบิต (Probit analysis)

ผลการทดลอง

การสกัดสารจากพืช

ผลการสกัดสารจากพืช 10 ชนิด โดยใช้ผงแห้งของพืช 200 กรัม และเติมตัวทำละลายหลักคือเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ให้ได้ปริมาตรรวมเป็น 1,000 มิลลิลิตร เมื่อหมักสารได้ 5 วันพบว่าสีของสารละลายมีความแตกต่างและสามารถจัดได้เป็น 3 กลุ่มคือ 1) กลุ่มที่มีสีเขียว ได้แก่ สารสกัดจากตะไคร้หอม มะกรูด ยูคาลิปตัส ผักกระถิน และสาบเสือ 2) กลุ่มที่มีสีน้ำตาล ได้แก่ สารสกัดจากสะเดา หนอนตายหยาก ยาสูบ และหางไหล และ 3) กลุ่มสีส้ม ได้แก่ สารสกัดจากว่านน้ำ

เมื่อทำการระเหยตัวทำละลายออกเพื่อให้ได้สารสกัดเข้มข้นที่มีความหนืดมีปริมาณอยู่ในช่วง 18.00-26.00 มิลลิลิตร และให้เจดสีที่เข้มข้นแตกต่างกันไปตามชนิดของพืชแสดงดัง (Table 1)

Table 1 Plant common name and scientific name, color of extracts in solvent, color of condensed extracts and volume of condensed extracts.

Plant common name (Scientific name)	Color of extracts in solvent	Color of condensed extracts	Volume of condensed extracts (ml)
citronella (<i>Cymbopogon nardus</i>)	green	dark green	20.00
kaffir lime (<i>Citrus hystrix</i>)	green	dark green	19.00
eucalyptus (<i>Eucalyptus</i> sp.)	green	light brown	18.00
neem (<i>Azadirachta</i> sp.)	brown	dark brown	20.00
myrtle grass (<i>Acorus</i> sp.)	orange	orange brown	24.00
stemona (<i>Stemona</i> sp.)	light brown	dark brown	20.00
cloth of gold (<i>Lantana</i> sp.)	dark green	dark brown	26.00
Siam weed (<i>Chromolaena</i> sp.)	green	dark green	25.00
tobacco (<i>Nicotiana</i> sp.)	dark brown	dark brown	21.00
derris (<i>Derris</i> sp.)	light brown	dark brown	22.00

ผลของสารสกัดพืชต่อหนอนกระทู้ผัก

ผลการทดสอบสารสกัดจากพืชจำนวน 10 ชนิด ต่อหนอนกระทู้ผักวัยที่ 3 พบว่าหลังจากหนอนสัมผัสสารสกัดพืชกลุ่มสารหอมระเหย คือ มะกรูด ยูคาลิปตัส และตะไคร้หอม หนอนแสดงอาการเคลื่อนไหวรุนแรงทันทีในช่วงแรก จากนั้นการเคลื่อนไหวมีน้อยลง สงบนิ่ง กินอาหารน้อยลง และเริ่มพบอัตราการตายเกิดขึ้นในช่วงท้ายของชั่วโมง

แรกหลังสัมผัสสารที่ร้อยละ 3.0, 2.7 และ 1.7 ตามลำดับ (Table 2) ส่วนสารสกัดจากพืชอื่นในระยะแรกหลังสัมผัสสารหนอนแสดงอาการหยุดนิ่ง กินอาหารน้อยลง ไม่พบอัตราการตายในช่วงแรกหลังสัมผัสสารสกัดจากพืช

ที่ 12 ชั่วโมงหลังสัมผัสสารพบว่า สารสกัดพืชหลายชนิดมีผลทำให้หนอนกระทู้ผักตายมากขึ้น เมื่อจัดจำแนกตามอัตราการตายได้เป็น 3 กลุ่ม

กลุ่มที่ 1 คือ ยูคาลิปตัส และหางไหล พบอัตราการตายร้อยละ 25 เท่ากัน กลุ่มที่ 2 คือ มะกรูด และตะไคร้หอม พบอัตราการตายร้อยละ 8.3 และ 4.7 ตามลำดับ และสารสกัดที่เหลือจัดเป็นกลุ่มที่ 3 ไม่พบอัตราการตายของหนอนกระทู้ผัก

ที่ 24 ชั่วโมงหลังสัมผัสสาร พบว่าสารสกัดจากพืชทุกชนิดยกเว้นสารสกัดจากว่านน้ำ มีผลทำให้หนอนตายในอัตราร้อยละ 2.7-75.0 เมื่อจัดจำแนกตามอัตราการตายแบ่งเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 คือ ยูคาลิปตัส พบอัตราการตายร้อยละ 75 กลุ่มที่ 2 คือ ตะไคร้หอม หางไหล ยาสูบ มะกรูด สะเดา และสาบเสือ พบอัตราการตายร้อยละ 35.5, 27.3, 26.3, 20.0, 19.7 และ 16.6 ตามลำดับ กลุ่มที่ 3 คือ หนอนตายหยาก ผกากรอง และว่านน้ำ พบอัตราการตายร้อยละ 3.3, 2.7 และ 0.0 ตามลำดับ และสิ่งควบคุมไม่พบการตายของหนอนกระทู้ผัก

ที่ 48 ชั่วโมงหลังสัมผัสสาร พบว่า สารสกัด

จากพืชทุกชนิด มีผลทำให้หนอนกระทู้ผักตายในอัตราร้อยละ 12.3-78.3 ในขณะที่สิ่งควบคุมคือไม่พ่นสารนั้นไม่พบอัตราการตาย เมื่อจัดจำแนกตามอัตราการตายแบ่งเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 คือ ยูคาลิปตัส พบอัตราการตายร้อยละ 78.3 กลุ่มที่ 2 คือ มะกรูด ยาสูบ ตะไคร้หอม และสะเดา พบอัตราการตายร้อยละ 56.7, 49.3, 43.7 และ 36.7 ตามลำดับ กลุ่มที่ 3 คือ หางไหล หนอนตายหยาก ว่านน้ำ สาบเสือ และผกากรอง พบอัตราการตายร้อยละ 29.7, 25.0, 23.5, 16.6 และ 12.3 ตามลำดับ

ผลการประเมินความเป็นพิษของสารสกัดพืชทั้ง 10 ชนิด จากระยะเวลาที่ทำให้หนอนตายร้อยละ 50 (LT_{50}) สามารถประเมินได้จากสารสกัด 2 ชนิดเท่านั้น คือ มะกรูดและ ยูคาลิปตัส เนื่องจากพบอัตราการตายของหนอนกระทู้ผักมีค่าสูงกว่าร้อยละ 50 ที่ 48 ชั่วโมง โดยมีค่า LT_{50} เท่ากับ 43.57 และ 16.82 ชั่วโมงตามลำดับ (Figure 1)

Table 2 The mortality rate of *Spodoptera litura* after contact to plant extracts at 5% concentration at 1, 12, 24 and 48 hours with LT_{50} values.

Plant common name (Scientific name)	Mortality rate (%) after application				LT_{50} (hours)
	1hr	12hr	24hr	48hr	
citronella (<i>Cymbopogon nardus</i>)	1.7	4.7	35.5b	43.7b	na
kaffir lime (<i>Citrus hystrix</i>)	0	0	19.7bc	36.7bc	na
eucalyptus (<i>Eucalyptus</i> sp.)	3.0	8.3	20bc	56.7b	43.57
neem (<i>Azadirachta</i> sp.)	2.7	25	75a	78.3a	16.82
mytle grass (<i>Acorus</i> sp.)	0	0	0c	23.5c	na
stemona (<i>Stemona</i> sp.)	0	0	3.3c	25c	na
cloth of gold (<i>Lantana</i> sp.)	0	0	2.7c	12.3c	na
Siam weed (<i>Chromolaena</i> sp.)	0	0	16.6bc	16.6c	na
tobacco (<i>Nicotiana</i> sp.)	0	0	26.3b	49.3b	na
derris (<i>Derris</i> sp.)	0	25	27.3b	29.7bc	na
control	0	0	0c	0d	na

na = not available

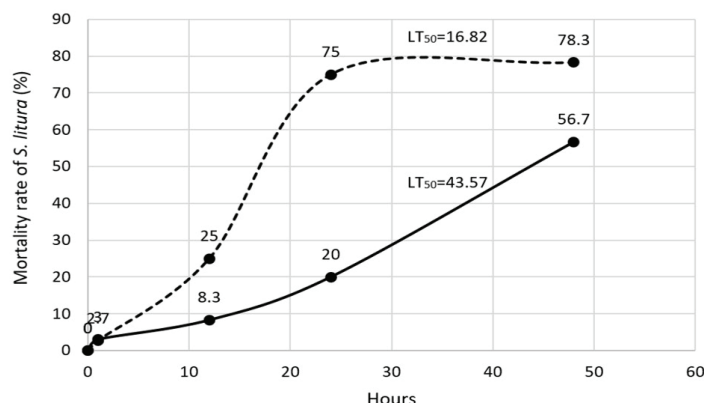


Figure 1 The cumulative mortality rate (%) of *Spodoptera litura* at 1, 12, 24, 48 hours after contact to 5% concentration of the extract of eucalyptus (dash line) and kaffir lime (dark line).

เมื่อนำสารสกัดจากใบยูคาลิปตัสมาศึกษาความเป็นพิษในส่วนของระดับความเข้มข้นของสารที่ทำให้แมลงตายร้อยละ 50 (LC_{50}) พบว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 ในการทดสอบครั้งนี้ สามารถทำให้หนอนกระทู้ผักตายได้ร้อยละ 68 ที่ 24 ชั่วโมงหลังสัมผัสสาร

ต่ำกว่าในการศึกษาครั้งแรกเล็กน้อย และความเข้มข้นที่ทำให้หนอนกระทู้ผักตายร้อยละ 50 (LC_{50}) ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงคือ ความเข้มข้นของสารสกัดจากใบยูคาลิปตัสที่ร้อยละ 3.39 (Figure 2)

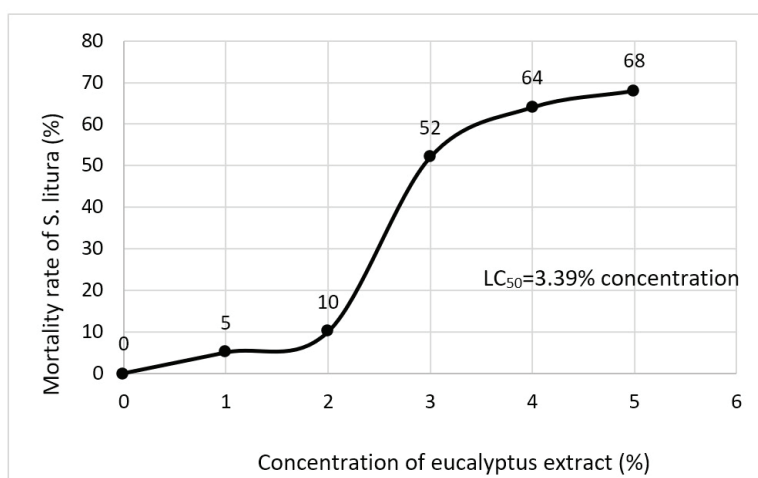


Figure 2 The cumulative of mortality rate (%) of *Spodoptera litura* after contact to various concentrations of eucalyptus at 24 hours.

วิจารณ์

สารสกัดจากพืชและอนุพันธ์ของสารได้รับการศึกษาถึงคุณสมบัติในการเป็นสารฆ่าแมลงในรูปแบบต่างๆ มากมายทั้งในส่วนของความเป็นพิษโดยตรง การไล่ การยับยั้งการกิน การยับยั้งการวางไข่ การยืดระยะเวลาการเจริญเติบโต ยับยั้งการลอกคราบ เป็นหมัน (Cheraghi *et al.*, 2016) ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ สารสกัดจากพืช 10 ชนิด คือ สะเดา ยูคาลิปตัส

มะกรูด สدابเลื้อ วานน้ำ ตะไคร้หอม ยาสูบ หางไหล ผกากรอง และหนอนตายหยาก ถูกสกัดจากพืชด้วยวิธีการแช่หรือคองส่วนของพืชในแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 95 นาน 5 วัน ซึ่งเป็นวิธีการพื้นฐานโดยทั่วไป สะดวกและง่ายต่อการปฏิบัติ

สารสกัดยูคาลิปตัสมีส่วนผสมของสารต่างๆ คือ monoterpenes, sesquiterpenes, aromatic phenols, oxides, ethers, alcohols,

esters, aldehydes and ketones ที่หลากหลายมาก เป็นองค์ประกอบ สารองค์ประกอบหลักในสารสกัด ยูคาลิปตัสที่มีบทบาทสำคัญต่อการตายของแมลงต่างๆ ได้แก่ 1,8-cineole, citronellal, citronellol, citronellyl acetate, p-cymene, eucamalol, limonene, linalool, a-pinene, g-terpinene, a-terpineol, alloocimene, and aromadendrene (Watanabe *et al.*, 1993; Li *et al.*, 1996; Duke, 2004; Batish *et al.*, 2006; Su *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2008) สาร eucalyptol หรือ 1,8-cineole เป็นสารหอมระเหยกลุ่ม monoterpenes ที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าแมลงได้ดี (Lee *et al.*, 2002) มีคุณสมบัติแทรกซึมเข้าสู่ร่างกายแมลงและเข้ารบกวนการทำงานของระบบประสาทของแมลงได้อย่างรวดเร็ว (Rajendran and Sriranjini, 2008) มีพิษต่อระบบประสาทและเซลล์เนื้อเยื่อต่างๆ รวมทั้งมีผลต่อการกินอาหาร การวางไข่ของแมลง (Bakkali *et al.*, 2008)

ในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมาการใช้สารสกัด ยูคาลิปตัสเน้นเป็นสารไล่แมลงในเคหสถาน เช่น เวิร์ด แมลงสาบ มด เหา แมลงวัน ยุง แมลงสัตว์กัดต่อย (Mumcuoglu *et al.*, 1996; Tripathi *et al.*, 2009) นอกจากนี้มีการใช้สารสกัด ยูคาลิปตัสฆ่าแมลงพวกด้วงงวงในธัญพืช หรือการรมควันฆ่าแมลงในโรงเก็บ เนื่องจากมีพิษสูงกับด้วงงวง *Sitophilus* sp. (Omara *et al.*, 2018) Zunino *et al.* (2012) ทดสอบสารสกัดยูคาลิปตัส ซึ่งมีสาร 1,8-cineole เป็นองค์ประกอบหลักใน ยูคาลิปตัสกับ *Sternechus subsignatus* และ *Rhyssomatus subtilis* พบว่ามีค่าความเป็นพิษ LD₅₀ สูงถึง 0.40 และ 0.84 ไมโครลิตร/ลูกบาศก์เซนติเมตร

ในส่วนของการศึกษาความเป็นพิษกับ หนอนกระทู้ผักนั้น Chauhan and Mishra (2016) รายงานว่า สารสกัดยูคาลิปตัส *E. citriodora* ความเข้มข้น 15 มิลลิกรัม/น้ำ 1 มิลลิตร มีผลยับยั้งการกินของหนอนกระทู้ผักอย่างรุนแรง ถึงร้อยละ 44.12 และ 39.4 ที่ 2 และ 4 วันหลังกินสาร และส่งผลต่อดักแด้ทำให้มีขนาดและน้ำหนักลดลง และการฟักออกเป็นตัวเต็มวัยได้ลดลง ในส่วนของ

ข้อมูลด้านการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ผักโดยตรงมี น้อยมาก อย่างไรก็ตามในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ พบว่าสาร สกัดยูคาลิปตัสมีผลโดยตรงทำให้หนอนกระทู้ผักตาย อย่างรวดเร็ว มีค่าความเป็นพิษ LT₅₀ ที่ 16.82 ชั่วโมง หลังสัมผัสสารเท่านั้น และมีค่าความเข้มข้นของสาร ที่ทำให้หนอนตายร้อยละ 50 (LC₅₀) ที่ ร้อยละ 3.39 ที่ 24 ชั่วโมงหลังสัมผัสสาร

ส่วนสารอื่นๆ ที่มีประสิทธิภาพรองจาก สารสกัดยูคาลิปตัส คือ มะกรูด ยาสูบ ตะไคร้หอม และสะเดา นั้น พบว่ามีเพียงสารสกัดมะกรูดชนิด เดียวที่มีอัตราการตายของหนอนกระทู้ผักสูงเกินกว่า ร้อยละ 50 ที่ 48 ชั่วโมงหลังสัมผัสสาร อย่างไรก็ตาม ผลการคำนวณค่า LT₅₀ มีค่า 43.57 ชั่วโมงหลัง สัมผัสสาร แตกต่างจากประสิทธิภาพของสารสกัด จากใบยูคาลิปตัสที่รวดเร็วกว่าถึง 2.59 เท่า ทั้งนี้ สารสำคัญในสารสกัดจากมะกรูดประกอบด้วย Beta-citronellal (66.85%) , beta-citronellol (6.59%), linalool (3.90%) และ citronellol (1.76%). ซึ่งมีคุณสมบัติเน้นเป็นสารรมไล่แมลง และยับยั้งการ กินของหนอนกระทู้ผักมากกว่าการเป็นสารฆ่าแมลง โดยตรง (Naunla, 1999; Loh *et al.*, 2011) ส่วนสาร สกัดจากพืชอื่นๆ ในการศึกษาครั้งนี้จัดว่ามีประสิทธิภาพ น้อยมากในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก แตกต่างจาก รายงานจากการวิจัยอื่นๆ อย่างชัดเจน เช่น อุดมพร (2528) รายงานถึง สารสกัดสะเดามีฤทธิ์ในการฆ่า หนอนกระทู้ผักได้ดี LC₅₀ ของสารสกัดจากสะเดา เมื่อทดสอบวิธีการกิน (feeding) กับหนอนกระทู้ผัก เท่ากับร้อยละ 0.026 และค่า LC₅₀ เมื่อทดสอบวิธี จุ่มหนอนลงในสาร (body dipping) เท่ากับร้อยละ 1.62 ในขณะที่ผลการศึกษาครั้งนี้พบอัตราการตาย เพียงร้อยละ 36.7 ที่ 48 ชั่วโมงหลังได้รับสารเข้มข้น ร้อยละ 5 ในทำนองเดียวกันกับผลการศึกษาของ เกษม และสุธิตา (2543) พบว่าสารสกัดจากใบยาสูบ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 30 สามารถฆ่าหนอนกระทู้ผัก ดีที่สุด ทำให้หนอนตายร้อยละ 72.2 และเมื่อสกัดให้ บริสุทธิ์ขึ้นการตายจะเพิ่มสูงขึ้นถึงร้อยละ 94.4 รวม ทั้ง รัตติยา และพิทยา (2542) และ Jiwajinda *et al.*, (2001) พบว่า หนอนตายหยากชนิด *S. collinsae* ยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งการกินของหนอนกระทู้ผัก

เช่นเดียวกับการศึกษาของสุภาณี และคณะ (2546) ที่พบว่า การสกัดสารออกฤทธิ์ในรากหนอนตายหยากด้วยเมทานอลมีผลการยับยั้งการกินของหนอนกระทุ้งผัก โดยมีค่า EC_{50} ที่ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 702.11 ppm และ วาสนา (2545) ที่พบว่า สารสกัดหยากจากรากหนอนตายหยาก ซึ่งใช้ไดคลอโรมีเทนเป็นตัวทำละลายที่ระดับความเข้มข้น 40,000 มิลลิกรัม/ลิตร มีความเป็นพิษต่อหนอนกระทุ้งผักร้อยละ 46

จากการเปรียบเทียบผลการศึกษาในครั้งนี้กับรายงานการวิจัยอื่นๆ พบว่าในภาพรวมมีทั้งส่วนที่สอดคล้องและแตกต่าง โดยสาเหตุของความหลากหลายนี้เป็นผลสืบเนื่องที่ประกอบขึ้นจากหลายปัจจัยที่มีความแตกต่างกันได้ เช่น เทคนิควิธีการการปลูกผักและการปฏิบัติดูแลพืชผักของเกษตรกรในแต่ละแหล่งปลูก ระดับความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงของหนอนกระทุ้งผักในแต่ละพื้นที่ (จอมสุรางค์ และคณะ, 2551; คณิตา และคณะ 2552) สภาพแวดล้อมของสถานที่ที่ทำการศึกษารายชนิดของพืชและการจัดการ และส่วนสำคัญคือองค์ประกอบของสารที่มีฤทธิ์ในการฆ่าแมลงในสารสกัดจากพืช ซึ่งมีปริมาณและสัดส่วนของสารแตกต่างกันไปตาม พันธุ์ ฤดูกาล สภาพพื้นที่และอากาศรวมทั้ง แหล่งที่ปลูกได้ (Brooker and Kleinig, 2006; Kraiwit et al., 2019)

สรุป

การศึกษาสารสกัดพืช 10 ชนิดคือ สะเดา ยาสูบ ยูคาลิปตัส ตะไคร้หอม มะกรูด หนอนตายหยาก ผักกาดหอม หางไหล ว่านน้ำ และสาบเสือ ในการควบคุมหนอนกระทุ้งผัก การสกัดสารใช้วิธีการแช่พืชในตัวทำละลายแอลกอฮอล์ซึ่งสะดวกและง่ายต่อการปฏิบัติ และเมื่อนำสารสกัดที่มีความเข้มข้นร้อยละ 5 ทดสอบกับหนอนกระทุ้งผักวัยที่ 3 พบว่า พืชทั้ง 10 ชนิดมีผลต่อการตายของหนอนกระทุ้งผัก แตกต่างจากไม่พ่นสาร โดยสารสกัดจาก ยูคาลิปตัสมีประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนกระทุ้งผักสูงที่สุด อัตราการตายร้อยละ 78.3 ที่ 48 ชั่วโมง หลังสัมผัสสาร มีค่าระยะเวลาที่ทำให้แมลงตายร้อยละ 50 (LT_{50}) ที่ 16.82 ชั่วโมงหลังสัมผัสสาร และ

มีค่าความเข้มข้นของสารที่ทำให้แมลงตายร้อยละ 50 (LC_{50}) ที่ ร้อยละ 3.39 ที่ 24 ชั่วโมงหลังสัมผัสสาร ส่วนสารอื่นๆ ที่มีประสิทธิภาพรองจากสารสกัด ยูคาลิปตัส คือ มะกรูด ยาสูบ ตะไคร้หอม และสะเดา ทั้งนี้พบว่ามีสารสกัดมะกรูดเพียงชนิดเดียวที่มีอัตราการตายของหนอนกระทุ้งผักสูงเกินกว่า ร้อยละ 50 ที่ 48 ชั่วโมงหลังสัมผัสสาร เมื่อคำนวณค่าระยะเวลาที่ทำให้แมลงตายร้อยละ 50 (LT_{50}) ได้ค่าเท่ากับ 43.57 ชั่วโมงหลังสัมผัสสาร

เอกสารอ้างอิง

- เกษม ตันสุวรรณ และสุริตา ตันสุวรรณ. 2543. เปรียบเทียบผลของสารสกัดจากพืชบางชนิดต่อหนอนกระทุ้งผัก. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ, สงขลา.
- ขวัญชัย สมบัติศิริ. 2555. การใช้สารสกัดจากเมล็ดสะเดาป้องกันกำจัดแมลง. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- คณิตา ทองเจริญ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ ไสว บุรณพานิชพันธุ์ และจิราพร ตยติวุตติกุล. 2552. ประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงบางชนิดที่มีต่อหนอนใยผักในเขตภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย. วารสารเกษตร 25(3): 245-255.
- จอมสุรางค์ ดวงธิดา วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ ไสว บุรณพานิชพันธุ์ และจิราพร ตยติวุตติกุล. 2551. ความต้านทานของด้วงหมัดผัก แดงลายในเขตภาคเหนือตอนล่างที่มีต่อสารฆ่าแมลงบางชนิด. วิทยาศาสตร์กำแพงแสน สาขาพืช 6(2):15-26.
- ต.ชาตรี. 2553. สมุนไพรเพื่อการเกษตรสำหรับการป้องกัน และกำจัดศัตรูพืช, สำนักพิมพ์ นีออนบุ๊กมีเดีย, กรุงเทพฯ
- นิสา เกลี้ยงเกล้า ปภพ สันชัยกุล วิชัย สรพงษ์ไพศาล และอารยา บุญศักดิ์. 2563. ชนิดของเพลี้ยไฟในกุหลาบและการควบคุมโดยใช้สารสกัดจากพืช. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตรและการจัดการ 3(3), 78-89.

- รัตติยา นวลหาล้า และพิทยา สรวมศิริ. 2542. การคัดเลือกสมุนไพรป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ผัก. วารสารเกษตร 15(2): 192-202.
- วาสนา ไชยคำ. 2545. ฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัดจากหนอนตายหยาก (*Stemona* spp.) และเถาวัลย์เปรียง (*Derris scandens* Benth.). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- สุเทพ สหายา และลักขณา บำรุงศรี. 2546. ไรตินโนสารสกัดจากพืชที่มีพิษต่อแมลง. วารสารกีฏและสัตววิทยา 25(4): 295 – 298.
- สุภาณี พิมพ์สมาน รัตนภรณ์ พรหมศรีธธา และสังวาลย์ สมบูรณ์. 2546. สารสกัดจากหนอนตายหยาก (*Stemona* sp.) เพื่อการควบคุมแมลงศัตรูพืช ในการประชุมวิชาการรักษาพืชแห่งชาติครั้งที่ 6 ณ โรงแรมโซฟิเทลราชาออคิตขอนแก่น วันที่ 24-27 พฤศจิกายน 2546. หน้า 22.
- อำนาจ อิศรางกูร ณ อยุธยา. 2535. การใช้สารสกัดจากพืชควบคุมแมลงศัตรูพืช. วารสารเกษตรก้าวหน้า 7(4): 25-35.
- อุดมพร แฝงนคร. 2528. ประสิทธิภาพของสารสกัดสะเดาที่มีต่อหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* Hubner และหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* (F.). วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- Bakkali, F., S. Averbeck, D. Averbeck and M. Idaomar. 2008. Biological effects of essential oils-A review. Food Chemical Toxicology 46: 446-75.
- Batish, D.R., H.P. Singh, N. Setia, S. Kaur and R.K. Kohli. 2006. Chemical composition and phytotoxicity of volatile essential oils from intact and fallen leaves of *Eucalyptus citriodora*. Zeitschrift für Naturforschung Online c61: 465-471.
- Bomford, M.K. and M.B. Isman. 1996. Desensitization of fifth instar *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) to azadirachtin and neem. Entomologia Experimentalis et Applicata 81: 307-313.
- Brooker, M.I.H. and D.A. Kleinig. 2006. Field guide to Eucalyptus. vol.1. South-eastern Australia, Third edition. Bloomings, Melbourne.
- Chauhan, D. and V. K. Mishra. 2016. Effect of medicinal plant extracts on growth and development of tobacco caterpillar, *Spodoptera litura* (Fabricius). International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology 9(3): 435-442.
- Cheraghi Niroumand, M., M.H. Farzaei, E. Karimpour Razkenari, G. Amin, M. Khanavi, T. Akbarzadeh and M.R. Shams-Ardekani. 2016. An evidence-based review on medicinal plants used as insecticide and insect repellent in traditional Iranian medicine. Iranian Red Crescent Medical Journal 18(2): 1-8 (e22361). doi: 10.5812/ircmj.22361. PMID: 27186389; PMCID: PMC4867175.
- Duke, J.A. 2004. Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical databases. Available online at <http://www.ars-grin.gov/duke/> (accessed on 9 June, 2008).
- Jiwajinda, S., N. Hirai, K. Watanabe, V. Santisopasri, N. Chuengsamarnyart, K. Koshimizu and H. Ohigashi. 2001. Occurrence of the insecticidal 16, 17-didehydro-16 E)-stemofoline in *Stemona collinsae*. Phytochemistry 56: 693-695
- Kraiwit Ruangsuk, Pabhop Sinchayakul, Weerathep Pongprasert and Wichai Sorapongpaisal. 2019. Variation of neem seed morphology and azadirachtin

- content in different climatic zones of Thailand. International Journal of Biosciences 14(5): 330-342.
- Lee, G., J.C. Hall and J.H. Park. 2002. Doublesex gene expression in the central nervous system of *Drosophila melanogaster*. Journal of Neurogenetics. 16(4): 229-248.
- Li, H., J.L. Madden and B.M. Potts. 1996. Variation in volatile leaf oils of the Tasmanian Eucalyptus species II. Subgenus Symphyomyrtus. Biochemical Systematics and Ecology 24: 547–569.
- Liu, X., Q. Chen, Z. Wang, L. Xie and Z. Xu. 2008. Allelopathic effects of essential oil from *Eucalyptus grandis*, *E. urophylla* on pathogenic fungi and pest insects. Frontiers of Forestry in China 3: 232–236.
- Loh, F.S., R.M. Awang, D. Omar and M. Rahmani. 2011. Insecticidal properties of *Citrus hystrix* DC leaves essential oil against *Spodoptera litura* fabricius. Journal of Medicinal Plants Research 5(16): 3739-3744.
- Mumcuoglu, K.Y., R. Galun, U. Bach, J. Miller and S. Magdassi. 1996. Repellency of essential oils and their components to the human body louse, *Pediculus humanus humanus*. Entomologia Experimentalis et Applicata 78: 309-314.
- Naunla, R. 1999. Application of medicinal plant crude extract for insect control in Chinese kale. M.S. thesis. Chiangmai University, Chiang Mai.
- Omara, T., K. Fredrick, M. Bashir, K. Erisa and K. Sarah. 2018. Bioinsecticidal activity of eucalyptol and 1R-alpha-pinene rich acetonc oils of *Eucalyptus saligna* on *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Health and Environmental Research 4(4):153-160.
- Rajendran, S. and V. Sriranjini. 2008. Plant products as fumigants for stored-product insect control. Journal of Stored Products and Resources 44: 126–35.
- Su, Y.C., C.L. Ho, I.C. Wang and S.T. Chang. 2006. Antifungal activities and chemical compositions of essential oils from leaves of four eucalypts. Taiwan Journal of Forest Science 21: 49–61.
- Tripathi, A.K., S. Upadhyay, M. Bhuiyan and P.R. Bhattacharya. 2009. A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy 1:52-63.
- Watanabe, K., Y. Shono, A. Kakimizu, A. Okada, N. Matsuo, A. Satoh and H. Nishimura. 1993. New mosquito repellent from *Eucalyptus camaldulensis*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 41: 2164–2166.
- Zunino, M.P., V.A. Areco and J.A. Zygodlo. 2012. Insecticidal activity of three essential oils against two new important soybean pests: *Sternuchus pinguis* (Fabricius) and *Rhyssomatus subtilis* Fiedler (Coleoptera: Curculionidae). Boletin Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas 11(3): 269-277.